

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ALYSSON VINÍCIUS BRAGA

**VITAMINAS DO COMPLEXO B COMO POTENCIAIS FÁRMACOS PARA O
MANEJO DA DOR NEUROPÁTICA INDUZIDA POR QUIMIOTERÁPICO**

Belo Horizonte

2019

ALYSSON VINÍCIUS BRAGA

**VITAMINAS DO COMPLEXO B COMO POTENCIAIS FÁRMACOS PARA O
MANEJO DA DOR NEUROPÁTICA INDUZIDA POR QUIMIOTERÁPICO**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obter o grau de mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Renes de Resende Machado

Coorientador: Prof. Dr. Márcio de Matos Coelho

Belo Horizonte

2019

B813v Braga, Alysson Vinícius.
Vitaminas do complexo B como potenciais fármacos para o manejala dor neuropática induzida por quimioterápico / Alysson Vinícius Braga.
– 2019.
91 f. : il.

Orientador: Renes de Resende Machado.
Coorientador: Márcio de Matos Coelho.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

1. Tiamina – Teses. 2. Nicotinamida – Teses. 3. Riboflavina – Teses. 4. Paclitaxel – Teses. 5. Vitaminas B – Complexo – Teses. 6. Dor neuropática – Teses. 7. Neuralgia – Teses. I. Machado, Renesde Resende. II. Coelho, Márcio de Matos. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD:616.0472



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS



FOLHA DE APROVAÇÃO

Vitaminas do complexo B como potenciais fármacos para o manejo da dor neuropática induzida por quimioterápico

ALYSSON VINICIUS BRAGA

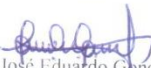
Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, como requisito para obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, área de concentração CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS.

Aprovada em 22 de fevereiro de 2019, pela banca constituída pelos membros:


Prof. Renes de Resende Machado - Orientador
UFMG


Prof. Márcio de Matos Coelho - Coorientador
UFMG


Profa. Caryne Margotto Bertollo
UFMG


Prof. José Eduardo Gonçalves
UFMG

Belo Horizonte, 22 de fevereiro de 2019.

Dedico o grau de mestre

A minha mãe, Maria Donizete Braga, meu padrasto, Charles Diniz e a minha irmã Jhienny Braga, que sempre acreditaram em mim e me incentivaram em todas as etapas conquistadas na minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me guiado por mais essa etapa conquistada.

À minha mãe, Maria Donizete Braga, por ter sido minha base e minha fortaleza durante todos os anos da minha vida.

A minha irmã, Jhienny Braga e ao meu padrasto Charles Diniz, pela amizade, paciência e apoio.

Ao Prof. Renes, que me acolheu como um filho, acreditando na minha capacidade e me dando incentivo em todas as etapas desse projeto. Sou muito grato por conhecer pessoas que nos inspiram e com certeza, o professor Renes é uma dessas.

Ao Prof. Márcio, pelos conselhos e todos ensinamentos que foram repassados durante essa caminhada.

Aos meus amigos, Ronei, Roniele, Lucas, Júnia, Patrícia, Fabiane, Ana Flávia, Ana Paula, Claudiane, João Paulo, Geisa, Lidiane e Bruna, por todo apoio e incentivo. Agradeço também ao Thiago por todo afeto, companheirismo e por sempre acreditar em mim.

Aos colegas de laboratório Marcela, Sarah, Ivo, Felipe, Roger e Barbara por terem se transformado em grandes amigos, tornando mais leve o trabalho.

Aos amigos do biotério, Adelaide e Batista, pela dedicação e profissionalismo no atendimento e fornecimento dos animais.

À Faculdade de Farmácia, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas e à Pró-Reitoria de Pesquisa da UFMG, pelo suporte.

Às agências de fomento Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão de bolsa e auxílio financeiro.

“Viver é enfrentar um problema atrás do outro. O modo como você o encara é que faz a diferença.”

