



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

ANAMARIA FALCÃO PEREIRA

PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA ENDOCANABINOIDE NA NEUROMODULAÇÃO
DA NEUROPATIA SENSITIVA PERIFÉRICA INDUZIDA POR OXALIPLATINA
EM CAMUNDONGOS

FORTALEZA

2020

ANAMARIA FALCÃO PEREIRA

PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA ENDOCANABINOIDE NA NEUROMODULAÇÃO DA
NEUROPATIA SENSITIVA PERIFÉRICA INDUZIDA POR OXALIPLATINA EM
CAMUNDONGOS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Farmacologia. Área de concentração: Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Mariana Lima Vale

FORTALEZA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

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

- P489p Pereira, Anamaria Falcão.
Participação do sistema endocanabinoide na neuromodulação da neuropatia sensitiva periférica induzida por oxaliplatina em camundongos / Anamaria Falcão Pereira. – 2020.
141 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2020.
Orientação: Profa. Dra. Mariana Lima Vale.
1. Neuropatias periféricas. 2. Oxaliplatina. 3. Receptores canabinoides. 4. Endocanabinoides. I. Título.
CDD 615.1
-

ANAMARIA FALCÃO PEREIRA

PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA ENDOCANABINOIDE NA NEUROMODULAÇÃO DA
NEUROPATIA SENSITIVA PERIFÉRICA INDUZIDA POR OXALIPLATINA EM
CAMUNDONGOS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Farmacologia. Área de concentração: Farmacologia.

Aprovada em: 03/03/2020.

BANCA EXAMINADORA

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

Profª. Dra. Sara Maria Thomazzi
Universidade Federal de Sergipe (UFS)

Prof. Dr. Paulo Goberlanio de Barros Silva
Centro Universitário Christus (Unichristus)

Profª. Dra. Renata Bessa Pontes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profª. Dra. Geanne Matos de Andrade
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, Jalva e Aldemir.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, por estar sempre ao meu lado em todos os momentos, iluminando meus passos e me dando força e determinação para lutar pelos meus sonhos.

Aos meus pais, Maria Jalva Falcão Pereira e Francisco Aldemir Pereira, pelo amor e carinho, dedicados a mim, por estarem sempre ao meu lado em todos os momentos da minha vida e terem me dado todo o suporte para eu conquistar meus objetivos. Obrigada pelo incentivo ao estudo e por terem me proporcionado uma educação de qualidade. Vocês são minhas maiores inspirações. Obrigada por tudo. Essa conquista é nossa.

Ao meu irmão, Francisco Lucas Falcão Pereira, que também acompanhou a minha caminhada.

À Profa. Dra. Mariana Lima Vale, minha orientadora, por todos os ensinamentos durante esses 10 anos em que fui sua aluna no Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer. Obrigada pela paciência, incentivo e presença constante neste período. Você foi fundamental para o meu crescimento profissional e uma mãe científica. Obrigada por tudo.

À profa. Dra. Delane Viana Gondim, pela convivência, conselhos, por ter participado da minha banca de qualificação e pelas contribuições no aprimoramento deste trabalho.

Aos profs. Dr. Roberto César Pereira Lima Júnior e Dr. Diego Veras Wilke, por terem participado da minha banca de qualificação e pelas colaborações no aprimoramento deste estudo.

Ao Mario Lisboa, pela amizade, convivência, por todos os momentos que passamos no decorrer do doutorado, tanto os felizes quanto os difíceis em que precisamos da força um do outro. Obrigada pela ajuda nos experimentos. Trabalhar juntos e compartilhar nossas conquistas, com certeza, tornou esse período mais agradável. Obrigada por tudo.

Ao Bruno Freitas, pela amizade, convivência, conselhos, momentos de descontração, além da ajuda nos experimentos. A sua participação foi essencial para a realização deste trabalho.

A todos os amigos do Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer, pela convivência diária e momentos de descontração, especialmente, ao Rafael, pelo apoio e ajuda na realização dos experimentos.

Aos alunos de iniciação científica, Cristiane, Diego, Karoline, Jonas e Amanda, pela colaboração nos experimentos. A participação de vocês foi fundamental para a realização deste estudo.

Aos meus amigos, Anália Almeida, Bruna Vitoriano, Daisy Jereissati, Juliano Casemiro, Lívia Galvão, Luana David e Tamiris Goebel, por todos esses anos de convivência e pelos felizes momentos de descontração.

Ao João Luiz, pelo carinho, atenção e amor, dedicados a mim, pelos momentos felizes que tem me proporcionado. Obrigada por todo o apoio.

A todos os meus familiares que me apoiaram no decorrer dessa caminhada, especialmente à minha tia, Maria José Falcão, e minha madrinha, Margarida Falcão, pelo incentivo ao estudo.

Aos professores da Pós-Graduação em Farmacologia, pelos ensinamentos e colaboração no meu crescimento profissional.

À Central Analítica e Unidade multiusuário da Universidade Federal do Ceará pelo apoio técnico na realização das fotos de microscopia confocal.

A CAPES, pelo auxílio financeiro.

À Universidade Federal do Ceará, pela oportunidade.

RESUMO

PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA ENDOCANABINOIDE NA NEUROMODULAÇÃO DA NEUROPATIA SENSITIVA PERIFÉRICA INDUZIDA POR OXALIPLATINA EM CAMUNDONGOS

A oxaliplatina está associada à neurotoxicidade que é expressa como uma neuropatia sensitiva periférica (NSP). O sistema endocanabinoide é conhecido por modular a via nociceptiva, de modo que compostos canabinoides têm sido investigados quanto ao efeito analgésico. Esse estudo avaliou a participação do sistema endocanabinoide na neuromodulação da NSP da oxaliplatina. NSP foi induzida através da injeção de oxaliplatina (2 mg/kg, iv, 2x/sem, 9 injeções), durante 28 dias, em camundongos machos Swiss (6 semanas). A expressão de CB1 e CB2 foi avaliada em gânglio da raiz dorsal (GRD), medula espinhal (ME), gânglio trigeminal (GT), trato espinhal do trigêmeo (Sp5C) e substância cinzenta periaquedutal (PAG) após as injeções de oxaliplatina. Canabidiol (10 mg/kg, v.o.) ou agonista não seletivo CB1/CB2 (WIN 55,212-2; 0,5 mg/kg, sc) ou AM251 (antagonista CB1) ou AM630 (antagonista CB2) (3 mg/kg, ip) foram administrados antes das injeções de oxaliplatina. Testes nociceptivos mecânicos e térmicos foram realizados, uma vez na semana, por 56 dias. Para avaliar prováveis efeitos canabimiméticos do canabidiol, foram realizados os testes rotarod, catalepsia e placa quente. A expressão de c-Fos foi avaliada em GRD e ME após modulação farmacológica do sistema endocanabinoide. Os resultados mostraram que a oxaliplatina aumentou a expressão de CB1 ($P < 0,05$) em células não neuronais do GRD e da ME, no 28º dia experimental, e em células neuronais do GT (28º dia experimental) e do Sp5C e PAG ventrolateral (28º e 56º dias experimentais). Não foi observado o aumento da expressão de CB2 nos tecidos analisados. Canabidiol atenuou a hiperalgesia mecânica e preveniu o aumento da expressão de c-Fos associado à oxaliplatina no GRD e na ME (28º dia experimental) ($P < 0,05$), não induzindo efeitos canabimiméticos. WIN 55,212-2 preveniu a hiperalgesia mecânica e alodínia ao frio e o aumento da expressão de c-Fos associado à oxaliplatina (28º dia experimental) ($P < 0,05$). AM251 antecipou a alodínia ao frio do 21º dia para o 14º dia ($P < 0,05$), mas não interferiu na expressão de c-Fos, enquanto AM630 não provocou alterações nas respostas nociceptivas da oxaliplatina, mas reduziu a expressão de c-Fos na ME ($P < 0,05$). Assim, o sistema endocanabinoide pode exercer um papel protetor na NSP da oxaliplatina, tendo o receptor CB1 uma importante participação nessa ação.

Palavras-chave: Neuropatias periféricas. Oxaliplatina. Receptores canabinoides. Endocanabinoides.

ABSTRACT

PARTICIPATION OF ENDOCANNABINOID SYSTEM IN THE NEUROMODULATION OF OXALIPLATIN-INDUCED PERIPHERAL SENSORY NEUROPATHY IN MICE

Oxaliplatin is associated with neurotoxicity that is expressed as a peripheral sensory neuropathy (PSN). Endocannabinoid system is known as a modulator of the nociceptive pathway, so that cannabinoid compounds have been investigated for the analgesic effect. This study evaluated the participation of endocannabinoid system in the neuromodulation in the PSN of oxaliplatin. PSN was induced through oxaliplatin injection (2 mg/kg, i.v., twice a week, 9 injections), for 28 days, in Swiss male mice (six weeks). CB1 and CB2 expression also was evaluated in dorsal root ganglion (DRG), spinal cord (SC), trigeminal ganglion (TG), trigeminal spinal tract (Sp5C), periaqueductal gray (PAG) after oxaliplatin injections. Cannabidiol (10 mg/kg, p.o.) or CB1/CB2 non-selective agonist (WIN 55,212-2; 0,5 mg/kg, s.c.) or AM251 (CB1 antagonist) or AM630 (CB2 antagonist) (3 mg/kg, i.p.) were administered before oxaliplatin injections. Mechanical and thermal nociceptive tests were performed, once a week, for 56 days. To assess the possible cannabimimetic effects of cannabidiol, rota rod, catalepsy and hot plate tests were accomplished. The c-Fos expression was evaluated in DRG and SC after pharmacological modulation of endocannabinoid system. The results showed that oxaliplatin increased the expression of CB1 ($P < 0.05$) in non-neuronal cells of the DRG and SC, on the 28th experimental day, and in neuronal cells of the TG (28th experimental day) and of the Sp5C and ventrolateral PAG (28th and 56th experimental days). The expression of CB2 was not observed in the analyzed tissues. Cannabidiol attenuated mechanical hyperalgesia and prevented the increase of c-Fos expression associated with oxaliplatin in the DRG and SC (28th experimental day) ($P < 0.05$), without inducing cannabimimetic effects. WIN 55, 212-2 prevented mechanical hyperalgesia and cold allodynia and inhibited the increase of the expression of c-Fos associated with oxaliplatin (28th experimental day) ($P < 0.05$). AM251 anticipated the cold allodynia from the 21st day to the 14th day ($P < 0.05$), but did not interfere with the c-Fos expression, while AM630 did not cause alterations in the nociceptive responses provoked by oxaliplatin, but decreased the c-Fos expression in the spinal cord ($P < 0.05$). Thus, endocannabinoid system may play a protective role in the pathophysiology of oxaliplatin PSN, with the CB1 receptor having an important role in this action.

Keywords: Peripheral neuropathies. Oxaliplatin. Cannabinoid receptors. Endocannabinoids.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Grupos de saída de compostos platinos utilizados na quimioterapia do câncer	25
Figura 2 – Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para o ano de 2020 por sexo, excluindo o câncer de pele não melanoma	26
Figura 3 – Mecanismo de ação citotóxico da oxaliplatina	27
Figura 4 – Mecanismo de ação de morte imunogênica da oxaliplatina	28
Figura 5 – Mecanismos envolvidos na neurotoxicidade provocada por oxaliplatina ...	32
Figura 6 – Células satélites gliais em gânglio da raiz dorsal de camundongo	35
Figura 7 – Canabinoides endógenos	38
Figura 8 – Receptores canabinoides CB1 e CB2	42
Figura 9 – Desenho esquemático do protocolo experimental I	48
Figura 10 – Desenho esquemático do protocolo experimental II	49
Figura 11 – Desenho esquemático do protocolo experimental III	50
Figura 12 – Desenho esquemático do protocolo experimental IV.....	51
Figura 13 – Regiões encefálicas	55
Figura 14 – Gânglios da raiz dorsal (L4 – L6)	55
Figura 15 – Criostato Leica CM1850 utilizado para os cortes dos tecidos	57
Figura 16 – Expressão de CB1 em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	59
Figura 17 – Expressão de CB2 em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	61
Figura 18 – Expressão de CB1 em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	63
Figura 19 – Expressão de CB2 em medula espinhal de camundongos submetidos à	65

NSP por oxaliplatina	
Figura 20 – Expressão de CB1 em gânglio trigeminal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 28º dia experimental	67
Figura 21 – Expressão de CB1 em gânglio trigeminal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 56º dia experimental	67
Figura 22 – Expressão de CB2 em gânglio trigeminal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 28º dia experimental	69
Figura 23 – Expressão de CB2 em gânglio trigeminal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 56º dia experimental	69
Figura 24 – Expressão de CB1 em trato espinhal do trigêmeo (Sp5C) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina - 28º dia experimental	71
Figura 25 – Expressão de CB1 em trato espinhal do trigêmeo (Sp5C) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina - 56º dia experimental	72
Figura 26 – Expressão de CB2 em trato espinhal do trigêmeo (Sp5C) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 28º dia experimental	73
Figura 27 – Expressão de CB2 em trato espinhal do trigêmeo (Sp5C) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 56º dia experimental	74
Figura 28 – Expressão de CB1 em substância cinzenta periaquedutal ventrolateral (VLPAG) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 28º dia experimental	76
Figura 29 – Expressão de CB1 em substância cinzenta periaquedutal ventrolateral (VLPAG) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 56º dia experimental	76
Figura 30 – Expressão de CB2 em substância cinzenta periaquedutal ventrolateral (VLPAG) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 28º dia experimental	78
Figura 31 – Expressão de CB2 em substância cinzenta periaquedutal ventrolateral (VLPAG) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 56º dia experimental	78

Figura 32 – Efeito do canabidiol na expressão de c-Fos em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	94
Figura 33 – Efeito do WIN 55, 212-2 na expressão de c-Fos em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	96
Figura 34 – Efeito do canabidiol na expressão de c-Fos em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	98
Figura 35 – Efeito do WIN 55, 212-2 na expressão de c-Fos em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	100
Figura 36 – Efeito do AM251 na expressão de c-Fos em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	102
Figura 37 – Efeito do AM630 na expressão de c-Fos em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	104
Figura 38 – Efeito do AM251 na expressão de c-Fos em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	106
Figura 39 – Efeito do AM630 na expressão de c-Fos em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	108
Figura 40 – Participação do sistema endocanabinoide na neuropatia da oxaliplatina	123

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB1 em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	60
Gráfico 2 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB2 em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	62
Gráfico 3 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB1 em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	64
Gráfico 4 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB2 em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	66
Gráfico 5 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB1 em gânglio trigeminal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 28º dia experimental	68
Gráfico 6 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB1 em gânglio trigeminal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 56º dia experimental	68
Gráfico 7 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB2 em gânglio trigeminal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 28º dia experimental	70
Gráfico 8 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB2 em gânglio trigeminal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 56º dia experimental	70
Gráfico 9 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB1 trato espinhal do trigêmeo (Sp5C) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 28º dia experimental	72
Gráfico 10 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB1 trato espinhal do trigêmeo (Sp5C) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 56º dia experimental	73

Gráfico 11 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB2 trato espinhal do trigêmeo (Sp5C) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 28º dia experimental	74
Gráfico 12 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB2 trato espinhal do trigêmeo (Sp5C) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 56º dia experimental	75
Gráfico 13 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB1 em substância cinzenta periaquedutal ventrolateral (VLPAG) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 28º dia experimental	77
Gráfico 14 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB1 em substância cinzenta periaquedutal ventrolateral (VLPAG) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 56º dia experimental	77
Gráfico 15 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB2 em substância cinzenta periaquedutal ventrolateral (VLPAG) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 28º dia experimental	79
Gráfico 16 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB2 em substância cinzenta periaquedutal ventrolateral (VLPAG) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 56º dia experimental	79
Gráfico 17 – Efeito do canabidiol na hiperalgesia mecânica plantar de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	81
Gráfico 18 – Efeito do canabidiol na alodínia térmica pelo frio de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	81
Gráfico 19 – Efeito do canabidiol no teste de catalepsia	82
Gráfico 20 – Efeito do canabidiol no teste de placa de quente	83
Gráfico 21 – Efeito do canabidiol no teste rota-rod	83
Gráfico 22 – Efeito do WIN 55, 212-2 na hiperalgesia mecânica plantar de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	85
Gráfico 23 – Efeito do WIN 55, 212-2 na alodínia térmica pelo frio de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	85

Gráfico 24 – Efeito do WIN 55, 212-2 no desempenho motor de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	86
Gráfico 25 – Efeito do AM251 na hiperalgesia mecânica plantar de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	88
Gráfico 26 – Efeito do AM251 na alodínia térmica pelo frio de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	88
Gráfico 27 – Efeito do AM251 no desempenho motor de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	89
Gráfico 28 – Efeito do AM630 na hiperalgesia mecânica plantar de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	91
Gráfico 29 – Efeito do AM630 na alodínia térmica pelo frio de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	91
Gráfico 30 – Efeito do AM630 no desempenho motor de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	92
Gráfico 31 – Quantificação da área fluorescente da expressão de c-Fos em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina que receberam canabidiol	95
Gráfico 32 – Quantificação da área fluorescente da expressão de c-Fos em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina que receberam WIN 55, 212-2	97
Gráfico 33 – Quantificação da área fluorescente da expressão de c-Fos em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina que receberam canabidiol	99
Gráfico 34 – Quantificação da área fluorescente da expressão de c-Fos em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina que receberam WIN 55, 212-2	101
Gráfico 35 – Quantificação da área fluorescente da expressão de c-Fos em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina que receberam AM251	103

Gráfico 36 – Quantificação da área fluorescente da expressão de c-Fos em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina que receberam AM630	105
Gráfico 37 – Quantificação da área fluorescente da expressão de c-Fos em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina que receberam AM251	107
Gráfico 38 – Quantificação da área fluorescente da expressão de c-Fos em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina que receberam AM630	109

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Critérios de Terminologia Comum para Eventos Adversos do Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos da América versão 4.0	30
Tabela 2 – Escala de Neurotoxicidade Específica da Oxaliplatina	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2-AG	2-araquidonil glicerol
AEA	N-araquidonil etanolamina
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
AM251	Antagonista seletivo de CB1
AM630	Antagonista seletivo de CB2
ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATF3	Fator de transcrição de ativação
ATP	Adenosina trifosfato
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
bFGF	Fator de crescimento de fibroblasto básico
BQ-123	Antagonista do receptor A de endotelina
BQ-788	Antagonista do receptor B de endotelina
BSA	Albumina sérica bovina
CB1	Receptor canabinoide 1
CB2	Receptor canabinoide 2
CBD	Canabidiol
CD	Célula dendrítica
CDME	Corno dorsal da medula espinhal
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
cGMP	Guanosina monofosfato cíclica
CGRP	Receptor do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
COX	Ciclooxigenase
CTR	Transportador de cobre
Cys	Cisteína
DACH	Diaminociclohexano
DAGL α	Diacilglicerol lipase α
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EPM	Erro padrão da media

ERK	Sinal extracelular regulado por quinase
ET _A	Receptor A de endotelina
ET _B	Receptor B de endotelina
EUA	Estados Unidos da América
FAAH	Amida hidrolase de ácidos graxos
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FLOX	5-fluorouracil, leucovorin e oxaliplatina
FOLFIRI	5-fluorouracil, leucovorin e irinotecano
FOLFOX	5-fluorouracil, leucovorin e oxaliplatina
FOLFOXIRI	5-fluorouracil, leucovorin, oxaliplatina e irinotecano
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GFAP	Proteína ácida fibrilar glial
GLOBOCAN	<i>Global Cancer Observatory</i>
GRD	Gânglio da raiz dorsal
GSH	Glutationa
GST	Glutationa S-transferase
GT	Gânglio trigeminal
HCN	Canal ativado por hiperpolarização
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HMGB1	Box 1 do grupo de alta mobilidade
Iba-1	Molécula adaptadora ligante de cálcio ionizado
IL	Interleucina
INCA	Instituto Nacional do Câncer
iNOS	Óxido nítrico sintase induzível
IROX	Irinotecano e oxaliplatina
JZL195	Inibidor das enzimas FAAH e MAGL
LAFICA	Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer
LPS	Lipopolissacarídeo bacteriano
M6P	Manose-6-fosfato
MAGL	Monoacilglicerol lipase
MAPK	Proteína quinase ativada por mitógeno
MATE	Extrusão multidroga e compostos tóxicos
ME	Medula espinhal

Met	Metionina
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade
N	Neurônio
Nav	Canal de sódio dependente de voltagem
NCI-CTCAE	Critérios de Terminologia Comum para Eventos Adversos do Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos da América
NeuN	<i>Neuronal nuclei</i>
NF-κB	Fator nuclear kappa B
NMDA	N-metil-D-aspartato
NOS	Óxido nítrico sintase
NPDM	Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos
NSP	Neuropatia sensitiva periférica
OCT	Transportador de cátion orgânico
OCTN	Novo transportador de cátion orgânico
OSNS	Escala de Neurotoxicidade Específica da Oxaliplatina
OXL	Oxaliplatina
P2X7	Receptor purinérgico P2X7
PAG	Substância cinzenta periaquedutal
PD-1	Morte programada 1
PFA	Paraformaldeído
pH	Potencial hidrogeniônico
PPAR	Receptor ativado por proliferadores de peroxissomos
Pt	Platina
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RNA	Ácido ribonucleico
Rpm	Rotações por minuto
Sp5C	Trato espinhal do trigêmeo
TCR	Receptor de antígeno de célula T
TIC	Teste de imersão da cauda
TNF	Fator de necrose tumoral
TRP	Receptor de potencial transitório
TRPA1	Receptor de potencial transitório Ankyrin 1
TRPM8	Receptor de potencial transitório melastatina 8

TRPV1	Receptor de potencial transitório vaniloide 1
TRPV4	Receptor potencial transitório vaniloide 4
UFC	Universidade Federal do Ceará
VA	Via ascendente da dor
VD	Via descendente da dor
VLPAG	Substância cinzenta periaquedutal ventrolateral
WIN 55,212-2	Agonista não seletivo dos receptores canabinoides
XELOX	Capecitabina e oxaliplatina
Δ^9 -THC	Delta-9-tetrahydrocannabinol

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
2.1	Oxaliplatina	25
2.1.1	<i>Neurotoxicidade da oxaliplatina</i>	29
2.2	Sistema endocanabinoide	36
2.2.1	<i>Receptores canabinoides</i>	40
2.2.2	<i>Canabinoides e dor neuropática</i>	42
3	JUSTIFICATIVA	45
4	OBJETIVOS	46
4.1	Objetivo geral	46
4.2	Objetivos específicos	46
5	MATERIAIS E MÉTODOS	47
5.1	Aspectos éticos e animais	47
5.2	Protocolos experimentais e desenho de estudo	47
5.2.1	<i>Protocolo I – Avaliação da expressão de receptores canabinoides em tecido nervoso na NSP induzida por oxaliplatina</i>	47
5.2.2	<i>Protocolo II – Efeito do canabidiol na NSP induzida por oxaliplatina e avaliação dos efeitos canabimiméticos do canabidiol</i>	48
5.2.3	<i>Protocolo III – Efeito do agonista não seletivo dos receptores canabinoides CB1 e CB2 na NSP induzida por oxaliplatina</i>	49
5.2.4	<i>Protocolo IV – Efeito dos antagonistas seletivos dos receptores canabinoides CB1 e CB2 na NSP induzida por oxaliplatina</i>	50
5.3	Neuropatia sensitiva periférica induzida por oxaliplatina	51
5.4	Preparação e administração do canabidiol	52
5.5	Preparação e administração do agonista não seletivo dos receptores canabinoides (WIN 55, 212-2)	52
5.6	Preparação e administração dos antagonistas seletivos dos receptores canabinoides CB1 (AM251) e CB2 (AM630)	52
5.7	Testes comportamentais	53
5.7.1	<i>Hiperalgisia mecânica plantar</i>	53

5.7.2	<i>Alodinia térmica pelo frio</i>	53
5.7.3	<i>Rota-rod</i>	53
5.7.4	<i>Catalepsia</i>	54
5.7.5	<i>Placa quente</i>	54
5.8	Coleta de regiões encefálicas (PAG e trato espinhal do trigêmeo), gânglio trigeminal, medula espinhal e gânglio da raiz dorsal	54
5.9	Imunofluorescência para CB1, CB2 e c-Fos	56
5.10	Análise estatística	57
6	RESULTADOS	58
6.1	Imunofluorescência para os receptores canabinoides CB1 e CB2 em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	58
6.2	Imunofluorescência para os receptores canabinoides CB1 e CB2 em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	62
6.3	Imunofluorescência para os receptores canabinoides CB1 e CB2 em gânglio trigeminal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina ...	66
6.4	Imunofluorescência para os receptores canabinoides CB1 e CB2 em trato espinhal do trigêmeo (Sp5C) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	71
6.5	Imunofluorescência para os receptores canabinoides CB1 e CB2 em substância cinzenta periaquedutal ventrolateral (VLPAG) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	75
6.6	Efeito do canabidiol na hiperalgesia mecânica plantar e na alodinia térmica pelo frio de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	80
6.7	Avaliação dos efeitos canabimiméticos do canabidiol	82
6.8	Efeito do WIN 55, 212-2 (agonista não seletivo dos receptores canabinoides) na hiperalgesia mecânica plantar e na alodinia térmica pelo frio de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	84
6.9	Efeito do WIN 55, 212-2 (agonista não seletivo dos receptores canabinoides) no desempenho motor de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	86
6.10	Efeito do AM251 (antagonista seletivo do receptor canabinoide 1) na hiperalgesia mecânica plantar e na alodinia pelo frio de camundongos	87

	submetidos à NSP por oxaliplatina	
6.11	Efeito do AM251 (antagonista seletivo do receptor canabinoide 1) no desempenho motor de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina ..	89
6.12	Efeito do AM630 (antagonista seletivo do receptor canabinoide 2) na hiperalgesia mecânica plantar e na alodínia térmica pelo frio de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	90
6.13	Efeito do AM630 (antagonista seletivo do receptor canabinoide 2) no desempenho motor de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina ..	92
6.14	Efeito do canabidiol e WIN 55, 212-2 na expressão de c-Fos em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	93
6.15	Efeito do canabidiol e WIN 55, 212-2 na expressão de c-Fos em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	97
6.16	Efeito do AM251 e AM630 na expressão de c-Fos em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	101
6.17	Efeito do AM251 e AM630 na expressão de c-Fos em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina	105
7	DISCUSSÃO	110
8	CONCLUSÃO	124
	REFERÊNCIAS	125
	ANEXO A – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DA CEUA – UFC	141

1 INTRODUÇÃO

O câncer, que é uma das principais causas de morte em todo o mundo, possui a característica de crescimento celular anormal, além da capacidade de formar populações celulares que invadem tecidos e órgãos e de difundir-se (metástase) para outras regiões corporais (RUDDON, 2007). Segundo dados do *Global Cancer Observatory* (GLOBOCAN), as últimas estimativas divulgadas apontaram para a ocorrência de 17 milhões de novos casos de câncer no mundo, com exceção do câncer de pele não melanoma, e que esse valor deve aumentar para 26 milhões até o ano de 2040 (BRAY et al., 2018; WILSON et al., 2019). No Brasil, as estatísticas, para o ano de 2020, indicam o aparecimento de 625 mil novos casos de câncer, sendo observado que, tanto no sexo masculino quanto no feminino, o câncer de cólon e reto é o segundo mais incidente (INCA, 2019).

A oxaliplatina é um agente antineoplásico pertencente à terceira geração de compostos platinos, uma importante classe de fármacos com propriedades antitumorais, sendo utilizada como primeira linha de tratamento do câncer colorretal metastático, contudo os pacientes submetidos ao tratamento oncológico baseado em oxaliplatina desenvolvem um grave efeito colateral: a neurotoxicidade (DILRUBA; KALAYDA, 2016; DROTT et al., 2019). Esta pode ocasionar a redução da dose e, até mesmo, a interrupção do tratamento, além de uma relevante redução da qualidade de vida dos pacientes (DROTT et al., 2019).

A neurotoxicidade da oxaliplatina possui características únicas de apresentação clínica, sendo manifestada como uma neuropatia sensitiva periférica (NSP), que pode se apresentar de forma aguda, transitória, e crônica, dose cumulativa (ARGYRIOU, 2015). Além disso, pacientes acometidos pela neuropatia periférica relacionada à quimioterapia do câncer geram custos em saúde mais elevados que pacientes sem esse efeito colateral (PIKE et al., 2012). Mesmo diante da neurotoxicidade que acompanha o uso desse composto antitumoral, a inclusão da oxaliplatina em regimes terapêuticos produz importantes resultados na melhora da expectativa de vida do paciente oncológico (CREMOLINI et al., 2015).

Vários pesquisadores têm investigado os prováveis mecanismos que participam no desenvolvimento da neurotoxicidade induzida pela oxaliplatina, com o objetivo de buscar alternativas terapêuticas adequadas para essa condição, tendo em vista que o tratamento farmacológico disponível (anticonvulsivantes, antidepressivos, antioxidantes, infusão de cálcio e magnésio, entre outros) não é totalmente eficaz na atenuação dos sintomas, como parestesias, disestesias, alodínia, entre outros (JAGGI; SINGH, 2012; SISIGNANO et al., 2014; STAROBOVA; VETTER, 2017). Dessa forma, substâncias derivadas da planta

Cannabis sativa, chamadas canabinoides, vêm sendo amplamente investigadas, devido ao potencial terapêutico em diversas condições como: dor, inclusive dor neuropática, espasticidade associada à esclerose múltipla, epilepsia, câncer, perda de peso, entre outros (FRAGUAS-SÁNCHEZ; TORRES SUÁREZ, 2018). O efeito analgésico atribuído aos compostos canabinoides, provavelmente é baseado na supressão de neurônios espinhais e talâmicos (ZOGOPOULOS et al., 2013a).

Sabe-se que o sistema endocanabinoide é constituído pelos receptores canabinoides CB1 e CB2, endocanabinoides (ligantes endógenos) e enzimas e processos responsáveis pela síntese e degradação dos canabinoides endógenos (PERTWEE, 2015; WOODHAMS et al., 2015). Além disso, os receptores canabinoides são encontrados em regiões envolvidas no controle da sinalização da dor, indicando, assim, que o sistema endocanabinoide pode modular a via nociceptiva (VUČKOVIC et al., 2018). Desse modo, os receptores CB1 podem ser encontrados em gânglio da raiz dorsal, corno dorsal da medula espinhal, substância cinzenta periaquedutal, tálamo, entre outras (VUČKOVIC et al., 2018). Os receptores CB2 também podem ser encontrados em regiões como gânglio da raiz dorsal e medula espinhal lombar (GUINDON; HOHMANN, 2009).

Diante disso, no presente trabalho, propõe-se investigar a participação do sistema endocanabinoide na neuromodulação da NSP induzida pela oxaliplatina em um modelo experimental, bem como o possível efeito antinociceptivo e neuroprotetor de agonistas canabinoides nessa condição.

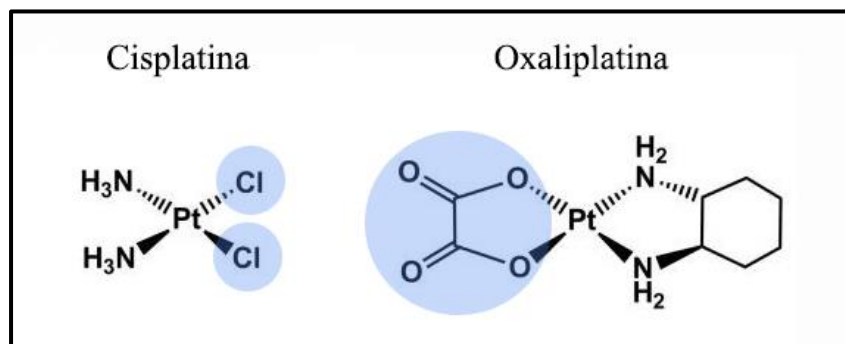
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Oxaliplatina

A oxaliplatina, oxalato-(1,2-diaminociclohexano)platina II, composto de platina de 3ª geração, utilizada como primeira linha de tratamento do câncer de cólon e reto metastático, foi sintetizada no Japão por Kidani et al. (1978), mostrando eficácia contra tumores resistentes à cisplatina (1ª geração) e carboplatina (2ª geração), sendo aprovada nos Estados Unidos desde 2002 e, atualmente, em todo o mundo (LÉVI et al., 2000; MUGGIA et al., 2015; RIDDELL; LIPPARD, 2018; WHEATE et al., 2010).

A oxaliplatina ($C_8H_{14}N_2O_4Pt$) possui estrutura química análoga à cisplatina ($Cl_2H_6N_2Pt$), com a substituição dos grupos amino por 1,2-diaminociclohexano, o que proporcionou uma maior potência citotóxica contra linhagens de células cancerígenas, inclusive, resistentes à cisplatina (BURZ et al., 2009; RIDDELL; LIPPARD, 2018). Ambos os compostos formam aductos covalentes com o DNA nuclear da célula cancerígena e desencadeia a morte celular, entretanto a oxaliplatina mostrou “in vitro” que necessita de menos aductos de DNA para atingir a mesma citotoxicidade da cisplatina (BURZ et al., 2009; FONG, 2016; RIDDELL; LIPPARD, 2018). Para tal efeito, é necessária a ativação desses fármacos, através da liberação de grupos de saída, como 2 cloretos, para cisplatina, e oxalato, para oxaliplatina (MESSORI; MARZO; MERLINO, 2015) (FIGURA 1).

Figura 1 – Grupos de saída de compostos platinos utilizados na quimioterapia do câncer





Fonte: adaptado de Johnstone *et al.* (2014). A figura representa os grupos de saída (em azul) de compostos platinos utilizados na quimioterapia do câncer.

A oxaliplatina além de ser incorporada nos regimes utilizados no tratamento do câncer de cólon e reto, o qual, nas estimativas para 2020, no Brasil, é apontado como o segundo tipo de câncer mais incidente tanto em homens quanto em mulheres, com exceção do câncer de

pele não melanoma (FIGURA 2) (INCA, 2019), tem efeito antitumoral em vários outros tipos de neoplasias malignas, como câncer de pâncreas, estômago, pulmão, ovário, mama e testículo (BANO et al., 2016; BOGLIOLO et al., 2015).

Figura 2 – Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para o ano de 2020 por sexo, excluindo o câncer de pele não melanoma*

Localização Primária	Casos	%			Localização Primária	Casos	%		
Próstata	65.840	29,2%	Homens		Mama feminina	66.280	29,7%		
Cólon e reto	20.520	9,1%			Mulheres		Cólon e reto	20.470	9,2%
Traqueia, brônquio e pulmão	17.760	7,9%			Colo do útero	16.590	7,4%		
Estômago	13.360	5,9%			Traqueia, brônquio e pulmão	12.440	5,6%		
Cavidade oral	11.180	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	5.220	2,3%		

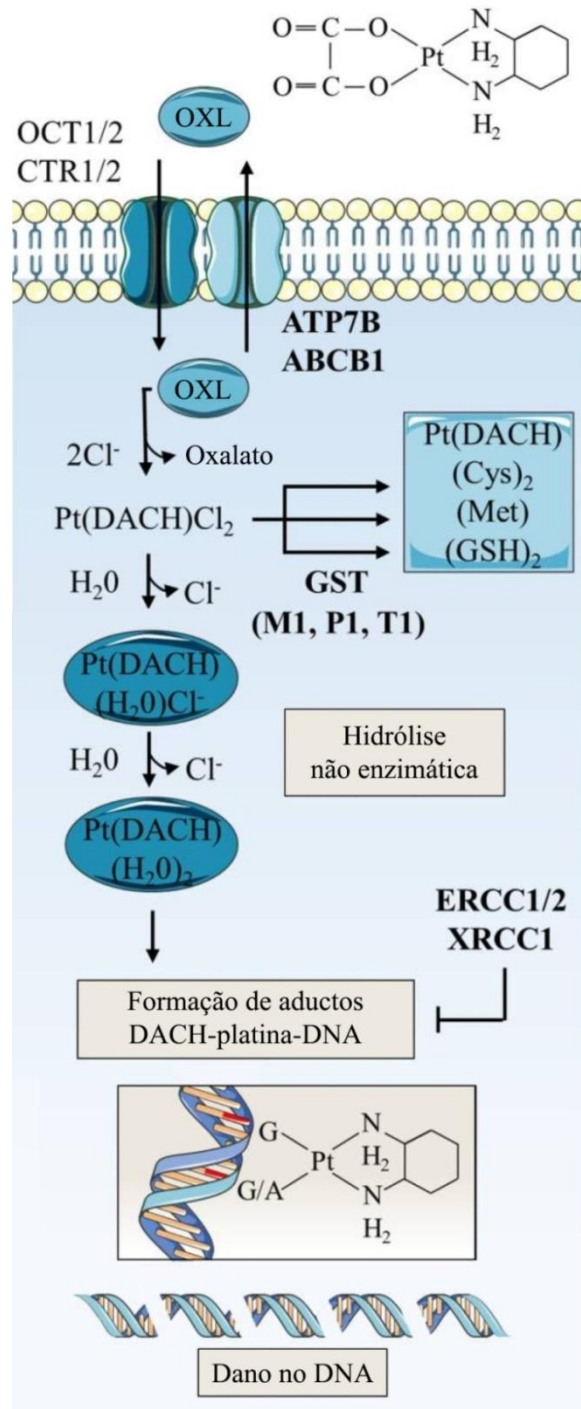
Fonte: Instituto Nacional do Câncer (INCA) – Estimativa 2020: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro, 2019. *Números arredondados para múltiplos de 10

Para o tratamento oncológico baseado em oxaliplatina, existem diversos regimes terapêuticos, como FOLFOX/FLOX (5-fluorouracil, leucovorin e oxaliplatina), FOLFOX + bevacizumabe, FOLFOXIRI (5-fluorouracil, leucovorin, oxaliplatina e irinotecano), XELOX (capecitabina e oxaliplatina) e IROX (irinotecano e oxaliplatina) (ABDEL-RAHMAN, 2014; CERCEK et al., 2018; PATHAK et al., 2018; STEIN; ARNOLD, 2012).

A inclusão da oxaliplatina ou do irinotecano nos regimes terapêuticos com 5-fluorouracil e leucovorin tem aumentado de forma considerável a expectativa de vida de pacientes acometidos pelo câncer colorretal de 6 meses para cerca de 20 meses (GOLDBERG et al., 2004; HURWITZ, 2003; VAN CUTSEM; VERSLYPE; DEMEDTS, 2002). Além disso, ensaios clínicos randomizados mostraram que a incorporação da oxaliplatina nos regimes FOLFIRI (5-fluorouracil, leucovorin e irinotecano) ou FOLFIRI + bevacizumabe pode aumentar a expectativa de vida do paciente com câncer colorretal metastático de 16,7 para 22,6 meses ou de 25,8 para 29,8 meses, respectivamente (CREMOLINI et al., 2015).

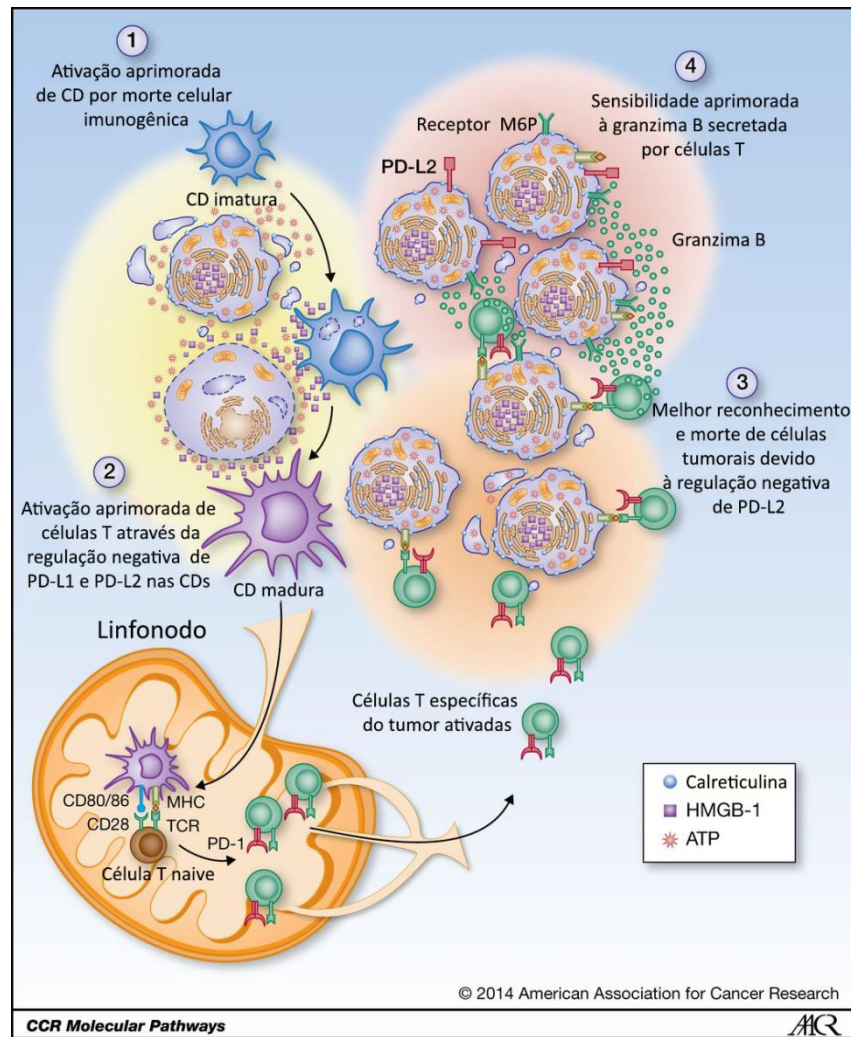
A oxaliplatina desempenha seu efeito citotóxico principalmente por danos ao DNA, formando aductos de DNA. A oxaliplatina pode causar a apoptose de células cancerosas através da formação de lesão no DNA, interrupção da síntese do DNA, inibição da síntese do RNA, além do desencadeamento de reações imunológicas, provocando morte imunogênica de células cancerígenas (FIGURAS 3 e 4) (ALCINDOR; BEAUGER, 2011).

Figura 3 – Mecanismo de ação citotóxica da oxaliplatina



Fonte: adaptada de Very; Lefebvre; El Yazidi-Belkoura (2018). A figura representa o mecanismo de ação citotóxica da oxaliplatina. CTR: transportador de cobre; Cys: Cisteína; DACH: Diaminociclohexano; DNA: Ácido desoxirribonucleico; GSH: Glutationa; GST: Glutationa S-transferase; Met: Metionina; OCT: transportador de cátion orgânico; OXL: Oxaliplatina; Pt: Platina.

Figura 4 – Mecanismo de ação de morte imunogênica da oxaliplatina



Fonte: adaptada de Hato et al. (2014). A figura representa o mecanismo de ação de morte celular imunogênica da oxaliplatina. ATP: Adenosina trifosfato; CD: Célula dendrítica; HMGB-1: Box 1 do grupo de alta mobilidade; M6P: Manose-6-fosfato; MHC: Complexo principal de histocompatibilidade; PD-1: Morte programada 1; TCR: Receptor de antígeno de célula T.

Após 2h da administração da oxaliplatina, 40% da platina no sangue estão ligados irreversivelmente aos glóbulos vermelhos. Em torno de metade da platina restante está ligada às proteínas plasmáticas e a outra metade é ultrafiltrável (JERREMALM; WALLIN; EHRSSON, 2009). A oxaliplatina sofre uma transformação não enzimática, no plasma, com consequentemente deslocamento do grupo de saída oxalato e formação de compostos intermediários (STEIN; ARNOLD, 2012). A meia vida curta inicial da platina no ultrafiltrado plasmático possivelmente representa a rápida depuração da oxaliplatina inalterada e dos intermediários reativos de platina, como dicloro, monocloro e diaquo-DACH, nos tecidos e/ou retirada da circulação sistêmica por filtração glomerular (GRAHAM et al., 2000). A excreção renal é a principal forma de eliminação dos produtos de biotransformação da oxaliplatina

(GROTHEY; GOLDBERG, 2004) e a excreção biliar representa uma menor via de eliminação da oxaliplatina (LÉVI et al., 2000).

Os principais compostos platinos utilizados na quimioterapia do câncer possuem diferentes perfis de toxicidades limitantes da dose, como a nefrotoxicidade, para cisplatina, mielossupressão, para carboplatina, e neurotoxicidade, para oxaliplatina (OUN; MOUSSA; WHEATE, 2018). Além da neurotoxicidade, expressa como uma neuropatia sensitiva periférica (NSP), os pacientes em tratamento com regimes baseados em oxaliplatina apresentam diversos efeitos colaterais como toxicidade gastrointestinal, caracterizada por náuseas, vômitos e diarreia, toxicidade hematológica moderada, nefrotoxicidade e ototoxicidade menor que a cisplatina, reações de hipersensibilidade (ALCINDOR; BEAUGER, 2011; OUN; MOUSSA; WHEATE, 2018; TOKI; SAIF; SYRIGOS, 2014; TRAN et al., 2015; VIETOR; GEORGE, 2012). Dessa forma, dentre os diversos efeitos, a neurotoxicidade é apontada como o principal efeito colateral da oxaliplatina, sendo mais agressivo e de difícil prevenção e tratamento.

2.1.1 Neurotoxicidade da Oxaliplatina

A neurotoxicidade da oxaliplatina é caracterizada por uma NSP e representa uma das principais causas de redução da dose e interrupção do tratamento, prejudicando a capacidade do paciente de realizar atividades diárias e diminuindo a sua qualidade de vida (DROTT et al., 2019). A NSP da oxaliplatina possui características únicas de apresentação clínica, podendo se manifestar de duas formas distintas: a aguda, que aparece logo após a injeção da oxaliplatina e, normalmente, é transitória, e a crônica, dose cumulativa, que pode permanecer mesmo após o término do tratamento antineoplásico (DROTT et al., 2019). Assim, essas duas formas de apresentação da NSP provocada pela oxaliplatina são diferentes quanto ao tempo, cronicidade e perfil de sintomas (PULVERS; MARX, 2017).

A forma aguda dessa NSP pode acometer até 90% dos pacientes submetidos aos regimes de tratamento baseado em oxaliplatina em uma dose variando de 85 a 130 mg/m² e, em torno de 22% desses pacientes, pode ocorrer a necessidade de prolongar o tempo de infusão da oxaliplatina ou descontinuar o tratamento por causa dos sintomas agudos (ARGYRIOU, 2015). O desenvolvimento dessa neuropatia aguda pode ser desencadeado e exacerbado pela exposição ao frio (ARGYRIOU, 2015). Os pacientes acometidos pela forma aguda apresentam sintomas, como parestesias (sensações anormais não desagradáveis, espontâneas ou evocadas) e disestesias (sensações anormais desagradáveis, espontâneas ou

evocadas) nas regiões perioral, faríngea e laríngea e em membros distais, respiração e deglutição anormal e espasmos musculares (ARGYRIOU, 2015; NETO et al., 2009; STAFF et al., 2019). Além disso, a neurotoxicidade aguda da oxaliplatina pode estar associada ao desenvolvimento da neuropatia periférica crônica (STAFF et al., 2019; TANISHIMA et al., 2017; VELASCO et al., 2014).

A forma crônica da NSP induzida pela oxaliplatina pode atingir até 75% dos pacientes, podendo ocorrer sintomas sensoriais distais, como parestesias e disestesias de duração prolongada, além de ataxia sensorial, ocorrendo em nível suficiente para causar comprometimento funcional em torno de 15% dos pacientes que receberam uma dose cumulativa de 780 a 850 mg/m² (ALEJANDRO et al., 2013; ARGYRIOU, 2015; GROTHEY, 2003; PULVERS; MARX, 2017; STAFF et al., 2019). Esses sintomas, que não são associados à exposição ao frio, podem prejudicar as atividades diárias do paciente, como abotoar roupas, escrever e manusear objetos (GROTHEY, 2003). Adicionalmente, essa condição crônica pode ser parcialmente reversível em cerca de 80% dos pacientes e totalmente reversível em torno de 40% deles em 6 a 8 meses após o término ou interrupção do tratamento quimioterápico, no entanto existem relatos na literatura mostrando que essa neuropatia periférica crônica pode permanecer por 5 a 6 anos em quase 35% dos pacientes após o término da administração da oxaliplatina (ARGYRIOU et al., 2012).

A avaliação do desenvolvimento da NSP induzida pela oxaliplatina é realizada através dos Critérios de Terminologia Comum para Eventos Adversos do Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos da América (NCI-CTCAE) (TABELA 1) (EL-FATATRY et al., 2018; HOFF et al., 2012) e da Escala de Neurotoxicidade Específica da Oxaliplatina (OSNS) (PARK et al., 2009) (TABELA 2).

Tabela 1 - Critérios de Terminologia Comum para Eventos Adversos do Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos da América versão 4.0

NCI-CTCAE versão 4.0	
Grau 1	Assintomático; perda de reflexos tendinosos profundos ou parestesia
Grau 2	Sintomas moderados; limitação das atividades instrumentais da vida diária
Grau 3	Sintomas graves; limitação das atividades de autocuidado da vida diária
Grau 4	Consequências com risco de vida; intervenção urgente indicada
Grau 5	Morte

Fonte: El-Fatatry *et al.* (2018); Hoff *et al.* (2012).

Tabela 2 – Escala de Neurotoxicidade Específica da Oxaliplatina

Escala de Neurotoxicidade Específica da Oxaliplatina	
Grau 1	Disestesia ou parestesia com completa regressão antes do próximo ciclo de terapia
Grau 2	Disestesia ou parestesia que persistem entre os cursos da terapia
Grau 3	Disestesia ou parestesia que provocam comprometimento funcional

Fonte: Park et al. (2009).

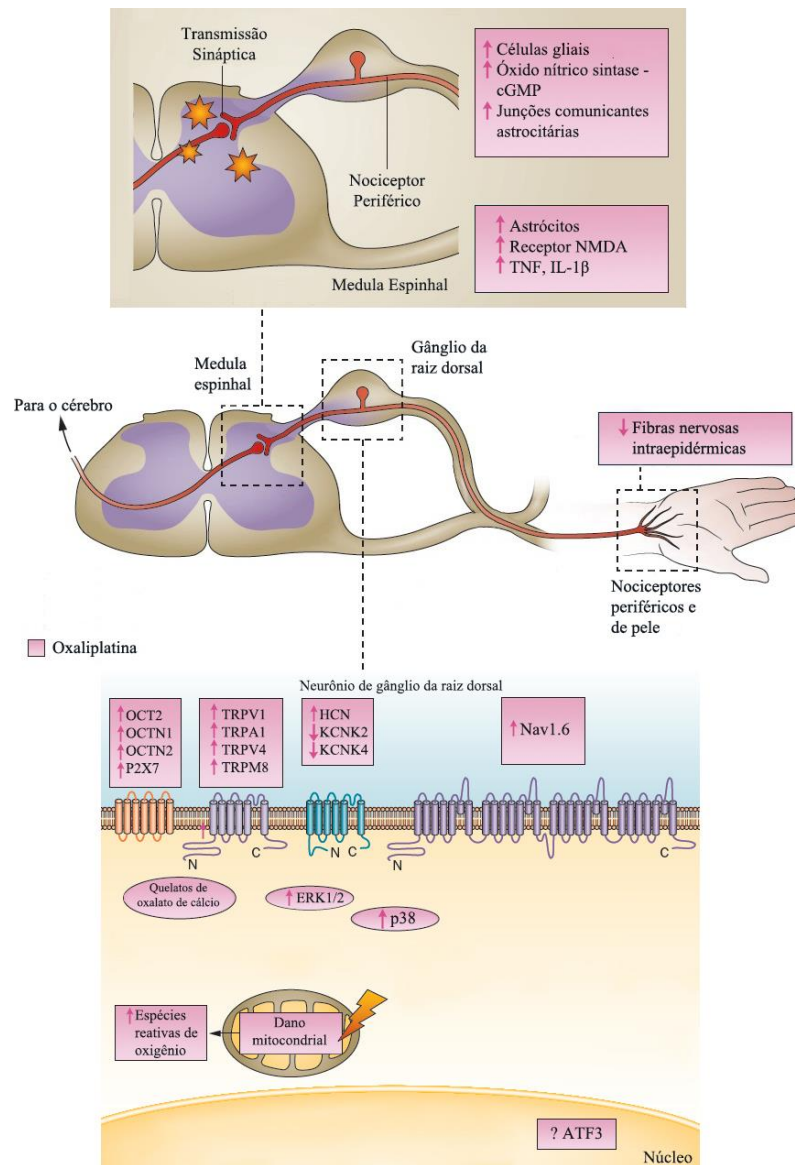
Recentemente, além dos critérios de avaliação já utilizados, alguns trabalhos sugerem meios para uma avaliação quantitativa da neurotoxicidade da oxaliplatina, como o estudo de Godinho (2018) que utilizou o von Frey eletrônico para realizar a aferição do limiar mecânico da dor na palma da mão e planta do pé de pacientes submetidos ao regime de tratamento antineoplásico baseado em oxaliplatina (FLOX). Outro trabalho de Velasco et al. (2015) sugere a realização do teste sensorial quantitativo térmico, utilizando o equipamento analisador sensorial térmico computadorizado, para avaliar a disfunção de fibras sensoriais periféricas pequenas que pode aparecer precocemente durante o tratamento com oxaliplatina. Além disso, um estudo de Matsuoka et al. (2016) propõe a medição da amplitude do potencial de ação do nervo sensorial e da velocidade de condução do nervo sural, através de um dispositivo portátil e automatizado, para avaliar a gravidade da neurotoxicidade periférica induzida por quimioterapia, incluindo a induzida pela oxaliplatina.

Os mecanismos envolvidos no desenvolvimento da neurotoxicidade provocada pela oxaliplatina são investigados por muitos pesquisadores, objetivando a busca de abordagens terapêuticas para o manejo adequado dessa condição (FIGURA 5) (JAGGI; SINGH, 2012; SISIGNANO et al., 2014). Um dos possíveis mecanismos envolvidos na neurotoxicidade da oxaliplatina é o acúmulo do composto platino e de seus metabólitos e a formação de aductos de DNA-platina em neurônios de gânglios da raiz dorsal, sendo esse mecanismo, provavelmente, o maior responsável pelo início da neurotoxicidade observada com o tratamento antineoplásico baseado em oxaliplatina (KANAT; ERTAS; CANER, 2017; ZAJACZKOWSKA et al., 2019).

Além disso, a ausência da barreira hematoencefálica e a presença de uma rede capilar fenestrada abundante no gânglio da raiz dorsal permitem o acúmulo da oxaliplatina e de seus metabólitos, facilitando o acesso aos neurônios sensoriais (KANAT; ERTAS; CANER, 2017). Fujita et al. (2019) indicam que alguns transportadores, como OCTN1 (novo transportador de cátion orgânico) e MATE1 (extrusão multidroga e compostos tóxicos), estão

envolvidos no acúmulo de platina no gânglio da raiz dorsal, contribuindo, desse modo, com a NSP da oxaliplatina. A captação de compostos de platina no gânglio da raiz dorsal pode ser facilitada por outros dois transportadores presentes na membrana neuronal, como o CTR1 (transportador de cobre) e o OCT2 (transportador de cátion orgânico) (KANAT; ERTAS; CANER, 2017; SPROWL et al., 2013).

Figura 5 – Mecanismos envolvidos na neurotoxicidade provocada por oxaliplatina



Fonte: Pereira (2015) adaptada de Sisignano et al. (2014). ATF: Fator de transcrição de ativação; cGMP: Guanosina monofosfato cíclica; ERK: Sinal extracelular regulado por quinase; HCN: Canal ativado por hiperpolarização; IL: interleucina; KCNK: Canal de potássio, subfamília K; Nav: Canal de sódio dependente de voltagem; NMDA: N-metil-D-aspartato; OCT: Transportador de cátion orgânico; OCTN: Novo transportador de cátion orgânico; P2X7: Receptor purinérgico P2X7; TRPA: Receptor de potencial transitório Ankyrin; TRPM: Receptor de potencial transitório melastatina; TRPV: Receptor de potencial transitório vaniloide.

O acúmulo de oxaliplatina e de seus metabólitos e a formação de aductos de DNA-platina também podem ocorrer, provavelmente, no gânglio trigeminal (ZAJACZKOWSKA et al., 2019). A oxaliplatina pode, inclusive, aumentar a excitabilidade de neurônios nociceptivos e, conseqüentemente, provocar dor na região orofacial (VIATCHENKO-KARPINSKI; LING; GU, 2018). Esse antineoplásico pode levar a uma regulação negativa dos canais Kv4.3 em neurônios do gânglio trigeminal que inervam regiões orofaciais de ratos tratados com oxaliplatina, sendo essas alterações acompanhadas pelo aumento da excitabilidade neuronal (VIATCHENKO-KARPINSKI; LING; GU, 2018).

Os canais de Na^+ exercem um importante papel no desenvolvimento da neurotoxicidade ocasionada pelo tratamento com oxaliplatina (CAROZZI; CANTA; CHIORAZZI, 2015). A oxaliplatina mostra um efeito inibitório tipo tetrodotoxina nos canais de Na^+ dependentes de voltagem no neurônio. Esse quimioterápico retarda a inativação dos canais de Na^+ , reduz o pico de corrente de Na^+ e, conseqüentemente, aumenta a duração do período refratário relativo dos neurônios sensoriais (KANAT; ERTAS; CANER, 2017). Além disso, a oxaliplatina pode provocar uma disfunção de Nav1.6 e, desse modo, desempenhar um papel no desenvolvimento da alodínia ao frio (KANAT; ERTAS; CANER, 2017).

Sabe-se que, na etiologia da dor e neuropatia, a sobrecarga de íons cálcio (Ca^{2+}) desempenha um importante papel, de modo que os íons Ca^{2+} entram nas células de diversas formas, incluindo através de canais catiônicos (NAZIROĞLU; BRAIDY, 2017). Canais de cálcio, mais especificamente os representados pela superfamília dos receptores de potencial transitório (TRPs), podem ter participação na dor neuropática induzida pela quimioterapia do câncer, como a causada pela oxaliplatina, considerando os altos níveis de expressão desses canais em gânglios da raiz dorsal, como TRPV1, TRPA1 e TRPV4, que são canais permeáveis ao Ca^{2+} e sensíveis ao estresse oxidativo (NAZIROĞLU; BRAIDY, 2017). TRPA1, TRPV1 e TRPM8, expressos em neurônios sensoriais primários no gânglio da raiz dorsal, podem ter um papel fundamental na hipersensibilidade a estímulos térmicos e mecânicos no decorrer da inflamação e do dano do nervo periférico provocados por fármacos antineoplásicos, como oxaliplatina, paclitaxel e vincristina (CHUKYO et al., 2018).

A disfunção mitocondrial participa de vários distúrbios, incluindo as neuropatias periféricas induzidas pela quimioterapia do câncer (CANTA; POZZI; CAROZZI, 2015; WASEEM et al., 2017). O comprometimento da função fisiológica mitocondrial pode causar a diminuição do metabolismo celular, o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio e o estresse oxidativo, provocando danos a enzimas, proteínas e lipídios e, por conseguinte, alterações estruturais em nervos periféricos (ZAJACZKOWSKA et al., 2019). Um trabalho de

Imai et al. (2017) mostrou que a oxaliplatina causa disfunção mitocondrial em células de Schwann cultivadas.

Em condições de estresse oxidativo, ocorre o aumento da biossíntese celular da óxido nítrico sintase induzível (iNOS) (OBAIDUL ISLAM; BACCHETTI; FERRETTI, 2019). O aumento da expressão de iNOS foi mostrado no corno dorsal da medula espinhal de camundongos que receberam injeções de oxaliplatina em um modelo experimental de NSP (AZEVEDO et al., 2013). O aumento da expressão de iNOS também foi observado em neurônios de gânglios da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP da oxaliplatina (PEREIRA et al., 2018).

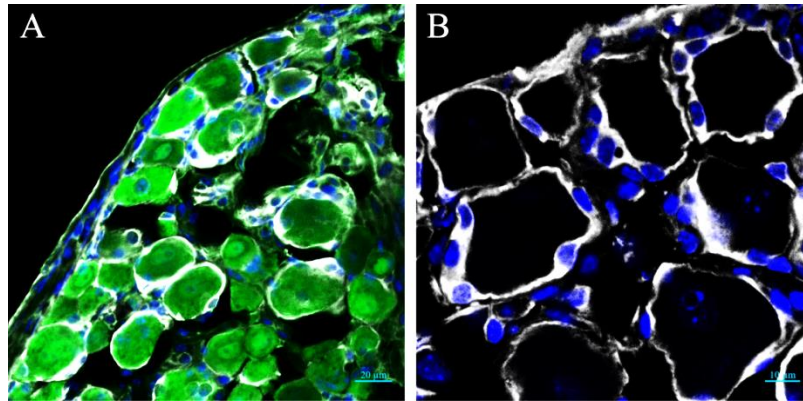
Diversos estudos sugerem que as células da glia contribuem para a NSP induzida pela oxaliplatina (DI CESARE MANNELLI et al., 2013, 2014, 2015; KANAT; ERTAS; CANER, 2017; YOON et al., 2013; ZAJACZKOWSKA et al., 2019). A administração de oxaliplatina em ratos ocasiona o aumento tanto do número de células gliais expressando Iba-1 (marcador de microglia) quanto de células expressando GFAP (marcador de astrócitos) no corno dorsal da medula espinhal, sendo sugerido que a microglia pode ter uma participação no início da dor neuropática e; os astrócitos, na manutenção dessa dor (DI CESARE MANNELLI et al., 2013, 2014). Foi observada ainda a presença de ativação de células gliais em regiões cerebrais, como tálamo e substância cinzenta periaquedutal ventrolateral (VLPAG), de ratos submetidos à neuropatia da oxaliplatina (DI CESARE MANNELLI et al., 2013).

Alguns trabalhos também sugerem a participação das células satélites gliais na neurotoxicidade causada pela oxaliplatina (DI CESARE MANNELLI et al., 2013; PEREIRA et al., 2018; WARWICK; HANANI, 2013). Essas células especializadas estão presentes em gânglios sensoriais e autonômicos no sistema nervoso periférico e circundam os corpos celulares neuronais, formando um firme envelope ao redor deles (FIGURA 6) (HANANI, 2010). Um estudo de Warwick e Hanani (2013) propõe que a injeção de oxaliplatina em camundongos pode provocar a ativação de células satélites gliais. Além disso, Pereira et al. (2018) mostraram a expressão de c-Fos em células satélites gliais nos estágios iniciais do tratamento com oxaliplatina, indicando a participação dessas células no desenvolvimento precoce da NSP induzida por esse quimioterápico.

Recentemente, Pontes et al. (2019) mostraram que a sinalização da endotelina parece desempenhar um importante papel no desenvolvimento e manutenção da neurotoxicidade da oxaliplatina. Este trabalho observou o aumento da expressão dos receptores de endotelina, ET_A, no gânglio da raiz dorsal e no corno dorsal da medula espinhal, e ET_B, no gânglio da raiz dorsal. A injeção do antagonista não seletivo dos receptores de endotelina, bosentana, e dos

antagonistas seletivos, BQ-123 e BQ-788, para ET_A e ET_B, respectivamente, preveniu parcialmente o comportamento nociceptivo dos animais submetidos à neuropatia ocasionada pela oxaliplatina, indicando, assim, uma participação desses receptores nessa condição (PONTES et al., 2019).

Figura 6 – Células satélites gliais em gânglio da raiz dorsal de camundongo



Fonte: elaborado pelo autor. As células satélites gliais, em branco, estão marcadas com glutamina sintetase. Verde: NeuN (marcador neuronal); azul: DAPI (marcador nuclear). (A) Aumento: 400 x. Escala: 20 μ m. (B) Aumento: 630 x. Escala: 10 μ m.

Alguns trabalhos sugerem a isoforma gama dos receptores ativados por proliferadores de peroxissomos (PPAR γ) como possível alvo terapêutico na dor neuropática, incluindo a provocada pela quimioterapia do câncer, de modo que os efeitos dos agonistas de PPAR γ têm sido explorados com o objetivo de um possível controle dessa dor (KHASABOVA et al., 2019; OKINE; GASPAR; FINN, 2019; QUINTÃO et al., 2019; ZANARDELLI et al., 2014). PPAR γ é expresso em tecido adiposo, intestino grosso, baço e neutrófilos, porém foi descrita a sua presença também no córtex, medula espinhal, microglia e astrócitos. Esse receptor nuclear desempenha um importante papel no balanço energético, na biossíntese de lipídios e na adipogênese (QUINTÃO et al., 2019). Um trabalho de Zanardelli et al. (2014) mostrou que administração de rosiglitazona, um agonista de PPAR γ , reduz a dor neuropática provocada por estímulos nocivos e não nocivos em um modelo de neuropatia induzida pela oxaliplatina em ratos.

A participação de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas também é estudada na neuropatia periférica induzida pelo agente antineoplásico oxaliplatina (ILLIAS et al., 2018; WANG et al., 2017; XU et al., 2018; ZAJACZKOWSKA et al., 2019). Foi mostrado que uma única injeção de oxaliplatina é capaz de aumentar as citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-6 e TNF- α e a expressão de seus receptores na substância cinzenta periaquedutal (PAG) de ratos e

que essa regulação positiva, provavelmente, prejudica as vias inibitórias descendentes na regulação da transmissão da dor e, desse modo, contribui para o desenvolvimento da dor neuropática após a administração de oxaliplatina (XU et al., 2018).

Sabe-se que a barreira hematoencefálica é imprescindível para impedir o acesso de fármacos, inclusive a oxaliplatina, ao sistema nervoso central (BRANCA et al., 2018; ZAJACZKOWSKA et al., 2019). Um recente trabalho de Branca et al. (2018) mostrou que a oxaliplatina causa mudanças consideráveis no aparato juncional e citoesquelético de uma linhagem de células endoteliais de cérebro de rato, causando, provavelmente, um afrouxamento. Essas alterações causadas pela oxaliplatina podem estar relacionadas a uma maior distribuição de moléculas, que atravessam uma barreira hematoencefálica defeituosa e atuam no sistema nervoso central, o que pode cooperar com a cronicidade da dor (BRANCA et al., 2018).

Diversas abordagens terapêuticas são utilizadas para o tratamento da dor neuropática, contudo os agentes farmacológicos disponíveis não são completamente eficazes na redução dos sintomas. Um tratamento adequado deve promover neuroproteção e alívio dos sintomas, além de não interferir no efeito antitumoral dos agentes antineoplásicos (STAROBOVA; VETTER, 2017). As estratégias terapêuticas utilizadas na dor neuropática provocada pela quimioterapia do câncer incluem anticonvulsivantes (pregabalina, gabapentina, carbamazepina, oxcarbazepina), antidepressivos (amitriptilina, nortriptilina, venlafaxina, duloxetina), infusões de cálcio e magnésio, vitamina E, glutamina, N-acetilcisteína, glutatona e lidocaína tópica (KANAT; ERTAS; CANER, 2017; PICCOLO; KOLESAR, 2014; STAROBOVA; VETTER, 2017).

Recentemente, tem sido investigado o efeito de análogos do delta-9-tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) no tratamento das dores neuropáticas, inclusive com estudos voltados à neuropatia associada à quimioterapia do câncer, mostrando-se um campo promissor na terapêutica dessa condição (BLANTON et al., 2019; BRINDISI et al., 2016, 2018; CURRY et al., 2018; HARRIS et al., 2016; KING et al., 2017; MASOCHA, 2018; WARD et al., 2014).

2.2 Sistema endocanabinoide

A planta *Cannabis sativa*, conhecida como maconha, marijuana, entre outros nomes, tem sido utilizada para fins terapêuticos ao longo da história da humanidade (HILLARD, 2015; ZOU; KUMAR, 2018). O primeiro registro de uso medicinal da *Cannabis sativa* foi

atribuído à China antiga há cerca de 5000 anos, onde extratos dessa planta eram utilizados para o alívio de cólicas e dores (ZOU; KUMAR, 2018). Os usos dessa planta como antinociceptivo, anti-inflamatório, anticonvulsivante e antiemético têm sido documentados, contudo, devido aos seus efeitos psicoativos, há uma limitação quanto a sua aplicabilidade médica (WOODHAMS et al., 2015; ZOU; KUMAR, 2018).

Na *Cannabis sativa*, são encontrados compostos de ocorrência natural chamados canabinoides (BASAVARAJAPPA et al., 2017). Existem em torno de 70 canabinoides identificados, como Δ^9 -THC, principal constituinte psicoativo encontrado nessa planta, canabidiol, canabinol, canabigerol, canabicromeno, tetra-hidrocanabivarina (ANDRE; HAUSMAN; GUERRIERO, 2016; BASAVARAJAPPA et al., 2017; PELLATI et al., 2018; ZOU; KUMAR, 2018). O Δ^9 -THC, isolado e identificado por Gaoni e Mechoulam (1964), induz os seus efeitos psicoativos através da ligação a receptores na membrana celular, chamados receptores canabinoides, que são encontrados tanto no sistema nervoso central quanto no periférico e são classificados como receptores canabinoides tipo 1 e 2 (BASAVARAJAPPA et al., 2017).

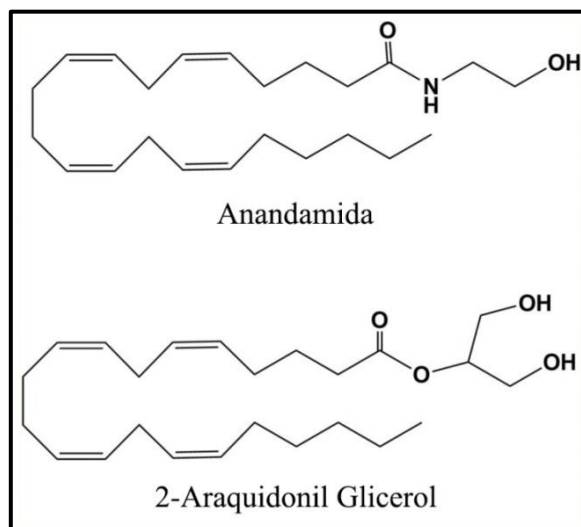
A descoberta do Δ^9 -THC foi um marco que levou à identificação do sistema endocanabinoide, que modula várias regiões cerebrais, contribuindo, desse modo, para muitas funções do sistema nervoso central (HILLARD, 2015). Assim, vários análogos canabinoides foram sintetizados e suas atividades farmacológicas foram investigadas para o tratamento de diversas doenças, contudo, para evitar problemas de saúde e de abuso com esses novos compostos sintetizados, é necessário um monitoramento contínuo (UCHIYAMA et al., 2009).

Os constituintes canabinoides presentes na *Cannabis sativa* mais extensamente estudados são o Δ^9 -THC e o canabidiol (FREEMAN et al., 2019). Existem diversos produtos canabinoides para uso medicinal, que diferem quanto ao perfil de Δ^9 -THC/canabidiol, formulação, indicações licenciadas e condições para prescrição (FREEMAN et al., 2019). Dronabinol e nabilona, por exemplo, são licenciados em alguns países, como EUA, Holanda, Alemanha, Áustria e Croácia, para o tratamento de perda de peso em pacientes com AIDS e de náuseas e vômitos em pacientes submetidos à terapia antineoplásica, que não respondem aos antieméticos convencionais (FREEMAN et al., 2019). Outro produto, chamado Sativex, é um spray de uso oral contendo Δ^9 -THC e canabidiol na proporção de 1:1, sendo autorizado em diversos países para o tratamento da espasticidade na esclerose múltipla (FREEMAN et al., 2019). O Epidiolex, solução oral de canabidiol, foi licenciado pelo FDA (EUA) em 2018 para o tratamento de convulsões em duas formas raras e graves de epilepsia infantil (síndrome de Lennox-Gaustat e síndrome de Dravet) (FREEMAN et al., 2019).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (2015) retirou o canabidiol (CBD) da lista de substâncias proibidas, passando essa substância a ser controlada e a fazer parte da lista C1 da Portaria 344/98, que regula e define os controles e proibições de substâncias no país. Além disso, recentemente, a ANVISA (2019) aprovou o texto da regulamentação que tem como propósito definir as exigências necessárias para regularização de produtos derivados da *Cannabis sativa* no Brasil, sendo publicada, no Diário Oficial da União, a RDC 327/2019.

O sistema endocanabinoide é composto pelos receptores canabinoides CB1 e CB2, ligantes endógenos (endocanabinoides) e enzimas e processos responsáveis pela síntese, captação celular ou metabolismo desses ligantes endocanabinoides (PERTWEE, 2015; WOODHAMS et al., 2015). A determinação e caracterização do receptor canabinoide 1 por Devane et al. (1988) acarretou a descoberta do seu primeiro ligante endógeno, N-araquidonil etanolamina (anandamida, AEA) por Devane et al. (1992). Posteriormente, foi descoberto um segundo ligante endógeno, 2-araquidonil glicerol (2-AG) (MECHOULAM et al., 1995; SUGIURA et al., 1995). Os endocanabinoides (AEA e 2-AG), que são derivados do ácido araquidônico, atuam nos receptores canabinoides, obtendo, assim, suas atividades biológicas (FIGURA 7) (BASAVARAJAPPA et al., 2017). Esses ligantes endógenos são lipofílicos e sintetizados de acordo com a demanda a partir de fosfolipídios da membrana, podendo ser difundidos pelas membranas celulares sem armazenamento em vesículas (BASAVARAJAPPA et al., 2017).

Figura 7 – Canabinoides endógenos



Fonte: adaptada de Basavarajappa et al. (2017). A figura representa as estruturas químicas dos endocanabinoides anandamida e 2-araquidonil glicerol.

Os endocanabinoides possuem afinidades distintas pelos receptores canabinoides, enquanto o AEA é caracterizado como um agonista parcial do receptor canabinoide 1 e quase inativo para o receptor canabinoide 2, o 2-AG atua como um agonista pleno nos dois receptores, possuindo afinidade considerada baixa a moderada (ZOU; KUMAR, 2018). Além de ligar aos receptores canabinoides, o AEA é um agonista de TRPV1, que é amplamente expresso no sistema nervoso central, e de PPARs, particularmente PPAR α (HILLARD, 2015). Esses ligantes endógenos regulam várias situações fisiológicas e patológicas, como regulação da ingestão de alimentos, imunomodulação, inflamação, analgesia, câncer, comportamento aditivo, epilepsia (GUINDON; HOHMANN, 2009).

As enzimas envolvidas na síntese dos endocanabinoides são a N-acilfosfatidiletanolamina fosfolipase D e a diacilglicerol lipase α e as enzimas que participam da degradação são a amida hidrolase de ácidos graxos (FAAH) e monoacilglicerol lipase (MAGL) (WOODHAMS et al., 2017), podendo ser degradados por hidrólise e/ou oxidação (ZOU; KUMAR, 2018). O AEA é degradado pela FAAH em ácido araquidônico e etanolamina e o 2-AG é hidrolisado pela MAGL em ácido araquidônico e glicerol, já a oxidação dos endocanabinoides envolve a ciclooxigenase 2 e várias lipoxigenases (ZOU; KUMAR, 2018).

O sistema endocanabinoide é conhecido pelo seu papel na neuromodulação (VELASCO; SÁNCHEZ; GUZMÁN, 2012). Após neurotransmissores se ligarem aos seus receptores, os neurônios pós-sinápticos produzem precursores dos endocanabinoides ligados à membrana, ocorrendo, posteriormente, a clivagem desses precursores e, por conseguinte, a liberação de canabinoides endógenos (VELASCO; SÁNCHEZ; GUZMÁN, 2012). Normalmente, isso é provocado pelo aumento da concentração de Ca²⁺ livre no citosol (VELASCO; SÁNCHEZ; GUZMÁN, 2012). Os endocanabinoides, depois de serem liberados do neurônio pós-sináptico, atuam como mensageiros retrógrados, pois se ligam a receptores canabinoides CB1 no neurônio pré-sináptico, sendo acoplados à inibição do influxo de Ca²⁺ na célula e ao bloqueio da liberação de neurotransmissores (VELASCO; SÁNCHEZ; GUZMÁN, 2012). Dessa forma, a sinalização retrógrada observada com os canabinoides endógenos proporciona um mecanismo de “feedback” inibitório para a regulação da liberação de neurotransmissores no cérebro (BASAVARAJAPPA et al., 2017).

Os canabinoides endógenos, além de moduladores da transmissão pós-sináptica, agem como mensageiros de sinalização retrógrada em sinapses GABAérgicas e glutamatérgicas, que interagem com outros neurotransmissores, como norepinefrina e dopamina (ZOGOPOULOS et al., 2013a, 2013b). Além disso, na presença de estímulos fisiológicos e de

situações patológicas, podem ocorrer aumentos diferenciais dos endocanabinoides no cérebro, regulando variadas funções biológicas (ZOGOPOULOS et al., 2013a, 2013b). Os canabinoides endógenos, por exemplo, modulam as funções de células neuronais, gliais e endoteliais, executando efeitos neuromoduladores, antiexcitotóxicos, anti-inflamatórios e vasodilatadores (ZOGOPOULOS et al., 2013a, 2013b). Os endocanabinoides retirados do meio extracelular são transportados por um sistema de transporte por difusão facilitada ou captação através de um transportador associado à membrana e difusão simples (ZOGOPOULOS et al., 2013b). Dessa forma, para finalizar as funções de sinalização dos canabinoides endógenos, ocorre captação celular e inativação hidrolítica catalisada por enzima (ZOGOPOULOS et al., 2013b).

Existem diversos mecanismos pelos quais os endocanabinoides medeiam neuroproteção, como produção do fator de crescimento de fibroblasto básico (bFGF) e fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), inibição de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , TNF- α , IL-6) e da cicloxigenase 2 (COX-2), liberação de citocinas anti-inflamatórias (IL-4, IL-10), inibição da óxido nítrico sintase (NOS) e NF- κ B, bloqueio da ativação microglial, redução do influxo de Ca²⁺ e atividade antioxidante (ZOGOPOULOS et al., 2013b). Assim, após lesão do sistema nervoso central, por exemplo, aumentos consideráveis da expressão de receptores canabinoides e dos níveis de endocanabinoides podem ser encontrados (SCHURMAN; LICHTMAN, 2017; ZHOU et al., 2019).

2.2.1 Receptores canabinoides

Os canabinoides, tanto os compostos endógenos quanto os exógenos, executam seus efeitos através da ativação dos receptores canabinoides, que fazem parte da superfamília dos receptores acoplados à proteína G (metabotrópicos) de sete transmembranas (GUINDON; HOHMANN, 2009). Esses receptores, identificados como receptores canabinoides CB1 e CB2, compartilham 44% de homologia de sequência ao nível de proteína, sendo que CB1 e CB2 consistem em 472 e 360 aminoácidos em humanos, respectivamente (GUINDON; HOHMANN, 2009; ZOU; KUMAR, 2018). Ambos os receptores canabinoides, quando ativados, inibem a atividade da adenilato ciclase através do acoplamento à subunidade α da proteína G da família G_{i/o}. Outro mecanismo de sinalização recrutado pelos receptores canabinoides é a ativação da expressão da proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) por meio da ativação das subunidades $\beta\gamma$ da proteína G (GUINDON; HOHMANN, 2009). Na ativação do receptor canabinoide CB1, ocorre a modulação da condutância do cálcio ou

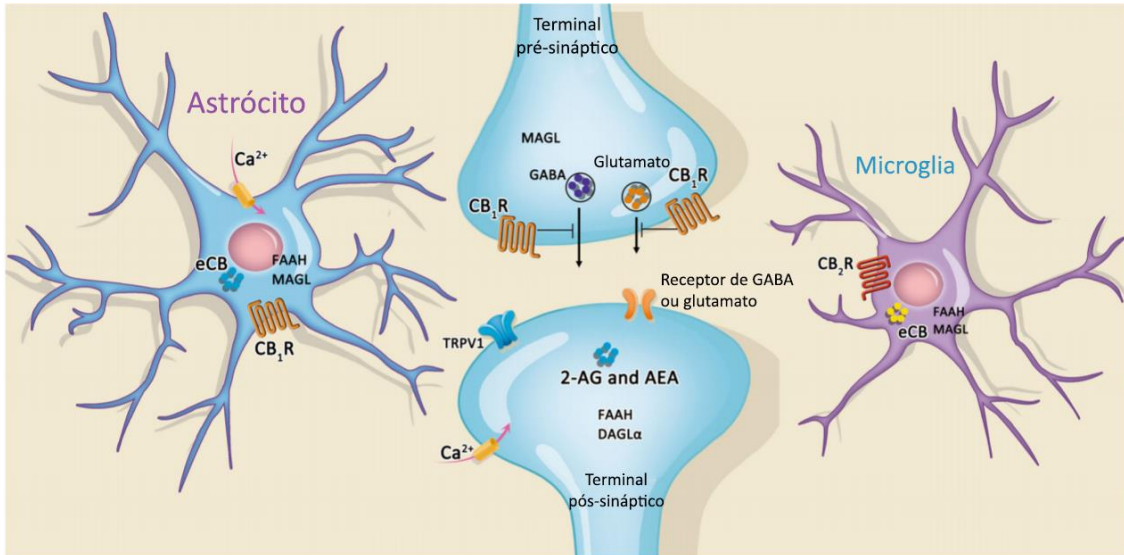
potássio, estando isso relacionado a propriedades ligadas à supressão da excitabilidade neuronal e da supressão de neurotransmissores (GUINDON; HOHMANN, 2009). Assim, a ativação ou inibição dos receptores canabinoides pode mediar várias ações fisiológicas, como antinocicepção, cognição e memória, atividade locomotora, funções endócrinas, controle de temperatura e frequência cardíaca, náuseas e vômitos, pressão intraocular, inflamação, reconhecimento imune e efeitos antitumorais (FINE; ROSENFELD, 2013).

Os receptores canabinoides CB1 estão localizados principalmente no sistema nervoso central e, em menor extensão, em tecidos periféricos, como glândula adrenal, tecido adiposo, coração, fígado, pulmão, próstata, útero, ovário, testículo, medula óssea, timo, amígdalas e terminais pré-sinápticos (GUINDON; HOHMANN, 2009; HOWLETT; ABOOD, 2017). No sistema nervoso central, a expressão dos receptores canabinoides CB1 é heterogênea (HILLARD, 2015). As regiões cerebrais com níveis altos de expressão de CB1 incluem bulbo olfativo, hipocampo, giro cingulado, núcleos da base, cerebelo, córtex frontal. Uma expressão moderada de CB1 é localizada no septo, amígdala, hipotálamo, núcleo accumbens, prosencéfalo basal, substância cinzenta periaquedutal, corno dorsal da medula espinhal. No mesencéfalo, tálamo e corno ventral da medula espinhal, é encontrada uma baixa expressão de CB1 (HILLARD, 2015; ZOU; KUMAR, 2018). Os receptores CB1 são expressos também em astrócitos, microglia e oligodendrócitos, sendo essa expressão bem menor que em neurônios (ZOU; KUMAR, 2018). Além disso, esse receptor é expresso em células endoteliais e células do músculo liso da circulação cerebral (HILLARD, 2015). No sistema nervoso periférico também foi encontrada uma abundante expressão do receptor canabinoide CB1, sendo observada essa expressão em gânglios trigeminiais, gânglios da raiz dorsal e nas terminações dos nervos dérmicos dos neurônios sensoriais primários (ZOU; KUMAR, 2018).

Os receptores canabinoides CB2 são encontrados principalmente em células do sistema imune, como mastócitos, células B, células T4 e T8, macrófagos, células “natural killer”, entre outros. Esses receptores podem ser localizados no baço, amígdalas e timo, que são tecidos responsáveis pela produção e regulação de células imunes (GUINDON; HOHMANN, 2009; HOWLETT; ABOOD, 2017). Os receptores CB2 também podem ser encontrados no miocárdio, células endoteliais coronárias humanas, células do músculo liso e fígado (ZOGOPOULOS et al., 2013a). Além disso, a presença de receptores CB2 é sugerida também no cérebro, gânglio da raiz dorsal, medula espinhal lombar, neurônios sensoriais e microglia (GUINDON; HOHMANN, 2009). Os receptores CB2 são encontrados em níveis baixos no cérebro, medula espinhal e gânglio da raiz dorsal em condições basais, entretanto esses níveis podem ser aumentados nas células microgliais, ocorrendo modulação da interação

neuroimune na inflamação e após lesão no nervo periférico (VUČKOVIC et al., 2018) (FIGURA 8).

Figura 8 – Receptores canabinoides CB1 e CB2



Fonte: adaptada de Yin; Wang; Zhang (2019). A figura representa os receptores canabinoides em neurônio, astrócito e microglia. Legenda: 2-AG: 2-araquidonil glicerol; AEA: N-araquidonil etanolamina; CB₁R: Receptor canabinoide 1; CB₂R: Receptor canabinoide 2; DAGL α : Diacilglicerol lipase α ; eCB: Endocanabinoide; FAAH: Amida hidrolase de ácidos graxos; GABA: Ácido gama-aminobutírico; MAGL: Monoacilglicerol lipase; TRPV1: Receptor de potencial transitório vaniloide 1.

2.2.2 Canabinoides e dor neuropática

A dor neuropática é determinada como uma dor causada por uma lesão ou doença do sistema somatossensorial (COLLOCA et al., 2017; JENSEN et al., 2011). Esse sistema viabiliza a percepção de toque, pressão, dor, temperatura, posição, movimento e vibração (COLLOCA et al. 2017). Os nervos somatossensoriais aparecem na pele, músculos, articulações e fáscia, incluindo termorreceptores, mecanorreceptores, quimiorreceptores, pruriceptores e nociceptores. Estes transmitem sinais para a medula espinhal e, em seguida, para os centros superiores para o processamento (COLLOCA et al. 2017). Assim, após lesões ou doenças do sistema nervoso somatossensorial, podem ocorrer transmissões alteradas e desordenadas dos sinais sensoriais levados à medula espinhal e ao cérebro (COLLOCA et al. 2017).

A dor neuropática pode aparecer em diversas condições, como neuropatia periférica diabética, neuropatias relacionadas a infecções virais (neuralgia pós-herpética, HIV, hanseníase), doenças autoimunes que afetam o sistema nervoso central (esclerose múltipla,

síndrome de Guillain–Barré), dano no sistema nervoso ocasionado por trauma (amputação, lesão da medula espinhal), neuropatia causada pela quimioterapia do câncer, neuralgia trigeminal, entre outros (CAVALLI et al., 2019; COLLOCA et al., 2017). Alguns sintomas que aparecem na dor neuropática são a alodínia (dor causa por um estímulo que normalmente não provoca dor), hiperalgesia (experiência intensificada de dor provocada por um estímulo nocivo), dores espontâneas, parestesias, entre outros, prejudicando, assim, a qualidade de vida do paciente (CAVALLI et al., 2019; COLLOCA et al., 2017; NISHIKAWA; NOMOTO, 2017).

A forma como os pacientes respondem a uma lesão neural, ao ponto de tornar-se uma dor neuropática, depende de diversos fatores, inclusive dos mecanismos supressores fisiológicos pertencentes ao sistema nociceptivo. A via descendente inibitória é uma das principais vias participantes dos mecanismos supressores da dor. Essa via tem a participação importante de estruturas do mesencéfalo, como a PAG, estruturas bulbares, como o núcleo magno da rafe, e pontinas, como o locus ceruleus, além do corno posterior da medula espinhal. Ao longo dos anos, o sistema opioide vem sendo estudado como participante dessa via descendente inibitória e, mais recentemente, o sistema endocanabinoide (CHEN; HEINRICHER, 2019; ZOGOPOULOS et al., 2013a).

As propriedades analgésicas dos canabinoides são fundamentadas no mecanismo de supressão de neurônios nociceptivos espinhais e talâmicos, porém também têm sido identificados locais de ação periféricos (ZOGOPOULOS et al., 2013a). Os efeitos analgésicos dos endocanabinoides têm sido demonstrados tanto em modelos de nocicepção aguda e crônica, quanto em modelos de inflamação e neuropatia dolorosa (ZOGOPOULOS et al., 2013a). Quando canabinoides são administrados sistemicamente, é observado que a atividade de neurônios nociceptivos tanto no corno dorsal espinhal quanto no núcleo ventroposterior lateral do tálamo é suprimida, não alterando a atividade de neurônios puramente não nociceptivos (GUINDON; HOHMANN, 2009). Adicionalmente, uma regulação positiva de receptores canabinoides é encontrada na medula espinhal após lesão nervosa, indicando, assim, uma regulação dos endocanabinoides e de seus receptores em situações de lesão (GUINDON; HOHMANN, 2009). Em um modelo de lesão por constrição crônica do nervo isquiático em ratos, foi observado o aumento dos canabinoides endógenos na substância cinzenta periaquedutal, medula ventral rostral e medula espinhal (componentes do da via descendente), sugerindo que esse aumento dos endocanabinoides tenha ocorrido, possivelmente, para uma inibição da dor (PETROSINO et al., 2007). No trabalho de Adamson Barnes et al. (2016), a administração do JZL195 (inibidor das enzimas FAAH e

MAGL que participam da degradação dos endocanabinoides) e do WIN 55, 212-2 (agonista não seletivo dos receptores canabinoides) diminuiu os comportamentos nociceptivos de alodínia mecânica e ao frio de camundongos submetidos à lesão por constrição crônica do nervo isquiático.

Provavelmente, existem diversos mecanismos subjacentes aos efeitos analgésicos observados nos canabinoides, como inibição da liberação de neurotransmissores e neuropeptídeos pré-sinápticos, modulação da excitabilidade neuronal pós-sináptica, ativação da via inibitória descendente da dor e redução da sinalização neuroinflamatória (STAROWICZ; FINN, 2017). As ações antinociceptivas desses agonistas também podem ser atribuídas a efeitos em células do sistema imune e células gliais. Além disso, a ativação de CB2 leva à liberação de β -endorfinas por queratinócitos e consequente ativação de receptores opioides μ nos neurônios sensoriais periféricos para inibir a nocicepção (ANAND et al., 2008; VUČKOVIC et al., 2018). Devido à localização dos receptores canabinoides CB1 ser principalmente no sistema nervoso central, o efeito analgésico de agonistas desses receptores acompanha efeitos colaterais psicoativos, como tontura, euforia, dependência (ANAND et al., 2008; LU; ANDERSON, 2017). Desse modo, a localização periférica dos receptores canabinoides CB2 pode promover uma vantagem terapêutica em pacientes acometidos pela dor crônica (ANAND et al., 2008).

O efeito analgésico de compostos canabinoides, tanto endógenos quanto exógenos, e de inibidores da degradação dos endocanabinoides tem sido investigado em diversos modelos experimentais de neuropatia periférica induzida por agentes antineoplásicos, como cisplatina (HARRIS et al., 2016), oxaliplatina (KING et al., 2017) e paclitaxel (CURRY et al., 2018; WARD et al. 2014), sendo obtidos resultados promissores. Em um ensaio clínico, foi avaliado o efeito analgésico do Sativex em pacientes que tiveram dor neuropática associada ao paclitaxel, vincristina ou cisplatina. Os autores concluíram que, nesse ensaio piloto, é necessário um estudo mais completo para a obtenção de resultados mais promissores (LYNCH; CESAR-RITTENBERG; HOHMANN, 2014).

Diante do potencial terapêutico dos compostos canabinoides na redução da dor, além de possível neuroproteção, vê-se a importância de estudar a participação do sistema endocanabinoide na neuromodulação da NSP induzida pelo agente antineoplásico oxaliplatina.

3 JUSTIFICATIVA

A neurotoxicidade induzida pelo tratamento antineoplásico baseado em oxaliplatina é caracterizada por uma NSP, que possui aspectos únicos de apresentação clínica, como a forma aguda e crônica, o que diferencia esse agente antitumoral dos outros fármacos platinos de primeira e segunda geração. Essa condição pode, até mesmo, limitar a dose do quimioterápico e ocasionar a interrupção do tratamento, além de comprometer a realização de atividades diárias do paciente, diminuindo, consideravelmente, a sua qualidade de vida.

Os possíveis mecanismos envolvidos na neurotoxicidade associada à oxaliplatina vêm sendo amplamente investigados por diversos estudos, inclusive do Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer (LAFICA) (AZEVEDO et al., 2013; GODINHO, 2018; PEREIRA et al., 2018, 2019; PONTES et al., 2019). O nosso grupo de pesquisa vem investigando a participação do sistema endocanabinoide em modelos experimentais de artrite da articulação temporomandibular (GONDIM et al. 2012; PAES, 2019) e de comportamento bruxismo-símile (SILVEIRA, 2015).

Existem diversos produtos canabinoides aprovados nos EUA e em alguns países da Europa para o uso terapêutico em algumas doenças. No Brasil, a ANVISA, em 2015, retirou o canabidiol da lista de substâncias proibidas e enquadrou essa substância na lista C1 da portaria 344/98 e, recentemente, em 2019, essa agência aprovou o texto da regulamentação que tem como finalidade instituir os requisitos necessários para a regularização de produtos derivados da *Cannabis sativa* (RDC 327/2019), incentivando, ainda mais, a realização de pesquisas em torno dessa substância.

A abordagem terapêutica utilizada para o manejo da NSP associada à oxaliplatina, muitas vezes, não é totalmente eficaz na redução dos sintomas. Desse modo, é fundamental entender os mecanismos envolvidos no desenvolvimento da NSP induzida pela oxaliplatina, visando à busca de tratamentos adequados para essa condição. O sistema endocanabinoide está envolvido em diversas atividades fisiológicas, como controle da dor, plasticidade sináptica, resposta inflamatória, funções motoras, regulação emocional, aprendizado e memória, entre outros (MECCARIELLO et al., 2020). Sabe-se que o sistema endocanabinoide pode modular a via nociceptiva, assim é necessário pesquisar se esse sistema influencia na patogênese da neurotoxicidade causada por esse agente antitumoral, através da utilização de moduladores farmacológicos do sistema endocanabinoide, além de investigar se o tratamento com agonistas canabinoides tem ação terapêutica nessa condição de difícil manejo.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar a participação do sistema endocanabinoide na neuromodulação da NSP experimental induzida pelo agente antineoplásico oxaliplatina.