Benjamin Franklin

RESUMO

O manejo da dor neuropática induzida por quimioterápico (DNIQ) ainda é desafiador devido à falta de fármacos que previnem ou aliviam com eficácia esta condição. O reposicionamento de fármacos é um processo que vem sendo estimulado a fim de identificar novas abordagens farmacoterapêuticas que possam ser úteis para o manejo da dor neuropática. Entre os fármacos que têm sido investigados visando ao reposicionamento para prevenção ou alívio da DNIQ estão as vitaminas do complexo B, em especial a tiamina, a nicotinamida e a riboflavina. Ensaios pré-clínicos têm demonstrado que essas vitaminas apresentam atividade em vários modelos de dor e inflamação aguda e crônica. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos induzidos por algumas vitaminas do complexo B sobre a alodínia mecânica em um modelo experimental de dor neuropática induzida pelo quimioterápico paclitaxel. A avaliação do efeito induzido pela tiamina (150, 300 ou 600 mg/Kg, per os - *p.o.*), nicotinamida (250, 500 ou 1000 mg/Kg, *p.o.*) ou riboflavina (125, 250 e 500 mg/Kg, *p.o.*) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel (quatro doses, 2 mg/Kg, 2 mL/Kg, *i.p.*) foi realizada em camundongos. Para investigar potenciais mecanismos mediando a atividade antinociceptiva das vitaminas do complexo B, foram utilizados antagonistas opioidérgico (naltrexona 5 ou 10 mg/kg, intraperitoneal - *i.p.*) e serotoninérgico (ciproheptadina 5 ou 10 mg/Kg, *i.p.*) e um bloqueador de canais para potássio sensíveis ao ATP (K_{ATP} ; glibenclamida, 20 ou 40 mg/Kg, *p.o.*). Também foi avaliado o efeito induzido pelas vitaminas do complexo B sobre a concentração de citocinas inflamatórias (fator de necrose tumoral- α e CXCL-1) nos gânglios da raiz dorsal (DRG) e no tálamo. Todas as vitaminas inibiram a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel quando administradas duas vezes no sétimo dia após a sensibilização, apresentando atividades antinociceptivas semelhantes à da pregabalina (30 mg/Kg, *p.o.*). Essas atividades não foram associadas a um comprometimento da coordenação motora. A naltrexona e a glibenclamina atenuaram o efeito antinociceptivo induzido pela tiamina e riboflavina. O efeito antinociceptivo induzido pela nicotinamida foi atenuado somente pela glibenclamida. Todas as vitaminas do complexo B reduziram as concentrações das citocinas inflamatórias nos DRG e no tálamo. Os resultados demonstram que a atividade antinociceptiva das vitaminas do complexo B no modelo de dor neuropática induzida pelo paclitaxel pode ser mediada pela ativação de receptores opioidérgicos e/ou canais para K_{ATP} e redução da produção de citocinas inflamatórias nos DRG e no tálamo. Dessa forma, as vitaminas do complexo B podem representar uma nova estratégia farmacoterapêutica no manejo de pacientes com DNIQ, justificando a realização de ensaios pré-clínicos e clínicos adicionais, com o objetivo de avaliar seu potencial uso como fármaco analgésico.

Palavras-chave: Tiamina. Nicotinamida. Riboflavina. Dor Neuropática. Paclitaxel.