4.2 Objetivos específicos

- Avaliar a expressão dos receptores CB1 e CB2 em estruturas da via nociceptiva espinhal e trigeminal na NSP da oxaliplatina;
- Investigar a ação do canabidiol na hiperalgesia e alodínia da NSP da oxaliplatina;
- Avaliar os possíveis efeitos canabimiméticos do canabidiol;
- Investigar a ação do agonista não seletivo dos receptores canabinoides (WIN 55, 212-2) na hiperalgesia e alodínia da NSP da oxaliplatina;
- Investigar a ação dos antagonistas seletivos dos receptores canabinoides 1 (AM251) e 2 (AM630) na hiperalgesia e alodínia da NSP da oxaliplatina;
- Avaliar a modulação farmacológica do sistema endocanabinoide sobre a expressão de c-Fos em estruturas da via nociceptiva na NSP da oxaliplatina.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Aspectos éticos e animais

Os protocolos experimentais foram realizados no LAFICA, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM), Universidade Federal do Ceará (UFC), conduzidos conforme as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFC (protocolo 41/2016) (ANEXO A).

Para a realização dos procedimentos experimentais, foram utilizados camundongos Swiss (*Mus musculus*) machos, provenientes do Biotério Central da UFC. Os animais, com massa corporal entre 25 e 30 gramas (g), foram acondicionados em gaiolas com microisoladores e temperatura controlada (22 ± 2 °C), recebendo ração padrão e água potável à vontade, e mantidos em sala silenciosa com ciclo claro/escuro de 12 horas. Neste estudo, foram realizados todos os esforços necessários para minimizar o número, sofrimento e estresse dos animais. Os camundongos foram distribuídos randomicamente em grupos experimentais (n=6 – 7) de acordo com o tratamento recebido.

5.2 Protocolos experimentais e desenho de estudo

5.2.1 Protocolo I – Avaliação da expressão de receptores canabinoides em tecido nervoso na NSP induzida por oxaliplatina

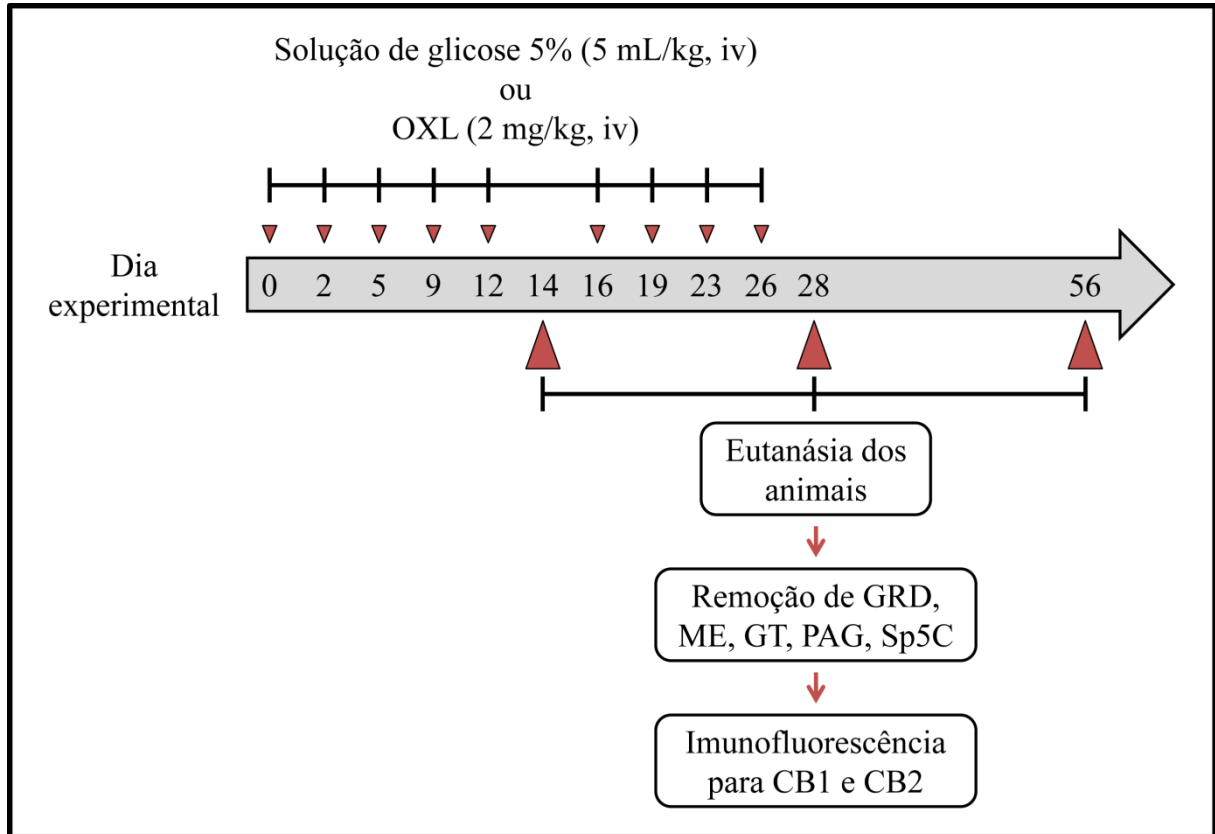
Os animais foram divididos em 2 grupos de 7 animais:

- Controle
- Oxaliplatina

Os animais receberam a injeção intravenosa de oxaliplatina (2 mg/kg) ou solução de glicose 5% (5mL/kg) (grupo controle), 2 vezes por semana, com um total de 9 injeções. Após a realização do protocolo experimental, os camundongos foram eutanasiados no 14º ou 28º ou 56º dia experimental para a coleta de gânglios da raiz dorsal (GRD) (L4 – L6), medula espinhal lombar (ME), gânglio trigeminal (GT) e regiões encefálicas, substância cinzenta periaquedutal (PAG) e trato espinhal do trigêmeo (Sp5C), com a finalidade de avaliar a

expressão dos receptores canabinoides por imunofluorescência e quantificação da área fluorescente (FIGURA 9).

Figura 9 – Desenho esquemático do protocolo experimental I



Fonte: elaborado pelo autor. Abreviações: CB1, receptor canabinoide 1; CB2, receptor canabinoide 2; GRD, gânglio da raiz dorsal; GT, gânglio trigeminal; ME, medula espinhal; OXL, oxaliplatina; PAG, substância cinzenta periaquedutal; Sp5C, núcleo espinhal trigeminal, parte caudal.

5.2.2 Protocolo II – Efeito do canabidiol na NSP induzida por oxaliplatina e avaliação dos efeitos canabimiméticos do canabidiol

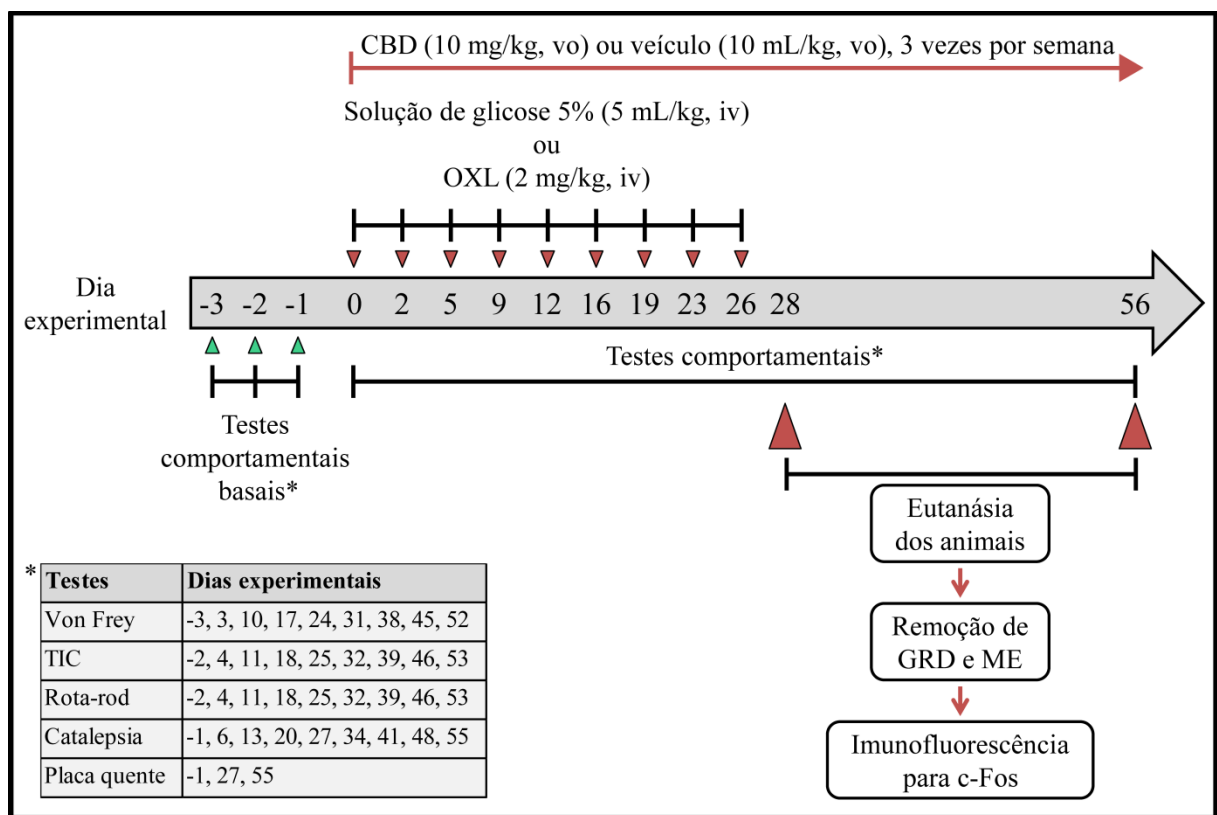
Os animais foram divididos em 4 grupos de 7 animais:

- Controle + Veículo do canabidiol (tween 80 2% + solução salina estéril 0,9%)
- Controle + Canabidiol
- Oxaliplatina + Veículo do canabidiol
- Oxaliplatina + Canabidiol

O canabidiol (10 mg/kg, vo) foi administrado 1 hora antes da injeção de oxaliplatina, 3 vezes por semana, durante 56 dias. Foram realizados testes nociceptivos (von Frey eletrônico e teste de imersão da cauda em água fria na temperatura não nociva de 10 °C) e testes

comportamentais para avaliar os efeitos canabimiméticos do canabidiol durante 56 dias. Os animais foram eutanasiados no 28º ou 56º dia experimental para coleta de gânglio da raiz dorsal (L4 – L6) e medula espinhal lombar para avaliação da expressão de c-Fos por imunofluorescência e quantificação da área fluorescente (FIGURA 10). A expressão de c-Fos, marcador de ativação neuronal, normalmente, é baixa em condições basais, contudo, com a exposição a estímulos dolorosos, há um aumento da expressão desse marcador (BULLITT et al., 1992; HARRIS, 1998; HERDEGEN; ZIMMERMANN, 1995; KOVÁCS, 2008).

Figura 10 – Desenho esquemático do protocolo experimental II



Fonte: elaborado pelo autor. Abreviações: CBD, canabidiol; GRD, gânglio da raiz dorsal; ME, medula espinhal; OXL, oxaliplatina; TIC, teste de imersão da cauda.

5.2.3 Protocolo III – Efeito do agonista não seletivo dos receptores canabinoides CB1 e CB2 na NSP induzida por oxaliplatina

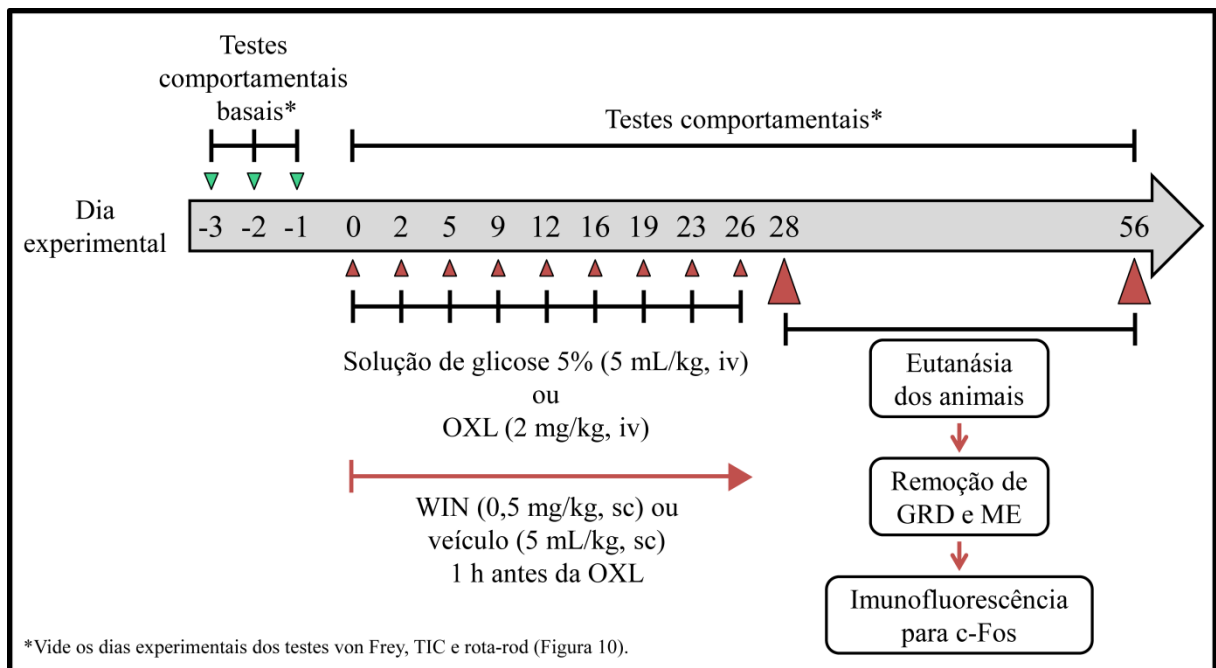
Os animais foram divididos em 4 grupos de 7 animais:

- Controle + Veículo do WIN 55, 212-2 (etanol absoluto + tween 80 + solução salina estéril 0,9%, 1:1:10 v/v/v)
- Controle + WIN 55, 212-2

- Oxaliplatina + Veículo do WIN 55, 212-2
- Oxaliplatina + WIN 55, 212-2

O WIN-55, 212-2 (0,5 mg/kg, sc) foi administrado 1 hora antes da injeção de oxaliplatina, 2 vezes por semana, totalizando 9 injeções. Os testes comportamentais (von Frey eletrônico, teste de imersão da cauda e rota-rod) foram realizados, 1 vez por semana, até o 56º dia experimental. A eutanásia dos animais foi realizada no 28º ou 56º dia experimental para remoção de gânglio da raiz dorsal (L4 – L6) e medula espinhal lombar para avaliação da expressão de c-Fos por imunofluorescência e quantificação da área fluorescente (FIGURA 11).

Figura 11 – Desenho esquemático do protocolo experimental III



Fonte: elaborado pelo autor. Abreviações: GRD, gânglio da raiz dorsal; ME, medula espinhal; OXL, oxaliplatina; WIN, WIN 55, 212-2.

5.2.4 Protocolo IV – Efeito dos antagonistas seletivos dos receptores canabinoides CB1 e CB2 na NSP induzida por oxaliplatina

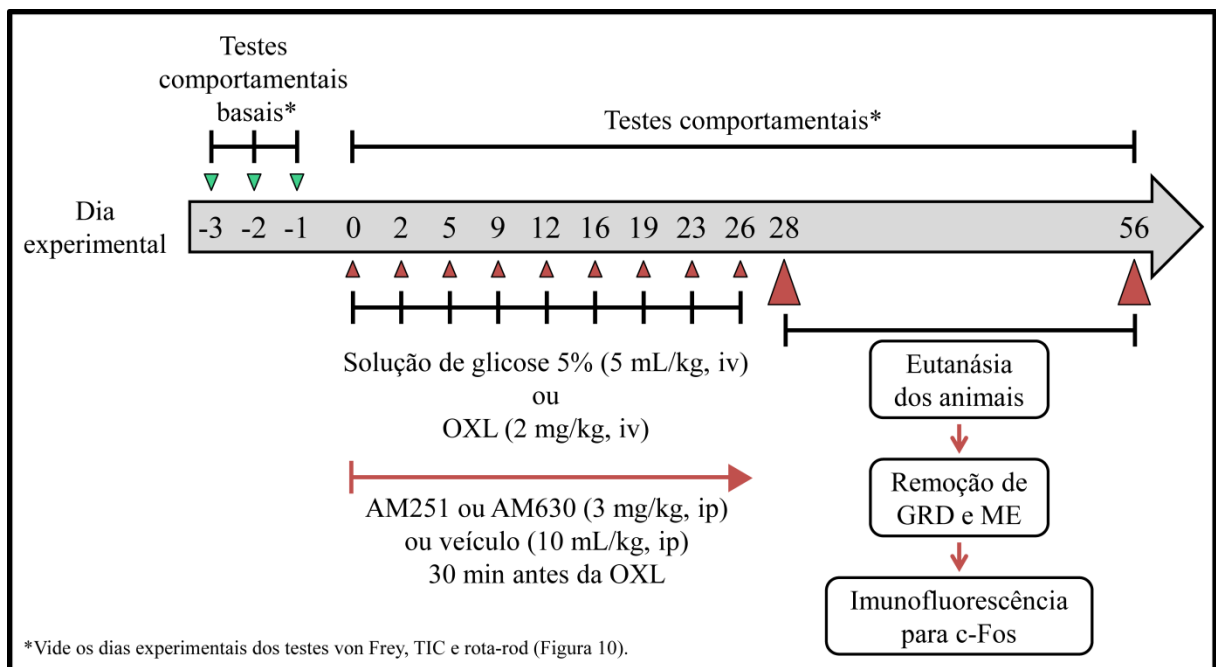
Os animais foram divididos em 8 grupos de 7 animais:

- Controle + Veículo do AM251 ou AM630 (Dimetilsulfóxido, DMSO, 4% + solução salina estéril 0,9 %)
- Controle + AM251 ou AM630

- Oxaliplatina + Veículo do AM251 ou AM630
- Oxaliplatina + AM251 ou AM630

O AM251 ou AM630 (3 mg/kg, ip) foram administrados 30 minutos antes de cada injeção de oxaliplatina, com um total de 9 injeções. Os testes von Frey eletrônico, teste de imersão da cauda (10 °C) e rota-rod foram realizados, 1 vez por semana, por 56 dias. No 28° ou 56° dia experimental, foi realizada a eutanásia dos camundongos, para a coleta de gânglio da raiz dorsal (L4 – L6) e medula espinhal lombar, e imunofluorescência para c-Fos com os tecidos coletados (FIGURA 12).

Figura 12 – Desenho esquemático do protocolo experimental IV



Fonte: elaborado pelo autor. Abreviações: AM251, antagonista do receptor canabinoide 1; AM630, antagonista do receptor canabinoide 2; GRD, gânglio da raiz dorsal; ME, medula espinhal; OXL, oxaliplatina.

5.3 Neuropatia sensitiva periférica induzida por oxaliplatina

Para a indução da NSP induzida por oxaliplatina, foi utilizado o modelo de Pereira (2015) e Pereira et al. (2018). A oxaliplatina (Eloxatin[®], Sanofi-Aventis Farmacêutica Ltda., São Paulo, SP, Brasil), diluída em solução de glicose estéril 5%, foi injetada via intravenosa, na veia lateral da cauda do camundongo, na dose de 2 mg/kg, 2 vezes por semana, com um total de 9 administrações. Os camundongos do grupo controle receberam apenas as administrações de solução de glicose estéril 5% (5 mL/kg), seguindo o mesmo protocolo dos

animais tratados com oxaliplatina. Para avaliar o desenvolvimento da NSP por oxaliplatina, foram realizados testes nociceptivos para avaliar a hiperalgesia mecânica plantar (teste von Frey eletrônico) e alodínia ao frio (teste de imersão da cauda), uma vez por semana, durante 56 dias.

5.4 Preparação e administração do canabidiol

O canabidiol foi fornecido pelo Prof. Dr. José Alexandre de Souza Crippa da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. O canabidiol foi dissolvido em tween 80 2% (Sigma-Aldrich[®], St. Louis, MO, EUA), diluído em solução salina estéril 0,9% e administrado via oral 1 hora antes da injeção de oxaliplatina, na dose de 10 mg/kg, 3 vezes por semana, durante 56 dias. Para avaliar os possíveis efeitos canabimiméticos do canabidiol nessa dose, foram realizados os testes rota-rod, catalepsia e placa quente até o 56º dia experimental. A dose do canabidiol foi escolhida de acordo com trabalho de Ward et al. (2011).

5.5 Preparação e administração do agonista não seletivo dos receptores canabinoides (WIN 55, 212-2)

O WIN 55, 212-2 mesilato (Sigma-Aldrich[®], St. Louis, MO, EUA) foi dissolvido em etanol absoluto (Dinâmica Química Contemporânea Ltda., Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e diluído em tween 80 (Sigma-Aldrich[®], St. Louis, MO, EUA) e solução salina estéril 0,9% (1: 1: 10 v/v/v) e administrado via subcutânea 1 hora antes da injeção de oxaliplatina na dose de 0,5 mg/kg. A dose do WIN 55, 212-2 mesilato foi baseada no estudo de (HALD et al., 2008).

5.6 Preparação e administração dos antagonistas seletivos dos receptores canabinoides CB1 (AM251) e CB2 (AM630)

Os antagonistas dos receptores canabinoides AM251 (Cayman Chemical, Ann Harbor, MI, EUA) e AM630 (Cayman Chemical, Ann Harbor, MI, EUA) foram dissolvidos em DMSO 4% e diluídos em solução salina estéril 0,9%. Ambos os antagonistas dos receptores canabinoides foram injetados por via intraperitoneal, na dose de 3 mg/kg (DEL FABBRO et al., 2012; GOBIRA et al., 2015; GONDIM et al., 2012), 30 minutos antes da administração da oxaliplatina.

5.7 Testes comportamentais

5.7.1 Hiperalgisia mecânica plantar

Para avaliar a intensidade de hiperalgisia mecânica plantar de cada camundongo, foi utilizado o equipamento von Frey eletrônico (Insight[®], Ribeirão Preto, SP, Brasil). O teste consiste em exercer um estímulo mecânico na região plantar das patas traseiras do animal através da ponta de um filamento rígido conectado ao analgesímetro digital (von Frey eletrônico). Este equipamento registra a pressão em gramas necessária para provocar a flexão da pata seguida de um “flinch” (comportamento de balançar a pata) após a retirada da pata em contato com o filamento rígido. Para adaptação, dez minutos antes do início do teste, os animais foram acomodados em gaiolas de acrílico (dimensões 12 x 10 x 17 cm) colocadas em cima de uma grade de arame. Para a visualização da região plantar das patas traseiras dos camundongos, foi colocado um espelho inclinado abaixo da grade de arame. Este teste foi realizado antes (medida basal) e durante o período das administrações da oxaliplatina, uma vez por semana (CUNHA et al., 2004).

5.7.2 Alodínia térmica pelo frio

Para avaliar a alodínia térmica pelo frio, foi realizado o teste de imersão da cauda (TIC) nos camundongos (LING et al., 2007; NECKER; HELLON, 1978; PEREIRA et al., 2018). Para a realização do teste, a cauda do camundongo foi imersa em água fria, na temperatura não nociva de 10 °C, e mantida até o reflexo de retirada da cauda pelo animal. A duração total do tempo de imersão da cauda foi registrada em segundos, utilizando um tempo de corte de 120 segundos. Os camundongos foram adaptados ao teste uma semana antes do início dos experimentos. O TIC foi realizado antes (medida basal) e após o início das injeções de oxaliplatina, uma vez por semana.

5.7.3 Rota-rod

Para avaliar o desempenho motor dos camundongos, foi utilizado o teste rota-rod (DUNHAM; MIYA, 1957). Para a realização deste teste, os animais foram selecionados 24 horas antes com a finalidade de excluir os camundongos que não permaneceram na barra (16 rotações por minuto, rpm) durante um período de 120 segundos. Esse teste foi realizado 1 vez

por semana durante 56 dias. Para o grupo controle positivo, foi administrado diazepam (Santisa Laboratório Farmacêutico S/A, Bauru, SP, Brasil) via intraperitoneal na dose de 5 mg/kg (SILVA et al., 2015).

5.7.4 Catalepsia

Para realizar o teste de catalepsia, as patas dianteiras dos camundongos foram posicionadas em cima de uma barra de plástico de 0,5 cm de diâmetro colocada horizontalmente a 6 cm de altura de uma superfície plana. O tempo que o animal permaneceu nessa posição foi registrado em segundos, utilizando um tempo de corte de 60 segundos, 1 vez por semana, até o 56º dia experimental. O comportamento de catalepsia foi considerado finalizado quando o animal retirou as patas dianteiras da barra ou subiu na barra (OSSATO et al., 2016; SANBERG et al., 1988).

5.7.5 Placa quente

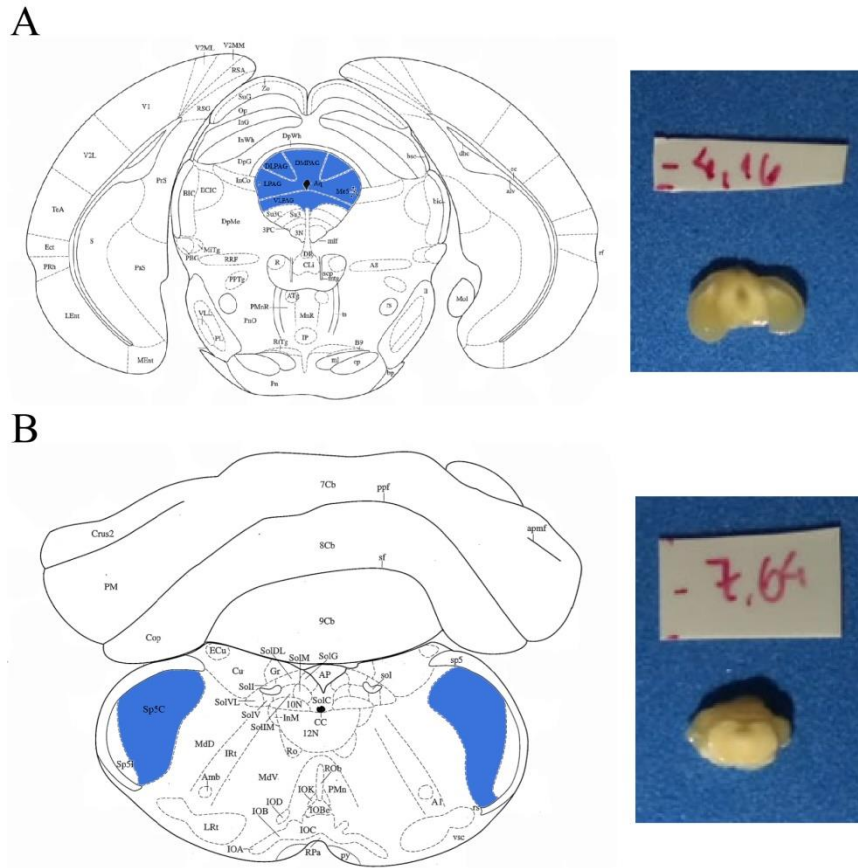
Os camundongos foram colocados em cima de uma placa aquecida a uma temperatura de $55 \pm 0,1$ °C (IICT Life Science Inc., Woodland Hills, CA, EUA) e foi registrado, em segundos, o tempo que o animal permaneceu na placa. Com a finalidade de evitar o desenvolvimento de lesão nas patas dos camundongos, foi utilizado um tempo de corte de 30 segundos. O animal foi retirado da placa aquecida quando apresentou o comportamento de lamber as patas ou saltar (EDDY; LEIMBACH, 1953). Este teste foi realizado nos dias experimentais 0, 28 e 56.

5.8 Coleta de regiões encefálicas (PAG e trato espinhal do trigêmeo), gânglio trigeminal, medula espinhal e gânglio da raiz dorsal

Para a coleta dos tecidos, os camundongos foram anestesiados com uma injeção intraperitoneal de cetamina e xilazina (Syntec do Brasil Ltda., Cotia, SP, Brasil), nas doses de 100 e 10 mg/kg, respectivamente. Após a anestesia, foi realizada a perfusão intracardíaca utilizando 40 mL de solução salina 0,9% seguida de 40 mL de solução de paraformaldeído (PFA) 4% (Sigma-Aldrich[®], St. Louis, MO, EUA). Em seguida, os animais foram dissecados para a remoção de regiões encefálicas (PAG e trato espinhal do trigêmeo) (FIGURA 13), gânglios trigeminiais, medula espinhal lombar e gânglios da raiz dorsal (L4 – L6) (FIGURA

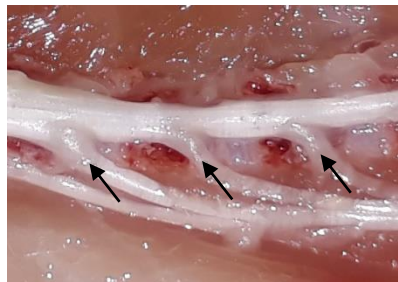
14). Logo após a coleta dos tecidos, foi realizada a fixação em PFA 4% por 2 horas, seguida de crioproteção em sacarose 30% por 2 dias. Posteriormente, os tecidos foram inclusos em meio Tissue Plus® O.C.T. Compound (Fisher HealthCare, Houston, TX, EUA) e armazenados em freezer à temperatura de $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Figura 13 – Regiões encefálicas



Fonte: fotos elaboradas pelo autor e figuras adaptadas de Paxinos e Franklin, 2004. As fotos representam as regiões encefálicas. (A) Substância cinzenta periaquedutal (PAG); (B) Trato espinal do trigêmeo (Sp5C).

Figura 14 – Gânglios da raiz dorsal (L4 – L6)



Fonte: elaborado pelo autor. As setas pretas indicam os gânglios da raiz dorsal, da esquerda para direita, L4, L5 e L6.

5.9 Imunofluorescência para CB1, CB2 e c-Fos

Antes da imunofluorescência, as regiões encefálicas (PAG e Sp5C), gânglios trigeminais, medula espinhal e gânglios da raiz dorsal (L4 – L6) foram cortados, na espessura de 10 µm, em criostato (Leica CM1850, Leica, Wetzlar, Alemanha), à temperatura de – 24 °C (FIGURA 15). Para a realização da imunofluorescência, os cortes dos tecidos extraídos foram fixados em metanol (Vetec Química Fina Ltda., Duque de Caxias, RJ, Brasil) durante 2 minutos. Em seguida, foi realizada a recuperação antigênica em tampão citrato de sódio 0,1 M (pH 6,0), à temperatura de 95 °C, por 15 minutos, seguida de resfriamento, à temperatura ambiente, durante 20 minutos. Depois, foram feitas a permeabilização da membrana nuclear, por 10 minutos, utilizando triton X-100 0,1% (Sigma-Aldrich[®], St. Louis, MO, EUA), e o bloqueio de ligações inespecíficas, utilizando glicina 0,3 M (Sigma-Aldrich[®], St. Louis, MO, EUA) em albumina sérica bovina (BSA) 5% (Sigma-Aldrich[®], St. Louis, MO, EUA), durante 30 minutos. Os tecidos foram incubados com os anticorpos primários feitos em coelho anti-CB1 (Cell Signaling Technology[®], Danvers, MA, EUA) ou anti-CB2 (Invitrogen[®], Life Technologies, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA) (diluição de 1: 500) ou anti-c-Fos (Cell Signaling Technology[®], Danvers, MA, EUA) (diluição de 1: 200), durante a noite, na temperatura de 2 – 8 °C. Posteriormente, foi realizada a incubação com o anticorpo secundário feito em cabra anti-igG de coelho Alexa Fluor 568 ou 594 (Invitrogen[®], Life Technologies, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA), na diluição de 1: 400, durante 1 hora e 30 minutos. Em seguida, foi feita a incubação com o anticorpo feito em camundongo anti-NeuN conjugado com Alexa Fluor 488 (Merck Millipore[®], Billerica, MA, EUA), na diluição de 1: 100, durante 1 hora e 30 minutos, para a marcação dos corpos neuronais. Com a finalidade de marcar os núcleos celulares, as seções dos tecidos foram incubadas, durante 30 minutos, com DAPI (Invitrogen[®], Life Technologies, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA) (4 µL em 200 mL de PBS). Para montagem das lâminas, foi utilizado o meio Prolong Gold Antifade Mountant (Invitrogen[®], Life Technologies, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA). Para a aquisição das fotomicrografias, foi utilizado um microscópio confocal de varredura a laser (Zeiss LSM 710, Carl Zeiss, Jena, Alemanha) com “master gain” e “digital offset” padronizados para posterior análise.

As fotomicrografias foram analisadas através de um “software” de imagem (Fiji Image J, National Institutes of Health, Washington, DC, EUA). Para realizar a quantificação da área fluorescente nas fotomicrografias, foi necessário fazer a diferenciação dos pixels fluorescentes pela maior saturação de cor relacionada à fluorescência (vermelha ou verde). Previamente,

com o propósito de definir os pixels selecionados e não selecionados, os limites inferior e superior foram padronizados pelo limiar de cores. Os resultados obtidos foram expressos em porcentagem, que foi calculada comparando a fluorescência positiva de CB1 ou CB2 ou c-Fos ou com a fluorescência do NeuN (100%).

Figura 15 – Criostato Leica CM1850 utilizado para os cortes dos tecidos



Fonte: elaborado pelo autor.

5.10 Análise estatística

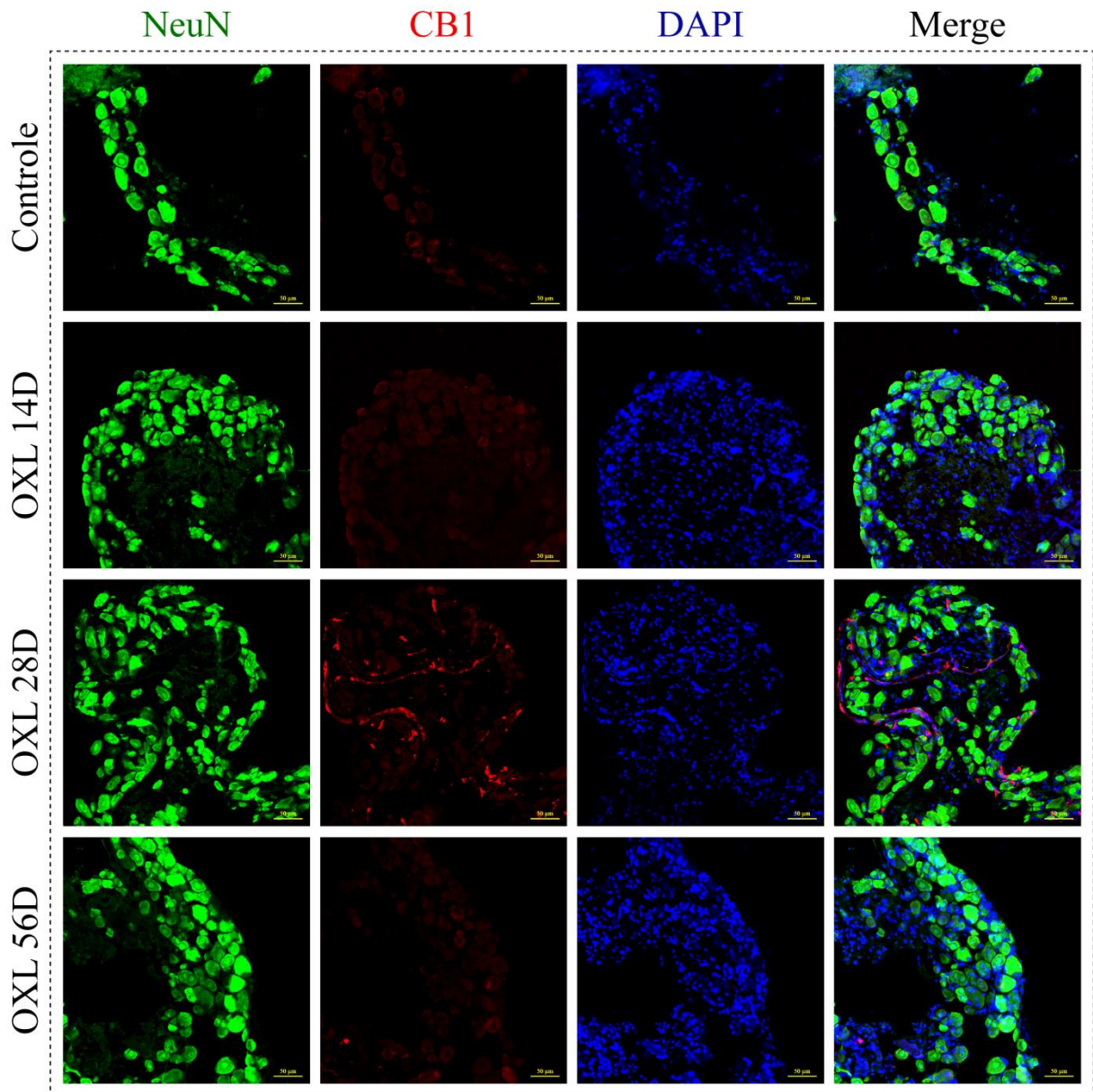
Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM). Com a finalidade de avaliar as diferenças estatísticas entre os grupos experimentais, foi utilizada a análise de variância (ANOVA) de duas vias para medidas repetidas, para os testes comportamentais, ou de uma via, seguido pelo teste de Tukey, ou teste t não pareado, para os outros resultados. O nível de significância foi estabelecido em $P < 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism versão 6.00 para Windows (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).

6 RESULTADOS

6.1 Imunofluorescência para os receptores canabinoides CB1 e CB2 em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

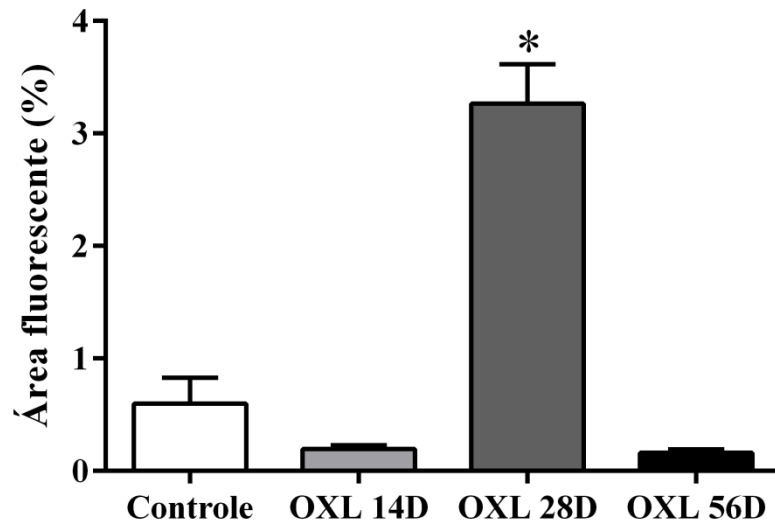
Na imunofluorescência para o receptor CB1, em gânglio da raiz dorsal, a oxaliplatina provocou um aumento significativo ($P < 0,05$) da expressão de CB1 ($3,26 \pm 0,35$ %) em células não neuronais, no 28º dia experimental, quando comparado com o grupo controle (CB1: $0,60 \pm 0,23$ %) (FIGURA 16; GRÁFICO 1). Além disso, na imunofluorescência para o receptor CB2, a oxaliplatina não induziu o aumento da expressão de CB2, nos dias experimentais 14 ($0,16 \pm 0,04$ %), 28 ($0,19 \pm 0,03$ %) e 56 ($0,28 \pm 0,09$ %), em comparação com o grupo controle (CB2: $0,37 \pm 0,09$ %) (FIGURA 17; GRÁFICO 2).

Figura 16 – Expressão de CB1 em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina



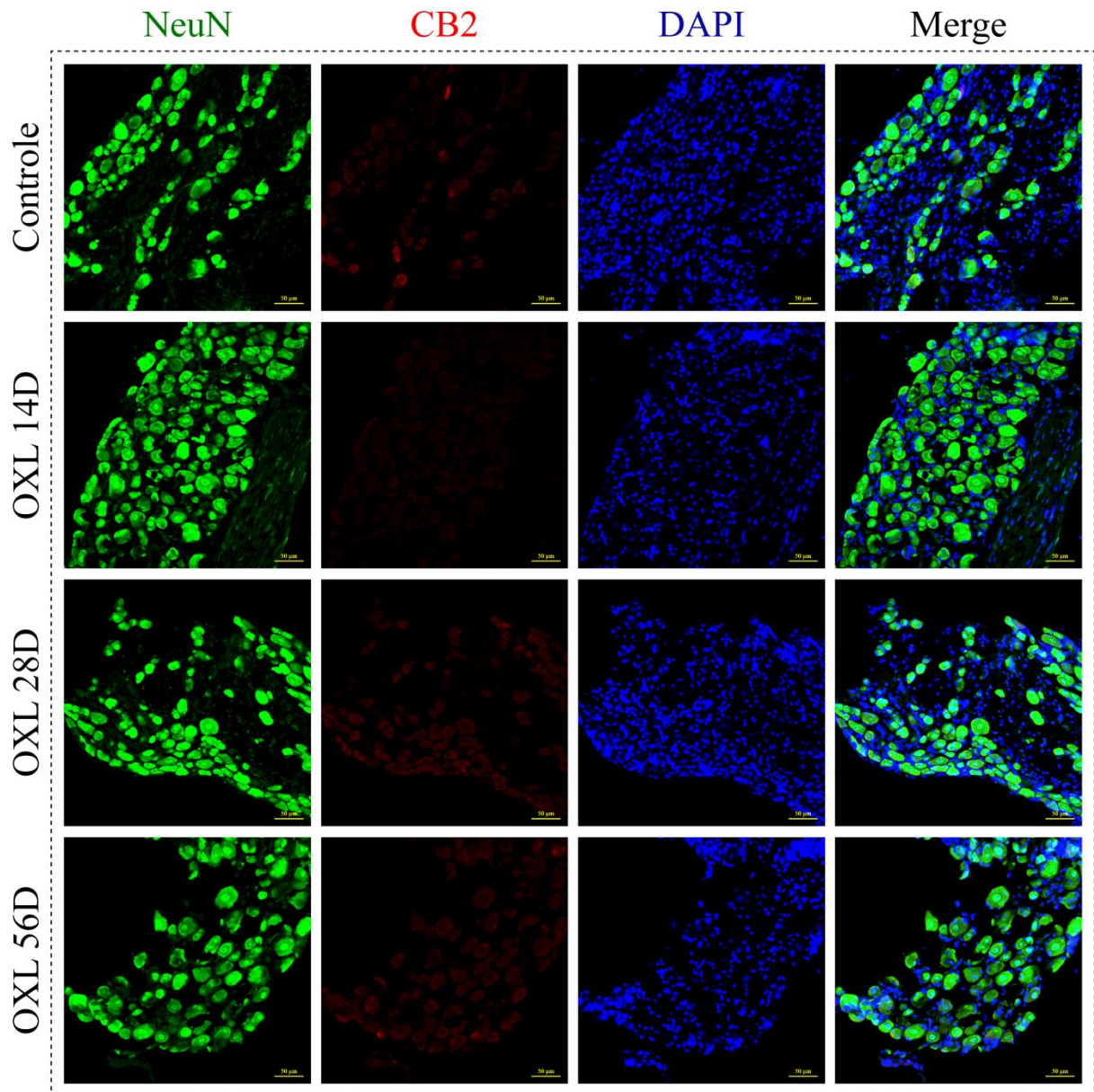
Fonte: dados da pesquisa. Verde: NeuN (marcador neuronal); vermelho: CB1; azul: DAPI (marcador nuclear). Aumento: 200 x. Escala: 50 μ m. Os gânglios da raiz dorsal (L4 – L6) foram coletados nos dias experimentais 14, 28 ou 56. Abreviações: CB1, receptor canabinoide 1; OXL, oxaliplatina.

Gráfico 1 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB1 em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina



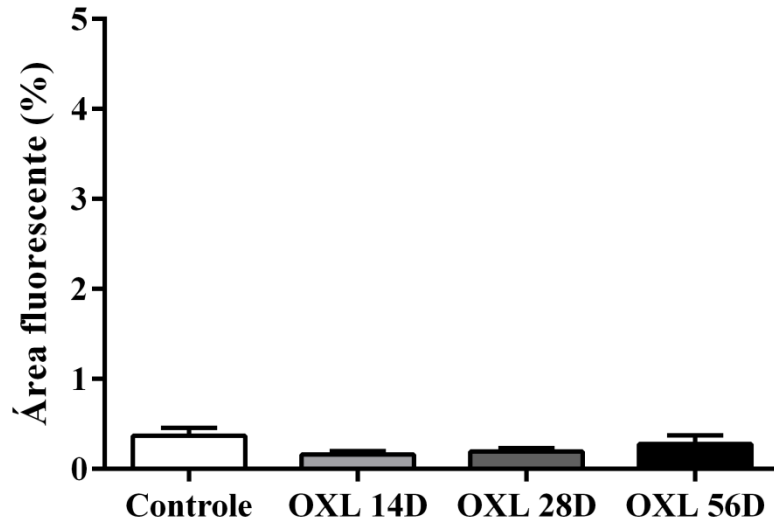
Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) da porcentagem da área fluorescente positiva da expressão de CB1 em comparação com a expressão de NeuN nos dias experimentais 14, 28 e 56. * $P < 0,05$ versus grupo controle (ANOVA de uma via, pós-teste de Tukey). Abreviações: OXL, oxaliplatina.

Figura 17 – Expressão de CB2 em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina



Fonte: dados da pesquisa. Verde: NeuN (marcador neuronal); vermelho: CB2; azul: DAPI (marcador nuclear). Aumento: 200 x. Escala: 50 μ m. Os gânglios da raiz dorsal (L4 – L6) foram coletados nos dias experimentais 14, 28 ou 56. Abreviações: CB2, receptor canabinoide 2; OXL, oxaliplatina.

Gráfico 2 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB2 em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

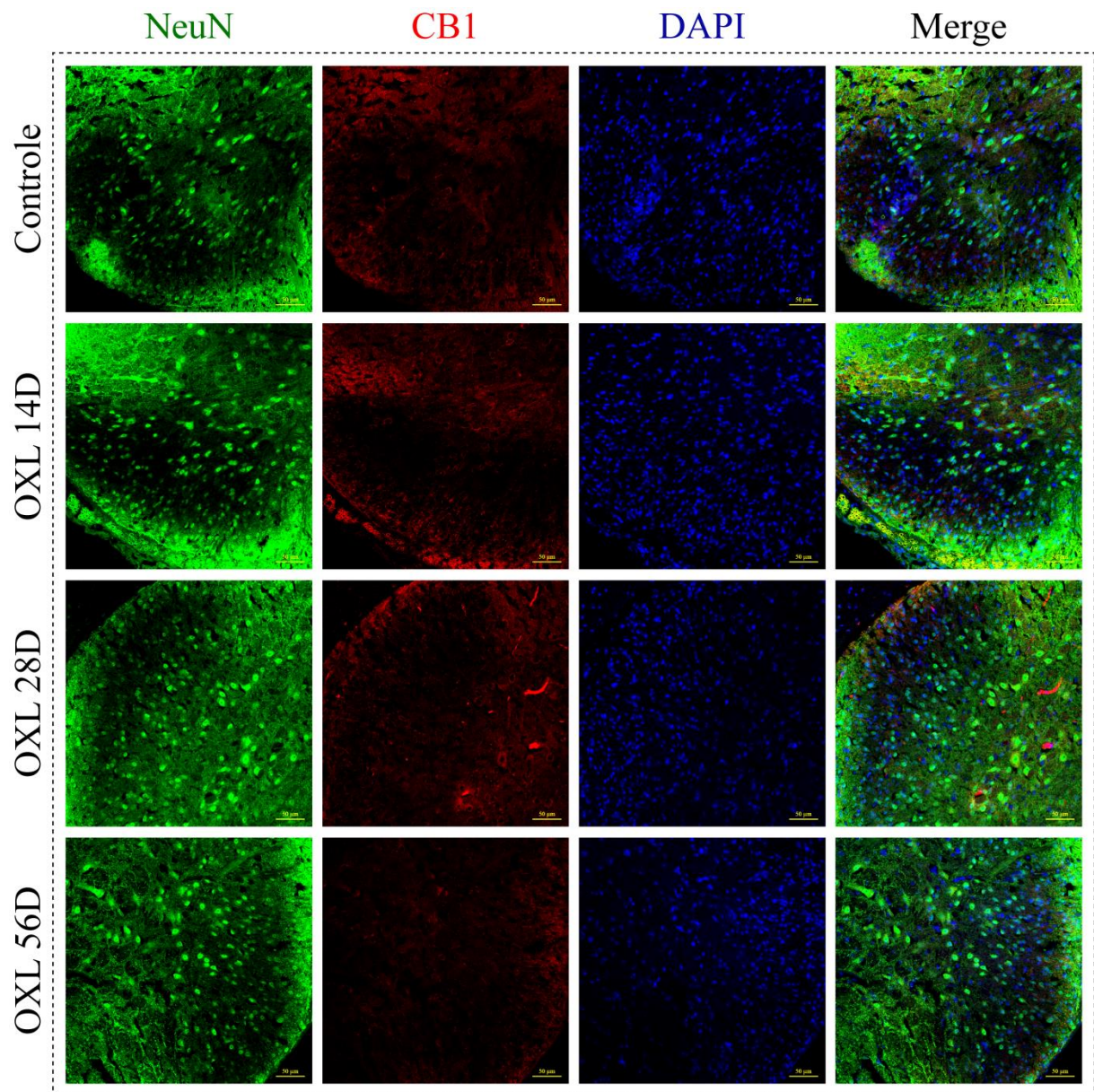


Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) da porcentagem da área fluorescente positiva da expressão de CB2 em comparação com a expressão de NeuN nos dias experimentais 14, 28 e 56. ANOVA de uma via, pós-teste de Tukey. Abreviações: OXL, oxaliplatina.

6.2 Imunofluorescência para os receptores canabinoides CB1 e CB2 em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

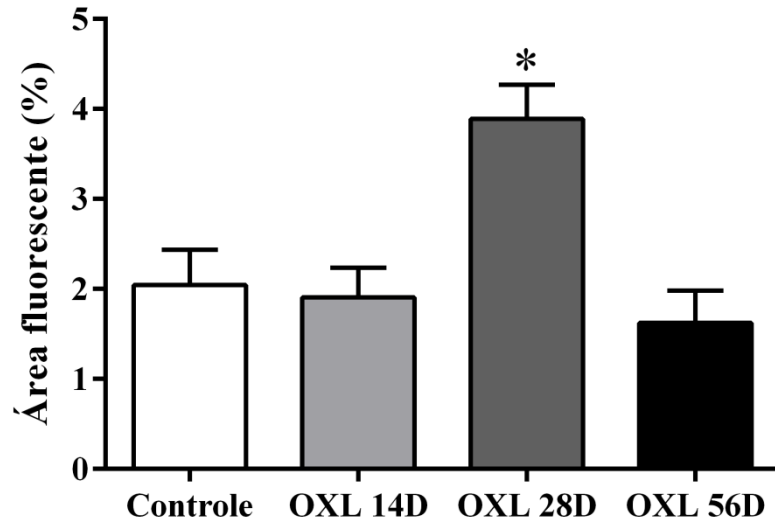
A oxaliplatina aumentou significativamente ($P < 0,05$) a expressão de CB1 ($3,89 \pm 0,38$ %) em células não neuronais no corno dorsal da medula espinhal, no 28º dia experimental, quando comparado ao grupo controle ($2,04 \pm 0,39$ %) (FIGURA 18; GRÁFICO 3). Na imunofluorescência para CB2, a oxaliplatina não provocou o aumento da expressão desse receptor, no corno dorsal da medula espinhal, em todos os dias experimentais (14º dia, $0,34 \pm 0,06$ %; 28º dia, $0,27 \pm 0,02$ %; 56º dia, $0,46 \pm 0,08$ %), comparando ao grupo que recebeu solução de glicose 5% (grupo controle) (CB2: $0,29 \pm 0,03$ %) (FIGURA 19; GRÁFICO 4).

Figura 18 – Expressão de CB1 em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina



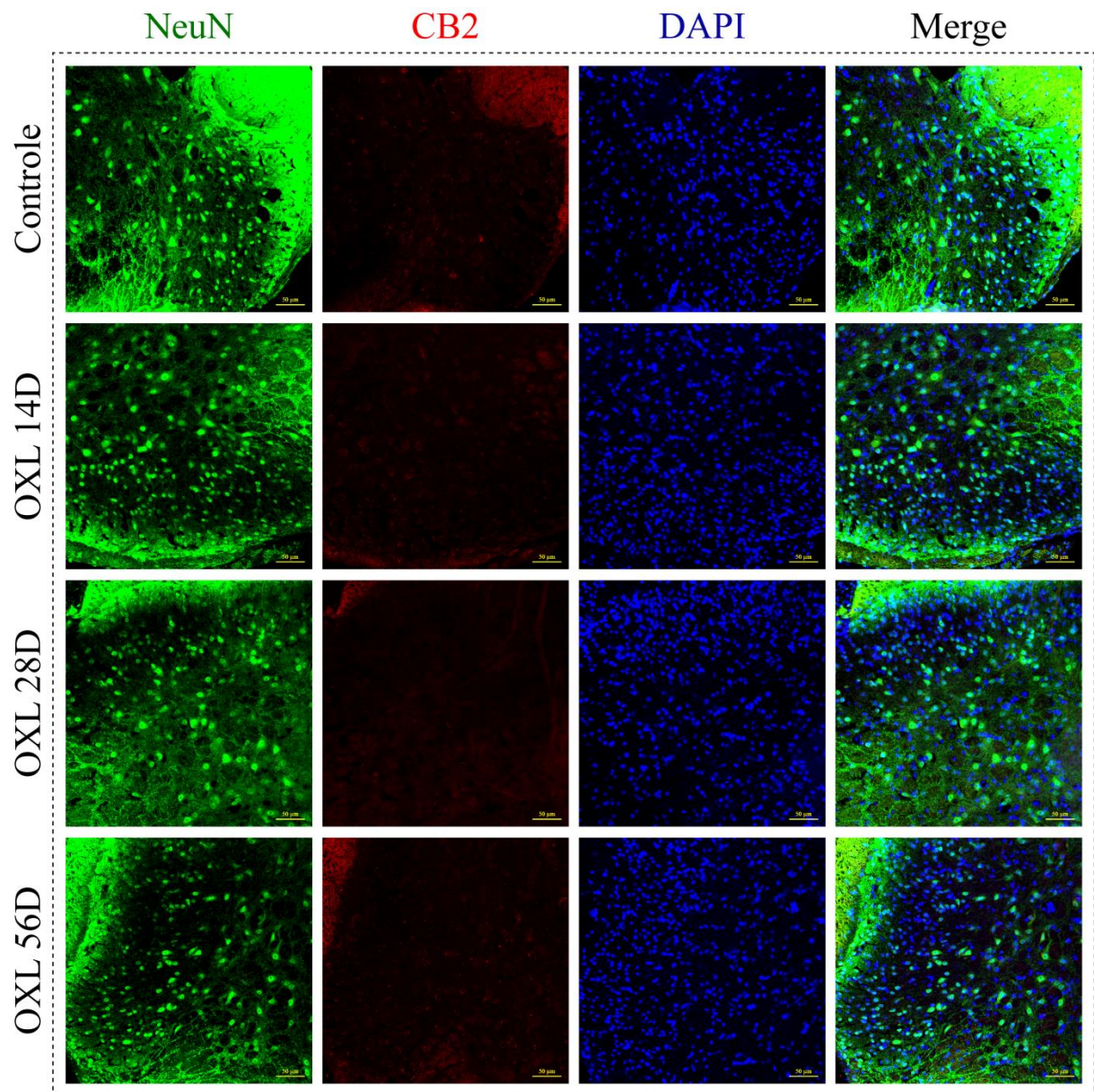
Fonte: dados da pesquisa. Verde: NeuN (marcador neuronal); vermelho: CB1; azul: DAPI (marcador nuclear). Aumento: 200 x. Escala: 50 µm. A medula espinhal lombar foi coletada nos dias experimentais 14, 28 ou 56. Abreviações: CB1, receptor canabinoide 1; OXL, oxaliplatina.

Gráfico 3 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB1 em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina



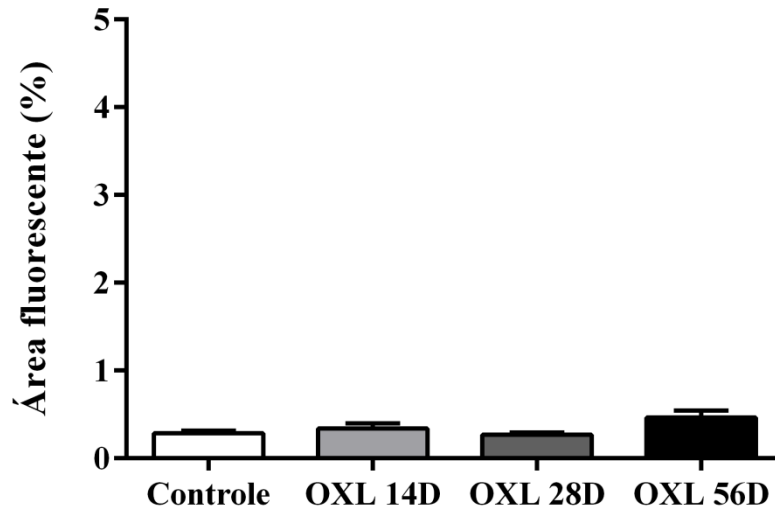
Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) da porcentagem da área fluorescente positiva da expressão de CB1 em comparação com a expressão de NeuN nos dias experimentais 14, 28 e 56. * $P < 0,05$ versus grupo controle (ANOVA de uma via, pós-teste de Tukey). Abreviações: OXL, oxaliplatina.

Figura 19 – Expressão de CB2 em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina



Fonte: dados da pesquisa. Verde: NeuN (marcador neuronal); vermelho: CB2; azul: DAPI (marcador nuclear). Aumento: 200 x. Escala: 50 μ m. A medula espinhal lombar foi coletada nos dias experimentais 14, 28 ou 56. Abreviações: CB2, receptor canabinoide 2; OXL, oxaliplatina.

Gráfico 4 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB2 em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

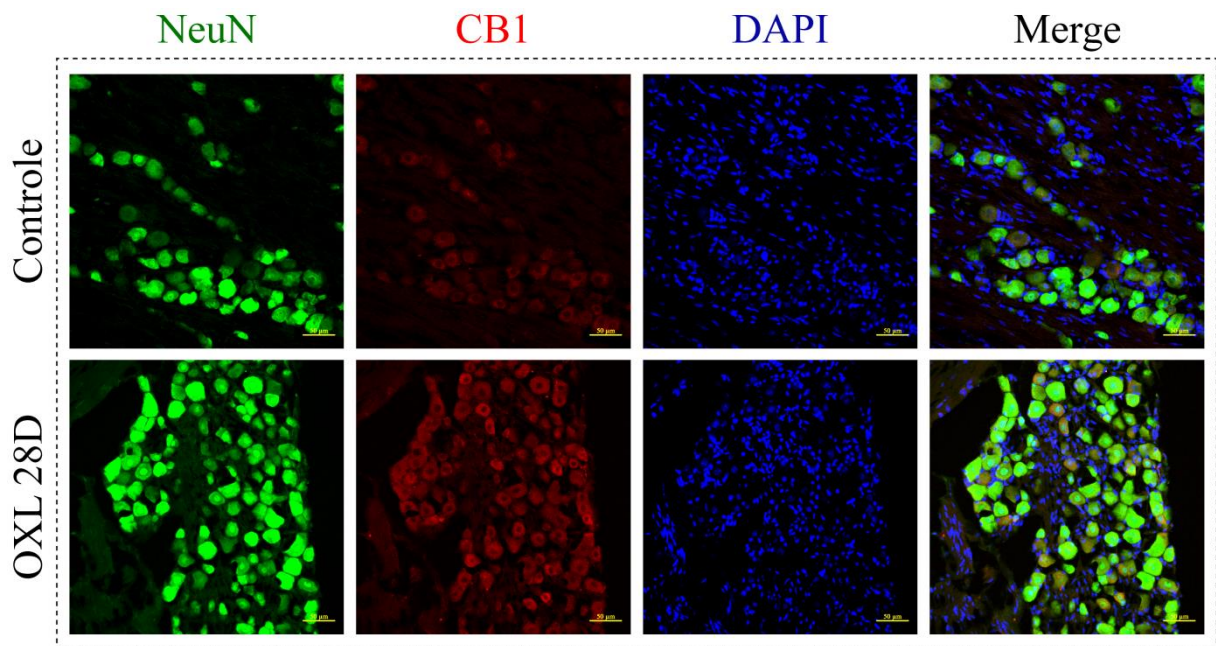


Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) da porcentagem da área fluorescente positiva da expressão de CB2 em comparação com a expressão de NeuN nos dias experimentais 14, 28 e 56. ANOVA de uma via, pós-teste de Tukey. Abreviações: OXL, oxaliplatina.

6.3 Imunofluorescência para os receptores canabinoides CB1 e CB2 em gânglio trigeminal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

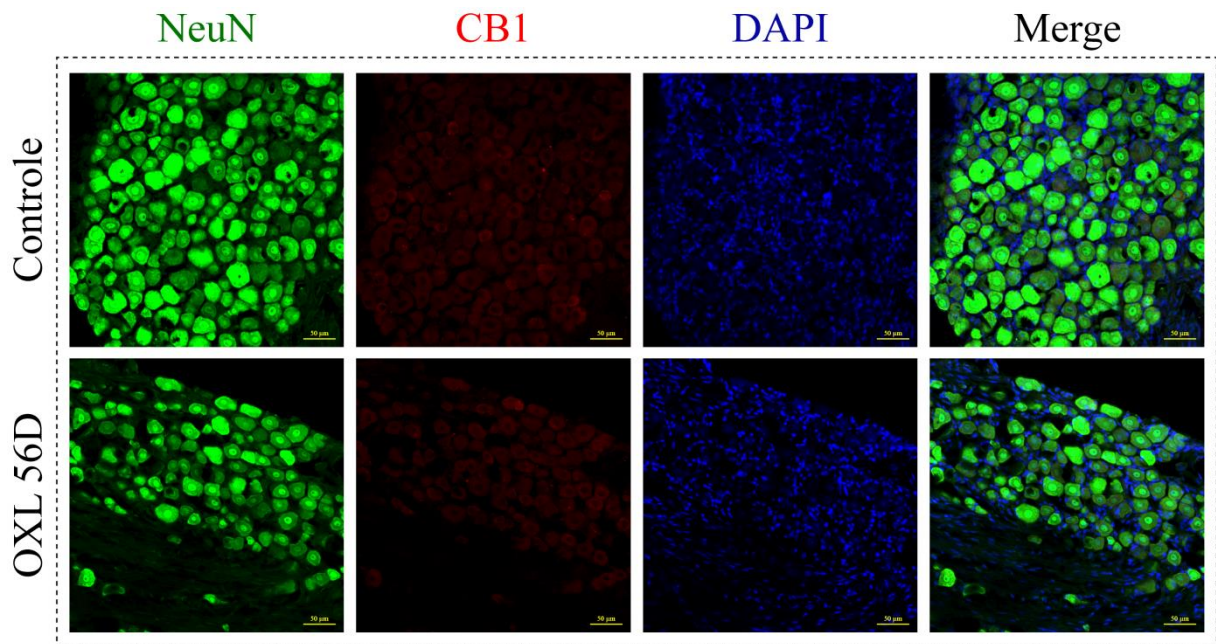
Na imunofluorescência para CB1, foi observado que a oxaliplatina aumentou significativamente a expressão desse receptor ($P < 0,05$; $2,38 \pm 0,41$ %) em células neuronais do gânglio trigeminal (marcadas com NeuN), no 28º dia experimental, quando comparado com o grupo controle ($1,14 \pm 0,25$ %) (FIGURA 20; GRÁFICO 5). A oxaliplatina não aumentou a expressão desse receptor ($0,16 \pm 0,03$ %) no gânglio trigeminal, no 56º dia experimental, em comparação ao grupo controle ($0,13 \pm 0,02$ %) (FIGURA 21; GRÁFICO 6). Além disso, a administração de oxaliplatina também não aumentou a expressão de CB2 ($0,50 \pm 0,09$ %), no 28º dia experimental, em relação ao grupo controle ($0,34 \pm 0,09$ %) (FIGURA 22; GRÁFICO 7). No 56º dia experimental, não houve diferença significativa entre os grupos oxaliplatina ($0,15 \pm 0,04$ %) e controle ($0,28 \pm 0,07$ %) quanto à expressão de CB2 no gânglio trigeminal (FIGURA 23; GRÁFICO 8).

Figura 20 – Expressão de CB1 em gânglio trigeminal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 28° dia experimental



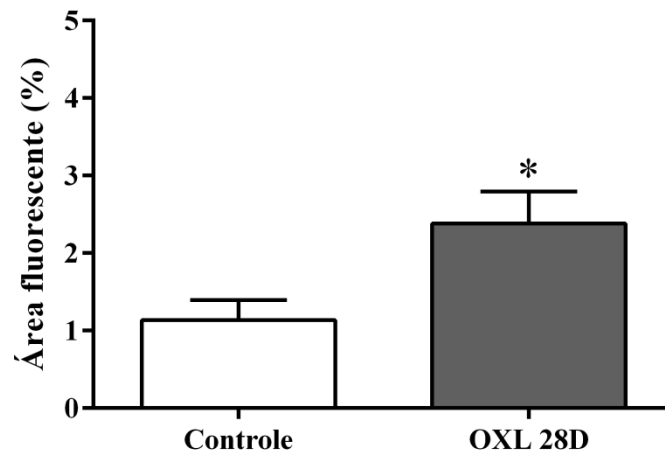
Fonte: dados da pesquisa. Verde: NeuN (marcador neuronal); vermelho: CB1; azul: DAPI (marcador nuclear). Aumento: 200 x. Escala: 50 µm. O gânglio trigeminal foi coletado no 28° dia experimental. Abreviações: CB1, receptor canabinoide 1; OXL, oxaliplatina.

Figura 21 – Expressão de CB1 em gânglio trigeminal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 56° dia experimental



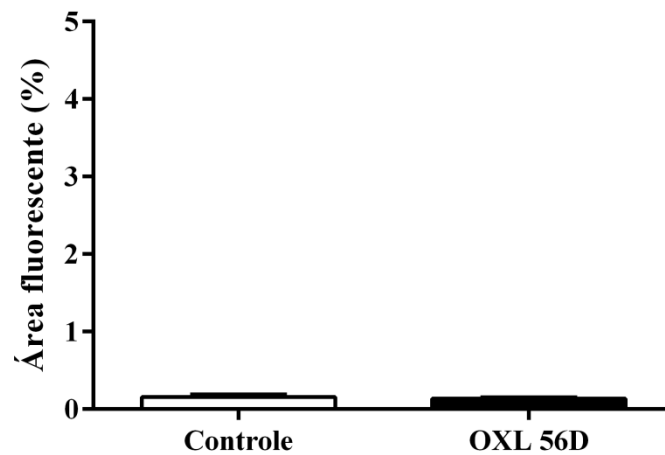
Fonte: dados da pesquisa. Verde: NeuN (marcador neuronal); vermelho: CB1; azul: DAPI (marcador nuclear). Aumento: 200 x. Escala: 50 µm. O gânglio trigeminal foi coletado no 56° dia experimental. Abreviações: CB1, receptor canabinoide 1; OXL, oxaliplatina.

Gráfico 5 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB1 em gânglio trigeminal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 28° dia experimental



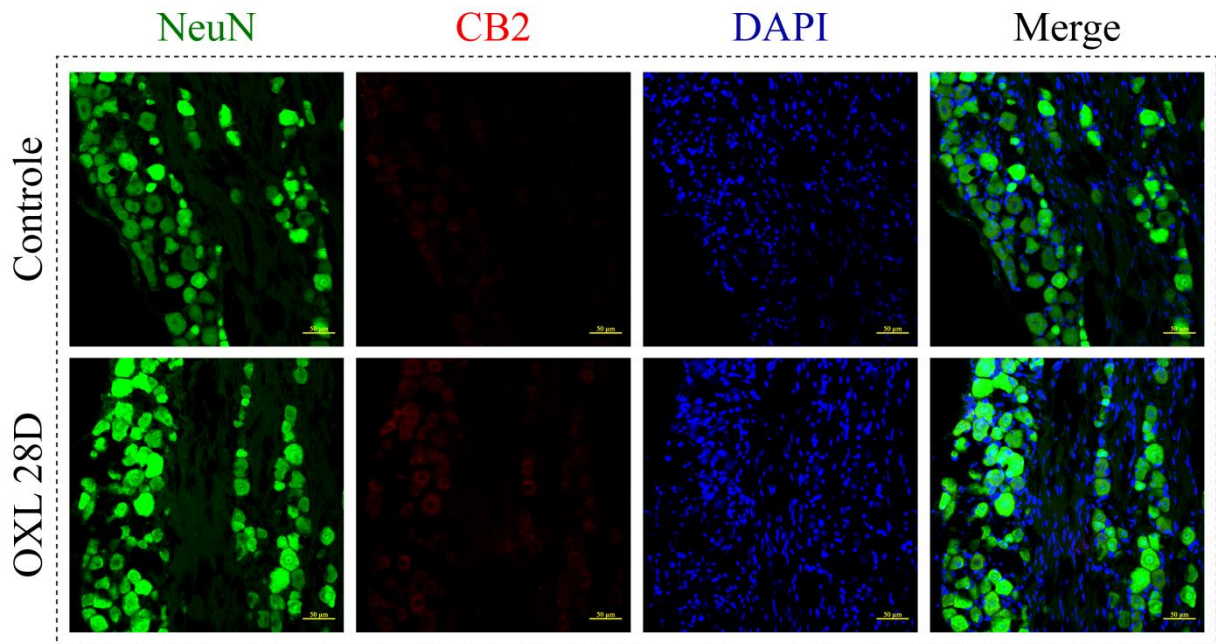
Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) da porcentagem da área fluorescente positiva da expressão de CB1 em comparação com a expressão de NeuN no 28° dia experimental. * $P < 0,05$ versus grupo controle (Teste t não pareado). Abreviações: OXL, oxaliplatina.

Gráfico 6 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB1 em gânglio trigeminal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 56° dia experimental



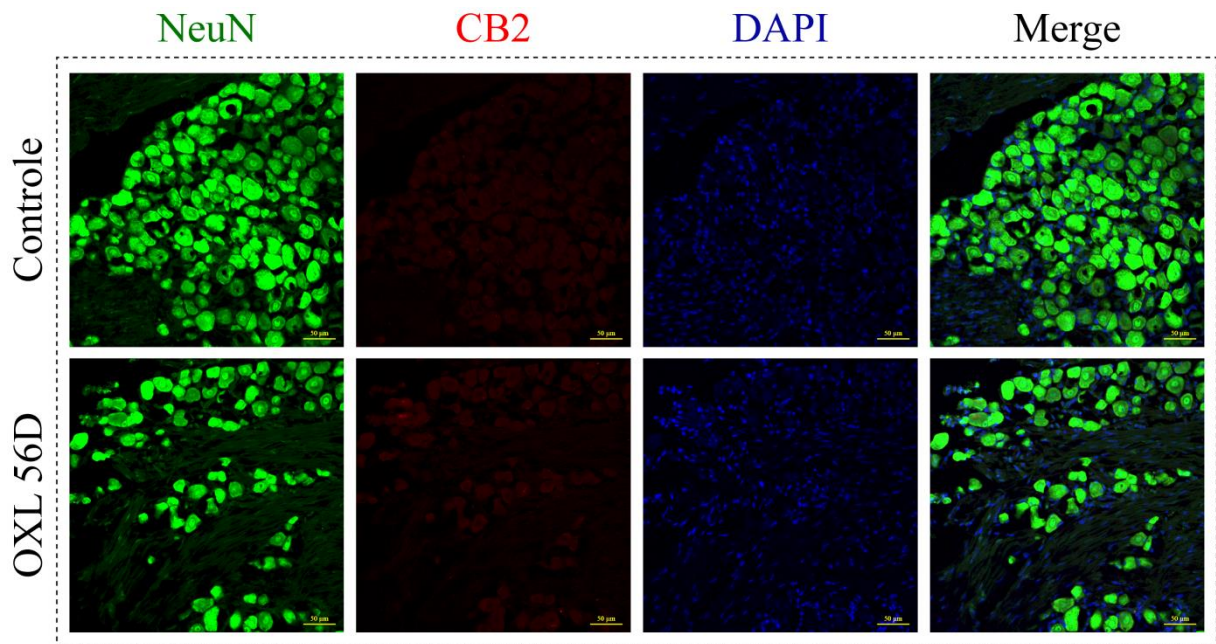
Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) da porcentagem da área fluorescente positiva da expressão de CB1 em comparação com a expressão de NeuN no 56° dia experimental. Teste t não pareado. Abreviações: OXL, oxaliplatina.

Figura 22 – Expressão de CB2 em gânglio trigeminal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 28° dia experimental



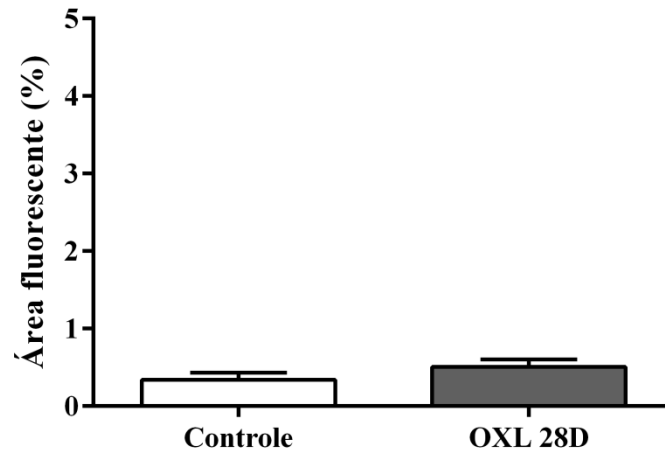
Fonte: dados da pesquisa. Verde: NeuN (marcador neuronal); vermelho: CB2; azul: DAPI (marcador nuclear). Aumento: 200 x. Escala: 50 µm. O gânglio trigeminal foi coletado no 28° dia experimental. Abreviações: CB2, receptor canabinoide 2; OXL, oxaliplatina.

Figura 23 – Expressão de CB2 em gânglio trigeminal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 56° dia experimental



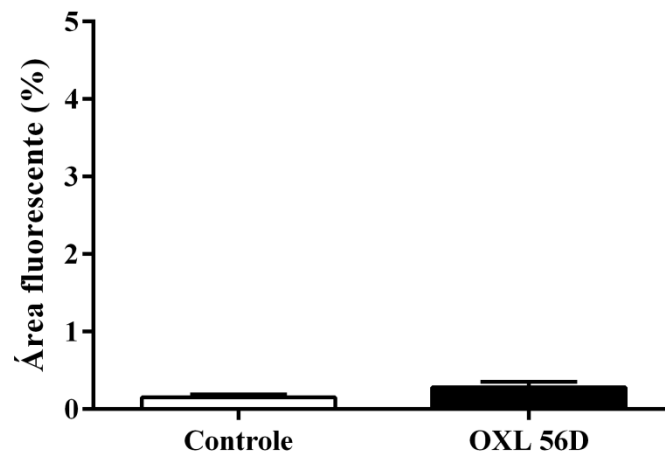
Fonte: dados da pesquisa. Verde: NeuN (marcador neuronal); vermelho: CB2; azul: DAPI (marcador nuclear). Aumento: 200 x. Escala: 50 µm. O gânglio trigeminal foi coletado no 56° dia experimental. Abreviações: CB2, receptor canabinoide 2; OXL, oxaliplatina.

Gráfico 7 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB2 em gânglio trigeminal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 28° dia experimental



Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) da porcentagem da área fluorescente positiva da expressão de CB2 em comparação com a expressão de NeuN no 28° dia experimental. Teste *t* não pareado. Abreviações: OXL, oxaliplatina.

Gráfico 8 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB2 em gânglio trigeminal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 56° dia experimental

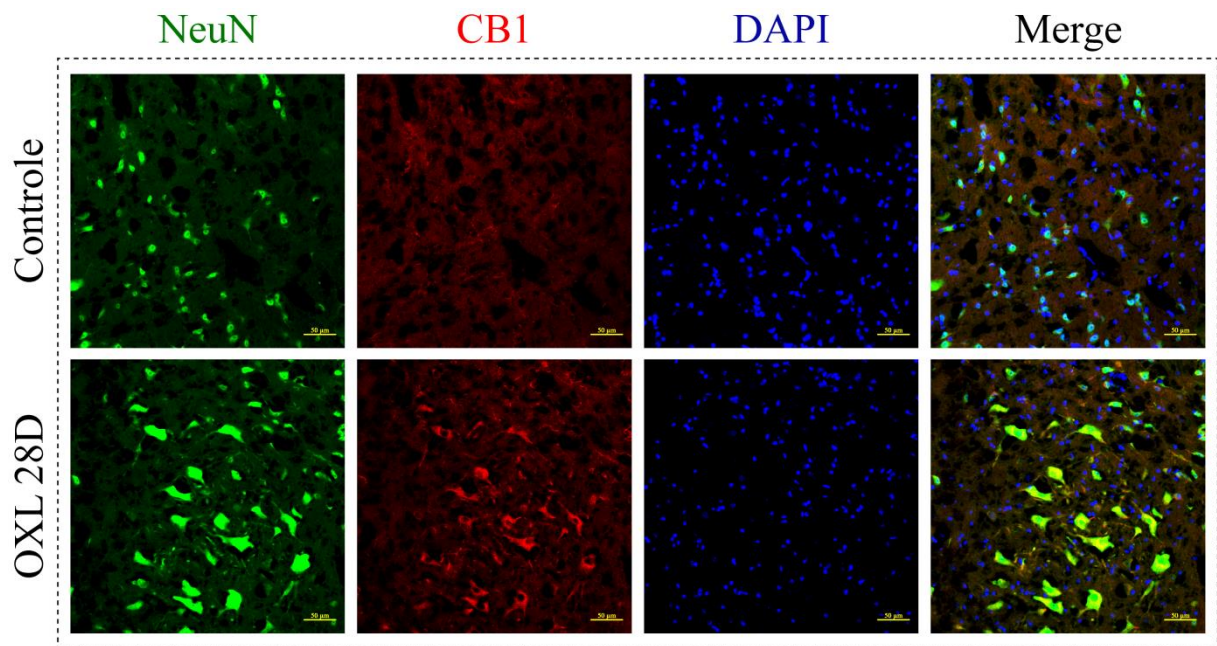


Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) da porcentagem da área fluorescente positiva da expressão de CB2 em comparação com a expressão de NeuN no 56° dia experimental. Teste *t* não pareado. Abreviações: OXL, oxaliplatina.

6.4 Imunofluorescência para os receptores canabinoides CB1 e CB2 em trato espinal do trigêmeo (Sp5C) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

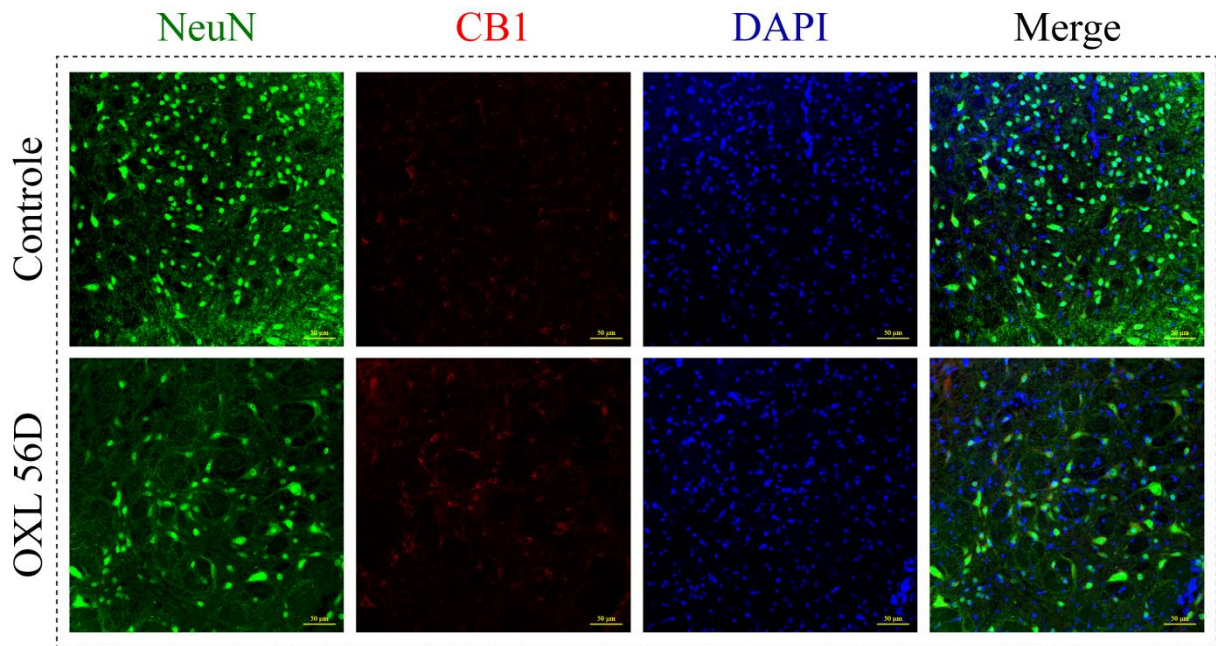
Os resultados mostraram que a administração de oxaliplatina aumentou a expressão de CB1 significativamente ($P < 0,05$; $8,91 \pm 1,29$ %) em células neuronais (marcadas com NeuN) no trato espinal do trigêmeo (Sp5C), no 28º dia experimental, em comparação com o grupo controle ($4,03 \pm 0,89$ %) (FIGURA 24; GRÁFICO 9). O aumento da expressão desse receptor em células neuronais com a administração de oxaliplatina também foi observado no 56º dia experimental ($0,99 \pm 0,15$ %; $P < 0,05$), quando comparado ao grupo controle (CB1: $0,47 \pm 0,08$ %) (FIGURA 25; GRÁFICO 10). Quanto à expressão de CB2 no trato espinal do trigêmeo (Sp5C), foi observado que a oxaliplatina não aumentou a expressão desse receptor ($0,91 \pm 0,14$ %), no 28º dia experimental, quando comparado com o grupo controle (CB2: $0,95 \pm 0,24$ %) (FIGURA 26; GRÁFICO 11). No 56º dia experimental, também não houve o aumento da expressão de CB2 ($0,73 \pm 0,10$ %) nessa região no grupo que recebeu oxaliplatina, comparando com o grupo controle (CB2: $0,69 \pm 0,12$ %) (FIGURA 27; GRÁFICO 12).

Figura 24 – Expressão de CB1 em trato espinal do trigêmeo (Sp5C) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina - 28º dia experimental



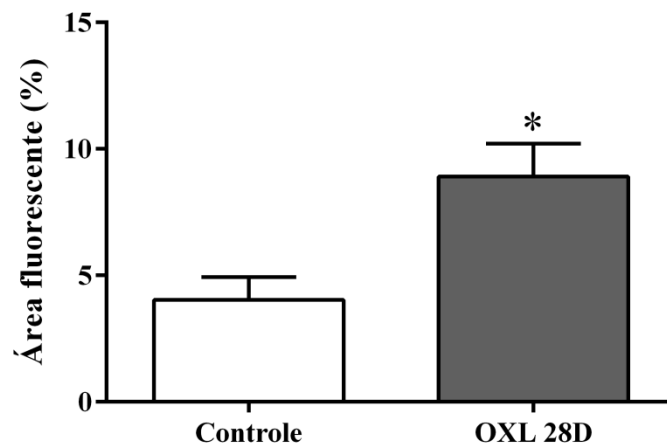
Fonte: dados da pesquisa. Verde: NeuN (marcador neuronal); vermelho: CB1; azul: DAPI (marcador nuclear). Aumento: 200 x. Escala: 50 µm. O trato espinal do trigêmeo (Sp5C) foi coletado no 28º dia experimental. Abreviações: CB1, receptor canabinoide 1; OXL, oxaliplatina.

Figura 25 – Expressão de CB1 em trato espinhal do trigêmeo (Sp5C) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina - 56° dia experimental



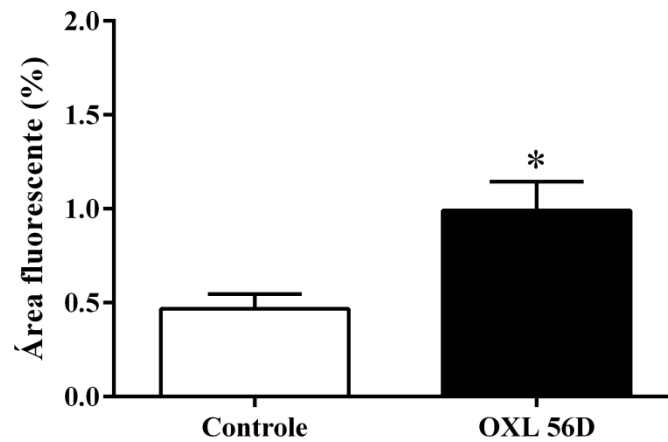
Fonte: dados da pesquisa. Verde: NeuN (marcador neuronal); vermelho: CB1; azul: DAPI (marcador nuclear). Aumento: 200 x. Escala: 50 µm. O trato espinhal do trigêmeo (Sp5C) foi coletado no 56° dia experimental. Abreviações: CB1, receptor canabinoide 1; OXL, oxaliplatina.

Gráfico 9 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB1 trato espinhal do trigêmeo (Sp5C) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 28° dia experimental



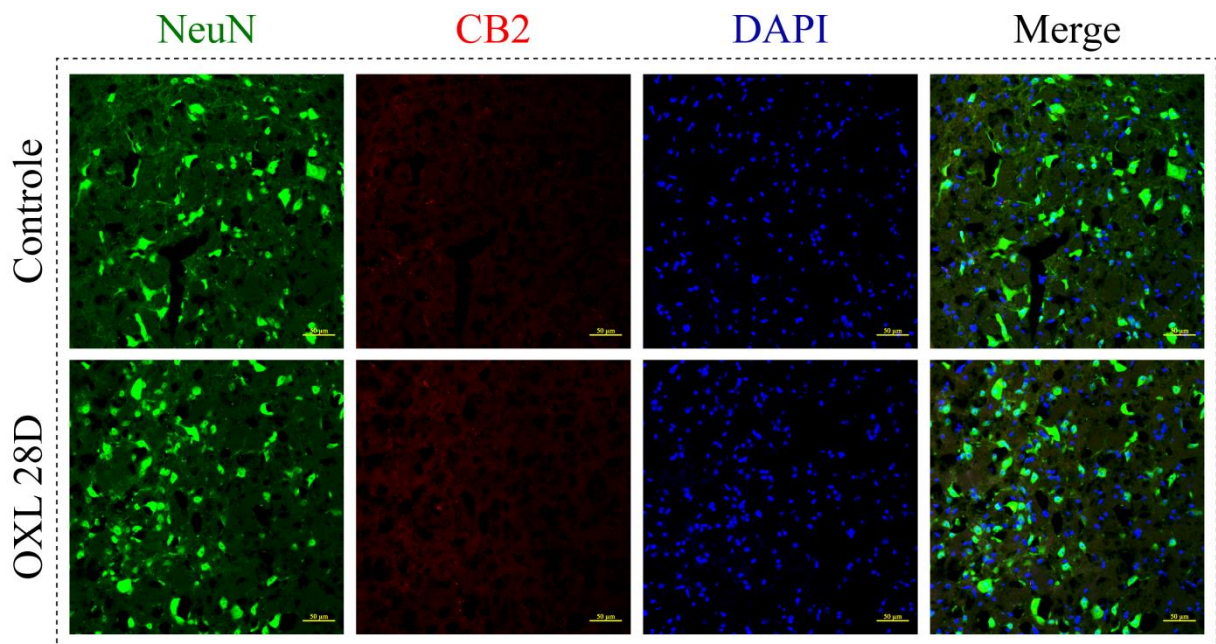
Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) da porcentagem da área fluorescente positiva da expressão de CB1 em comparação com a expressão de NeuN no 28° dia experimental. * $P < 0,05$ versus grupo controle (Teste t não pareado). Abreviações: OXL, oxaliplatina.

Gráfico 10 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB1 trato espinal do trigêmeo (Sp5C) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 56° dia experimental



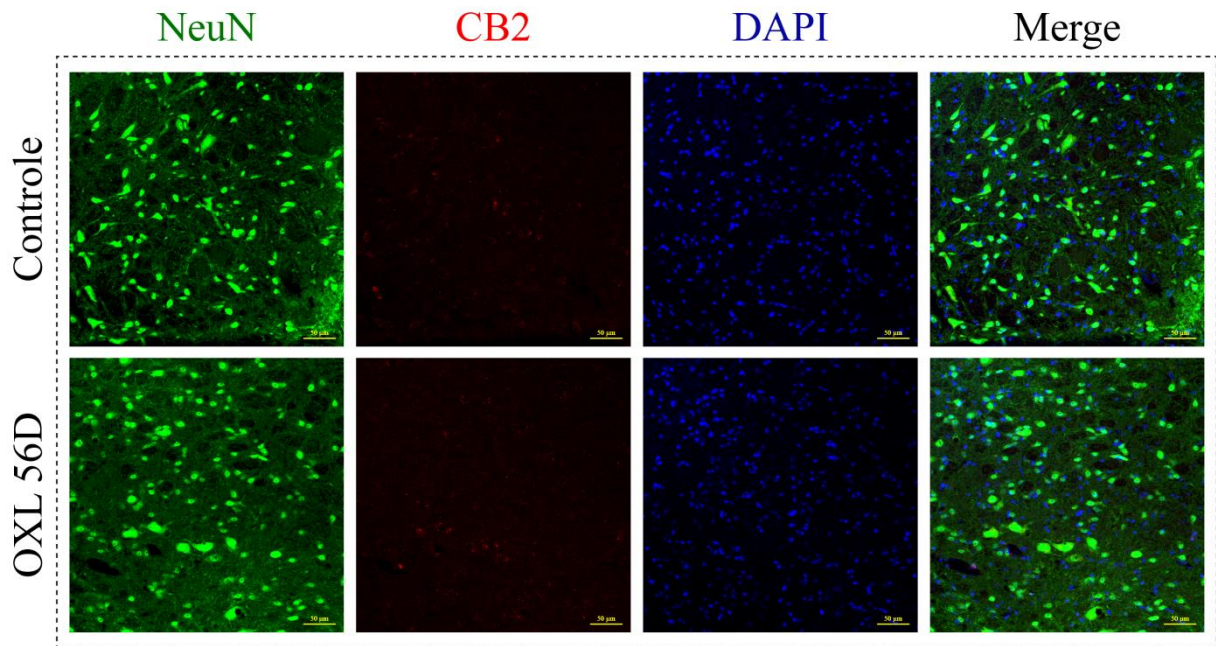
Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) da porcentagem da área fluorescente positiva da expressão de CB1 em comparação com a expressão de NeuN no 56º dia experimental. * $P < 0,05$ versus grupo controle (Teste t não pareado). Abreviações: OXL, oxaliplatina.

Figura 26 – Expressão de CB2 em trato espinal do trigêmeo (Sp5C) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 28º dia experimental



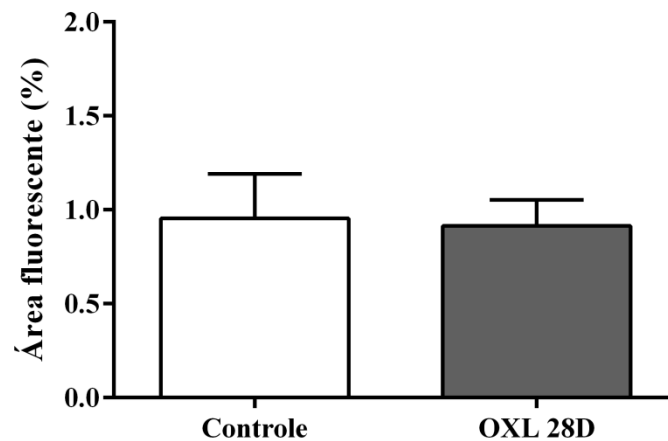
Fonte: dados da pesquisa. Verde: NeuN (marcador neuronal); vermelho: CB2; azul: DAPI (marcador nuclear). Aumento: 200 x. Escala: 50 μm . O trato espinal do trigêmeo (Sp5C) foi coletado no 28º dia experimental. Abreviações: CB2, receptor canabinoide 2; OXL, oxaliplatina.

Figura 27 – Expressão de CB2 em trato espinal do trigêmeo (Sp5C) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 56° dia experimental



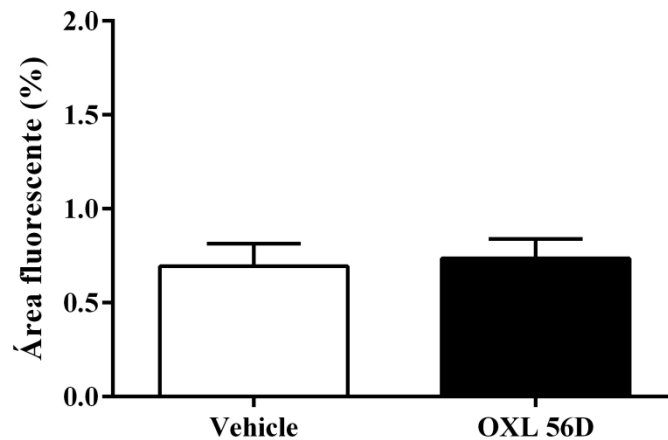
Fonte: dados da pesquisa. Verde: NeuN (marcador neuronal); vermelho: CB2; azul: DAPI (marcador nuclear). Aumento: 200 x. Escala: 50 µm. O trato espinal do trigêmeo (Sp5C) foi coletado no 56° dia experimental. Abreviações: CB2, receptor canabinoide 2; OXL, oxaliplatina.