ABSTRACT

The management of chemotherapy-induced neuropathic pain (CINP) is still challenging due to the lack of drugs that may effectively prevent or alleviate this condition. Drug repositioning is a process that has been stimulated in order to identify new pharmacotherapeutic approaches that may be useful for the management of neuropathic pain. B vitamins, particularly thiamine, nicotinamide and riboflavin, have been investigated aiming the repositioning for prevention or relief of CINP. Preclinical trials have shown that these some B vitamins exhibit activity in various models of acute and chronic pain and inflammation. The objective of this study was to evaluate the effects induced by some B vitamins on the mechanical allodynia in an experimental model of neuropathic pain induced by paclitaxel. The evaluation of the effect induced by thiamine (150, 300 or 600 mg/Kg, per os – *p.o.*), nicotinamide (250, 500 or 1000 mg/Kg, *p.o.*) or riboflavin (125, 250 and 500 mg/Kg, *p.o.*) on the mechanical allodynia induced by paclitaxel (four doses, 2 mg/Kg, 2 mL/Kg, intraperitoneal – *i.p.*) was carried out on mice. To investigate potential mechanisms mediating the antinociceptive activity of the vitamins, opioidergic (naltrexone, 5 or 10 mg/Kg, *i.p.*) and serotonergic (cyproheptadine, 5 or 10 mg/Kg, *i.p.*) antagonists and an ATP-sensitive potassium channels (K_{ATP}) blocker (glibenclamide, 20 or 40 mg/Kg, *p.o.*) were used. The effect of B vitamins on the concentration of inflammatory cytokines (tumor necrosis factor- α and CXCL-1) in the dorsal root ganglia (DRG) and thalamus was also evaluated. B vitamins inhibited paclitaxel-induced mechanical allodynia when administered twice daily on the seventh day after sensitization, with antinociceptive activities similar to that of pregabalin (30 mg/Kg, *p.o.*). These activities were not associated with impairment of motor coordination. Naltrexone and glibenclamide attenuated the antinociceptive effect induced by thiamine and riboflavin. Nicotinamide antinociceptive effect was attenuated only by glibenclamide. B vitamins reduced the concentrations of inflammatory cytokines in the DRG and thalamus. The results demonstrate that B vitamins antinociceptive activity in the neuropathic pain model induced by paclitaxel is mediated by activation of opioidergic receptors and/or K_{ATP} channels, as well as reduced production of inflammatory cytokines in DRG and thalamus. Concluding, B vitamins may represent a new pharmacotherapeutic strategy in the management of patients with CINP, justifying the conduction of additional preclinical and clinical trials, in order to evaluate their potential use as an analgesic drug.

Keywords: Thiamine. Nicotinamide. Riboflavin. Neuropathic Pain. Paclitaxel.

LISTAS DE FIGURAS

1. Dor nociceptiva.....	20
2. Representação dos locais de ação de alguns agentes quimioterápicos no sistema nervoso periférico.....	27
3. Estrutura química paclitaxel.....	28
4. Microscopia de transmissão do nervo isquiático de camundongos, mostrando a degeneração axonal causada pelo tratamento com paclitaxel.....	29
5. Imagens de microscopia de transmissão mostrando o processo de vacuolização (mitocôndrias atípicas) como consequência do tratamento com paclitaxel.....	30
6. Estrutura química da tiamina.....	35
7. Estrutura química da riboflavina.....	37
8. Estrutura química da nicotinamida.....	39
9. Escala temporal da avaliação do efeito induzido pela tiamina, nicotinamida e riboflavina no modelo experimental de DN induzida pelo paclitaxel.....	46
10. Escala temporal da avaliação do efeito induzido pela tiamina, nicotinamida e riboflavina sobre a coordenação motora.....	47
11. Escala temporal da avaliação do efeito induzido pelas vitaminas do complexo B, após tratamento prévio com naltrexona ou ciproheptadina, sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel.....	48
12. Escala temporal da avaliação do efeito induzido pelas vitaminas do complexo B, após tratamento prévio com glibenclamida, sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel.....	48
13. Curso temporal da alodínia mecânica induzida por repetidas administrações de paclitaxel.....	50
14. Efeito induzido por duas administrações de tiamina (150, 300 ou 600 mg/Kg, p.o.) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel.....	52