Gráfico 11 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB2 trato espinal do trigêmeo (Sp5C) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 28° dia experimental



Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) da porcentagem da área fluorescente positiva da expressão de CB2 em comparação com a expressão de NeuN no 28° dia experimental. Teste *t* não pareado. Abreviações: OXL, oxaliplatina.

Gráfico 12 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB2 trato espinhal do trigêmeo (Sp5C) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 56° dia experimental

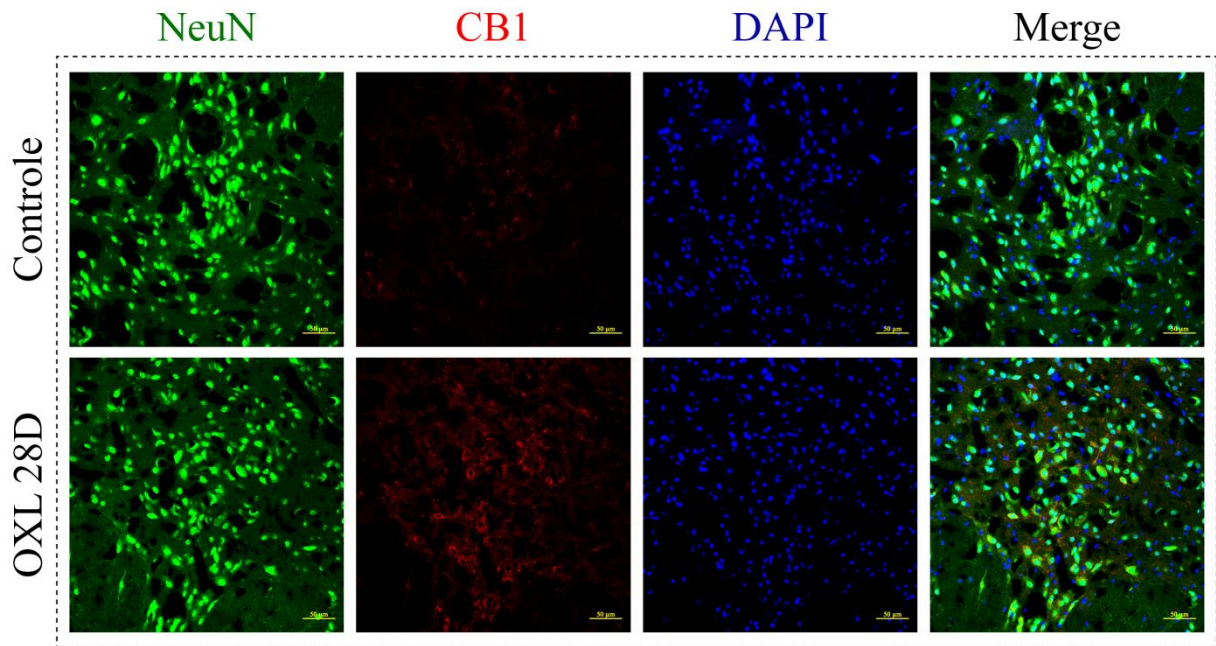


Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) da porcentagem da área fluorescente positiva da expressão de CB2 em comparação com a expressão de NeuN no 56° dia experimental. Teste *t* não pareado. Abreviações: OXL, oxaliplatina.

6.5 Imunofluorescência para os receptores canabinoides CB1 e CB2 em substância cinzenta periaquedural ventrolateral (VLPAG) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

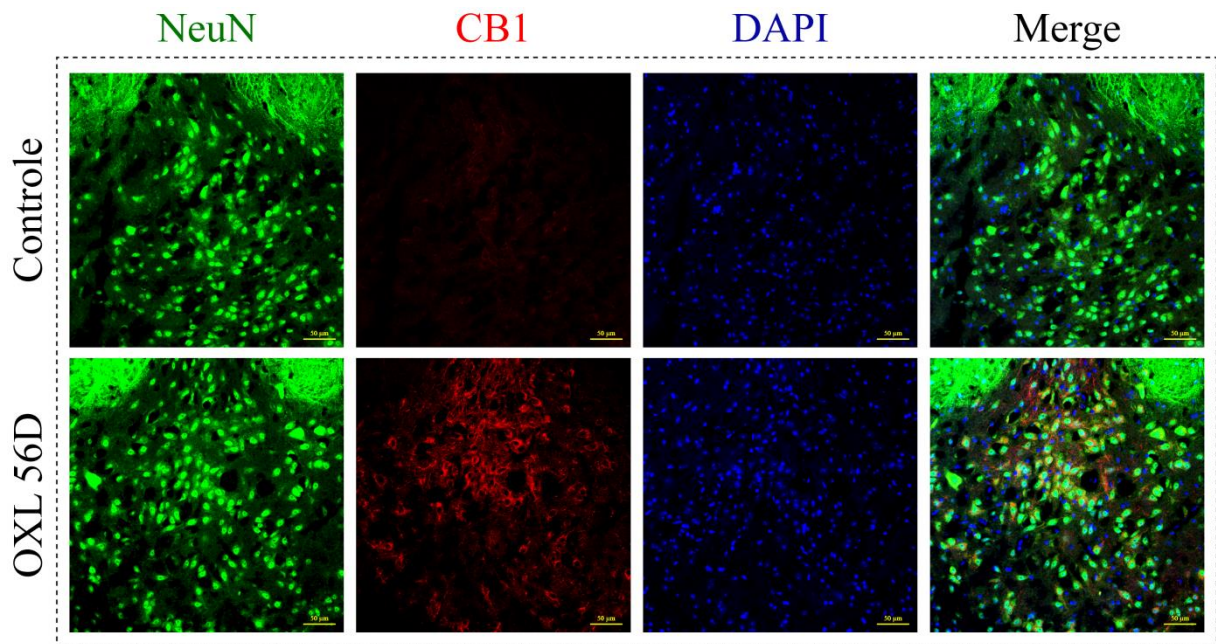
Na imunofluorescência para CB1, a oxaliplatina aumentou consideravelmente a expressão de CB1 ($P < 0,05$; $1,68 \pm 0,17$ %) em células neuronais (marcadas com NeuN), na VLPAG, no 28° dia experimental, em comparação com o grupo controle (CB1: $0,76 \pm 0,09$ %) (FIGURA 28, GRÁFICO 13). Além disso, observou-se que o tratamento com oxaliplatina também aumentou significativamente a expressão de CB1 ($P < 0,05$; $5,32 \pm 0,71$ %) em células neuronais na VLPAG, no 56° dia de experimento, quando relacionado ao grupo controle (CB1: $0,31 \pm 0,09$ %) (FIGURA 29, GRÁFICO 14). Na imunofluorescência para CB2, os resultados mostraram que a oxaliplatina não aumentou a expressão de CB2 ($0,15 \pm 0,02$ %) na VLPAG, no 28° dia experimental, comparando com o grupo controle (CB2: $0,21 \pm 0,04$ %) (FIGURA 30, GRÁFICO 15). No 56° dia experimental, não foi observado também aumento da expressão de CB2 ($1,08 \pm 0,27$ %) na VLPAG, quando comparado ao grupo controle (CB2: $1,47 \pm 0,34$ %) (FIGURA 31, GRÁFICO 16).

Figura 28 – Expressão de CB1 em substância cinzenta periaquedutal ventrolateral (VLPAG) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 28° dia experimental



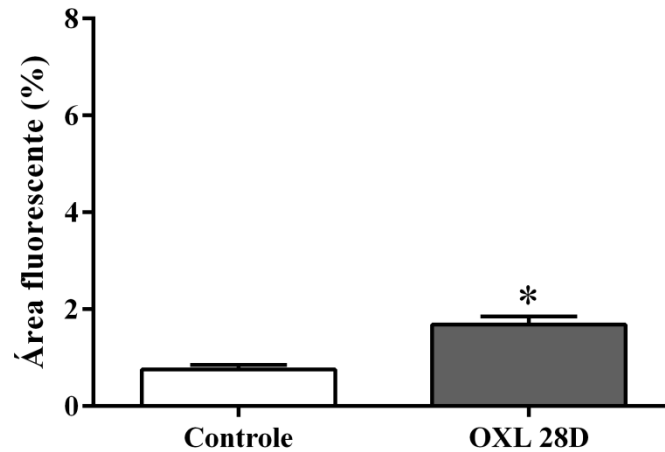
Fonte: dados da pesquisa. Verde: NeuN (marcador neuronal); vermelho: CB1; azul: DAPI (marcador nuclear). Aumento: 200 x. Escala: 50 µm. A VLPAG foi coletada no 28° dia experimental. Abreviações: CB1, receptor canabinoide 1; OXL, oxaliplatina.

Figura 29 – Expressão de CB1 em substância cinzenta periaquedutal ventrolateral (VLPAG) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 56° dia experimental



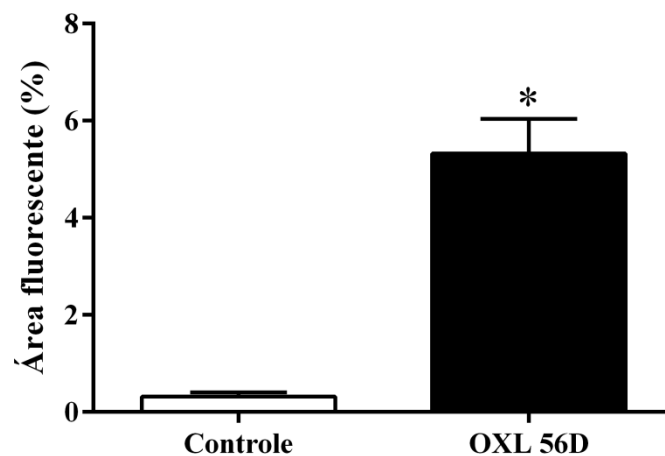
Fonte: dados da pesquisa. Verde: NeuN (marcador neuronal); vermelho: CB1; azul: DAPI (marcador nuclear). Aumento: 200 x. Escala: 50 µm. A VLPAG foi coletada no 56° dia experimental. Abreviações: CB1, receptor canabinoide 1; OXL, oxaliplatina.

Gráfico 13 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB1 em substância cinzenta periaquedutal ventrolateral (VLPAG) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 28° dia experimental



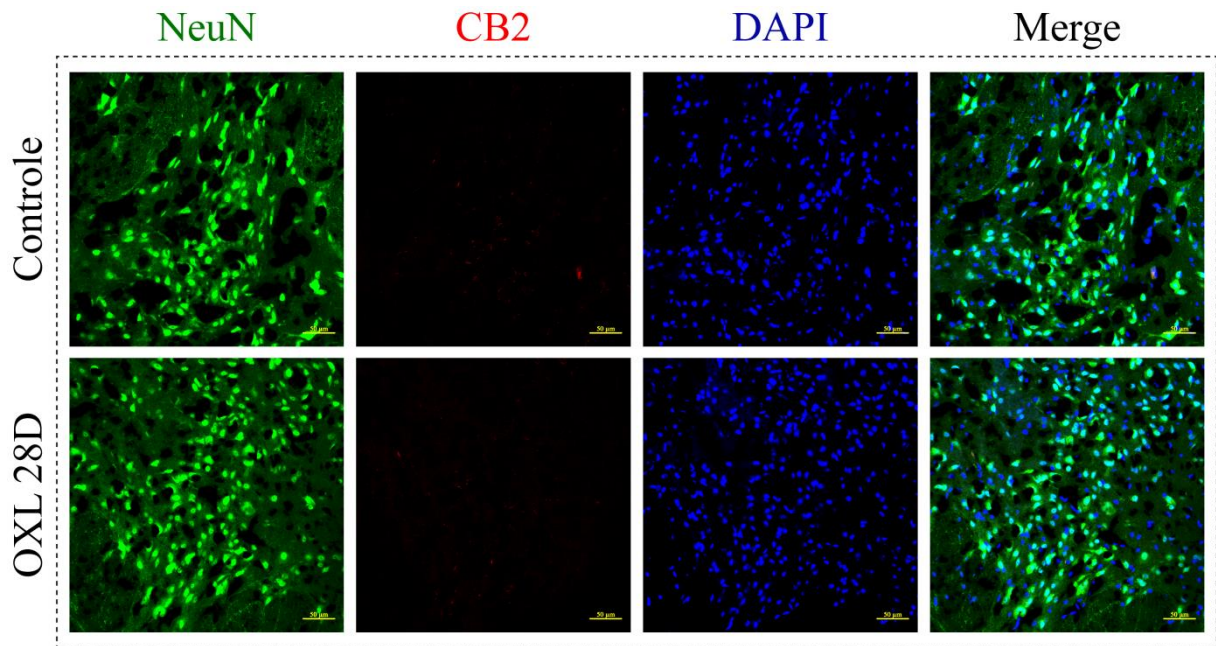
Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) da porcentagem da área fluorescente positiva da expressão de CB1 em comparação com a expressão de NeuN no 28° dia experimental. * $P < 0,05$ versus grupo controle (Teste t não pareado). Abreviações: OXL, oxaliplatina.

Gráfico 14 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB1 em substância cinzenta periaquedutal ventrolateral (VLPAG) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 56° dia experimental



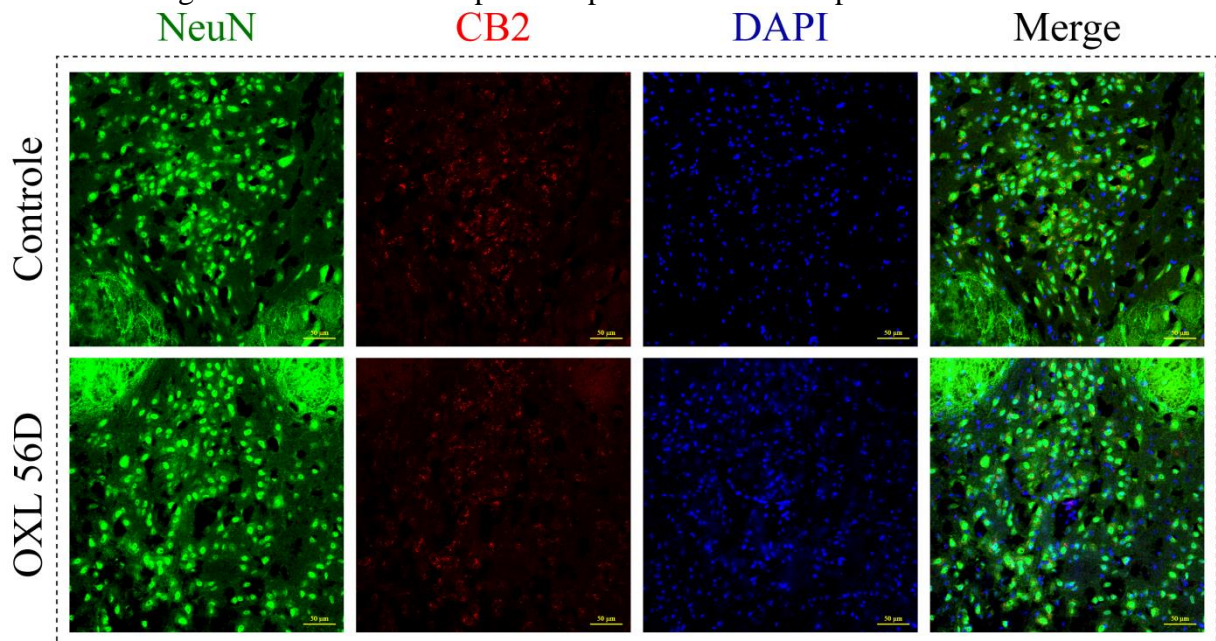
Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) da porcentagem da área fluorescente positiva da expressão de CB1 em comparação com a expressão de NeuN no 56° dia experimental. * $P < 0,05$ versus grupo controle (Teste t não pareado). Abreviações: OXL, oxaliplatina.

Figura 30 – Expressão de CB2 em substância cinzenta periaquedutal ventrolateral (VLPAG) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 28º dia experimental



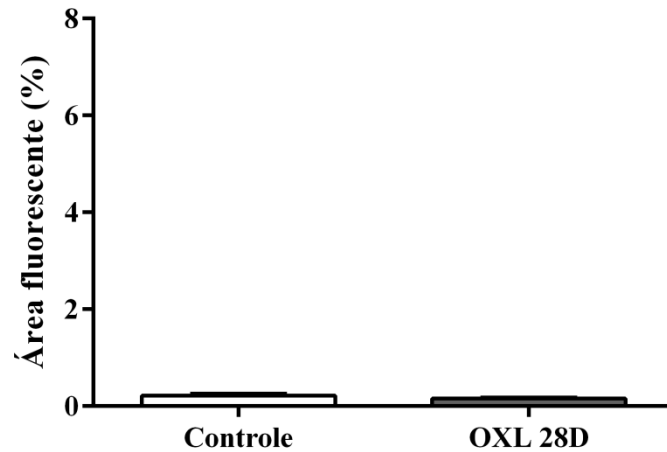
Fonte: dados da pesquisa. Verde: NeuN (marcador neuronal); vermelho: CB2; azul: DAPI (marcador nuclear). Aumento: 200 x. Escala: 50 µm. A VLPAG foi coletada no 28º dia experimental. Abreviações: CB2, receptor canabinoide 2; OXL, oxaliplatina.

Figura 31 – Expressão de CB2 em substância cinzenta periaquedutal ventrolateral (VLPAG) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 56º dia experimental



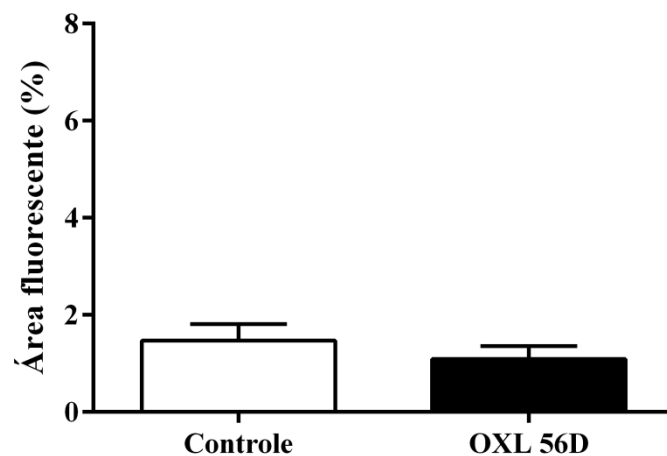
Fonte: dados da pesquisa. Verde: NeuN (marcador neuronal); vermelho: CB2; azul: DAPI (marcador nuclear). Aumento: 200 x. Escala: 50 µm. A VLPAG foi coletada no 56º dia experimental. Abreviações: CB2, receptor canabinoide 2; OXL, oxaliplatina.

Gráfico 15 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB2 em substância cinzenta periaquedutal ventrolateral (VLPAG) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 28° dia experimental



Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) da porcentagem da área fluorescente positiva da expressão de CB2 em comparação com a expressão de NeuN no 56° dia experimental. Teste *t* não pareado. Abreviações: OXL, oxaliplatina.

Gráfico 16 – Quantificação da área fluorescente da expressão de CB2 em substância cinzenta periaquedutal ventrolateral (VLPAG) de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina – 56° dia experimental

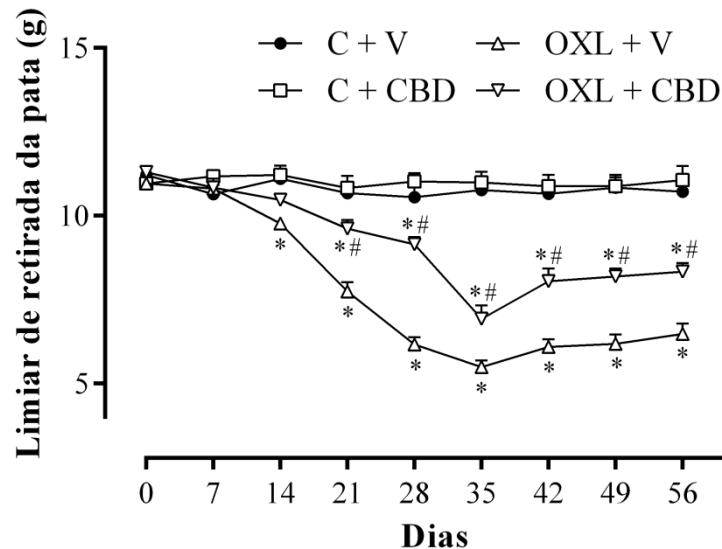


Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) da porcentagem da área fluorescente positiva da expressão de CB2 em comparação com a expressão de NeuN no 56° dia experimental. Teste *t* não pareado. Abreviações: OXL, oxaliplatina.

6.6 Efeito do canabidiol na hiperalgesia mecânica plantar e na alodínia térmica pelo frio de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

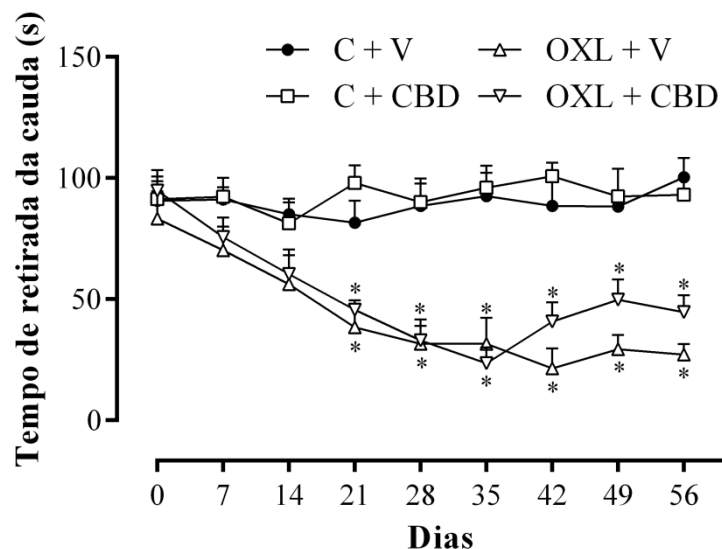
No teste de hiperalgesia mecânica plantar, a oxaliplatina reduziu o limiar de retirada da pata significativamente a partir do 14º dia (12,00 %) até o 56º dia (39,57 %; $P < 0,05$) em comparação com o grupo controle (GRÁFICO 17). No grupo que recebeu oxaliplatina e canabidiol, o início da hiperalgesia mecânica plantar foi adiado para o 21º dia (9,83 %; $P < 0,05$), quando comparado ao grupo controle. O tratamento com canabidiol preveniu parcialmente o comportamento nociceptivo a partir do 21º dia até o 56º dia ($P < 0,05$) em comparação com o grupo o qual foi administrada a oxaliplatina, exercendo seu maior efeito (48,39 %) no 28º dia (GRÁFICO 17). No teste de imersão da cauda em água fria (10 °C), a oxaliplatina diminuiu o tempo de retirada da cauda consideravelmente a partir do 21º dia (52,94 %) até o 56º dia (72,91 %; $P < 0,05$), comparando com o grupo controle (GRÁFICO 18). O canabidiol não foi capaz de prevenir a redução do tempo de retirada da cauda induzida pela oxaliplatina, quando comparado com o grupo que recebeu as injeções de oxaliplatina (GRÁFICO 18).

Gráfico 17 – Efeito do canabidiol na hiperalgesia mecânica plantar de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina



Fonte: dados da pesquisa. O gráfico representa o desenvolvimento de hiperalgesia mecânica plantar em camundongos submetidos à injeção de oxaliplatina (2 mg/kg, iv) e canabidiol (10 mg/kg, vo). Os resultados são expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). * $P < 0,05$ versus C + V; # $P < 0,05$ versus OXL + V (ANOVA de duas vias, pós-teste de Tukey). Abreviações: C, controle; CBD, canabidiol; OXL, oxaliplatina; V, veículo do canabidiol.

Gráfico 18 – Efeito do canabidiol na alodínia térmica pelo frio de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

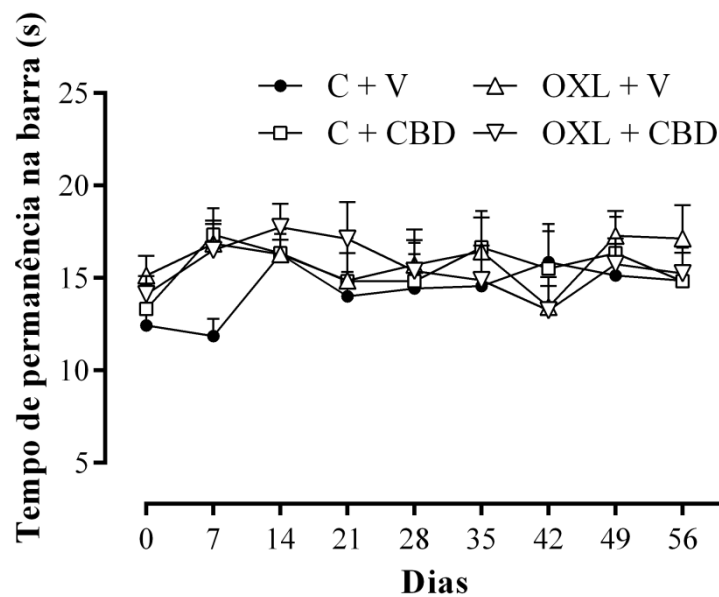


Fonte: dados da pesquisa. O gráfico representa o desenvolvimento de alodínia térmica pelo frio em camundongos submetidos à injeção de oxaliplatina (2 mg/kg, iv) e canabidiol (10 mg/kg, vo). Os resultados são expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). * $P < 0,05$ versus C + V; # $P < 0,05$ versus OXL + V (ANOVA de duas vias, pós-teste de Tukey). Abreviações: C, controle; CBD, canabidiol; OXL, oxaliplatina; V, veículo do canabidiol.

6.7 Avaliação dos efeitos canabimiméticos do canabidiol

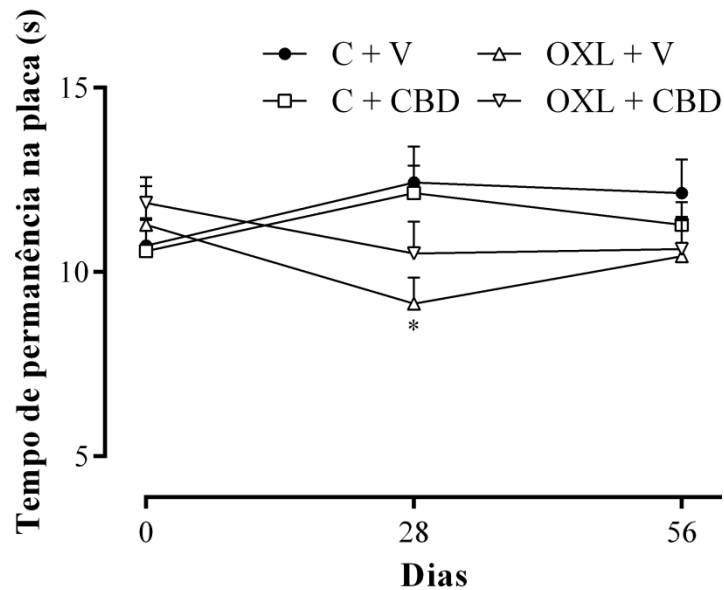
Para avaliar os efeitos canabimiméticos do canabidiol, foram realizados os testes de catalepsia, placa quente e rota-rod. No teste de catalepsia, não houve diferença estatística entre os grupos experimentais (GRÁFICO 19). No teste de placa quente, não houve diferença estatística entre os grupos canabidiol e controle (GRÁFICO 20). Além disso, nesse teste, houve uma redução significativa do tempo de permanência na placa no 28º dia (26,44 %; $P < 0,05$), no grupo que recebeu oxaliplatina, comparando com o grupo controle. O tratamento com canabidiol não preveniu o comportamento nociceptivo dos animais como lambr as patas ou saltar, quando comparado com o grupo que recebeu oxaliplatina (GRÁFICO 20). No teste rota-rod, o canabidiol não interferiu no desempenho motor dos camundongos, quando comparado com o grupo controle (GRÁFICO 21). No grupo controle positivo (diazepam), houve uma diminuição considerável ($P < 0,05$) no tempo de queda dos animais em comparação com o grupo controle (GRÁFICO 21).

Gráfico 19 – Efeito do canabidiol no teste de catalepsia



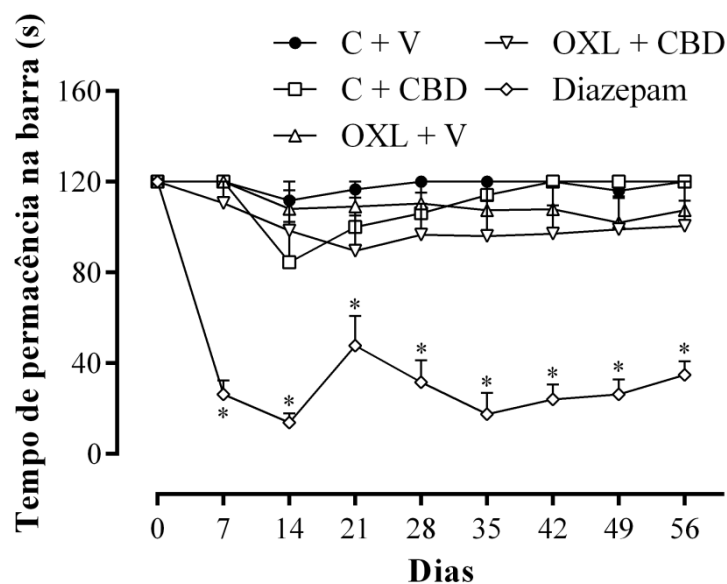
Fonte: dados da pesquisa. O gráfico representa o efeito do canabidiol (10 mg/kg, vo) no teste de catalepsia em camundongos. Os resultados são expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). ANOVA de duas vias, pós-teste de Tukey. Abreviações: C, controle; CBD, canabidiol; OXL, oxaliplatina; V, veículo do canabidiol.

Gráfico 20 – Efeito do canabidiol no teste de placa de quente



Fonte: dados da pesquisa. O gráfico representa o efeito do canabidiol (10 mg/kg, vo) no teste de placa quente em camundongos. Os resultados são expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). * $P < 0,05$ versus C + V (ANOVA de duas vias, pós-teste de Tukey). Abreviações: C, controle; CBD, canabidiol; OXL, oxaliplatina; V, veículo do canabidiol.

Gráfico 21 – Efeito do canabidiol no teste rota-rod

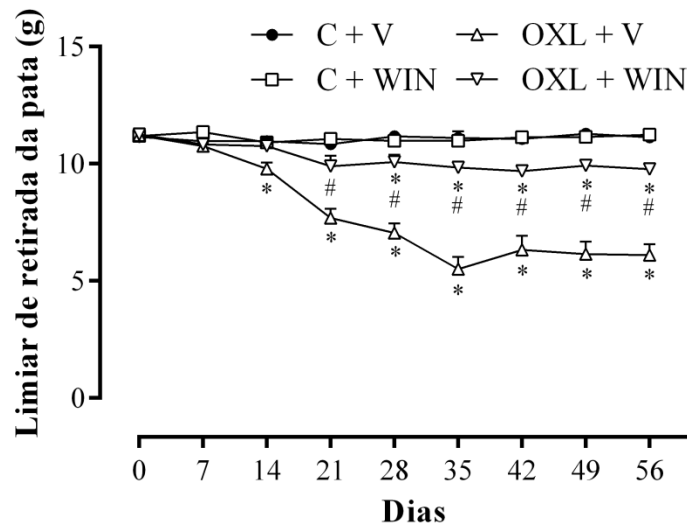


Fonte: dados da pesquisa. O gráfico representa o efeito do canabidiol (10 mg/kg, vo) no desempenho motor de camundongos. Os resultados são expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). * $P < 0,05$ versus C + V (ANOVA de duas vias, pós-teste de Tukey). Abreviações: C, controle; CBD, canabidiol; OXL, oxaliplatina; V, veículo do canabidiol.

6.8 Efeito do WIN 55, 212-2 (agonista não seletivo dos receptores canabinoides) na hiperalgesia mecânica plantar e na alodínia térmica pelo frio de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

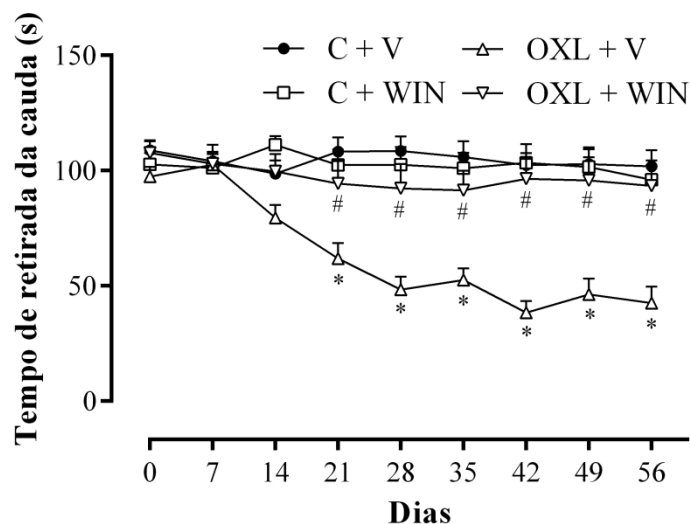
A oxaliplatina reduziu o limiar de retirada da pata consideravelmente a partir do 14º dia (10,79 %) até o 56º dia (45,10 %, $P < 0,05$), quando comparado com o grupo controle (GRÁFICO 22). WIN 55, 212-2 adiou o início do comportamento de hiperalgesia para o 28º dia (9,84 %; $P < 0,05$), comparando com o grupo controle (GRÁFICO 22). WIN 55, 212-2 preveniu essa redução parcialmente a partir do 28º dia até o 56º dia ($P < 0,05$), exercendo um efeito mais pronunciado no 35º dia (78,53 %, $P < 0,05$), comparando com o grupo oxaliplatina (GRÁFICO 22). A oxaliplatina provocou um decréscimo significativo do tempo de retirada da cauda em água fria (10° C) do 21º dia (42,86 %) ao 56º dia (58,27 %, $P < 0,05$), comparando com o grupo controle (GRÁFICO 23). O tratamento com WIN 55, 212-2 foi capaz de inibir essa diminuição de forma significativa do 21º dia até o 56º dia ($P < 0,05$), exercendo um maior efeito no 42º dia (151,28 %, $P < 0,05$), comparando com o grupo o qual recebeu oxaliplatina (GRÁFICO 23).

Gráfico 22 – Efeito do WIN 55, 212-2 na hiperalgesia mecânica plantar de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina



Fonte: dados da pesquisa. O gráfico representa o desenvolvimento de hiperalgesia mecânica plantar em camundongos submetidos à injeção de oxaliplatina (2 mg/kg, iv) e WIN 55, 212-2 (0,5 mg/kg, sc). Os resultados são expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). * $P < 0,05$ versus C + V; # $P < 0,05$ versus OXL + V (ANOVA de duas vias, pós-teste de Tukey). Abreviações: C, controle; OXL, oxaliplatina; V, veículo do WIN 55, 212-2; WIN, WIN 55, 212-2.

Gráfico 23 – Efeito do WIN 55, 212-2 na alodínia térmica pelo frio de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

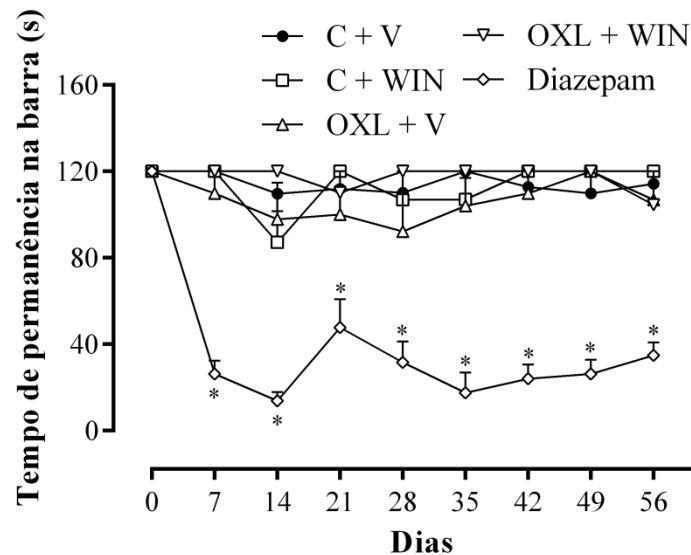


Fonte: dados da pesquisa. O gráfico representa o desenvolvimento de alodínia térmica pelo frio em camundongos submetidos à injeção de oxaliplatina (2 mg/kg, iv) e WIN 55, 212-2 (0,5 mg/kg, sc). Os resultados são expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). * $P < 0,05$ versus C + V; # $P < 0,05$ versus OXL + V (ANOVA de duas vias, pós-teste de Tukey). Abreviações: C, controle; OXL, oxaliplatina; V, veículo do WIN 55, 212-2; WIN, WIN 55, 212-2.

6.9 Efeito do WIN 55, 212-2 (agonista não seletivo dos receptores canabinoides) no desempenho motor de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

No teste de rota-rod, os resultados mostraram que não houve diferença estatística entre os grupos experimentais. No grupo que recebeu diazepam (controle positivo), ocorreu uma redução significativa ($P < 0,05$) na latência de queda dos camundongos, quando comparado ao grupo controle (GRÁFICO 24).

Gráfico 24 – Efeito do WIN 55, 212-2 no desempenho motor de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

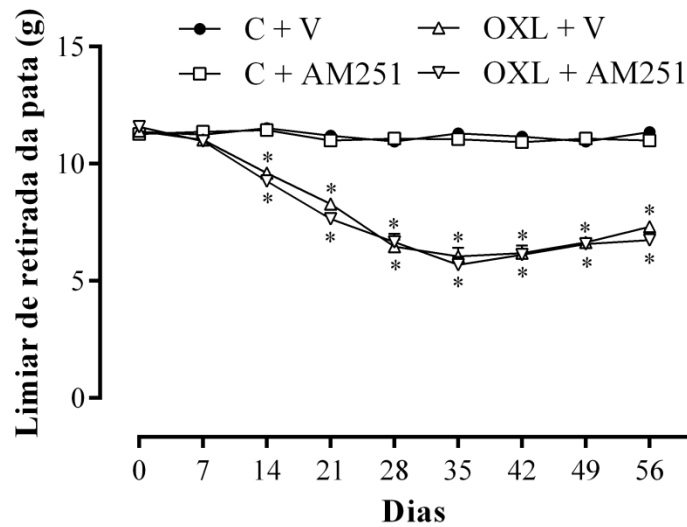


Fonte: dados da pesquisa. O gráfico representa o desempenho motor de camundongos submetidos à injeção de oxaliplatina (2 mg/kg, iv) e WIN 55, 212-2 (0,5 mg/kg, sc). Os resultados são expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). * $P < 0,05$ versus C + V; # $P < 0,05$ versus OXL + V (ANOVA de duas vias, pós-teste de Tukey). Abreviações: C, controle; OXL, oxaliplatina; V, veículo do WIN 55, 212-2; WIN, WIN 55, 212-2.

6.10 Efeito do AM251 (antagonista seletivo do receptor canabinoide 1) na hiperalgesia mecânica plantar e na alodínia pelo frio de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

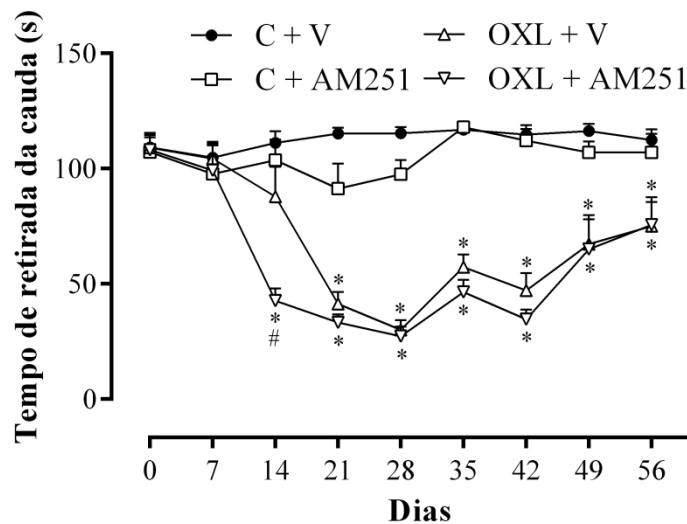
No grupo que recebeu a administração de oxaliplatina, houve uma redução significativa do limiar de retirada da pata no 14º dia (16,59 %) até o 56º dia (35,59 %, $P < 0,05$), comparando com o grupo controle (GRÁFICO 25). O tratamento com AM251 não alterou o comportamento nociceptivo dos camundongos causado pelas injeções de oxaliplatina (GRÁFICO 25). A oxaliplatina provocou uma diminuição considerável do tempo de retirada da cauda em temperatura não nociva (10 °C) do 21º dia (64,07 %) ao 56º dia (33,29 %, $P < 0,05$), comparado ao grupo controle (GRÁFICO 26). A injeção de AM251 antecipou significativamente o início do comportamento de alodínia ao frio para o 14º dia (61,57 %, $P < 0,05$) no grupo tratado com oxaliplatina (GRÁFICO 26).

Gráfico 25 – Efeito do AM251 na hiperalgesia mecânica plantar de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina



Fonte: dados da pesquisa. O gráfico representa o desenvolvimento de hiperalgesia mecânica plantar em camundongos submetidos à injeção de oxaliplatina (2 mg/kg, iv) e AM251 (3 mg/kg, ip). Os resultados são expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). * $P < 0,05$ versus C + V (ANOVA de duas vias, pós-teste de Tukey). Abreviações: AM251, antagonista seletivo do receptor canabinoide 1; C, controle; OXL, oxaliplatina; V, veículo do AM251.

Gráfico 26 – Efeito do AM251 na alodínia térmica pelo frio de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

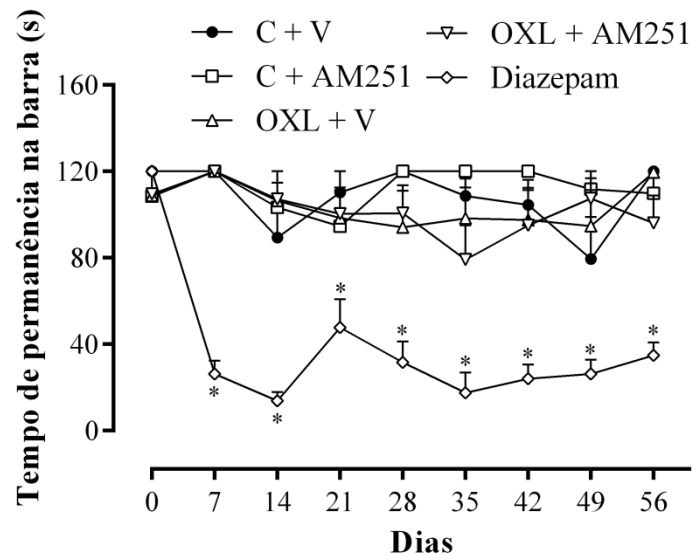


Fonte: dados da pesquisa. O gráfico representa o desenvolvimento de alodínia térmica pelo frio em camundongos submetidos à injeção de oxaliplatina (2 mg/kg, iv) e AM251 (3 mg/kg, ip). Os resultados são expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). * $P < 0,05$ versus C + V; # $P < 0,05$ versus OXL + V (ANOVA de duas vias, pós-teste de Tukey). Abreviações: AM251, antagonista seletivo do receptor canabinoide 1; C, controle; OXL, oxaliplatina; V, veículo do AM251.

6.11 Efeito do AM251 (antagonista seletivo do receptor canabinoide 1) no desempenho motor de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

Os resultados obtidos mostraram que não houve diferença estatística entre os grupos experimentais (GRÁFICO 27). No grupo controle positivo (diazepam) foi observado uma diminuição significativamente estatística ($P < 0,05$) na latência de queda dos animais em comparação com o grupo controle (GRÁFICO 27).

Gráfico 27 – Efeito do AM251 no desempenho motor de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

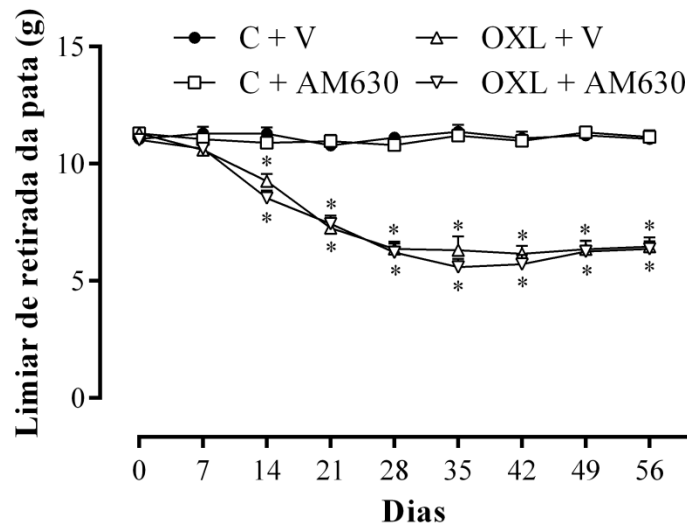


Fonte: dados da pesquisa. O gráfico representa o desempenho motor de camundongos submetidos à injeção de oxaliplatina (2 mg/kg, iv) e AM251 (3 mg/kg, ip). Os resultados são expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). * $P < 0,05$ versus C + V (ANOVA de duas vias, pós-teste de Tukey). Abreviações: AM251, antagonista seletivo do receptor canabinoide 1; C, controle; OXL, oxaliplatina; V, veículo do AM251.

6.12 Efeito do AM630 (antagonista seletivo do receptor canabinoide 2) na hiperalgesia mecânica plantar e na alodínia térmica pelo frio de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

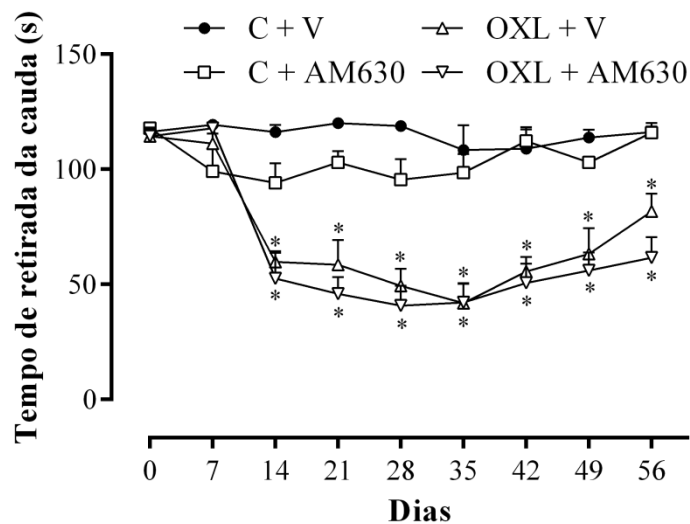
A oxaliplatina promoveu uma redução significativamente estatística do limiar de retirada da pata a partir do 14º dia (18,02 %) até o 56º dia (41,51 %, $P < 0,05$), comparando com o grupo controle (GRÁFICO 28). O tratamento com AM630 não foi capaz de inibir esse decréscimo do limiar de retirada da pata induzido pela oxaliplatina (GRÁFICO 28). A oxaliplatina, no teste de imersão da cauda em fria (10 °C), reduziu o tempo de retirada da cauda a partir 14º dia (48,47 %) até o 56º dia (29,66 %, $P < 0,05$), quando comparado ao grupo controle (GRÁFICO 29). A administração do AM630 não influenciou no decréscimo do tempo de retirada da cauda provocado pelo tratamento com oxaliplatina (GRÁFICO 29).

Gráfico 28 – Efeito do AM630 na hiperalgesia mecânica plantar de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina



Fonte: dados da pesquisa. O gráfico representa o desenvolvimento de hiperalgesia mecânica plantar em camundongos submetidos à injeção de oxaliplatina (2 mg/kg, iv) e AM630 (3 mg/kg, ip). Os resultados são expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). * $P < 0,05$ versus C + V (ANOVA de duas vias, pós-teste de Tukey). Abreviações: AM630, antagonista seletivo do receptor canabinoide 2; C, controle; OXL, oxaliplatina; V, veículo do AM630.

Gráfico 29 – Efeito do AM630 na alodínia térmica pelo frio de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

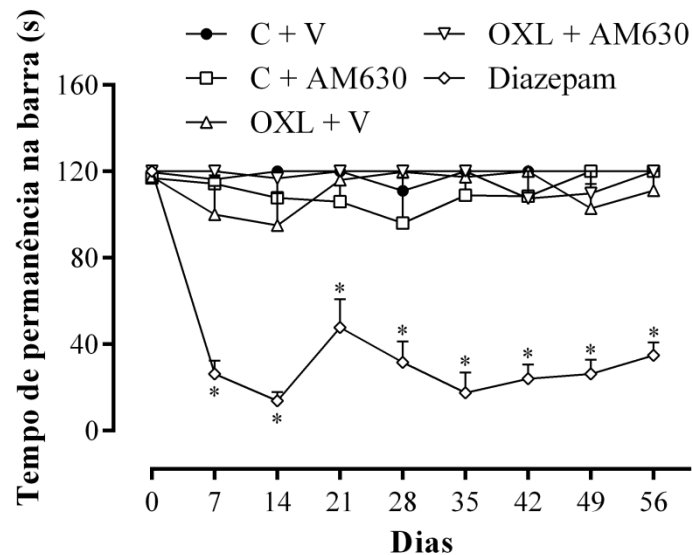


Fonte: dados da pesquisa. O gráfico representa o desenvolvimento de alodínia térmica pelo frio em camundongos submetidos à injeção de oxaliplatina (2 mg/kg, iv) e AM630 (3 mg/kg, ip). Os resultados são expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). * $P < 0,05$ versus C + V (ANOVA de duas vias, pós-teste de Tukey). Abreviações: AM630, antagonista seletivo do receptor canabinoide 2; C, controle; OXL, oxaliplatina; V, veículo do AM630.

6.13 Efeito do AM630 (antagonista seletivo do receptor canabinoide 2) no desempenho motor de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

Os resultados obtidos no teste de rota-rod mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais (GRÁFICO 30). O grupo que recebeu diazepam (controle positivo) apresentou uma significativa diminuição ($P < 0,05$) no tempo de queda dos animais em comparação com o grupo controle (GRÁFICO 30).

Gráfico 30 – Efeito do AM630 no desempenho motor de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

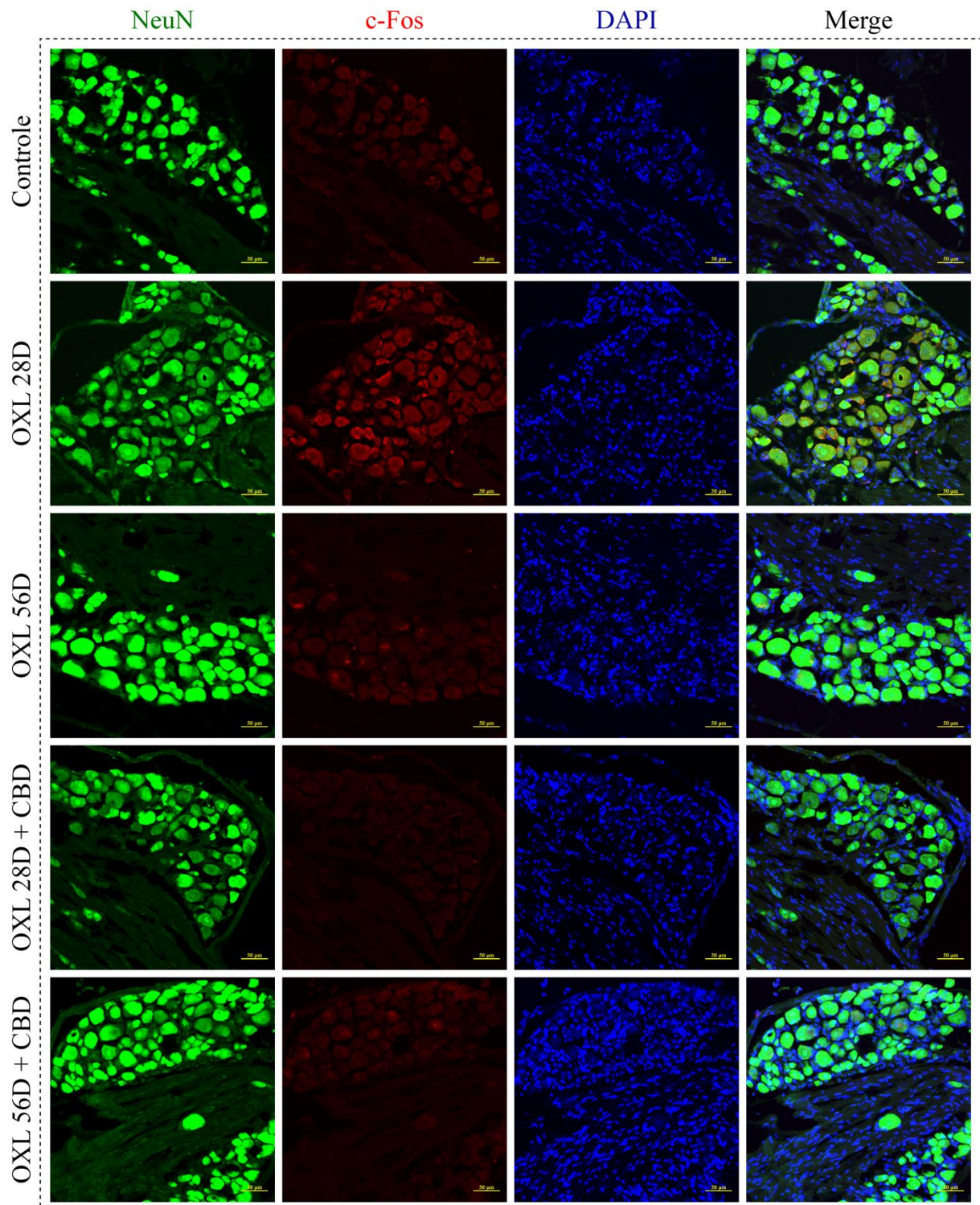


Fonte: dados da pesquisa. O gráfico representa o desempenho motor de camundongos submetidos à injeção de oxaliplatina (2 mg/kg, iv) e AM630 (3 mg/kg, ip). Os resultados são expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). * $P < 0,05$ versus C + V (ANOVA de duas vias, pós-teste de Tukey). Abreviações: AM630, antagonista seletivo do receptor canabinoide 2; C, controle; OXL, oxaliplatina; V, veículo do AM630.

6.14 Efeito do canabidiol e WIN 55, 212-2 na expressão de c-Fos em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

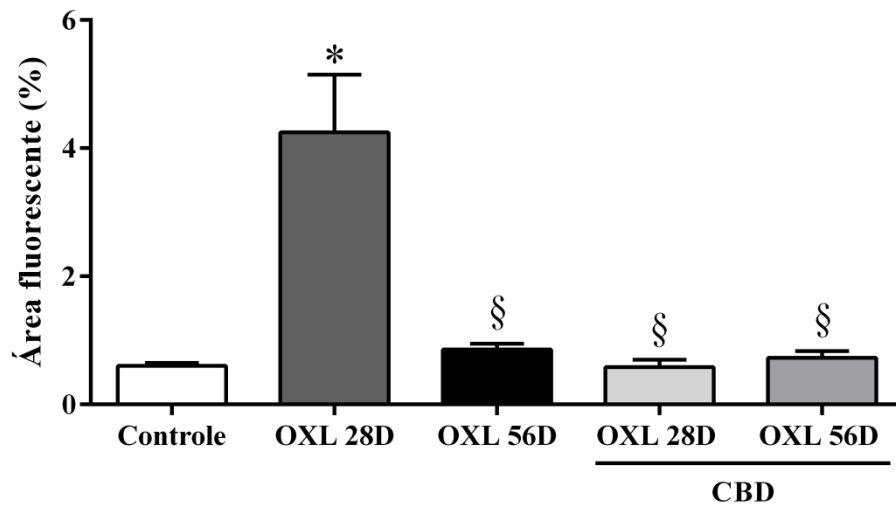
Os resultados mostraram que houve um aumento considerável da expressão de c-Fos ($4,25 \pm 0,90$ %; $P < 0,05$), no 28º dia experimental, em células neuronais (marcadas com NeuN no gânglio da raiz dorsal de camundongos que receberam as injeções de oxaliplatina, quando comparado com o grupo controle (c-Fos: $0,60 \pm 0,05$ %) (FIGURA 32, GRÁFICO 31). O tratamento com canabidiol foi capaz de prevenir significativamente o aumento da expressão de c-Fos ($0,58 \pm 0,11$ %), no gânglio da raiz dorsal, provocado pela oxaliplatina no 28º dia experimental (c-Fos: $4,25 \pm 0,9$ %) (FIGURA 33, GRÁFICO 31). Além disso, o agonista não seletivo dos receptores canabinoides (WIN 55, 212-2) também preveniu de forma significativa ($0,47 \pm 0,08$ %; $P < 0,05$) esse aumento da expressão de c-Fos induzido pela oxaliplatina, no gânglio da raiz dorsal, no 28º dia de experimento (FIGURA 33, GRÁFICO 32).

Figura 32 – Efeito do canabidiol na expressão de c-Fos em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina



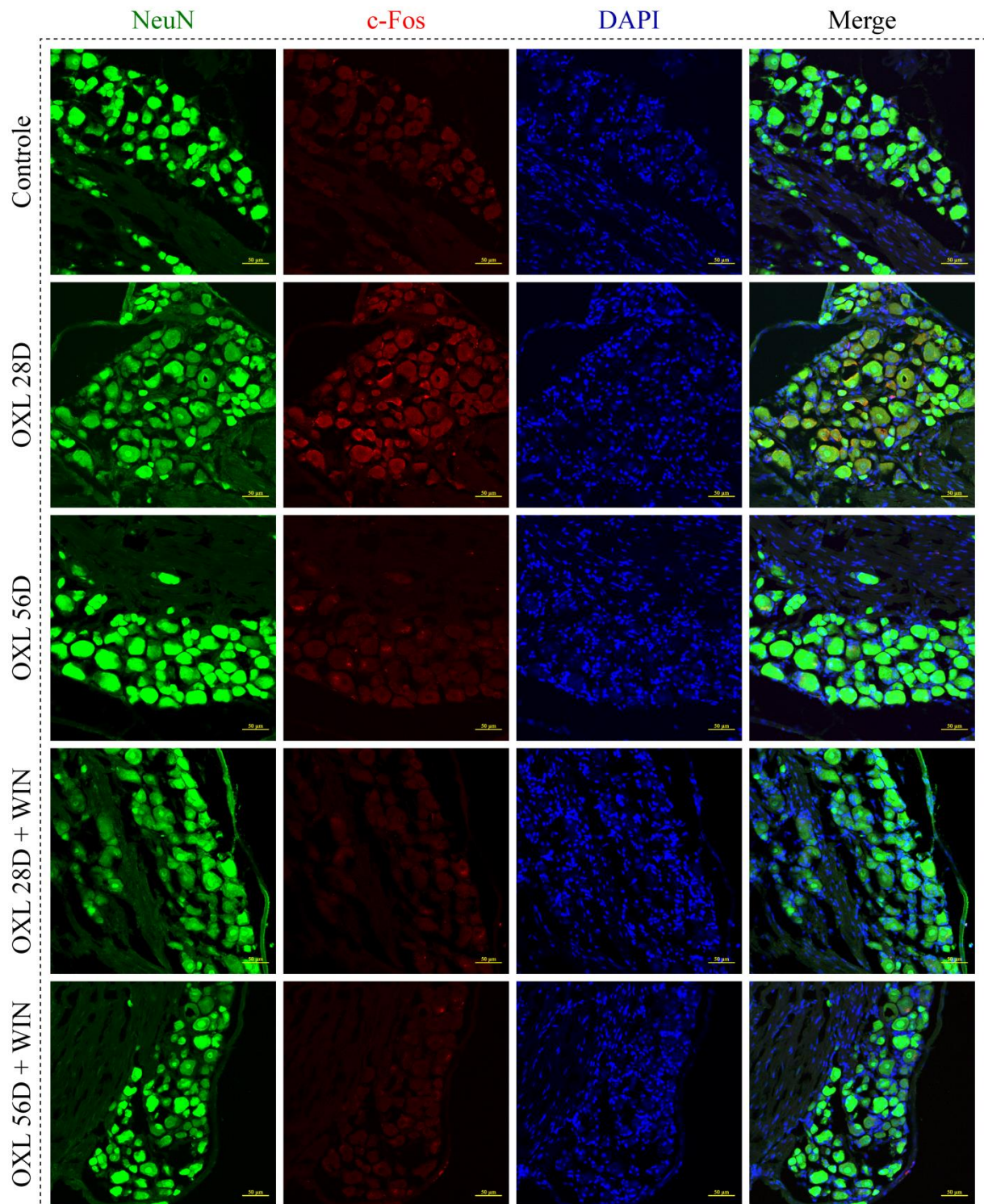
Fonte: dados da pesquisa. Verde: NeuN (marcador neuronal); vermelho: c-Fos; azul: DAPI (marcador nuclear). Aumento: 200 x. Escala: 50 µm. Os gânglios da raiz dorsal (L4 – L6) foram coletados nos 28º ou 56º dias experimentais. Abreviações: CBD, canabidiol; OXL, oxaliplatina.

Gráfico 31 – Quantificação da área fluorescente da expressão de c-Fos em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina que receberam canabidiol



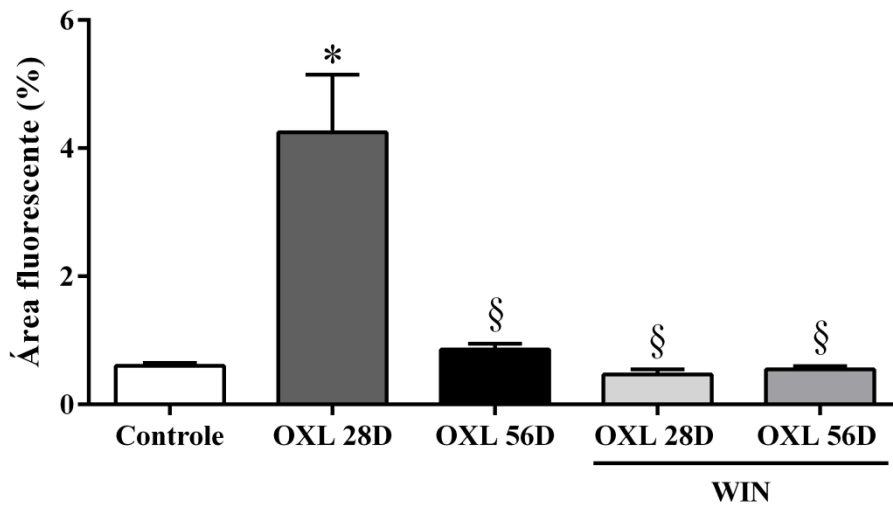
Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) da porcentagem da área fluorescente positiva da expressão de c-Fos em comparação à expressão de NeuN nos 28° e 56° dias experimentais. * $P < 0,05$ versus grupo controle; § $P < 0,05$ versus grupo oxaliplatina (ANOVA de uma via, pós-teste de Tukey). Abreviações: CBD, canabidiol; OXL, oxaliplatina.

Figura 33 – Efeito do WIN 55, 212-2 na expressão de c-Fos em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina



Fonte: dados da pesquisa. Verde: NeuN (marcador neuronal); vermelho: c-Fos; azul: DAPI (marcador nuclear). Aumento: 200 x. Escala: 50 μm. Os gânglios da raiz dorsal (L4 – L6) foram coletados nos 28^o ou 56^o dias experimentais. Abreviações: WIN, WIN 55, 212-2; OXL, oxaliplatina.

Gráfico 32 – Quantificação da área fluorescente da expressão de c-Fos em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina que receberam WIN 55, 212-2

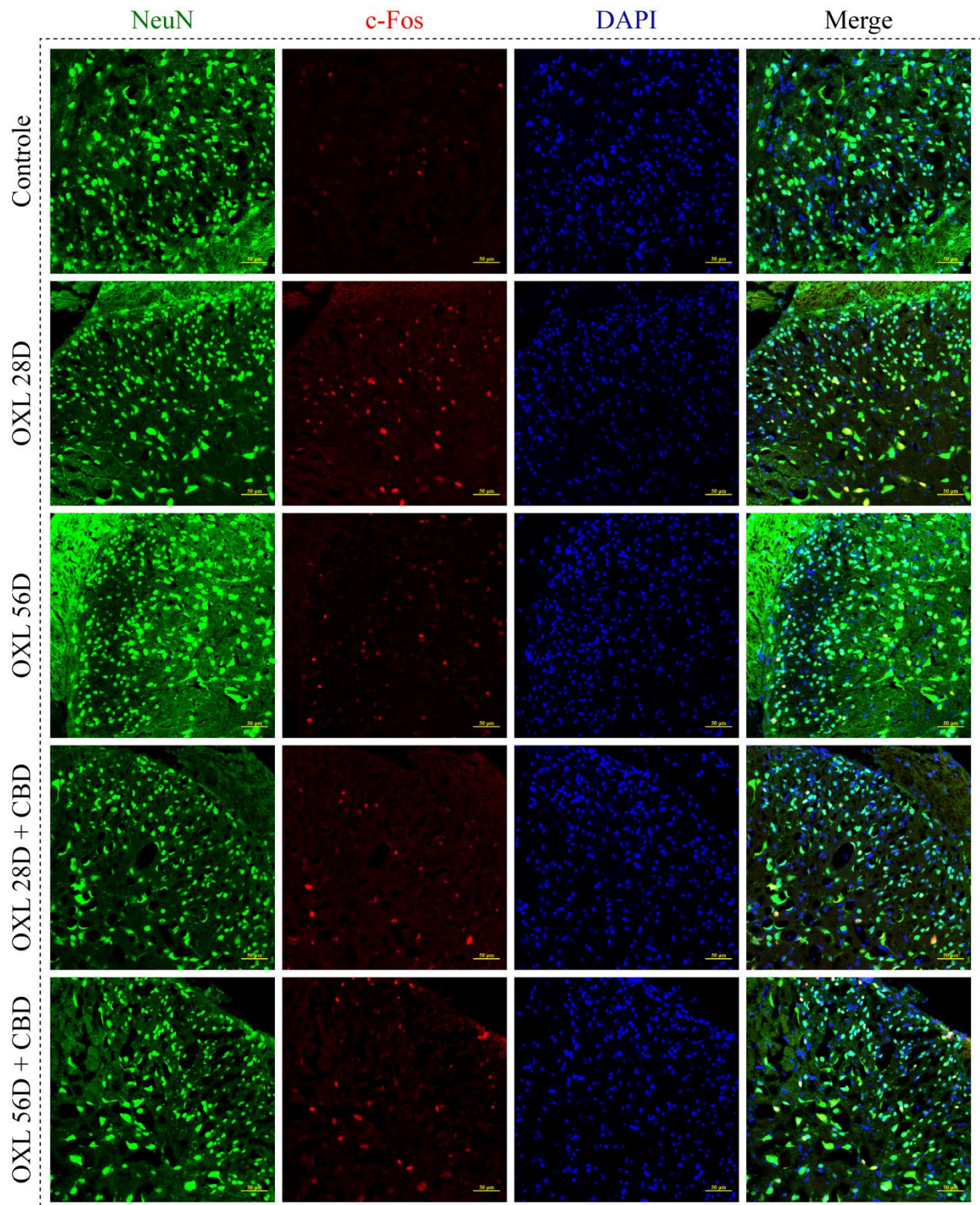


Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) da porcentagem da área fluorescente positiva da expressão de c-Fos em comparação à expressão de NeuN nos 28° e 56° dias experimentais. * $P < 0,05$ versus grupo controle; § $P < 0,05$ versus grupo oxaliplatina (ANOVA de uma via, pós-teste de Tukey). Abreviações: WIN, WIN 55, 212-2; OXL, oxaliplatina.

6.15 Efeito do canabidiol e WIN 55, 212-2 na expressão de c-Fos em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

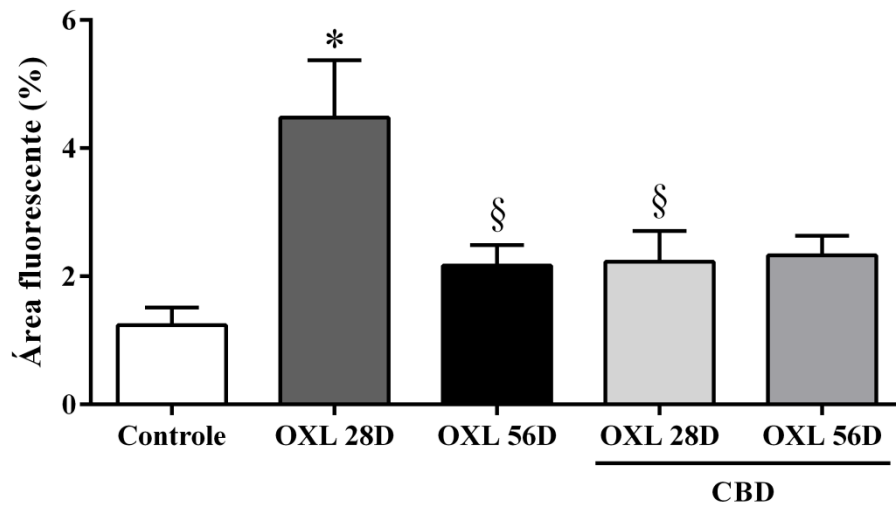
No 28° dia experimental, a administração de oxaliplatina provocou um aumento estatisticamente significativo da expressão de c-Fos ($4,48 \pm 0,90$ %; $P < 0,05$) em células neuronais (marcadas com NeuN) no corno dorsal da medula espinhal em relação ao grupo controle (c-Fos: $1,24 \pm 0,27$ %) (FIGURA 34, GRÁFICO 33). No 56° dia experimental, não foi observado um aumento significativo da expressão de c-Fos ($2,17 \pm 0,32$ %), no corno dorsal da medula espinhal, quando correlacionado ao grupo controle (c-Fos: $1,24 \pm 0,27$ %) (FIGURA 34, GRÁFICO 33). O canabidiol preveniu consideravelmente o aumento da expressão de c-Fos ($2,23 \pm 0,48$ %; $P < 0,05$) induzido pela oxaliplatina, no corno dorsal da medula espinhal, no 28° dia experimental (c-Fos: $4,48 \pm 0,90$ %) (FIGURA 34, GRÁFICO 33). Além disso, os resultados mostraram que o tratamento com WIN 55, 212-2 também preveniu o aumento da expressão de c-Fos ($0,66 \pm 0,16$ %; $P < 0,05$) no corno dorsal da medula espinhal, quando comparado ao grupo que recebeu apenas oxaliplatina, no 28° dia experimental (c-Fos: $4,48 \pm 0,90$ %) (FIGURA 35, GRÁFICO 34).

Figura 34 – Efeito do canabidiol na expressão de c-Fos em medula espinal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina



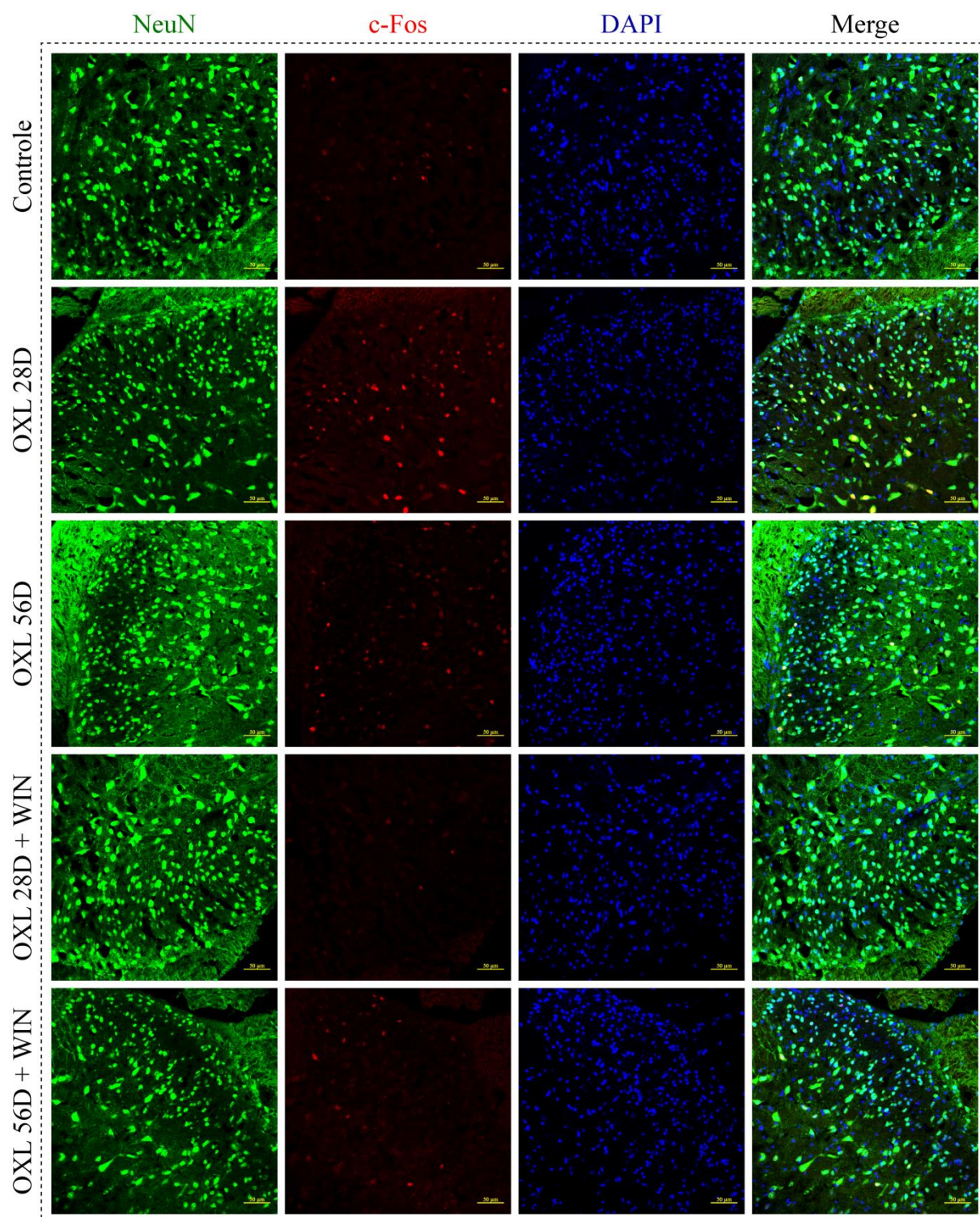
Fonte: dados da pesquisa. Verde: NeuN (marcador neuronal); vermelho: c-Fos; azul: DAPI (marcador nuclear). Aumento: 200 x. Escala: 50 µm. A medula espinal foi coletada nos dias experimentais 28 ou 56. Abreviações: CBD, canabidiol; OXL, oxaliplatina.

Gráfico 33 – Quantificação da área fluorescente da expressão de c-Fos em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina que receberam canabidiol



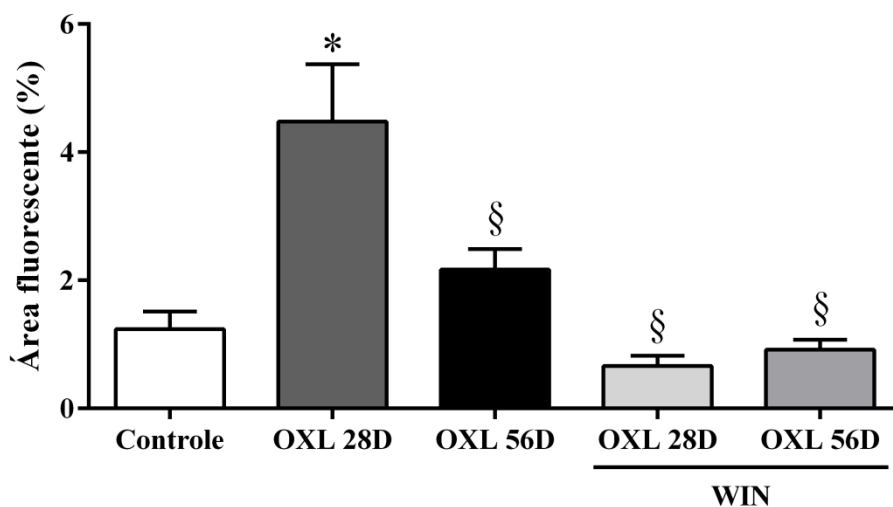
Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) da porcentagem da área fluorescente positiva da expressão de c-Fos em comparação à expressão de NeuN nos 28° e 56° dias experimentais. * $P < 0,05$ versus grupo controle; § $P < 0,05$ versus grupo oxaliplatina (ANOVA de uma via, pós-teste de Tukey). Abreviações: CBD, canabidiol; OXL, oxaliplatina.

Figura 35 – Efeito do WIN 55, 212-2 na expressão de c-Fos em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina



Fonte: dados da pesquisa. Verde: NeuN (marcador neuronal); vermelho: c-Fos; azul: DAPI (marcador nuclear). Aumento: 200 x. Escala: 50 µm. A medula espinhal foi coletada nos dias experimentais 28 ou 56. Abreviações: WIN, WIN 55, 212-2; OXL, oxaliplatina.

Gráfico 34 – Quantificação da área fluorescente da expressão de c-Fos em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina que receberam WIN 55, 212-2

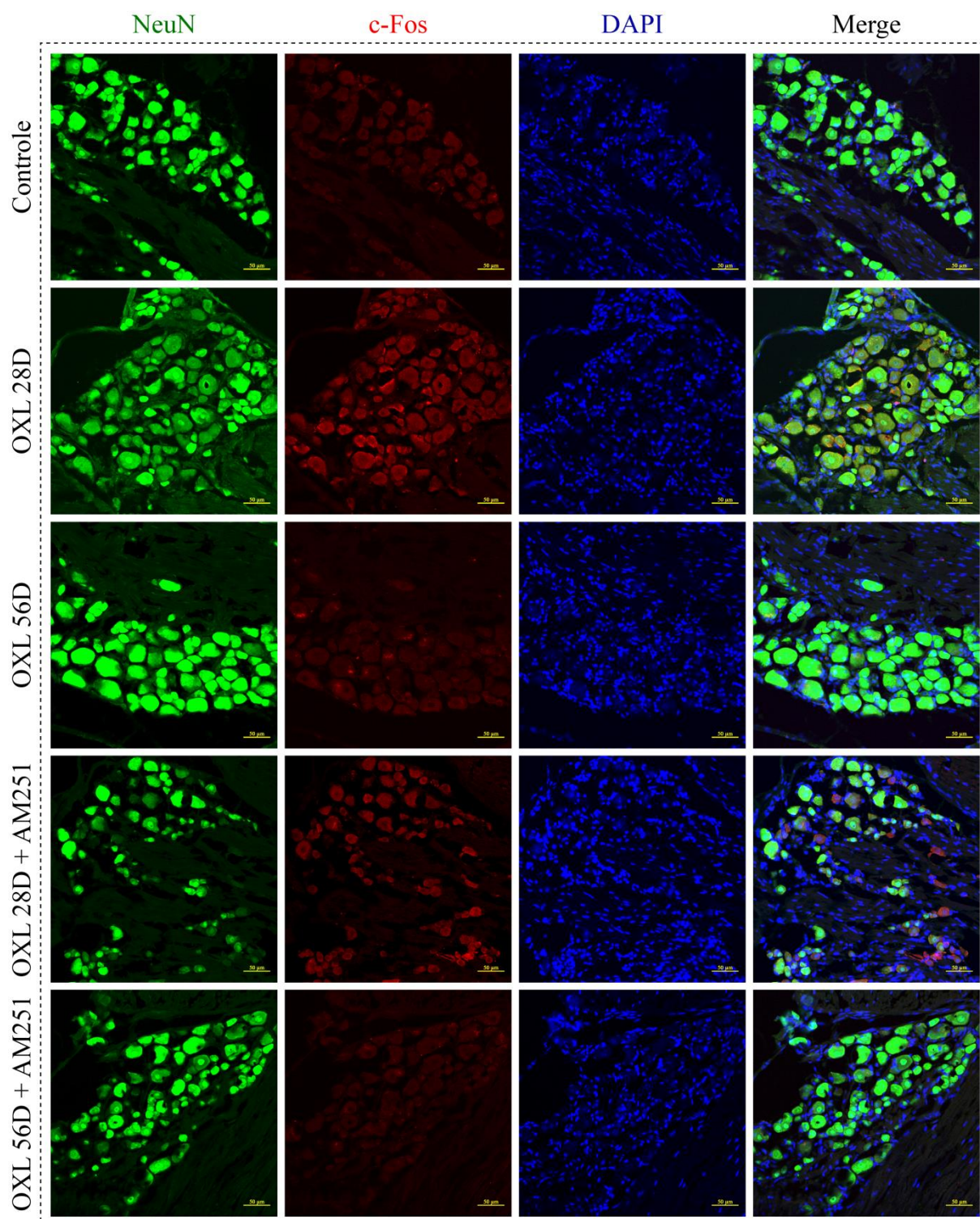


Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) da porcentagem da área fluorescente positiva da expressão de c-Fos em comparação à expressão de NeuN nos 28° e 56° dias experimentais. * $P < 0,05$ versus grupo controle; § $P < 0,05$ versus grupo oxaliplatina (ANOVA de uma via, pós-teste de Tukey). Abreviações: WIN, WIN 55, 212-2; OXL, oxaliplatina.

6.16 Efeito do AM251 e AM630 na expressão de c-Fos em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

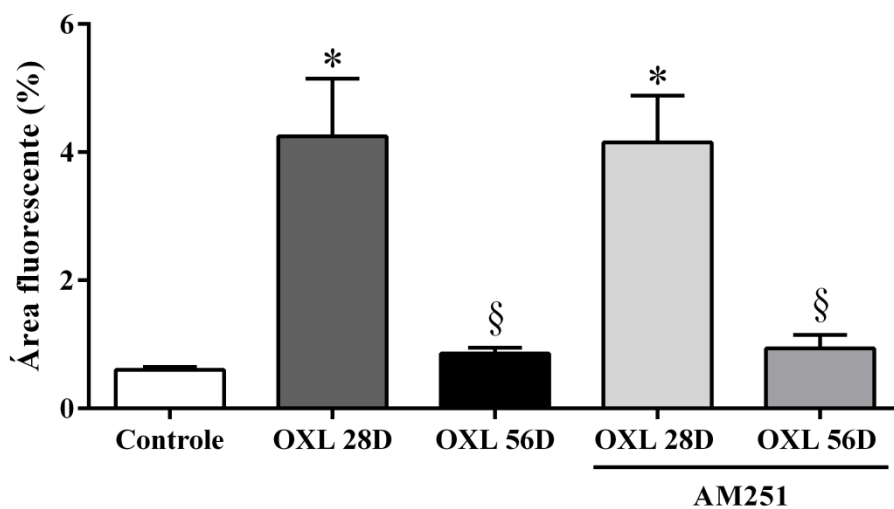
No grupo que recebeu oxaliplatina, observou-se um aumento estatisticamente significativo da expressão de c-Fos ($4,25 \pm 0,90$ %; $P < 0,05$), no 28° dia de experimento, em células neuronais (marcadas com NeuN) no gânglio da raiz dorsal, em comparação com o grupo controle (c-Fos: $0,60 \pm 0,05$ %) (FIGURA 36, GRÁFICO 35). Os resultados obtidos mostraram que a administração de AM251 não interferiu nesse aumento da expressão de c-Fos ($4,15 \pm 0,73$ %) no gânglio da raiz dorsal, no 28° dia experimental, quando correlacionado com o grupo oxaliplatina (c-Fos: $4,25 \pm 0,90$ %) (FIGURA 36, GRÁFICO 35). Observou-se que o antagonista seletivo do receptor canabinoide 2, AM630, também não interferiu no aumento da expressão de c-Fos ($2,78 \pm 0,82$ %) no gânglio da raiz dorsal, no 28° dia de experimento, em relação ao grupo que recebeu somente oxaliplatina (c-Fos: $4,25 \pm 0,90$ %) (FIGURA 37, GRÁFICO 36).

Figura 36 – Efeito do AM251 na expressão de c-Fos em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina



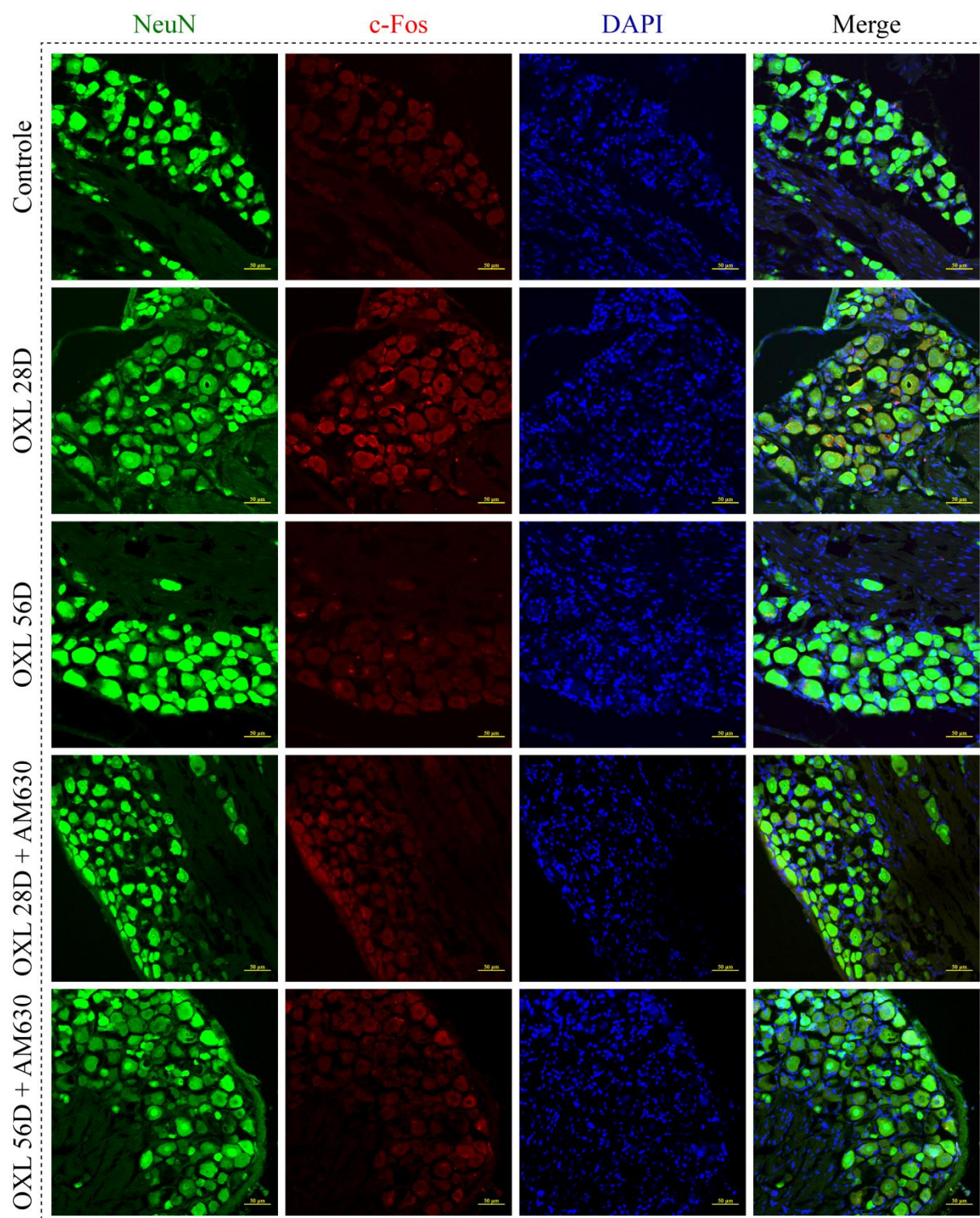
Fonte: dados da pesquisa. Verde: NeuN (marcador neuronal); vermelho: c-Fos; azul: DAPI (marcador nuclear). Aumento: 200 x. Escala: 50 µm. Os gânglios da raiz dorsal (L4 – L6) foram coletados nos 28^o ou 56^o dias experimentais. Abreviações: AM251, antagonista seletivo do receptor canabinoide 1; OXL, oxaliplatina.

Gráfico 35 – Quantificação da área fluorescente da expressão de c-Fos em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina que receberam AM251



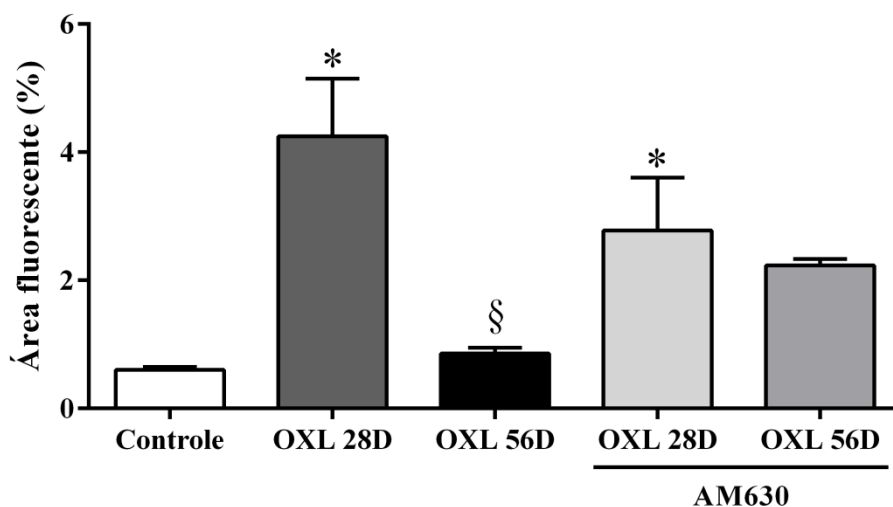
Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) da porcentagem da área fluorescente positiva da expressão de c-Fos em comparação à expressão de NeuN nos 28° e 56° dias experimentais. * $P < 0,05$ versus grupo controle; § $P < 0,05$ versus grupo oxaliplatina (ANOVA de uma via, pós-teste de Tukey). Abreviações: AM251, antagonista seletivo do receptor canabinoide 1; OXL, oxaliplatina.

Figura 37 – Efeito do AM630 na expressão de c-Fos em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina



Fonte: dados da pesquisa. Verde: NeuN (marcador neuronal); vermelho: c-Fos; azul: DAPI (marcador nuclear). Aumento: 200 x. Escala: 50 µm. Os gânglios da raiz dorsal (L4 – L6) foram coletados nos 28º ou 56º dias experimentais. Abreviações: AM630, antagonista seletivo do receptor canabinoide 2; OXL, oxaliplatina.

Gráfico 36 – Quantificação da área fluorescente da expressão de c-Fos em gânglio da raiz dorsal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina que receberam AM630

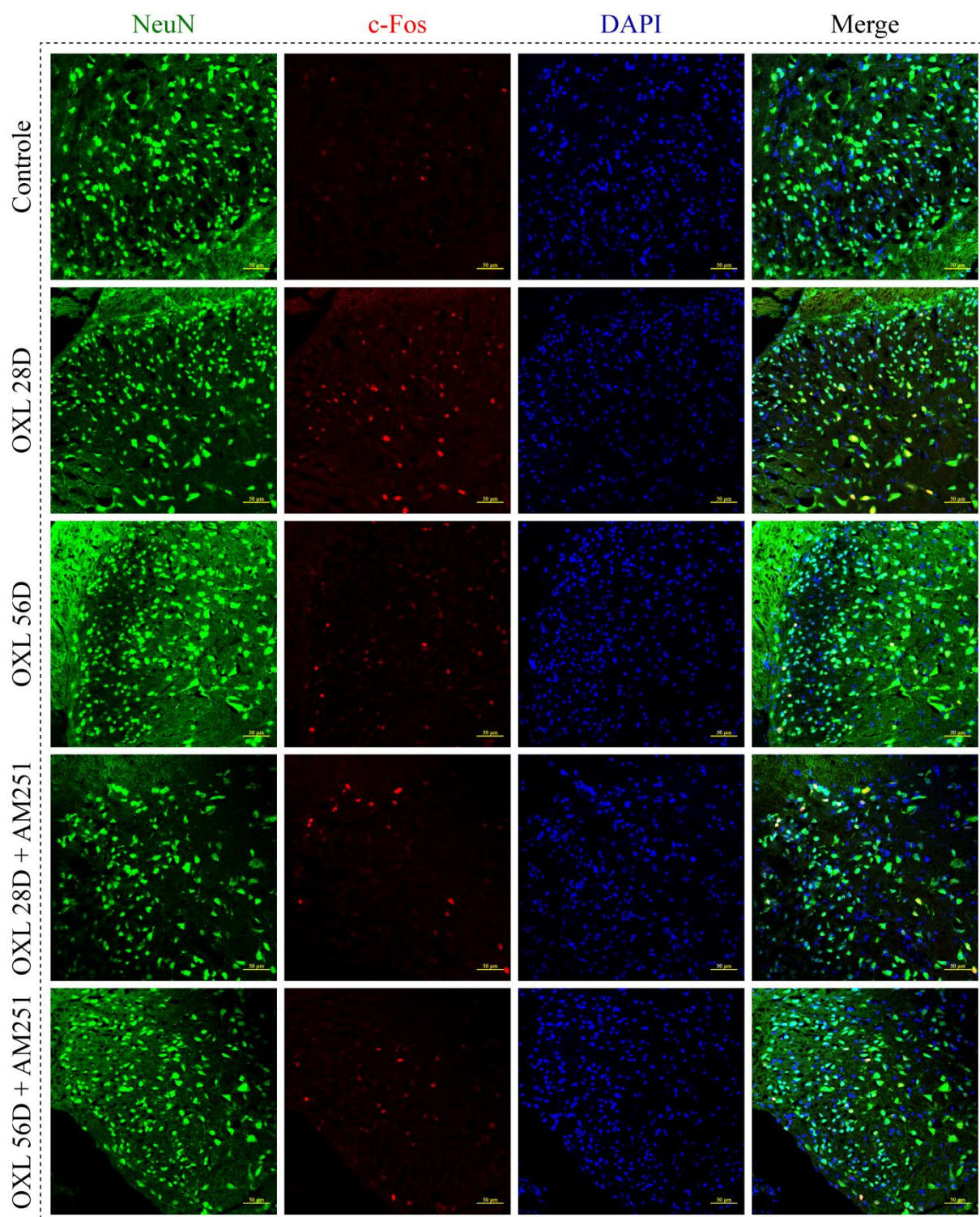


Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) da porcentagem da área fluorescente positiva da expressão de c-Fos em comparação à expressão de NeuN nos 28° e 56° dias experimentais. * $P < 0,05$ versus grupo controle; § $P < 0,05$ versus grupo oxaliplatina (ANOVA de uma via, pós-teste de Tukey). Abreviações: AM630, antagonista seletivo do receptor canabinoide 2; OXL, oxaliplatina.