15. Efeito induzido por duas administrações de nicotinamida (250, 500 ou 1000 mg/Kg, <i>p.o.</i>) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel.....	53
16. Efeito induzido por duas administrações de riboflavina (125, 250 ou 500 mg/Kg, <i>p.o.</i>) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel	54
17. Efeito induzido por duas administrações de tiamina (600 mg/Kg, <i>p.o.</i>), nicotinamida (1000 mg/Kg, <i>p.o.</i>), riboflavina (500 mg/Kg, <i>p.o.</i>), uma administração de fenobarbital (50 mg/kg, <i>p.o.</i>) ou veículo (CMC 0,5%) sobre o tempo de permanência dos camundongos na haste girante.....	55
18. Efeitos induzidos por duas administrações de tiamina (600 mg/Kg, <i>p.o.</i>), nicotinamida (1000 mg/Kg, <i>p.o.</i>), riboflavina (500 mg/Kg, <i>p.o.</i>) ou uma administração de pregabalina (30 mg/Kg, <i>p.o.</i>) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel.....	57
19. Efeito induzido por duas administrações de tiamina (600 mg/Kg, <i>p.o.</i>) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel em animais previamente (15 min) tratados com naltrexona (5 ou 10 mg/Kg, <i>i.p.</i>).....	59
20. Efeito induzido por duas administrações de tiamina (600 mg/Kg, <i>p.o.</i>) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel em animais previamente (30 min) tratados com glibenclamida (20 ou 40 mg/Kg, <i>p.o.</i>).....	60
21. Efeito induzido por duas administrações de tiamina (600 mg/Kg, <i>p.o.</i>) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel em animais previamente (15 min) tratados com ciproheptadina (5 ou 10 mg/Kg, <i>i.p.</i>).....	61
22. Efeito induzido por duas administrações de nicotinamida (1000 mg/Kg, <i>p.o.</i>) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel em animais previamente (15 min) tratados com naltrexona (5 ou 10 mg/Kg, <i>i.p.</i>).....	62
23. Efeito induzido por duas administrações de nicotinamida (1000 mg/Kg, <i>p.o.</i>) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel em animais previamente (30 min) tratados com glibenclamida (20 ou 40 mg/Kg, <i>p.o.</i>).....	63
24. Efeito induzido por duas administrações de nicotinamida (1000 mg/Kg, <i>p.o.</i>) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel em animais previamente (15 min) tratados com ciproheptadina (5 ou 10 mg/Kg, <i>i.p.</i>).....	64
25. Efeito induzido por duas administrações de riboflavina (500 mg/Kg, <i>p.o.</i>) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel em animais previamente (15 min) tratados com naltrexona (5 ou 10 mg/Kg, <i>i.p.</i>).....	65

26. Efeito induzido por duas administrações de riboflavina (500 mg/Kg, <i>p.o.</i>) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel em animais previamente (30 min) tratados com glibenclamida (20 ou 40 mg/Kg, <i>p.o.</i>).....	66
27. Efeito induzido por duas administrações de riboflavina (500 mg/Kg, <i>p.o.</i>) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel em animais previamente (15 min) tratados com ciproheptadina (5 ou 10 mg/Kg, <i>i.p.</i>).....	67
28. Efeitos induzidos por duas administrações de tiamina (600 mg/Kg, <i>p.o.</i>), nicotinamida (1000 mg/Kg, <i>p.o.</i>) ou riboflavina (500 mg/Kg, <i>p.o.</i>) sobre a produção de CXCL-1 em DRG (A) e tálamo (B).....	69
29. Efeito induzido por duas administrações de tiamina (600 mg/Kg, <i>p.o.</i>), nicotinamida (1000 mg/Kg, <i>p.o.</i>) ou riboflavina (500 mg/Kg, <i>p.o.</i>) sobre a produção de TNF- α em DRG (A) e tálamo (B).....	70

LISTA DE TABELAS

1. Estudos que investigaram a atividade antinociceptiva da tiamina em modelos experimentais.....	36
2. Estudos que investigaram a atividade antinociceptiva da riboflavina em modelos experimentais.....	37
3. Estudos que investigaram as atividades antinoceptiva e neuroprotetora da nicotinamida.....	40

LISTA DE ABREVIATURAS

- AINE: anti-inflamatório não esteroide
- AMPA: ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazepropiônico
- AMPc: adenosil monofosfato cíclico
- ATP: trifosfato de adenosina
- AVC: acidente vascular cerebral
- CCI: constrição crônica do nervo isquiático
- CFA: adjuvante completo de Freund
- CGRD: compressão dos gânglios da raiz dorsal
- CGRP: peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
- COX: ciclooxigenase
- CNI: constrição do nervo infraorbitário
- CXCL-1: *chemokine (C-X-C motif) ligand 1*.
- DN: dor neuropática
- DNIQ: dor neuropática induzida por quimioterápico
- DRG: gânglios da raiz dorsal
- HIV: vírus da imunodeficiência humana
- IL-1 β : interleucina-1 β
- IL-6: interleucina-6
- i.p.*: intraperitoneal
- K_{ATP}: canais para potássio sensíveis ao ATP
- Kv: canais para potássio voltagem dependentes
- LM/IQ: lesão medular por injeção intraspinal de ácido quisquálico
- MAPK: proteína cinase ativada por mitógeno
- mPTP: poro de transição da permeabilidade mitocondrial
- Nav: canais para sódio voltagem dependentes
- NF-kB: fator nuclear kappa B