6.17 Efeito do AM251 e AM630 na expressão de c-Fos em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina

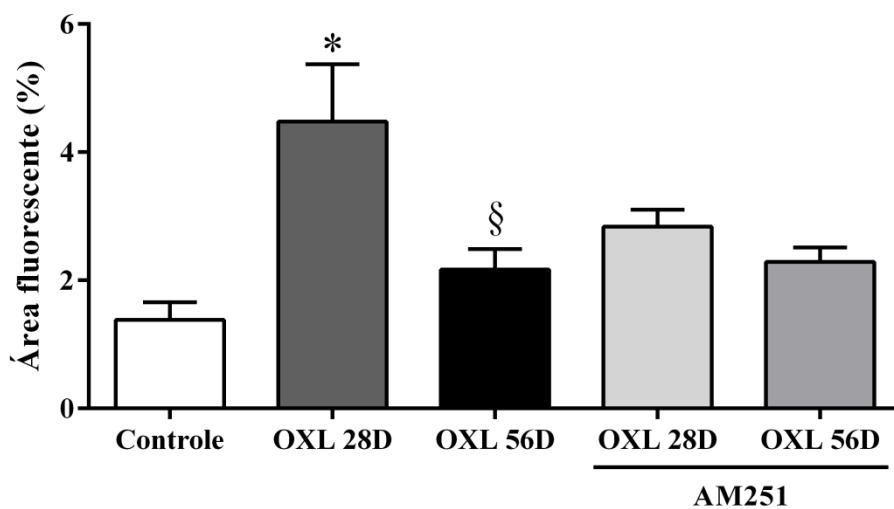
Os resultados obtidos mostraram que a oxaliplatina aumentou a expressão de c-Fos ($4,48 \pm 0,90$ %; $P < 0,05$) de forma considerável em células neuronais (marcadas com NeuN) no corno dorsal da medula espinhal, no 28° dia experimental, quando comparado ao grupo controle (c-Fos: $1,38 \pm 0,28$ %) (FIGURA 38, GRÁFICO 37). Observou-se que a administração do AM251 não interferiu significativamente no aumento da expressão de c-Fos ($2,84 \pm 0,26$ %), no corno dorsal da medula espinhal, quando correlacionado com o grupo que recebeu apenas oxaliplatina, no 28° dia de experimento (c-Fos: $4,48 \pm 0,90$ %) (FIGURA 38, GRÁFICO 37). O tratamento com AM630 diminuiu o aumento da expressão de c-Fos ($1,82 \pm 0,25$ %), no corno dorsal da medula espinhal, induzido pela oxaliplatina, no 28° dia experimental (c-Fos: $4,48 \pm 0,90$ %) (FIGURA 39, GRÁFICO 38).

Figura 38 – Efeito do AM251 na expressão de c-Fos em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina



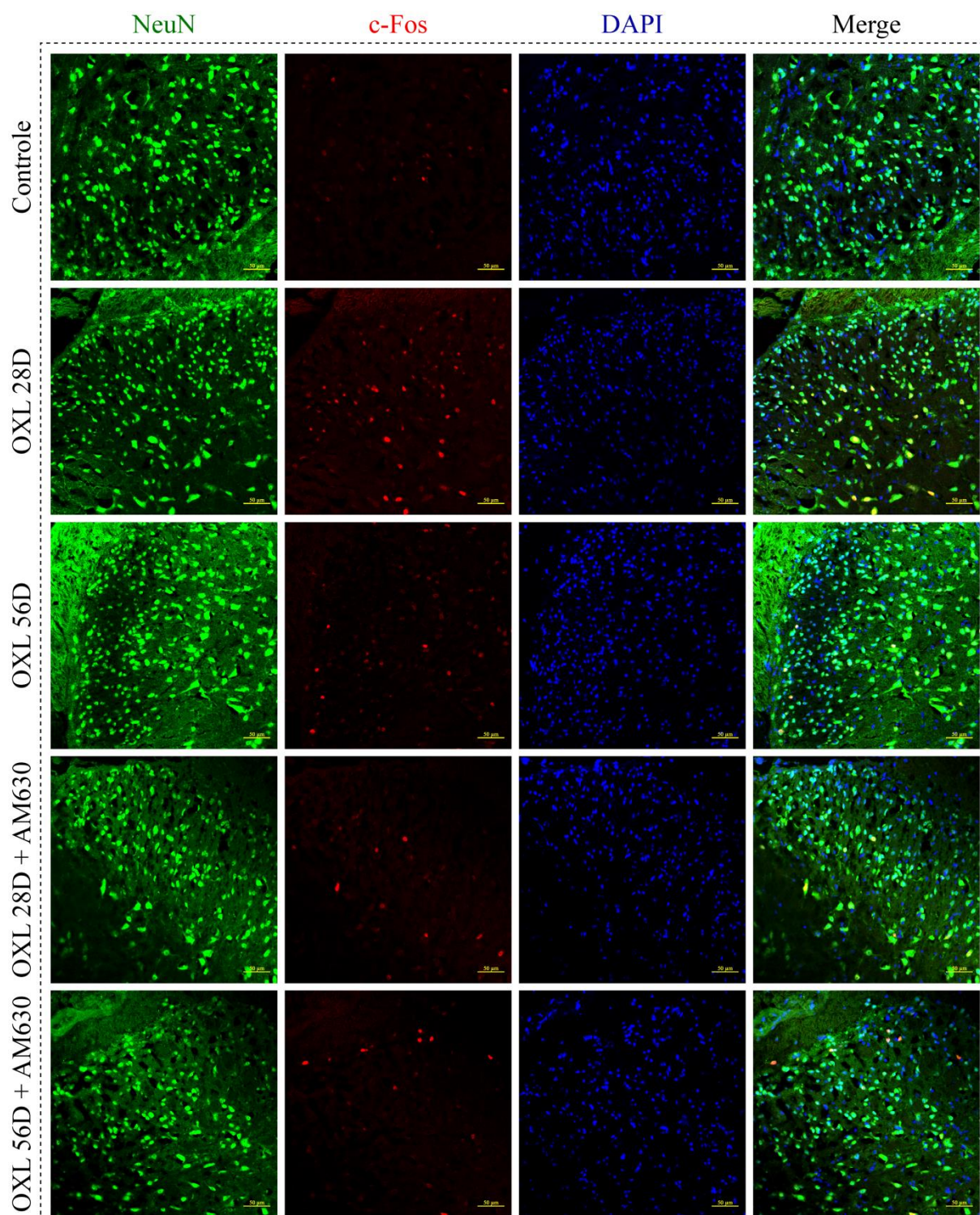
Fonte: dados da pesquisa. Verde: NeuN (marcador neuronal); vermelho: c-Fos; azul: DAPI (marcador nuclear). Aumento: 200 x. Escala: 50 µm. A medula espinhal foi coletada nos dias experimentais 28 ou 56. Abreviações: AM251, antagonista seletivo do receptor canabinoide 1; OXL, oxaliplatina.

Gráfico 37 – Quantificação da área fluorescente da expressão de c-Fos em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina que receberam AM251



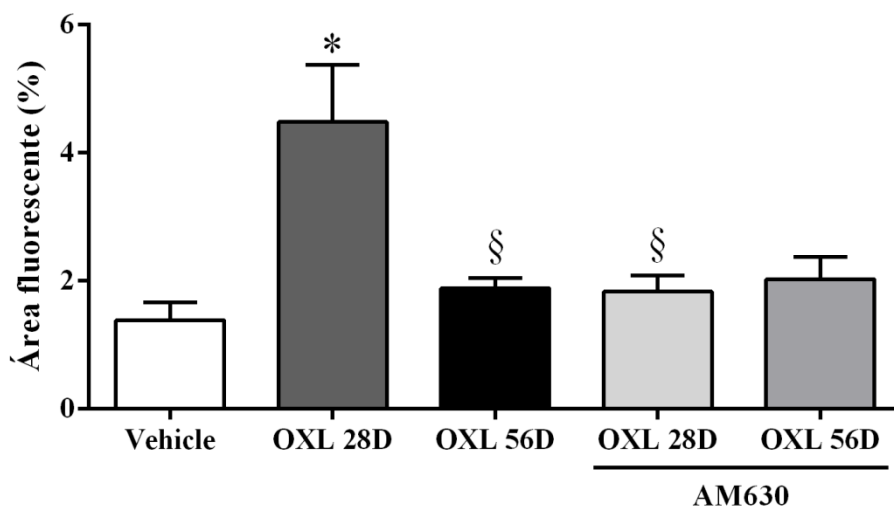
Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) da porcentagem da área fluorescente positiva da expressão de c-Fos em comparação à expressão de NeuN nos 28° e 56° dias experimentais. * $P < 0,05$ versus grupo controle; [§] $P < 0,05$ versus grupo oxaliplatina (ANOVA de uma via, pós-teste de Tukey). Abreviações: AM251, antagonista seletivo do receptor canabinoide 1; OXL, oxaliplatina.

Figura 39 – Efeito do AM630 na expressão de c-Fos em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina



Fonte: dados da pesquisa. Verde: NeuN (marcador neuronal); vermelho: c-Fos; azul: DAPI (marcador nuclear). Aumento: 200 x. Escala: 50 µm. A medula espinhal foi coletada nos dias experimentais 28 ou 56. Abreviações: AM630, antagonista seletivo do receptor canabinoide 2; OXL, oxaliplatina.

Gráfico 38 – Quantificação da área fluorescente da expressão de c-Fos em medula espinhal de camundongos submetidos à NSP por oxaliplatina que receberam AM630



Fonte: dados da pesquisa. Os valores são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) da porcentagem da área fluorescente positiva da expressão de c-Fos em comparação à expressão de NeuN nos 28° e 56° dias experimentais. * $P < 0,05$ versus grupo controle; § $P < 0,05$ versus grupo oxaliplatina (ANOVA de uma via, pós-teste de Tukey). Abreviações: AM630, antagonista seletivo do receptor canabinoide 2; OXL, oxaliplatina.

7 DISCUSSÃO

No presente estudo, foi avaliada a participação do sistema endocanabinoide na neuromodulação da NSP induzida pelo agente antineoplásico oxaliplatina em camundongos. A indução dessa neuropatia sensorial foi realizada de acordo com os estudos de Pereira (2015) e Pereira et al. (2018). Estes mostraram que a administração intravenosa de oxaliplatina, 2 vezes por semana, com um total de 9 injeções, utilizando uma dose de 2 mg/kg, induz os comportamentos nociceptivos de hiperalgesia mecânica e alodínia ao frio em camundongos, além de aumentar a expressão de marcadores de ativação e dano neuronal, como c-Fos e ATF3, respectivamente, em gânglio da raiz dorsal e corno dorsal da medula espinhal (PEREIRA, 2015; PEREIRA et al. 2018).

Resultados previamente obtidos em estudos do nosso grupo de pesquisa (PEREIRA et al., 2018; PEREIRA, 2015) mostraram que os comportamentos nociceptivos de hiperalgesia mecânica e alodínia ao frio, relacionados à oxaliplatina, ocorrem no estágio inicial de indução da neuropatia (14º dia), no período o qual se tem uma máxima dose cumulativa (28º dia experimental) e após o término das injeções (56º dia experimental). Essa observação é constatada na prática clínica, onde pacientes submetidos ao tratamento oncológico com esse antineoplásico podem apresentar uma neuropatia periférica crônica que persiste mesmo após o término da terapia (ARGYRIOU et al., 2012). Esses comportamentos nociceptivos estão associados à ativação e ao dano neuronal observados tanto no gânglio da raiz dorsal (L4 – L6) quanto no corno dorsal da medula espinhal nesses períodos experimentais (PEREIRA et al., 2018; PEREIRA, 2015). Adicionalmente, os gânglios da raiz dorsal L4 – L6 foram escolhidos tendo em vista que esses gânglios espinhais são inervados pelas ramificações do nervo isquiático. Diante disso, os dias experimentais 14, 28 e 56 foram escolhidos para a análise da expressão dos receptores canabinoídes em tecidos da via nociceptiva espinhal e trigeminal.

Primeiramente, foi investigado o efeito da injeção de oxaliplatina na expressão dos receptores CB1 e CB2 em gânglio da raiz dorsal, corno dorsal da medula espinhal, gânglio trigeminal, trato espinhal do trigêmeo e substância cinzenta periaquedutal, que são regiões do sistema nervoso que participam do controle da sinalização da dor (LING et al., 2017; VUČKOVIC et al., 2018). Foi observado que a oxaliplatina induziu o aumento da expressão do receptor CB1 em células não neuronais tanto no gânglio da raiz dorsal quanto no corno dorsal da medula espinhal dos camundongos no 28º dia experimental, período o qual se tem uma máxima dose cumulativa desse antineoplásico, sugerindo que esse aumento da expressão do receptor CB1 por essas células exerça um provável papel protetor.

No 56º dia experimental, não foi notado o aumento da expressão do receptor CB1 no gânglio espinhal e em estruturas segmentares do sistema nervoso central, mostrando, assim, um retorno da expressão basal de CB1 após 28 dias do término das injeções de oxaliplatina. Considerando que, neste período, já ocorreu o término das injeções de oxaliplatina, vale destacar que essa expressão do receptor CB1 nesses tecidos, supostamente, seja dependente do período de injeção da oxaliplatina, onde se tem uma máxima dose cumulativa.

Ambos os tecidos, gânglio da raiz dorsal e corno dorsal da medula espinhal, nos tempos avaliados (28 e 56 dias), não apresentaram aumento na expressão do receptor CB2, indicando que esse receptor não participa da neuromodulação da neurotoxicidade da oxaliplatina nessas regiões. Importante destacar que estudo de Wu et al. (2019) demonstrou um aumento da expressão do receptor CB2 em microglia do corno dorsal dos segmentos L4-L5 da medula espinhal de ratos que receberam a administração de paclitaxel. Importantes processos imunomediados podem contribuir para o desenvolvimento da neuropatia periférica associada ao paclitaxel (STAFF et al., 2020; STAROBOVA; VETTER, 2017). Desse modo, na neuropatia periférica do paclitaxel, tem sido evidenciada a ocorrência do aumento da migração de macrófagos e liberação de citocinas pró-inflamatórias, ativação do receptor *Toll-like 4* (TLR4), além da liberação de TNF- α por microglia e consequente atração e ativação de células imunes, levando à neuroinflamação (STAFF et al., 2020; STAROBOVA; VETTER, 2017). Assim, na neuropatia periférica relacionada ao paclitaxel, observa-se um forte componente inflamatório que parece ser menos intenso na neuropatia sensitiva periférica provocada pela oxaliplatina (SISIGNANO et al., 2014).

O aumento da expressão dos receptores canabinoides é observado em algumas condições patológicas, como dor neuropática e esclerose múltipla, sendo esse aumento associado à diminuição dos sintomas e/ou à inibição da progressão da doença, o que sugere um papel protetor (MILLER; DEVI, 2011). Em condições de dano do nervo periférico, os receptores canabinoides estão regulados positivamente em estruturas nervosas envolvidas no processamento da dor, indicando, assim, uma possível explicação para os efeitos benéficos notados com o uso terapêutico de agonistas dos receptores canabinoides na dor neuropática (VUČKOVIĆ et al., 2018).

Shiue et al. (2017) mostraram uma regulação positiva dos receptores canabinoides em neurônios de gânglio da raiz dorsal e em neurônios, microglia e astrócitos do corno dorsal da medula espinhal de ratos submetidos à ligadura do nervo espinhal L5/6, sugerindo que a expressão desses receptores em células da glia pode também contribuir para o efeito analgésico de seus agonistas. A regulação positiva do sistema endocanabinoide também foi

demonstrada em modelos experimentais de neuropatia periférica associada à quimioterapia do câncer, como demonstrado por Guindon et al. (2013) que observaram um aumento dos níveis dos endocanabinoides AEA e 2-AG na medula espinhal lombar de ratos que receberam injeções de cisplatina.

Apesar de não ter sido investigado em quais tipos de células não neuronais do gânglio da raiz dorsal houve o aumento da expressão do receptor CB1, sugere-se que, possivelmente, sejam células satélites gliais e/ou células endoteliais. As células satélites gliais são células presentes em gânglios sensoriais, conectadas por junções gap e que formam um firme envelope ao redor dos corpos neuronais (HANANI, 2010; OHARA et al., 2009).

Chiocchetti et al. (2019) observaram, ocasionalmente, a expressão do receptor canabinoide CB1 em células satélites gliais de gânglio da raiz dorsal de cães e ratos. A presença da expressão de receptores canabinoides CB1 em células satélites gliais também foi mostrada em tecido nervoso periférico normal de cães no trabalho de Freundt-Revilla et al. (2017). Além disso, a presença do receptor canabinoide CB2 foi observada em células satélites gliais do gânglio da raiz dorsal de ratos submetidos à lesão por constrição crônica do nervo isquiático (SVÍŽENSKÁ et al., 2013).

Tem sido sugerido que, após lesões dolorosas, as células satélites gliais são ativadas e podem desempenhar um papel ativo no desenvolvimento da dor persistente (JI; BERTA; NEDERGAARD, 2013). Além disso, após uma lesão nervosa, há o aumento do número de células satélites gliais e do acoplamento entre elas, devido, provavelmente, ao aumento no número de junções gap (JASMIN et al., 2010).

A ativação das células satélites gliais de gânglios da raiz dorsal também foi proposta após injeções de oxaliplatina provocar um aumento de GFAP nesse tipo de células, do acoplamento mediado por junções gap entre essas células (WARWICK; HANANI, 2013), além do aumento do número de células satélites gliais (DI CESARE MANNELLI et al., 2014). A participação das células satélites gliais no desenvolvimento precoce da neuropatia provocada pela oxaliplatina também foi sugerida pelo nosso grupo de pesquisa (PEREIRA et al., 2018), que mostrou a expressão de c-Fos nesse tipo de células da glia nos estágios iniciais do tratamento com esse agente antitumoral.

A barreira nervo-sanguínea, formada principalmente por células endoteliais, regula as trocas entre sangue e nervo periférico, limitando a entrada de substâncias no sangue e mantendo a homeostase do tecido nervoso adjacente ao endotélio (MAIUOLO et al., 2019). Assim, tem sido sugerida uma associação entre a lesão do nervo isquiático e alterações na barreira nervo-sanguínea, indicando a base para o desenvolvimento da dor neuropática, tendo

em vista alterações na expressão de proteínas de junção intercelular e aumento na permeabilidade endotelial (MAIUOLO et al., 2019). Adicionalmente, um trabalho de Branca et al. (2018) propõe que a oxaliplatina pode atravessar a barreira hematoencefálica e atuar no sistema nervoso central. Este estudo observou mudanças causadas pela oxaliplatina no aparato juncional e citoesquelético de uma linhagem de células endoteliais de cérebro de rato, provocando um possível afrouxamento nessa barreira (BRANCA et al., 2018).

O receptor CB1 pode ser expresso em células endoteliais da circulação cerebral (HILLARD, 2015). O trabalho de Liu et al. (2000) sugere a presença de receptores CB1 funcionais em células endoteliais vasculares humanas. Wilhelmsen et al. (2014), além de ter detectado a expressão de receptores CB1 em linhagens de células endoteliais humanas, mostraram que essas células podem expressar as enzimas metabólicas dos endocanabinoides e que um agonista canabinoide (WIN 55, 212-2) reduz respostas inflamatórias em células endoteliais induzidas por lipopolissacarídeo bacteriano (LPS) e fator de necrose tumoral α (TNF- α).

Tem sido sugerido que os canabinoides e a barreira hematoencefálica compartilham os mesmos mecanismos de neuroproteção contra excitotoxicidade, morte celular, inflamação e estresse oxidativo, sendo esses processos prejudiciais a essa barreira (VENDEL; DE LANGE, 2014). Neste estudo citado, também foi proposto que os receptores canabinoides podem mediar a restauração da barreira hematoencefálica e a neuroproteção proporcionada por essa barreira, melhorando a sua integridade (VENDEL; de LANGE, 2014). Além disso, Hind et al. (2015) mostraram que a anandamida, um endocanabinoide, diminui a permeabilidade e, conseqüentemente, aumenta a resistência da barreira hematoencefálica *in vitro*, sugerindo que esse efeito seja mediado por receptores CB2, TRPV1 e receptor do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP).

Alguns estudos sugerem que a oxaliplatina pode causar dor neuropática também na região orofacial (ABD-ELSAIED et al., 2015; LING et al., 2017). Estímulos nociceptivos que alcançam a região orofacial se propagam ao longo da via trigeminal e, à medida que ascendem ao tálamo, são modulados, ativando a via descendente inibitória da dor. A dor é percebida no córtex somatossensorial, permitindo a interpretação desse estímulo (CHRISTOFOROU, 2018). A dor neuropática orofacial consiste em uma dor provocada por uma lesão ou doença do sistema nervoso somatossensorial (CHRISTOFOROU, 2018), sendo uma condição de dor crônica que envolve as áreas inervadas pelo nervo trigêmeo (MCDONOUGH et al., 2014).

O trabalho de Ling et al. (2017) mostrou, através do teste operante orofacial, o desenvolvimento de dor neuropática trigeminal, manifestada com alodínia mecânica orofacial em ratos que receberam injeções de oxaliplatina, e que essa dor neuropática está relacionada a uma regulação negativa da expressão do canal de potássio dependente de voltagem KCNQ2 em neurônios do gânglio trigeminal V2. Além do estudo de Ling et al. (2017), outro trabalho mostrou uma regulação negativa dos canais de potássio dependentes de voltagem Kv4.3, envolvidos no controle da excitabilidade neuronal, em neurônios de gânglio trigeminal que inervam regiões orofaciais de ratos submetidos ao tratamento com oxaliplatina (VIATCHENKO-KARPINSKI; LING; GU, 2018). As evidências de uma neuropatia periférica orofacial induzida pela oxaliplatina não foram demonstradas somente em modelos experimentais, tendo em vista que, recentemente, um trabalho de Godinho (2018) avaliou a presença de sintomas orofaciais em pacientes submetidos ao regime terapêutico baseado em oxaliplatina (FLOX), observando expressivos sintomas, como dor no maxilar e desconforto na garganta.

Os resultados deste trabalho mostraram um aumento da expressão do receptor CB1 em células neuronais do gânglio trigeminal, no período o qual há uma máxima dose cumulativa da oxaliplatina. Após o término das injeções, esse aumento não foi observado. Adicionalmente, os dados deste estudo também mostraram um aumento da expressão do receptor CB1 em células neuronais do trato espinhal do trigêmeo (Sp5C) tanto durante as administrações de oxaliplatina (28º dia experimental) quanto após o término delas (56º dia experimental).

O aumento da expressão do receptor CB1, possivelmente, está associado a um papel de proteção contra algum dano causado pela oxaliplatina nas células neuronais dessas regiões. Vale ressaltar que a oxaliplatina causa o aumento da expressão de ATF3, um marcador de dano neuronal, tanto no sistema nervoso periférico quanto central, nos 28º e 56º dias experimentais (PEREIRA et al., 2018; PEREIRA, 2015). A expressão de receptores CB1 pode ser encontrada na região do trato espinhal do trigêmeo (SVÍŽENSKÁ; DUBOVÝ; ŠULCOVÁ, 2008). O aumento da expressão de CB1 foi demonstrado no núcleo caudal trigeminal de ratos submetidos à lesão de constrição crônica do ramo infraorbital do nervo trigeminal (LIANG; HUANG; HSU, 2007). A expressão do receptor canabinoide CB2 não foi observada em nenhum desses dois tecidos.

O efeito analgésico de compostos canabinoides também tem sido investigado na dor neuropática orofacial, mostrando resultados promissores (KAMIMURA et al., 2018; LIANG; HUANG; HSU, 2007). O trabalho de Kamimura et al. (2018) mostrou que a inibição da

degradação do endocanabinoide 2-AG atenua o comportamento nociceptivo de dor neuropática orofacial observado em camundongos submetidos à lesão do nervo infraorbital. Além desse trabalho, o estudo de Liang, Huang e Hsu (2007) avaliou o efeito de um agonista canabinoide sintético (WIN 55, 212-2) na alodínia térmica e hiperalgesia mecânica em um modelo experimental de dor neuropática trigeminal (lesão de constrição crônica do ramo infraorbital do nervo trigeminal), mostrando uma melhora desses sintomas.

Os dados desta pesquisa mostraram que a administração de oxaliplatina ocasiona o aumento da expressão de CB1 em células neuronais da VLPAG no 28º e 56º dia, de modo que esse aumento, além de ter acontecido no período o qual se tem uma máxima dose cumulativa da oxaliplatina, ocorreu após o término das injeções desse quimioterápico, sugerindo um provável papel protetor nessa condição mesmo na ausência das injeções de oxaliplatina. Há de se destacar que com 56 dias, não foi observada diferença significativa do limiar nociceptivo quando comparado ao dia 28 (término da administração da oxaliplatina), entretanto há um aumento significativo de expressão de CB1 na região de VLPAG quando comparado ao dia 28, o que nos leva a sugerir uma tentativa de modulação da dor neuropática ao nível de neurônios da VLPAG. Quando comparamos a expressão de CB1 ao longo da via trigeminal, observamos que há um aumento significante de CB1 em GT e Sp5C com 28 dias e uma significativa redução da expressão desse receptor no tempo de 56 dias, o que nos leva a sugerir que o aumento de expressão de CB1 na VLPAG possa ter levado a uma redução dessa expressão nessas estruturas da via trigeminal, no tempo de 56 dias. Para constatar esse dado, foi verificada a expressão de c-Fos nas estruturas da via trigeminal e não houve diferença estatística quando comparado ao controle (dados não mostrados). Não foi observada a expressão de CB2 na PAG.

A PAG é uma região do mesencéfalo fundamental para a modulação da dor, desempenhando uma importante função na regulação da dor e analgesia (MCDONOUGH et al., 2014; SAMINENI et al., 2017). As propriedades antinociceptivas de compostos canabinoides baseiam-se na modulação de uma via descendente que se projeta para a coluna vertebral através de um circuito do tronco cerebral que contém a PAG e medula ventromedial rostral (MCDONOUGH et al., 2014). Assim, a PAG desempenha um relevante papel no controle descendente da dor e nas ações antinociceptivas de compostos agonistas canabinoides (HOHMANN et al., 2005). Além disso, nas terminações nervosas de neurônios GABAérgicos e glutamatérgicos na PAG, os receptores CB1 são expressos e a ativação deles pode regular a neurotransmissão GABAérgica e glutamatérgica (ZHU et al., 2019).

Neste estudo, a expressão aumentada de CB1 foi observada na região ventrolateral da PAG (VLPAG). A VLPAG é uma parte imprescindível da via neural que medeia a regulação da dor, contendo subpopulações neuronais que possuem propriedades neuroquímicas diferentes que regulam tanto a neurotransmissão excitatória quanto inibitória (SAMINENI et al., 2017; ZHU et al., 2019). Além disso, a VLPAG é uma região essencial da supressão da dor provocada por opioides endógenos (SAMINENI et al., 2017). Tem sido sugerido que a ativação não específica de neurônios da VLPAG promove analgesia; e a inibição, hiperalgesia a estímulos nocivos (SAMINENI et al., 2017). Além disso, tem sido observado que a microinjeção de agonistas de GABA (ácido gama-aminobutírico) na VLPAG ocasiona dor; e a microinjeção de antagonistas, efeitos antinociceptivos devido à redução da neurotransmissão inibitória (ZHU et al., 2019).

Assim, tem sido proposto que tanto substâncias opioides quanto canabinoides são capazes de ativar a via descendente através da supressão indireta da influência inibitória de interneurônios GABAérgicos locais e desinibição da via antinociceptiva da saída neuronal para a medula espinhal (ZHU et al., 2019). Estudos mostram que a oxaliplatina pode causar alterações na PAG, como no trabalho de Xu et al. (2018), que demonstrou o aumento das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-6 e TNF- α na PAG de ratos que receberam uma única injeção desse antineoplásico, e o estudo de Di Cesare Mannelli et al. (2013), que notou a presença de ativação de células gliais na VLPAG de ratos submetidos à neurotoxicidade da oxaliplatina.

Diante dos resultados obtidos de expressão dos receptores canabinoides em regiões do sistema nervoso central e periférico fundamentais no controle da sinalização da dor, optou-se por avaliar o efeito da modulação farmacológica do sistema endocanabinoide na NSP induzida pela oxaliplatina, utilizando agonistas e antagonistas canabinoides.

Primeiramente, avaliamos o efeito do canabidiol nos comportamentos nociceptivos de hiperalgesia mecânica e alodínia ao frio. A via de administração escolhida para o canabidiol foi a oral, tendo em vista que esse composto canabinoide é, normalmente, administrado por essa via na prática clínica (CRIPPA et al., 2020; XU et al., 2019), inclusive o Epidiolex é um produto composto de canabidiol na forma farmacêutica de solução oral disponível para o tratamento de duas formas raras e graves de epilepsia infantil (FREEMAN et al., 2019).

O canabidiol é um composto derivado da *Cannabis sativa* que não possui os efeitos psicoativos do Δ^9 -THC (MANNUCCI et al., 2017). Assim, tem sido investigado o seu potencial terapêutico em diversas doenças, como dor crônica, náuseas, epilepsia, psicose, ansiedade, esclerose múltipla, artrite, câncer (de GREGORIO et al., 2019; PISANTI et al.,

2017). O canabidiol, devido às propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes, exerce uma ação neuroprotetora (MANNUCCI et al., 2017; SILVESTRO et al., 2019).

Como em trabalhos anteriores do nosso grupo (PONTES et al., 2019; PEREIRA et al. 2018), a oxaliplatina induziu o comportamento de hiperalgesia mecânica e alodínia ao frio nos camundongos deste estudo. Os resultados obtidos mostraram que o canabidiol preveniu parcialmente o comportamento nociceptivo de hiperalgesia mecânica dos camundongos submetidos às administrações de oxaliplatina tanto durante o período das injeções quanto após o término delas, mas não protegeu contra a alodínia ao frio. Alguns trabalhos indicam a participação de TRPA1 na hipersensibilidade ao frio observada com o tratamento baseado em oxaliplatina (NAKAGAWA; KANEKO, 2017; ZHAO et al., 2012). Assim, tem sido mostrado o aumento da expressão de TRPA1 em gânglios da raiz dorsal em modelos experimentais de dor neuropática induzida por esse antineoplásico (PARK et al., 2015; YAMAMOTO et al., 2015).

O efeito protetor do canabidiol foi demonstrado em diversos modelos experimentais de neuropatia periférica associada à quimioterapia do câncer (HARRIS et al., 2016; KING et al., 2017; WARD et al., 2011, 2014). O estudo de King et al. (2017) mostrou que o canabidiol atenua a sensibilidade mecânica causada por uma única injeção de oxaliplatina em camundongos, enquanto nosso trabalho mostrou que o canabidiol preveniu a hiperalgesia mecânica em um modelo experimental que mimetiza, utilizando doses cumulativas, a neuropatia periférica crônica da oxaliplatina. Adicionalmente, a pesquisa de King et al. (2017) também observou que o canabidiol diminui a alodínia mecânica relacionada ao paclitaxel. Outros estudos (WARD et al., 2011, 2014) também avaliaram o efeito do canabidiol na dor neuropática causada pelo paclitaxel, obtendo efeitos antinociceptivos promissores. Além disso, um trabalho de Harris et al. (2016) mostrou que o canabidiol também atenua o comportamento nociceptivo de camundongos que receberam injeções de cisplatina. Além de estudos experimentais, um ensaio clínico de Xu et al. (2020) mostrou que a aplicação tópica do óleo de canabidiol em áreas sintomáticas de pacientes acometidos por neuropatia periférica de diversas etiologias é eficaz no alívio de sintomas, como dor intensa, dor aguda, sensações de frio e coceira.

Sabe-se que o canabidiol possui uma baixa afinidade pelos receptores canabinoides, entretanto esse composto canabinoide pode interagir com os receptores de serotonina 5-HT_{1A} e TRPV1 (de GREGORIO et al., 2019; SILVESTRO et al., 2019). O canabidiol pode apresentar propriedades anti-inflamatórias através da modulação de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β , IL-6 e TNF- α , e interação com TRPV1, de modo que a ligação do

canabidiol ao TRPV1 pode levar a uma dessensibilização desses receptores e, por conseguinte, diminuir a inflamação (SILVESTRO et al., 2019). Além disso, o canabidiol pode modular a expressão da iNOS e da nitrotirosina e reduzir a produção de espécies reativas de oxigênio, possuindo, assim, propriedades antioxidantes (SILVESTRO et al., 2019). Diante desses mecanismos protetores do canabidiol, vê-se um importante potencial terapêutico para o tratamento da neurotoxicidade da oxaliplatina, considerando que, na NSP causada por esse agente antitumoral, há o aumento de TRPV1 em neurônios de tamanho pequeno do gânglio da raiz dorsal (CHUKYO et al., 2018) e o aumento da expressão de iNOS tanto no corno dorsal da medula espinhal (AZEVEDO et al., 2013) quanto no gânglio da raiz dorsal (PEREIRA et al., 2018). Nosso grupo mostrou que o tratamento com compostos antioxidantes, como rutina e quercetina, reduz a expressão de c-Fos e previne o comportamento nociceptivo associado à administração de oxaliplatina em camundongos (AZEVEDO et al., 2013).

Alguns trabalhos também sugerem que o efeito protetor do canabidiol contra a neuropatia periférica do paclitaxel (WARD et al., 2014) e neuropatia diabética dolorosa (JESUS et al., 2019) é mediado pelos receptores de serotonina 5-HT_{1A}. Um trabalho de Sałat et al. (2017) mostrou que a injeção de um agonista do receptor de serotonina 5-HT_{1A} atenua a alodínia tátil induzida por oxaliplatina em camundongos. Existem ainda evidências de que o canabidiol pode se comportar como um agonista de PPAR γ (HIND; ENGLAND; O'SULLIVAN, 2016; O'SULLIVAN, 2016). O efeito de um agonista de PPAR γ (rosiglitazona) foi avaliado na neuropatia periférica da oxaliplatina em ratos e foi mostrada uma diminuição da dor neuropática causada por estímulos nocivos e não nocivos (ZANARDELLI et al., 2014).

Apesar de o canabidiol ter uma baixa afinidade pelos receptores CB1 e não possuir os efeitos psicoativos do Δ^9 -THC (de GREGORIO et al., 2019; MANNUCCI et al., 2017; SILVESTRO et al., 2019), optou-se por realizar os testes comportamentais de catalepsia, placa quente e rota-rod para avaliar algum possível efeito canabimimético (METNA-LAURENT et al., 2017; SILVA et al., 2017). Existem evidências de que o canabidiol pode causar sonolência e fadiga (LUCAS; GALETTIS; SCHNEIDER, 2018). Os resultados mostraram que o canabidiol não alterou o comportamento dos camundongos nesses testes. Corroborando com os dados obtidos, o trabalho de Silva et al. (2017) mostrou que o canabidiol não induz a tétrede canabinoide (hipolocomoção, catalepsia, analgesia pelo teste de placa quente e hipotermia).

As injeções de oxaliplatina, nesse modelo experimental, além de induzir respostas nociceptivas nos camundongos, foram capazes de induzir o aumento da expressão de c-Fos

(marcador de ativação neuronal) tanto no sistema nervoso periférico quanto no central, como mostrado em trabalhos anteriores do nosso grupo (PEREIRA et al., 2019; PEREIRA et al., 2018; AZEVEDO et al., 2013). Neste estudo, o tratamento com canabidiol, além de ter prevenido parcialmente o comportamento nociceptivo de hiperalgesia mecânica dos camundongos, protegeu contra o aumento da expressão de c-Fos em células neuronais tanto no gânglio da raiz dorsal quanto no corno dorsal da medula espinhal provocado pela oxaliplatina, indicando uma proteção contra a ativação neuronal e confirmando seu efeito antinociceptivo. A expressão de c-Fos, que é baixa em condições basais, é aumentada com a exposição a estímulos dolorosos, como mecânicos e térmicos, sendo utilizada como um marcador de ativação neuronal e neuroplasticidade (BULLITT et al., 1992; HARRIS, 1998; HERDEGEN; ZIMMERMANN, 1995; KOVÁCS, 2008). Além disso, existem evidências de que substâncias canabinoides podem inibir a expressão espinhal de c-Fos em resposta a estímulos nocivos (COGGESHALL, 2005; MANZANARES; JULIAN; CARRASCOSA, 2006).

Neste estudo, foi avaliado também o efeito do WIN 55, 212-2 na NSP induzida pela oxaliplatina. Esse composto canabinoide sintético é um agonista não seletivo de CB1 e CB2, sendo utilizado para investigar o papel desses receptores em geral (HOURANI; ALEXANDER, 2018). Os resultados mostraram que o WIN 55, 212-2 foi capaz de prevenir o desenvolvimento tanto da hiperalgesia mecânica quanto da alodínia ao frio no período das injeções de oxaliplatina e após o término dessas administrações. Foi observado também que o WIN 55, 212-2 preveniu o aumento da expressão de c-Fos no gânglio da raiz dorsal e no corno dorsal da medula espinhal no mesmo período experimental em que foi mostrado o aumento da expressão do receptor CB1, o que indica um papel protetor desse receptor quanto às alterações nociceptivas comportamentais e teciduais provocadas pela oxaliplatina. Corroborando com a importante proteção obtida com a administração do WIN 55, 212-2 contra o aumento da expressão de c-Fos em tecidos do sistema nervoso periférico e central, existem evidências de que compostos canabinoides, como o WIN 55, 212-2, pode impedir a expressão espinhal de c-Fos ocasionada por estímulos nocivos (COGGESHALL, 2005; MANZANARES; JULIAN; CARRASCOSA, 2006). Como mostrado anteriormente (PEREIRA et al., 2019), a oxaliplatina não causa alterações no desempenho motor dos animais e, nesse trabalho, o WIN 55, 212-2, na dose utilizada, não causa alterações comportamentais indicativas de efeitos canabimiméticos, como mostrado anteriormente por Hald et al. (2008) e Rudenko et al. (2012). Tendo em vista que os endocannabinoides e receptores canabinoides estão presentes abundantemente nos núcleos da base e cerebelo, é

importante ressaltar o papel desses componentes no controle da função motora, podendo ser observadas alterações motoras como hipoatividade e catalepsia após a administração de agonistas canabinoides (MORERA-HERRERAS et al., 2016). Neste trabalho, entretanto, mostramos que os agonistas e antagonistas canabinoides, nas doses utilizadas, não provocaram alterações no desempenho motor dos animais.

O efeito protetor do WIN 55, 212-2 foi mostrado também em um modelo de neuropatia periférica induzida por paclitaxel em ratos (BURGOS et al., 2012). Neste trabalho de Burgos et al. (2012), o WIN 55, 212-2 preveniu o desenvolvimento de hiperalgesia térmica e alodínia mecânica, além de atenuar a produção precoce de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β , IL-6 e TNF- α , e a ativação de células gliais, como microglia e astrócitos, na medula espinhal de ratos que receberam injeções de paclitaxel. Adicionalmente, o WIN 55, 212-2 também reduziu a expressão de iNOS na medula espinhal nesse modelo experimental (BURGOS et al., 2012).

O tratamento com WIN 55, 212-2 também provoca a diminuição da ativação glial e da regulação positiva da citocina pró-inflamatória TNF- α na medula espinhal de ratos submetidos à ligadura do nervo espinhal L5/6 (SHIUE et al., 2017). Outro trabalho mostrou que a administração intratecal de WIN 55, 212-2 promove efeitos antinociceptivos em um modelo de dor neuropática em ratos diabéticos (JAHANABADI et al., 2016). O WIN 55, 212-2 pode, inclusive, diminuir a atividade espontânea e as respostas mecanicamente evocadas de nociceptores de fibra C, através dos receptores CB1 e CB2, como mostrado em um modelo de dor por câncer em camundongos (UHELSKI et al., 2013). Além disso, existem evidências de que o WIN 55, 212-2, assim como o canabidiol, pode provocar a dessensibilização de TRPV1 (JESKE et al., 2006; PATWARDHAN et al., 2006), que pode estar regulado positivamente na neuropatia periférica da oxaliplatina (CHUKYO et al., 2018).

Considerando que, na neurotoxicidade da oxaliplatina, ocorre a participação de células da glia (DI CESARE MANNELLI et al., 2013; DI CESARE MANNELLI et al., 2014; DI CESARE MANNELLI et al., 2015; YOON et al., 2013), o aumento da expressão de iNOS (PEREIRA et al., 2018; AZEVEDO et al., 2013) e de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β , IL-6 e TNF- α (XU et al., 2018), em tecido nervoso, os receptores canabinoides, especialmente CB1, pode ser considerado como um alvo terapêutico para o tratamento da neuropatia periférica ocasionada pela oxaliplatina.

Neste trabalho, foi averiguado também o efeito do AM251 e AM630 na hiperalgesia mecânica e alodínia ao frio, além dos efeitos desses compostos na expressão de c-Fos no gânglio da raiz dorsal e corno dorsal da medula espinhal de camundongos que receberam as

injeções de oxaliplatina. O AM251 e o AM630 são antagonistas/agonistas inversos dos receptores CB1 e CB2, respectivamente (HOURANI; ALEXANDER, 2018). Nos testes nociceptivos, foi observado que o AM251 não interferiu na hiperalgesia mecânica provocada pela oxaliplatina nos camundongos, contudo esse antagonista CB1 antecipou o aparecimento da alodínia ao frio do 21º dia para o 14º dia experimental. Curiosamente, a administração do AM251 não interferiu na expressão de c-Fos no gânglio da raiz dorsal e no corno dorsal da medula espinhal causado pela oxaliplatina. Já com a administração do antagonista seletivo CB2, não houve mudanças nas respostas nociceptivas de hiperalgesia mecânica e alodínia ao frio associadas à oxaliplatina, no entanto, curiosamente, houve uma redução da expressão de c-Fos no corno dorsal da medula espinhal dos camundongos no 28º dia.

Sugerimos que a administração de AM630 deixa disponível o receptor CB1 e, como foi constatado na análise da VLPAG em animais neuropáticos o aumento da expressão de CB1 em neurônios, podemos relacionar esse dado à tentativa de modulação inibitória descendente da dor mediada pelo aumento da expressão de CB1 com a respectiva redução da expressão de c-Fos na via nociceptiva espinhal. Ademais, foi observado, no 28º dia, o aumento da expressão do receptor CB1 no corno dorsal da medula espinhal. Possivelmente, essa discrepância no efeito do antagonista CB2 seja devido a uma compensação com aumento de CB1, entretanto mais estudos são necessários para esclarecer esse resultado.

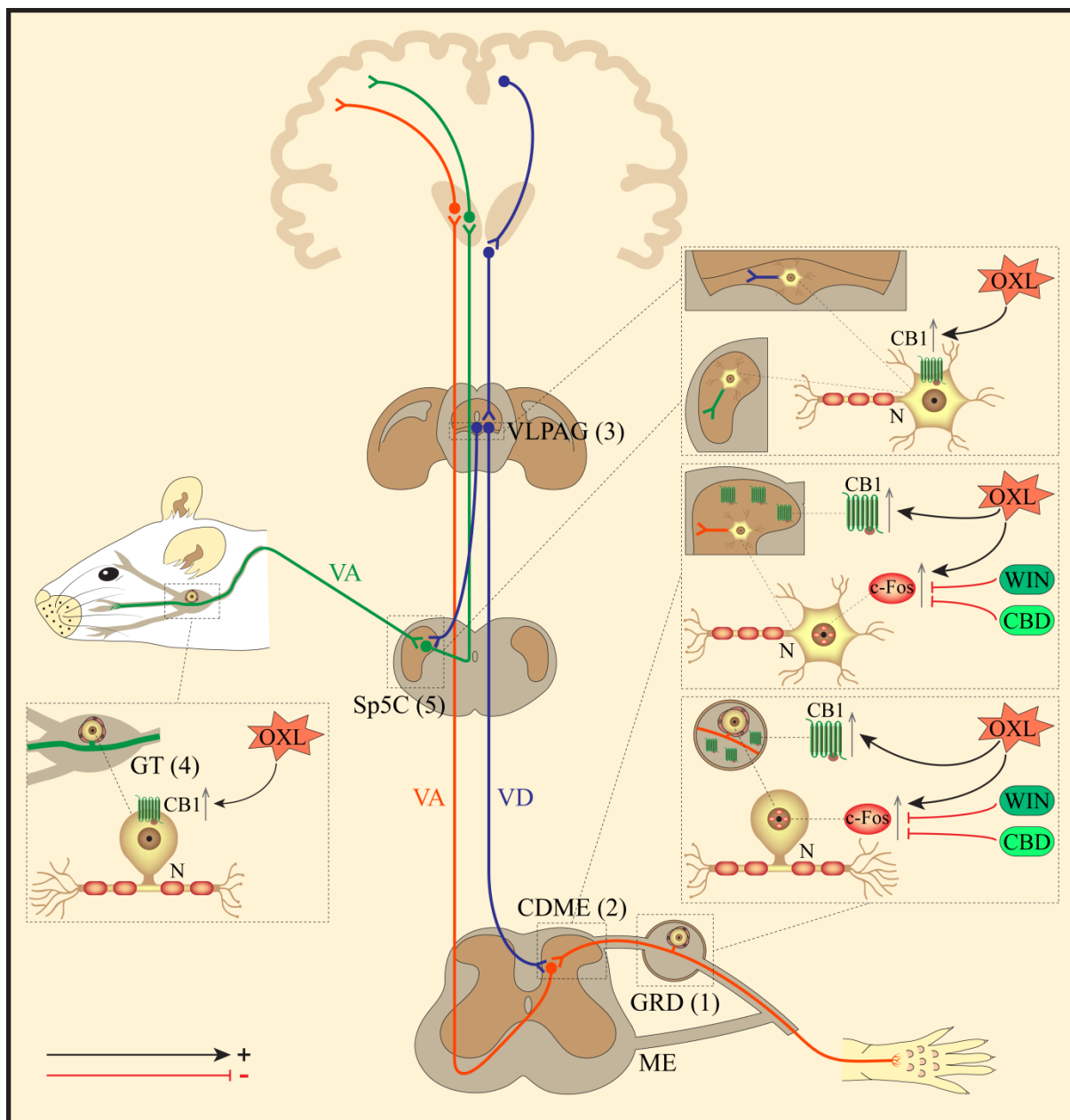
Apesar dos promissores resultados obtidos na prevenção da neuropatia sensitiva periférica associada à oxaliplatina, é necessário que seja averiguada a interferência dos compostos canabinoides utilizados no efeito antitumoral da oxaliplatina. Assim, mais estudos serão realizados posteriormente para essa investigação.

Existem também abordagens não farmacológicas que podem aumentar a expressão dos receptores canabinoides, como observado em trabalhos anteriores do nosso grupo com eletroacupuntura (ALVES et al., 2019; GONDIM et al., 2012). No trabalho de Alves et al. (2019), por exemplo, foi mostrado que a eletroacupuntura aumenta a expressão do receptor canabinoide CB1 em gânglio trigeminal e trato espinhal do trigêmeo em um modelo experimental de perda óssea inflamatória. Outro trabalho mostrou que a eletroacupuntura causa a regulação positiva da expressão gênica dos receptores canabinoides CB1 e CB2 em trato espinhal do trigêmeo e tem efeito antinociceptivo e anti-inflamatório em um modelo de artrite da articulação temporomandibular induzida por zymosan em ratos (GONDIM et al., 2012). O efeito benéfico da eletroacupuntura foi mostrado em um modelo de dor neuropática induzida por oxaliplatina em ratos, ocorrendo uma diminuição da alodínia ao frio (MOON et al., 2014). Além disso, recentemente, foi anunciado um ensaio clínico que tem como objetivo

avaliar a eficácia e segurança da eletroacupuntura no alívio dos sintomas da neuropatia periférica em pacientes com câncer colorretal submetidos ao tratamento oncológico baseado em oxaliplatina (CHAN et al., 2020). Sendo assim, é observado que o aumento da expressão de receptores canabinoides em outros modelos experimentais leva à analgesia e redução da inflamação. Na neuropatia periférica por oxaliplatina, esse aumento pode sugerir uma reação homeostática protetora ao efeito tóxico desse antineoplásico, onde o receptor CB1 parece ter uma importância maior que o CB2, pelo menos no período avaliado (FIGURA 40).

Assim, a adoção de estratégias terapêuticas, farmacológicas ou não, que tenham como alvo o sistema endocanabinoide, pode ser eficaz no controle da NSP associada à oxaliplatina, especialmente, focando a ativação do receptor CB1 que parece desempenhar um papel protetor na fisiopatologia da neurotoxicidade relacionada à oxaliplatina.

Figura 40 – Participação do sistema endocanabinoide na neuropatia da oxaliplatina



Fonte: elaborado pelo autor. A oxaliplatina aumenta a expressão de CB1 em células não neuronais de GRD (1) e CDME (2) e em células neuronais de VLPAG (3). Na via trigeminal, esse aumento também ocorre em células neuronais de GT (4) e Sp5C (5). Além disso, oxaliplatina aumenta a expressão de c-Fos em células neuronais de GRD (1) e CDME (2). Esse aumento da expressão de c-Fos é prevenido pela administração de canabidiol e WIN 55, 212-2. Abreviações: CB1, receptor canabinoide 1; CBD, canabidiol; CDME, corno dorsal da medula espinhal; GRD, gânglio da raiz dorsal; GT, gânglio trigeminal; N, neurônio; OXL, oxaliplatina; Sp5C, trato espinhal do trigêmeo; VA, via ascendente da dor; VD, via descendente da dor; VLPAG, substância cinzenta periaquedutal ventrolateral; WIN, WIN 55, 212-2.

8 CONCLUSÃO

Os dados do presente estudo nos permitem concluir que:

- O sistema endocanabinoide tem um efeito neuromodulador na NSP induzida pela oxaliplatina, possuindo um papel protetor nessa condição;
- A NSP por oxaliplatina leva ao aumento de CB1, mas não de CB2 em GRD, ME, GT, Sp5C e VLPAG;
- Canabidiol tem efeito inibitório sobre o comportamento de hiperalgesia mecânica e expressão de c-Fos na NSP da oxaliplatina em dose que não exerce efeitos canabimiméticos;
- O agonista não seletivo CB1/CB2 (WIN 55, 212-2) possui efeito inibitório sobre o comportamento de hiperalgesia mecânica e alodínia ao frio e expressão de c-Fos na NSP da oxaliplatina;
- O antagonista seletivo CB1 (AM251) (mas não do CB2, AM630) causa um aumento do efeito neuropático da oxaliplatina, antecipando a ocorrência do comportamento de alodínia ao frio;
- O receptor CB1 tem participação na modulação neuronal frente à NSP induzida por oxaliplatina em camundongos, mostrando-se um possível alvo terapêutico para essa condição.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-RAHMAN, O. Revisiting oxaliplatin-based regimens for advanced hepatocellular carcinoma. **Current Oncology Reports**, v. 16, n. 8, p. 394, 2014.
- ABD-ELSAYED, A. A. et al. KCNQ channels in nociceptive cold-sensing trigeminal ganglion neurons as therapeutic targets for treating orofacial cold hyperalgesia. **Molecular Pain**, v. 11, 2015.
- ADAMSON BARNES, N. S. et al. Actions of the dual FAAH/MAGL inhibitor JZL195 in a murine neuropathic pain model. **British Journal of Pharmacology**, v. 173, n. 1, p. 77–87, 2016.
- ALCINDOR, T.; BEAUGER, N. Oxaliplatin: A review in the era of molecularly targeted therapy. **Current Oncology**, v. 18, n. 1, p. 18–25, 2011.
- ALEJANDRO, L. M. et al. Predicting acute and persistent neuropathy associated with oxaliplatin. **American journal of clinical oncology**, v. 36, n. 4, p. 331–7, 2013.
- ALVES, L. C. V. et al. Electroacupuncture increases immunoexpression of CB1 and CB2 receptors in experimental model of inflammatory bone loss. **Bone**, v. 127, p. 59–66, 2019.
- ANAND, U. et al. Cannabinoid receptor CB2 localisation and agonist-mediated inhibition of capsaicin responses in human sensory neurons. **Pain**, v. 138, n. 3, p. 667–80, 2008.
- ANDRE, C. M.; HAUSMAN, J. F.; GUERRIERO, G. Cannabis sativa: The plant of the thousand and one molecules. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 2016.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). (2015). Canabidiol é reclassificado como substância controlada. Disponível em: <HTTP://<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/anvisa+portal/anvisa/sala+de+imprensa/menu++noticias+anos/2015/canabidiol+e+reclassificado+como+substancia+controlada>> Acesso em: 5 jan. 2020.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). (2019). Cannabis: Dicol delibera sobre plantio e registro. Disponível em : < http://portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/produto+de+cannabis+aprovado+regulamento+para+uso+medicina/219201?p_p_auth=C9H8bJpy&inheritRedirect=false> Acesso em : 06 jan. 2020.
- ARGYRIOU, A. A. et al. Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity (CIPN): An update. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 82, n. 1, p. 51–77, 2012.
- ARGYRIOU, A. A. Updates on Oxaliplatin-Induced Peripheral Neurotoxicity (OXAI PN). **Toxics**, v. 3, n. 2, p. 187–197, 2015.
- ATALAY, S.; JAROCKA-KARPOWICZ, I.; SKRZYDLEWSKA, E. Antioxidative and Anti-Inflammatory Properties of Cannabidiol. **Antioxidants (Basel)**, v. 9, n. 1, 2019.
- AZEVEDO, M. I. et al. The antioxidant effects of the flavonoids rutin and quercetin inhibit

oxaliplatin-induced chronic painful peripheral neuropathy. **Molecular Pain**, v. 9, 2013.

BANO, N. et al. Clinical features of oxaliplatin induced hypersensitivity reactions and therapeutic approaches. **Asian Pacific Journal of Cancer**, v. 17, n. 4, p. 1637–41, 2016.

BASAVARAJAPPA, B. S. et al. Endocannabinoid system in neurodegenerative disorders. **Journal of Neurochemistry**, v. 142, n. 5, p. 624–648, 2017.

BLANTON, H. L. et al. Cannabinoids: Current and future options to treat chronic and chemotherapy-induced neuropathic pain. **Drugs**, v. 79, n. 9, p. 969–995, 2019.

BOGLIOLO, S. et al. Oxaliplatin for the treatment of ovarian cancer. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v. 24, n. 9, p. 1275–1286, 2015.

BRANCA, J. J. V. et al. Oxaliplatin-induced blood brain barrier loosening: A new point of view on chemotherapy-induced neurotoxicity. **Oncotarget**, v. 9, n. 34, p. 23426–23438, 2018.

BRAY, F. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 68, n. 6, p. 394–424, 2018.

BRINDISI, M. et al. Development and pharmacological characterization of selective blockers of 2-arachidonoyl glycerol degradation with efficacy in rodent models of multiple sclerosis and pain. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 59, n. 6, p. 2612–2632, 2016.

BRINDISI, M. et al. Development of potent inhibitors of fatty acid amide hydrolase useful for the treatment of neuropathic pain. **ChemMedChem**, v. 13, n. 19, p. 2090–2103, 2018.

BULLITT, E. et al. The effect of stimulus duration on noxious-stimulus induced c-fos expression in the rodent spinal cord. **Brain Research**, v. 580, n. 1–2, p. 172–179, 1992.

BURGOS, E. et al. Cannabinoid agonist WIN 55,212-2 prevents the development of paclitaxel-induced peripheral neuropathy in rats. Possible involvement of spinal glial cells. **European Journal of Pharmacology**, v. 682, n. 1–3, p. 62–72, 2012.

BURZ, C. et al. Clinical and pharmacokinetics study of oxaliplatin in colon cancer patients. **Journal of gastrointestinal and liver diseases: JGLD**, v. 18, n. 1, p. 39–43, 2009.

CANTA, A.; POZZI, E.; CAROZZI, V. Mitochondrial dysfunction in chemotherapy-induced peripheral neuropathy (CIPN). **Toxics**, v. 3, n. 2, p. 198–223, 2015.

CAROZZI, V. A.; CANTA, A.; CHIORAZZI, A. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: What do we know about mechanisms? **Neuroscience Letters**, v. 596, p. 90–107, 2015.

CAVALLI, E. et al. The neuropathic pain: An overview of the current treatment and future therapeutic approaches. **International Journal of Immunopathology and Pharmacology**, v. 33, p. 1–10, 2019.

CERCEK, A. et al. Adoption of total neoadjuvant therapy for locally advanced rectal cancer. **JAMA Oncology**, v. 4, n. 6, 2018.

CHAN, K. et al. The efficacy and safety of electro-acupuncture for alleviating chemotherapy-induced peripheral neuropathy in patients with colorectal cancer: study protocol for a single-blinded, randomized sham-controlled trial. **Trials**, v. 21, n. 1, p. 58, 2020.

CHEN, Q.; HEINRICHER, M. M. Descending control mechanisms and chronic pain. **Current Rheumatology Reports**, v. 21, n. 5, 2019.

CHIOCCHETTI, R. et al. Cellular distribution of canonical and putative cannabinoid receptors in canine cervical dorsal root ganglia. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, 2019.

CHRISTOFOROU, J. Neuropathic orofacial pain. **Dental Clinics of North America**, v. 62, n. 4, p. 565–584, 2018.

CHUKYO, A. et al. Oxaliplatin-induced changes in expression of transient receptor potential channels in the dorsal root ganglion as a neuropathic mechanism for cold hypersensitivity. **Neuropeptides**, v. 67, p. 95–101, 2018.

COGGESHALL, R. E. Fos, nociception and the dorsal horn. **Progress in Neurobiology**, v. 77, n. 5, p. 299–352, 2005.

COLLOCA, L. et al. Neuropathic pain. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, 2017.

CREMOLINI, C. et al. First-line chemotherapy for mCRC-a review and evidence-based algorithm. **Nature Reviews Clinical Oncology**, v. 12, n. 10, p. 607–19, 2015.

CRIPPA, J. A. S. Oral cannabidiol does not convert to $\delta 8$ -thc or $\delta 9$ -thc in humans: A pharmacokinetic study in healthy subjects. **Cannabis and Cannabinoid Research**, v. 5, n. 1, p. 89–98, 2020.

CUNHA, T. M. et al. An electronic pressure-meter nociception paw test for mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 37, n. 3, p. 401–407, 2004.

CURRY, Z. A. et al. Monoacylglycerol lipase inhibitors reverse paclitaxel-induced nociceptive behavior and proinflammatory markers in a mouse model of chemotherapy-induced neuropathy. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 366, n. 1, p. 169–183, 2018.

DE GREGORIO, D. et al. Cannabidiol modulates serotonergic transmission and reverses both allodynia and anxiety-like behavior in a model of neuropathic pain. **Pain**, v. 160, n. 1, p. 136–150, 2019.

DEL FABBRO, L. et al. Effects of Se-phenyl thiazolidine-4-carboselenoate on mechanical and thermal hyperalgesia in brachial plexus avulsion in mice: Mediation by cannabinoid CB1 and CB2 receptors. **Brain Research**, v. 1475, p. 31–36, 2012.

DEVANE, W. A. et al. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. **Molecular Pharmacology**, v. 34, n. 5, p. 605–613, 1988.

- DEVANE, W. A. et al. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. **Science**, v. 258, n. 5090, p. 1946–1949, 1992.
- DI CESARE MANNELLI, L. et al. Morphologic features and glial activation in rat oxaliplatin-dependent neuropathic pain. **The journal of pain**, v. 14, n. 12, p. 1585–600, 2013.
- DI CESARE MANNELLI, L. et al. Glial role in oxaliplatin-induced neuropathic pain. **Experimental Neurology**, v. 261, p. 22–33, 2014.
- DI CESARE MANNELLI, L. et al. Antineuropathic Profile of N-Palmitoylethanolamine in a Rat Model of Oxaliplatin-Induced Neurotoxicity. **Plos One**, v. 10, n. 6, 2015.
- DILRUBA, S.; KALAYDA, G. V. Platinum-based drugs: past, present and future. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 77, n. 6, p. 1103–24, 2016.
- DROTT, J. et al. Oxaliplatin-induced neurotoxic side effects and their impact on daily activities: A longitudinal study among patients with colorectal cancer. **Cancer nursing**, v. 42, n. 6, p. E40–E48, 2019.
- DUNHAM, N. W.; MIYA, T. S. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. **Journal of the American Pharmaceutical Association. American Pharmaceutical Association**, v. 46, n. 3, p. 208–9, 1957.
- EDDY, N. B.; LEIMBACH, D. Synthetic analgesics. II. Dithienylbutenyl- and dithienylbutylamines. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 107, n. 3, p. 385–393, 1953.
- EL-FATATRY, B. M. et al. Role of metformin in oxaliplatin-induced peripheral neuropathy in patients with stage III colorectal cancer: randomized, controlled study. **International journal of colorectal disease**, v. 33, n. 12, p. 1675–1683, 2018.
- FINE, P. G.; ROSENFELD, M. J. The Endocannabinoid System, Cannabinoids, and Pain. **Rambam Maimonides Medical Journal**, v. 4, n. 4, 2013.
- FONG, C. W. Platinum anti-cancer drugs: Free radical mechanism of Pt-DNA adduct formation and anti-neoplastic effect. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 95, p. 216–229, 2016.
- FRAGUAS-SÁNCHEZ, A. I.; TORRES-SUÁREZ, A. I. Medical use of cannabinoids. **Drugs**, v. 78, n. 16, p. 1665–1703, 2018.
- FREEMAN, T. P. et al. Medicinal use of cannabis based products and cannabinoids. **BMJ (Online)**, v. 365, 2019.
- FREUNDT-REVILLA, J. et al. Spatial distribution of cannabinoid receptor type 1 (CB1) in normal canine central and peripheral nervous system. **Plos One**, v. 12, n. 7, 2017.
- FUJITA, S. et al. Identification of drug transporters contributing to oxaliplatin-induced peripheral neuropathy. **Journal of Neurochemistry**, v. 148, n. 3, p. 373–385, 2019.

GAONI, Y.; MECHOULAM, R. Isolation, structure, and partial synthesis of an active constituent of hashish. **Journal of the American Chemical Society**, v. 86, n. 8, p. 1646–1647, 1964.

GOBIRA, P. H. et al. Cannabidiol, a Cannabis sativa constituent, inhibits cocaine-induced seizures in mice: Possible role of the mTOR pathway and reduction in glutamate release. **NeuroToxicology**, v. 50, p. 116–121, 2015.

GODINHO, P. A. R. **Incidência, Características Clínicas/ Demográficas e Ocorrência de Hiperalgia na Neuropatia Sensitiva Periférica da Oxaliplatina em Pacientes com Câncer Colorretal Tratados com Esquema Flox**. 2018. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.

GOLDBERG, R. M. et al. A randomized controlled trial of fluorouracil plus leucovorin, irinotecan, and oxaliplatin combinations in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer. **Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology**, v. 22, n. 1, p. 23–30, 2004.

GONDIM, D. V. et al. CB1 and CB2 contribute to antinociceptive and anti-inflammatory effects of electroacupuncture on experimental arthritis of the rat temporomandibular joint. **Canadian journal of physiology and pharmacology**, v. 90, n. 11, p. 1479–89, 2012.

GRAHAM, M. A. et al. Clinical pharmacokinetics of oxaliplatin: A critical review. **Clinical Cancer Research**, v. 6, n. 4, p. 1205–18, 2000.

GROTHEY, A. Oxaliplatin-safety profile: Neurotoxicity. **Seminars in Oncology**, v. 30, p. 5–13, 2003.

GROTHEY, A.; GOLDBERG, R. M. A review of oxaliplatin and its clinical use in colorectal cancer. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 5, n. 10, p. 2159–70, 2004.

GUINDON, J. et al. Alterations in endocannabinoid tone following chemotherapy-induced peripheral neuropathy: Effects of endocannabinoid deactivation inhibitors targeting fatty-acid amide hydrolase and monoacylglycerol lipase in comparison to reference analgesics following cisplatin treatment. **Pharmacological Research**, v. 67, n. 1, p. 94–109, 2013.

GUINDON, J.; HOHMANN, A. G. The endocannabinoid system and pain. **CNS & neurological disorders drug targets**, v. 8, n. 6, p. 403–21, 2009.

HALD, A. et al. Differential effects of repeated low dose treatment with the cannabinoid agonist WIN 55,212-2 in experimental models of bone cancer pain and neuropathic pain. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 91, n. 1, p. 38–46, 2008.

HANANI, M. Satellite glial cells: more than just “rings around the neuron”. **Neuron glia biology**, v. 6, n. 1, p. 1–2, 2010.

HARRIS, H. M. et al. Effects of Delta-9-Tetrahydrocannabinol and Cannabidiol on Cisplatin-Induced Neuropathy in Mice. **Planta Medica**, v. 82, n. 13, p. 1169–1172, 2016.

HARRIS, J. A. Using c-fos as a neural marker of pain. **Brain Research Bulletin**, v. 45, n. 1,

p. 1–8, 1998.

HATO, S. V. et al. Molecular pathways: The immunogenic effects of platinum-based chemotherapeutics. **Clinical Cancer Research**, v. 20, n. 11, p. 2831–2837, 2014.

HERDEGEN, T.; ZIMMERMANN, M. Immediate early genes (IEGs) encoding for inducible transcription factors (ITFs) and neuropeptides in the nervous system: functional network for long-term plasticity and pain. **Progress in Brain Research**, v. 104, p. 299–321, 1995.

HILLARD, C. J. The Endocannabinoid signaling system in the CNS: A primer. In: **International Review of Neurobiology**, v. 125, p. 1–47, 2015.

HIND, W. H. et al. Endocannabinoids modulate human blood-brain barrier permeability in vitro. **British Journal of Pharmacology**, v. 172, n. 12, p. 3015–3027, 2015.

HIND, W. H.; ENGLAND, T. J.; O’SULLIVAN, S. E. Cannabidiol protects an in vitro model of the blood-brain barrier from oxygen-glucose deprivation via PPAR γ and 5-HT $1A$ receptors. **British Journal of Pharmacology**, v. 173, n. 5, p. 815–825, 2016.

HOFF, P. M. et al. Literature review and practical aspects on the management of oxaliplatin-associated toxicity. **Clinical Colorectal Cancer**, v. 11, n. 2, p. 93–100, 2012.

HOHMANN, A. G. et al. An endocannabinoid mechanism for stress-induced analgesia. **Nature**, v. 435, n. 7045, p. 1108–1112, 2005.

HOURLANI, W.; ALEXANDER, S. P. H. Cannabinoid ligands, receptors and enzymes: Pharmacological tools and therapeutic potential. **Brain and Neuroscience Advances**, v. 2, 2018.

HOWLETT, A. C.; ABOOD, M. E. CB1 and CB2 Receptor Pharmacology. **Advances in Pharmacology**, v. 80, p. 169–206, 2017.

HURWITZ, H. I. New agents in colon cancer. **Clinical advances in hematology & oncology: H&O**, v. 1, n. 7, p. 404–5, 2003.

ILLIAS, A. M. et al. Chemokine CCL2 and its receptor CCR2 in the dorsal root ganglion contribute to oxaliplatin-induced mechanical hypersensitivity. **Pain**, v. 159, n. 7, p. 1308–1316, 2018.

IMAI, S. et al. Taxanes and Platinum Derivatives Impair Schwann Cells via Distinct Mechanisms. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, 2017.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). **Estimativa 2020**: incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro, 2019.

JAGGI, A. S.; SINGH, N. Mechanisms in cancer-chemotherapeutic drugs-induced peripheral neuropathy. **Toxicology**, v. 291, n. 1–3, p. 1–9, 2012.

JAHANABADI, S. et al. The effect of spinally administered WIN 55,212-2, a cannabinoid agonist, on thermal pain sensitivity in diabetic rats. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 19, n. 4, p. 394–401, 2016.

JASMIN, L. et al. Can satellite glial cells be therapeutic targets for pain control? **Neuron Glia Biology**, v. 6, n. 1, p. 63–71, 2010.

JENSEN, T. S. et al. A new definition of neuropathic pain. **Pain**, v. 152, n. 10, p. 2204–5, 2011.

JERREMALM, E.; WALLIN, I.; EHRSSON, H. New insights into the biotransformation and pharmacokinetics of oxaliplatin. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 98, n. 11, p. 3879–3885, 2009.

JESKE, N. A. et al. Cannabinoid WIN 55,212-2 regulates TRPV1 phosphorylation in sensory neurons. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 43, p. 32879–32890, 2006.

JESUS, C. H. A. et al. Cannabidiol attenuates mechanical allodynia in streptozotocin-induced diabetic rats via serotonergic system activation through 5-HT_{1A} receptors. **Brain Research**, v. 1715, p. 156–164, 2019.

JI, R. R.; BERTA, T.; NEDERGAARD, M. Glia and pain: Is chronic pain a gliopathy? **Pain**, v. 154, n. 0 1, p. S10–S28, 2013

JOHNSTONE, T. C.; PARK, G. Y.; LIPPARD, S. L. Understanding and Improving Platinum Anticancer Drugs--Phenanthriplatin. **Anticancer Research**, v. 34, n. 1, p. 471–6, 2014.

KAMIMURA, R. et al. Inhibition of 2-arachidonoylglycerol degradation attenuates orofacial neuropathic pain in trigeminal nerve-injured mice. **Journal of Oral Science**, v. 60, n. 1, p. 37–44, 2018.

KANAT, O.; ERTAS, H.; CANER, B. Platinum-induced neurotoxicity: A review of possible mechanisms. **World Journal of Clinical**, v. 8, n. 4, p. 329–335, 2017.

KHASABOVA, I. A. et al. Pioglitazone, a PPAR γ agonist, reduces cisplatin-evoked neuropathic pain by protecting against oxidative stress. **Pain**, v. 160, n. 3, p. 688–701, 2019.

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

KING, K. M. et al. Single and combined effects of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and cannabidiol in a mouse model of chemotherapy-induced neuropathic pain. **British Journal of Pharmacology**, v. 174, n. 17, p. 2832–2841, 2017.

KOVÁCS, K. J. Measurement of immediate-early gene activation- c-fos and beyond. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 20, n. 6, p. 665–672, 2008.

LÉVI, F. et al. Oxaliplatin: Pharmacokinetics and chronopharmacological aspects. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 38, n. 1, p. 1–21, 2000.

- LIANG, Y. C.; HUANG, C. C.; HSU, K. SEN. The synthetic cannabinoids attenuate allodynia and hyperalgesia in a rat model of trigeminal neuropathic pain. **Neuropharmacology**, v. 53, n. 1, p. 169–177, 2007.
- LING, B. et al. Behavioral and pharmacological description of oxaliplatin-induced painful neuropathy in rat. **Pain**, v. 128, n. 3, p. 225–234, 2007.
- LING, J. et al. Orofacial neuropathic pain induced by oxaliplatin: Downregulation of KCNQ2 channels in V2 trigeminal ganglion neurons and treatment by the KCNQ2 channel potentiator retigabine. **Molecular Pain**, v. 13, 2017.
- LIU, J. et al. Functional CB1 cannabinoid receptors in human vascular endothelial cells. **Biochemical Journal**, v. 346, n. 3, p. 835–840, 2000.
- LU, Y.; ANDERSON, H. D. Cannabinoid signaling in health and disease. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 95, n. 4, p. 311–327, 2017.
- LUCAS, C. J.; GALETTIS, P.; SCHNEIDER, J. The pharmacokinetics and the pharmacodynamics of cannabinoids. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 84, n. 11, p. 2477–2482, 2018.
- LYNCH, M. E.; CESAR-RITTENBERG, P.; HOHMANN, A. G. A double-blind, placebo-controlled, crossover pilot trial with extension using an oral mucosal cannabinoid extract for treatment of chemotherapy-induced neuropathic pain. **Journal of pain and symptom management**, v. 47, n. 1, p. 166–73, 2014.
- MAIUOLO, J. et al. The role of endothelial dysfunction in peripheral blood nerve barrier: Molecular mechanisms and pathophysiological implications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 12, 2019.
- MANNUCCI, C. et al. Neurological Aspects of Medical Use of Cannabidiol. **CNS & Neurological Disorders - Drug Targets**, v. 16, n. 5, p. 541–553, 2017.
- MANZANARES, J.; JULIAN, M.; CARRASCOSA, A. Role of the Cannabinoid System in Pain Control and Therapeutic Implications for the Management of Acute and Chronic Pain Episodes. **Current Neuropharmacology**, v. 4, n. 3, p. 239–257, 2006.
- MASOCHA, W. Targeting the endocannabinoid system for prevention or treatment of chemotherapy-induced neuropathic pain: studies in animal models. **Pain Research and Management**, v. 2018, 2018.
- MATSUOKA, A. et al. Quantitative assessment of chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity using a point-of-care nerve conduction device. **Cancer Science**, v. 107, n. 10, p. 1453–1457, 2016.
- MCDONOUGH, P. et al. Neuropathic orofacial pain: Cannabinoids as a therapeutic avenue. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 55, p. 72–78, 2014.
- MECCARIELLO, R. et al. The epigenetics of the endocannabinoid system. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 3, 2020.

- MECHOULAM, R. et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. **Biochemical Pharmacology**, v. 50, n. 1, p. 83–90, 1995.
- MESSORI, L.; MARZO, T.; MERLINO, A. Interactions of carboplatin and oxaliplatin with proteins: Insights from X-ray structures and mass spectrometry studies of their ribonuclease A adducts. **Journal of inorganic biochemistry**, v. 153, p. 136–142, 2015.
- METNA-LAURENT, M. et al. Cannabinoid-induced tetrad in mice. **Current Protocols in Neuroscience**, v. 2017, p. 9.59.1–9.59.10, 2017.
- MILLER, L. K.; DEVI, L. A. The highs and lows of cannabinoid receptor expression in disease: Mechanisms and their therapeutic implications. **Pharmacological Reviews**, v. 63, n. 3, p. 461–470, 2011.
- MOON, H. J. et al. Effects of electroacupuncture on oxaliplatin-induced neuropathic cold hypersensitivity in rats. **Journal of Physiological Sciences**, v. 64, n. 2, p. 151–156, 2014.
- MORERA-HERRERAS, T. Cannabinoids and motor control of the basal ganglia: Therapeutic potential in movement disorders. **Cannabinoids in Health and Disease**, 2016. Doi: 10.5772/62438.
- MUGGIA, F. M. et al. Platinum antitumor complexes: 50 Years since Barnett Rosenberg's discovery. **Journal of Clinical Oncology**, v. 33, n. 35, p. 4219–26, 2015.
- NAKAGAWA, T.; KANEKO, S. Roles of transient receptor potential ankyrin 1 in oxaliplatin-induced peripheral neuropathy. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 40, n. 7, p. 947–953, 2017.
- NAZIROĞLU, M.; BRAIDY, N. Thermo-sensitive TRP channels: Novel targets for treating chemotherapy-induced peripheral pain. **Frontiers in Physiology**, v. 8, 2017.
- NECKER, R.; HELLON, R. F. Noxious thermal input from the rat tail: modulation by descending inhibitory influences. **Pain**, v. 4, n. 3, p. 231–42, 1978.
- NETO et al. **Dor: Princípios e Prática**. São Paulo-SP: Artmed Editora, 2009.
- NISHIKAWA, N.; NOMOTO, M. Management of neuropathic pain. **Journal of General and Family Medicine**, v. 18, n. 2, p. 56–60, 2017.
- O'SULLIVAN, S. E. An update on PPAR activation by cannabinoids. **British Journal of Pharmacology**, v. 173, n. 12, p. 1899–910, 2016.
- OBAIDUL ISLAM, M.; BACCHETTI, T. T.; FERRETTI, G. Alterations of antioxidant enzymes and biomarkers of nitro-oxidative stress in tissues of bladder cancer. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2019, 2019.
- OHARA, P. T. et al. Gliopathic pain: When satellite glial cells go bad. **Neuroscientist**, v. 15, n. 5, p. 450–63, 2009.

OKINE, B. N.; GASPAR, J. C.; FINN, D. P. PPARs and pain. **British Journal of Pharmacology**, v. 176, n. 10, p. 1421–1442, 2019.

OSSATO, A. et al. Effect of JWH-250, JWH-073 and their interaction on “tetrad”, sensorimotor, neurological and neurochemical responses in mice. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 67, p. 31–50, 2016.

OUN, R.; MOUSSA, Y. E.; WHEATE, N. J. The side effects of platinum-based chemotherapy drugs: A review for chemists. **Dalton Transactions**, v. 47, n. 19, p. 6645–6653, 2018.

PAES, R. P. A. **Eletroacupuntura Aumenta Expressão de Receptores Canabinoides em Neurônio e Glia na Via Trigeminal Periférica e Central em Modelo de Dor Inflamatória da Articulação Temporomandibular de Ratos**. 2019. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

PARK, S. B. et al. Oxaliplatin-induced neurotoxicity: changes in axonal excitability precede development of neuropathy. **Brain: a journal of neurology**, v. 132, n. Pt 10, p. 2712–23, 2009.

PARK, J.-H. et al. Oxaliplatin-Induced Peripheral Neuropathy via TRPA1 Stimulation in Mice Dorsal Root Ganglion Is Correlated with Aluminum Accumulation. **Plos One**, v. 10, n. 4, 2015.

PATHAK, S. et al. Review on comparative efficacy of bevacizumab, panitumumab and cetuximab antibody therapy with combination of FOLFOX-4 in KRAS-mutated colorectal cancer patients. **Oncotarget**, v. 9, n. 7, p. 7739–7748, 2018.

PATWARDHAN, A. M. et al. The cannabinoid WIN 55,212-2 inhibits transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) and evokes peripheral antihyperalgesia via calcineurin. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 30, p. 11393–11398, 2006.

PAXINOS, G.; FRANKLIN, K. B. J. **The mouse brain in stereotaxic coordinates**, compact second edition. San Diego, Academic Press, 2004.

PELLATI, F. et al. Cannabis sativa L. and nonpsychoactive cannabinoids: their chemistry and role against oxidative stress, inflammation, and cancer. **BioMed Research International**, v. 2018, 2018.

PEREIRA, A. F. **Papel do Oxalato na Neuropatia Sensitiva Periférica Induzida por Oxaliplatina em Camungondos: Comparação Entre a Oxaliplatina e Seu Análogo Livre de Oxalato**. 2015. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.

PEREIRA, A. F. et al. 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**, v. 340, p. 77–84, 2018.

PEREIRA, A. F. et al. Metformin reduces c-Fos and ATF3 expression in the dorsal root ganglia and protects against oxaliplatin-induced peripheral sensory neuropathy in mice. **Neuroscience Letters**, v. 709, 2019.

PERTWEE, R. G. Endocannabinoids and their pharmacological actions. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v. 231, p. 1–37, 2015.

PETROSINO, S. et al. Changes in spinal and supraspinal endocannabinoid levels in neuropathic rats. **Neuropharmacology**, v. 52, n. 2, p. 415–422, 2007.

PICCOLO, J.; KOLESAR, J. M. Prevention and treatment of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. **American journal of health-system pharmacy: AJHP: official journal of the American Society of Health-System Pharmacists**, v. 71, n. 1, p. 19–25, 2014.

PIKE, C. T. et al. Healthcare costs and workloss burden of patients with chemotherapy-associated peripheral neuropathy in breast, ovarian, head and neck, and nonsmall cell lung cancer. **Chemotherapy Research and Practice**, v. 2012, 2012.

PISANTI, S. et al. Cannabidiol: State of the art and new challenges for therapeutic applications. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 175, p. 133–150, 2017.

PONTES, R. B. et al. Involvement of endothelin receptors in peripheral sensory neuropathy induced by oxaliplatin in mice. **Neurotoxicity Research**, v. 36, n. 4, p. 688–699, 2019.

PULVERS, J. N.; MARX, G. Factors associated with the development and severity of oxaliplatin-induced peripheral neuropathy: a systematic review. **Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology**, v. 13, n. 6, p. 345–355, 2017.

QUINTÃO, N. L. M. et al. Pharmacological treatment of chemotherapy-induced neuropathic pain: PPAR γ agonists as a promising tool. **Frontiers in Neuroscience**, v. 13, 2019.

RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 327, DE 9 DE DEZEMBRO DE 2019. Disponível em: <<http://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-327-de-9-de-dezembro-de-2019-232669072>> Acesso em: 6 jan. 2020.

RIDDELL, I. A.; LIPPARD, S. J. Cisplatin and oxaliplatin: Our current understanding of their actions. **Metallo-Drugs: Development and Action of Anticancer Agents**, p. 1–42, 2018.

RUDDON, R. W. **Cancer Biology**. 4^a ed. New York, Oxford University Press, 2007.

RUDENKO, V. et al. Inverse relationship of cannabimimetic (R+)WIN 55, 212 on behavior and seizure threshold during the juvenile period. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 100, n. 3, p. 474–484, 2012.

SALAŁAT, K. et al. Antinociceptive, antiallodynic and antihyperalgesic effects of the 5-HT 1A receptor selective agonist, NLX-112 in mouse models of pain. **Neuropharmacology**, v. 125, p. 181–188, 2017.

- SAMINENI, V. K. et al. Divergent modulation of nociception by glutamatergic and GABAergic neuronal subpopulations in the periaqueductal gray. **eNeuro**, v. 4, n. 2, 2017.
- SANBERG, P. R. et al. The catalepsy test: its ups and downs. **Behavioral neuroscience**, v. 102, n. 5, p. 748–59, 1988.
- SCHURMAN, L. D.; LICHTMAN, A. H. Endocannabinoids: A promising impact for traumatic brain injury. **Frontiers in Pharmacology**, v. 8, 2017.
- SHIUE, S. J. et al. Continuous Intrathecal Infusion of Cannabinoid Receptor Agonists Attenuates Nerve Ligation-Induced Pain in Rats. **Regional Anesthesia and Pain Medicine**, v. 42, n. 4, p. 499–506, 2017.
- SILVA, R. O. et al. Polysaccharide fraction isolated from *Passiflora edulis* inhibits the inflammatory response and the oxidative stress in mice. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 67, n. 7, p. 1017–1027, 2015.
- SILVA, N. R. et al. Antinociceptive effects of HUF-101, a fluorinated cannabidiol derivative. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 79, n. Pt B, p. 369–377, 2017.
- SILVEIRA, S. S. **Avaliação da Atividade Muscular Mastigatória, Nociceção Associada e Participação do Sistema Endocanabinoide no Comportamento Bruxismo-Símile em Ratos**. 2015. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.
- SILVESTRO, S. et al. Use of cannabidiol in the treatment of epilepsy: Efficacy and security in clinical trials. **Molecules**, v. 24, n. 8, 2019.
- SISIGNANO, M. et al. Mechanism-based treatment for chemotherapy-induced peripheral neuropathic pain. **Nature Reviews Neurology**, v. 10, n. 12, p. 694–707, 2014.
- SPROWL, J. A. et al. Oxaliplatin-induced neurotoxicity is dependent on the organic cation transporter OCT2. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, n. 27, p. 11199–11204, 2013.
- STAFF, N. P. et al. Platinum-induced peripheral neurotoxicity: From pathogenesis to treatment. **Journal of the Peripheral Nervous System**, v. 24 Suppl 2, n. Suppl 2, p. S26–S39, 2019.
- STAFF, N. P. et al. Pathogenesis of paclitaxel-induced peripheral neuropathy: A current review of in vitro and in vivo findings using rodent and human model systems. **Experimental Neurology**, v. 324, 2020.
- STAROBOVA, H.; VETTER, I. Pathophysiology of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 10, 2017.
- STAROWICZ, K.; FINN, D. P. Cannabinoids and pain: Sites and mechanisms of action. **Advances in Pharmacology**, v. 80, p. 437–475, 2017.

STEIN, A.; ARNOLD, D. Oxaliplatin: A review of approved uses. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 13, n. 1, p. 125–37, 2012.

SUGIURA, T. et al. 2-arachidonoylglycerol: A possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 215, n. 1, p. 89–97, 1995.

SVÍŽENSKÁ, I. H. et al. Bilateral changes of cannabinoid receptor type 2 protein and mrna in the dorsal root ganglia of a rat neuropathic pain model. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v. 61, n. 7, p. 529–547, 2013.

SVÍŽENSKÁ, I.; DUBOVÝ, P.; ŠULCOVÁ, A. Cannabinoid receptors 1 and 2 (CB1 and CB2), their distribution, ligands and functional involvement in nervous system structures - A short review. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 90, n. 4, p. 501–11, 2008.

TANISHIMA, H. et al. Hyperacute peripheral neuropathy is a predictor of oxaliplatin-induced persistent peripheral neuropathy. **Supportive Care in Cancer**, v. 25, n. 5, p. 1383–1389, 2017.

TOKI, M. I.; SAIF, M. W.; SYRIGOS, K. N. Hypersensitivity reactions associated with oxaliplatin and their clinical management. **Expert Opinion on Drug Safety**, v. 13, n. 11, p. 1545–54, 2014.

TRAN, H. C. et al. Oxaliplatin and doxorubicin for relapsed or refractory high-risk neuroblastoma. **Pediatric Hematology and Oncology**, v. 32, n. 1, p. 26–31, 2015.

UCHIYAMA, N. et al. Identification of a cannabinoid analog as a new type of designer drug in a herbal product. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 57, n. 4, p. 439–441, 2009.

UHELSKI, M. L. et al. The non-selective cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 attenuates responses of C-fiber nociceptors in a murine model of cancer pain. **Neuroscience**, v. 247, p. 84–94, 2013.

VAN CUTSEM, E.; VERSLYPE, C.; DEMEDTS, I. The treatment of advanced colorectal cancer: where are we now and where do we go? **Best practice & research. Clinical gastroenterology**, v. 16, n. 2, p. 319–30, 2002.

VELASCO, R. et al. Reliability and accuracy of quantitative sensory testing for oxaliplatin-induced neurotoxicity. **Acta Neurologica Scandinavica**, v. 131, n. 5, p. 282–289, 2015.

VELASCO, R. et al. Early predictors of oxaliplatin-induced cumulative neuropathy in colorectal cancer patients. **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, v. 85, n. 4, p. 392–398, 2014.

VELASCO, G.; SÁNCHEZ, C.; GUZMÁN, M. Towards the use of cannabinoids as antitumour agents. **Nature Reviews Cancer**, v. 12, n. 6, p. 436–44, 2012.

VENDEL, E.; DE LANGE, E. C. M. Functions of the CB1 and CB2 receptors in neuroprotection at the level of the blood-brain barrier. **NeuroMolecular Medicine**, v. 16, n. 3, p. 620–642, 2014.

VERY, N.; LEFEBVRE, T.; EL YAZIDI-BELKOURA, I. Drug resistance related to aberrant glycosylation in colorectal cancer. **Oncotarget**, v. 9, n. 1, p. 1380–1402, 2018.

VIATCHENKO-KARPINSKI, V.; LING, J.; GU, J. G. Down-regulation of kv4.3 channels and a-type k_p currents in v2 trigeminal ganglion neurons of rats following oxaliplatin treatment. **Molecular Pain**, v. 14, 2018.

VIETOR, N. O.; GEORGE, B. J. Oxaliplatin-induced hepatocellular injury and ototoxicity: A review of the literature and report of unusual side effects of a commonly used chemotherapeutic agent. **Journal of Oncology Pharmacy Practice**, v. 18, n. 3, p. 355–9, 2012.

VUČKOVIC, S. et al. Cannabinoids and pain: New insights from old molecules. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, 2018.

WANG, Y. SONG et al. Melatonin attenuates pain hypersensitivity and decreases astrocyte-mediated spinal neuroinflammation in a rat model of oxaliplatin-induced pain. **Inflammation**, v. 40, n. 6, p. 2052–2061, 2017.

WARD, S. J. et al. Cannabidiol prevents the development of cold and mechanical allodynia in paclitaxel-treated female c57bl6 mice. **Anesthesia and Analgesia**, v. 113, n. 4, p. 947–950, 2011.

WARD, S. J. et al. Cannabidiol inhibits paclitaxel-induced neuropathic pain through 5-HT 1A receptors without diminishing nervous system function or chemotherapy efficacy. **British Journal of Pharmacology**, v. 171, n. 3, p. 636–645, 2014.

WARWICK, R. A.; HANANI, M. The contribution of satellite glial cells to chemotherapy-induced neuropathic pain. **European Journal of Pain (London England)**, v. 17, n. 4, p. 571–580, 2013.

WASEEM, M. et al. Role of mitochondrial mechanism in chemotherapy-induced peripheral neuropathy. **Current Drug Metabolism**, v. 19, n. 1, p. 47–54, 2017.

WHEATE, N. J. et al. The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials. **Dalton Transactions**, v. 39, n. 35, p. 8113–8127, 2010.

WILHELMSSEN, K. et al. The endocannabinoid/endovanilloid N-Arachidonoyl dopamine (NADA) and synthetic cannabinoid WIN55,212-2 abate the inflammatory activation of human endothelial cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n. 19, p. 13079–13100, 2014.

WILSON, B. E. et al. Estimates of global chemotherapy demands and corresponding physician workforce requirements for 2018 and 2040: a population-based study. **The Lancet Oncology**, v. 20, n. 6, p. 769–780, 2019.

WOODHAMS, S. G. et al. The role of the endocannabinoid system in pain. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v. 227, p. 119–143, 2015.

WOODHAMS, S. G. et al. The cannabinoid system and pain. **Neuropharmacology**, v. 124, p. 105–120, 2017.

WU, J. et al. Cannabinoid type 2 receptor system modulates paclitaxel-induced microglial dysregulation and central sensitization in rats. **Journal of Pain**, v. 20, n. 5, p. 501–514, 2019.

XU, D. et al. Participation of pro-inflammatory cytokines in neuropathic pain evoked by chemotherapeutic oxaliplatin via central GABAergic pathway. **Molecular Pain**, v. 14, 2018.

XU, C. et al. Pharmacokinetics of oral and intravenous cannabidiol and its antidepressant-like effects in chronic mild stress mouse model. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 70, 2019.

XU, D. H. et al. The effectiveness of topical cannabidiol oil in symptomatic relief of peripheral neuropathy of the lower extremities. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 21, n. 5, p. 390–402, 2020.

YAMAMOTO, K. et al. Transient receptor potential ankyrin 1 that is induced in dorsal root ganglion neurons contributes to acute cold hypersensitivity after oxaliplatin administration. **Molecular Pain**, v. 11, 2015.

YIN, A. QI; WANG, F.; ZHANG, X. Integrating endocannabinoid signaling in the regulation of anxiety and depression. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 40, n. 3, p. 336–341, 2019.

YOON, S. Y. et al. Spinal astrocyte gap junctions contribute to oxaliplatin-induced mechanical hypersensitivity. **Journal of Pain**, v. 14, n. 2, p. 205–214, 2013.

ZAJACZKOWSKA, R. et al. Mechanisms of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 6, 2019.

ZANARDELLI, M. et al. Oxaliplatin neurotoxicity involves peroxisome alterations. PPAR γ agonism as preventive pharmacological approach. **Plos One**, v. 9, n. 7, 2014.

ZHAO, M. et al. Acute cold hypersensitivity characteristically induced by oxaliplatin is caused by the enhanced responsiveness of TRPA1 in mice. **Molecular Pain**, v. 8, 2012.

ZHOU, J. et al. Modulation of the endocannabinoid system following central nervous system injury. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 2, 2019.

ZHU, H. et al. Inhibition of GABAergic neurons and excitation of glutamatergic neurons in the ventrolateral periaqueductal gray participate in electroacupuncture analgesia mediated by cannabinoid receptor. **Frontiers in Neuroscience**, v. 13, 2019.

ZOGOPOULOS, P. et al. The role of endocannabinoids in pain modulation. **Fundamental and Clinical Pharmacology**, v. 27, n. 1, p. 64–80, 2013a.

ZOGOPOULOS, P. et al. The neuroprotective role of endocannabinoids against chemical-induced injury and other adverse effects. **Journal of applied toxicology: JAT**, v. 33, n. 4, p. 246–64, 2013b.

ZOU, S.; KUMAR, U. Cannabinoid receptors and the endocannabinoid system: Signaling and function in the central nervous system. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 3, 2018.

ANEXO A – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DA CEUA – UFC



Universidade Federal do Ceará
 Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA
 Rua: Coronel Nunes de Melo, 1127 Rodolfo Teófilo
 Cep: 60430970 Fortaleza – CE

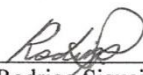
CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “**PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA ENDOCANABINOIDE NA NEUROMODULAÇÃO DA NEUROPATIA SENSITIVA PERIFÉRICA EXPERIMENTAL INDUZIDA PELO AGENTE ANTINEOPLÁSICO OXALIPLATINA**”, protocolo N°41/16, sob responsabilidade de Profa. Dra. Mariana Lima Vale, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização, pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica, para fins de pesquisa científica encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de nº 8 de outubro de 2008, do Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA – UFC) da Universidade Federal do Ceará, em reunião em 16/08/2016.

Vigência do projeto	10/2016 a 10/2020
Espécie/Linhagem	Camundongos heterogênicos/ Swiss
Nº de Animais	480
Peso	25-30g
Sexo	Machos
Origem	Biotério Central da UFC

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
 RODRIGO JOSÉ BEZERRA DE SIQUEIRA
 COORDENADOR DA COMISSÃO DE ÉTICA E DO USO COM
 ANIMAIS - CEUA/UFC - Matrícula Siape: 1520734

Fortaleza, 16 de agosto de 2016


 Rodrigo Siqueira
 Coordenador do CEUA UFC