NGF: fator de crescimento neural

NMDA: N-metil-D-aspartato

NPIQ: neuropatia periférica induzida por quimioterápico

PGE₂: prostaglandina E₂

p.o: per os

PQ: placa quente

ROS: espécies reativas de oxigênio

rpm: rotações por minuto

s.c.: subcutânea

SCII: lesão de reperfusão isquêmica medular

SNC: sistema nervoso central

SNL: ligação dos nervos espinhais L5 e L6

SUR: receptor de sulfonilureia

TNF- α : fator de necrose tumoral- α

TRP: receptores de potencial transitório.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	18
1.1.Aspectos Gerais da dor	18
1.2.Dor nociceptiva.....	19
1.3.Dor inflamatória.....	21
1.4.Dor disfuncional.....	22
1.5.Dor neuropática.....	22
1.6. DN Induzida por Quimioterápicos (DNIQ).....	25
1.7. DN Induzida pelo Paclitaxel.....	27
1.8.Farmacoterapia da DN.....	31
1.9.Reposicionamento das vitaminas do complexo B para o alívio de condições dolorosas.....	34
1.9.1. Tiamina.....	34
1.9.2. Riboflavina.....	37
1.9.3. Nicotinamida.....	39
2. JUSTIFICATIVA.....	41
3. OBJETIVO.....	42
4. MATERIAIS E MÉTODOS	43
4.1.Animais.....	43
4.2.Drogas e reagentes.....	43
4.3.Preparo, doses e vias de administração das soluções e suspensões.....	44
4.3.1. Preparo da solução de paclitaxel.....	44
4.3.2. Preparo das suspensões de tiamina, riboflavina, nicotinamina e pregabalina...	44
4.3.3. Preparo da solução de fenobarbital.....	44

4.3.4. Preparo das soluções de naltrexona, ciproheptadina e glibenclamida.....	44
4.4. Modelo experimental de DN induzida pelo paclitaxel.....	44
4.5. Avaliação da alodínia mecânica.....	45
4.6. Avaliação dos efeitos induzidos pela tiamina, nicotinamida e riboflavina no modelo de DN induzida pelo paclitaxel.....	45
4.7. Avaliação dos efeitos induzidos pela tiamina, nicotinamida e riboflavina sobre a coordenação motora.....	46
4.8. Avaliação dos efeitos induzidos pela naltrexona, glibenclamida e ciproheptadina sobre a atividade das vitaminas do complexo B no modelo experimental de DN induzida pelo paclitaxel.....	47
4.9. Concentrações de TNF- α e CXCL-1.....	48
4.10. Análise estatística.....	49
5. RESULTADOS.....	50
5.1. Padronização do modelo experimental de DN induzida pelo paclitaxel.....	50
5.2. Efeito induzido pela tiamina, nicotinamida e riboflavina sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel.....	50
5.3. Efeito induzido pela tiamina, nicotinamida e riboflavina sobre a coordenação motora.....	55
5.4. Efeito induzido pela pregabalina, tiamina, nicotinamida e riboflavina sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel.....	56
5.5. Efeitos induzidos pela naltrexona, ciproheptadina ou glibenclamida sobre a atividade antinociceptiva da tiamina, nicotinamida e riboflavina.....	58
5.6. Efeitos induzidos pela tiamina, nicotinamida e riboflavina sobre a produção de CXCL-1 e TNF- α nos DRG e tálamo.....	68
6. DISCUSSÃO.....	71
7. REFERÊNCIAS.....	79

1. INTRODUÇÃO

1.1. Aspectos gerais da dor

Segundo a Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP), a dor é definida como uma experiência desagradável que envolve aspectos sensoriais, emocionais e cognitivos e está associada a uma lesão real ou potencial de algum tecido. A dor também é considerada um fenômeno multidimensional, estando associada a vários componentes, incluindo sensoriais, fisiológicos, afetivos, comportamentais e espirituais (OMS, 2012). A dor atua como um mecanismo de proteção e um sistema de alarme para muitas condições patológicas, sendo o sintoma mais comumente associado à procura de auxílio médico (LOESER & MELZACK, 1999; MICKLE *et al.*, 2016). Esse sintoma justifica mais de 70% das consultas médicas em consultórios brasileiros (ROCHA *et al.*, 2007). No mundo, as prevalências da dor crônica variam de 10,1 a 55,5%, sendo essa estimativa semelhante àquela encontrada no Brasil (ROCHA *et al.*, 2007; VASCONCELOS & ARAÚJO, 2018).

O termo amplamente utilizado para definir esse sintoma, principalmente para estudos em animais experimentais, é nocicepção, que explica os mecanismos e vias neurais para codificação e processamento dos estímulos nocivos (LOESER & TREEDE, 2008). Geralmente, ocorre uma propagação de potenciais de ação que começam com a ativação de neurônios sensoriais chamados nociceptores, que estão presentes em diversos órgãos e tecidos como epitelial, muscular, articulações, entre outros (GOLD & GEBHART, 2010). Os nociceptores geralmente identificam diversos estímulos como mecânicos térmicos ou químicos, dando origem ao processo de nocicepção (BAUSBAUM *et al.*, 2009; MICKLE *et al.*, 2016). Após a detecção dos estímulos pelos nociceptores, os potenciais de ação são transmitidos aos neurônios de segunda ordem localizados na medula espinhal ou tronco cerebral, com posterior participação talâmica, sendo interpretados como estímulos nocivos pelo córtex cerebral (ROCHA *et al.*, 2007; JULIUS, 2013; MICKLE *et al.*, 2016).

As fibras A δ e C são fibras envolvidas na detecção de estímulos nocivos e transdução desses estímulos em sinais elétricos e sua condução à medula espinhal ou tronco cerebral. As fibras A δ , são mielinizadas e, conseqüentemente, a transmissão dos potenciais de ação ocorre rapidamente. As fibras C, por sua vez, não são mielinizadas e conduzem os potenciais de ação de forma lenta (ROCHA *et al.*, 2007; GOLD & GEBHART, 2010).

Os nociceptores são funcionalmente caracterizados pelo tipo de receptores sensoriais/canais iônicos expressos na membrana plasmática. Esses receptores pertencem a família de receptores de potencial transitório (TRP) e sua funcionalidade varia com a temperatura, estímulos químicos ou forças mecânicas. Os TRPs são canais catiônicos não seletivos, que, quando ativados, transduzem um estímulo externo em uma mudança de potencial de membrana, abrindo canais para $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ou fechando canais para K^+ (MICKLE *et al.*, 2016; VARDEH *et al.*, 2016).

Após a ocorrência de algum dano tecidual, substâncias químicas podem ser liberadas extracelularmente e modular a ativação de neurônios sensoriais. Entre os mediadores químicos responsáveis pela ativação de neurônios sensoriais, destacam-se a histamina, substância P, serotonina, bradicinina, acetilcolina, leucotrienos e prostaglandinas. Cada um desses mediadores interage com os nociceptores, aumentando ainda mais a sensibilização a estímulos nocivos. Esse fenômeno representa um mecanismo periférico pelo qual a lesão tecidual promove hipersensibilidade estímulos nocivos (JULIUS, 2013; BAUSBAUM *et al.*, 2009).

A duração da dor é uma característica mensurável que permite a diferenciação entre dor aguda e dor crônica. A dor crônica geralmente é reconhecida como uma dor que persiste por mais de três meses, perdendo a função de alerta que ocorre na dor aguda. Esse tipo de dor está associado a um sofrimento emocional significativo, com interferência nas atividades cotidianas e na interação social do paciente (TREEDE *et al.*, 2015).

Existem vários tipos distintos de dor, que são classificados de acordo com a sua causa como dor nociceptiva, inflamatória, disfuncional e neuropática. Cada tipo de dor será abordado adiante com maiores detalhes. Os mecanismos neurobiológicos responsáveis por esses diferentes tipos de dor fornecem melhor compreensão dos tipos de dor gerados por diferentes fatores etiológicos em determinados pacientes e uma terapia mais direcionada (VARDEH *et al.*, 2016; COSTIGAN *et al.*, 2009; WOOLF, 2004).

1.2. Dor nociceptiva

A dor nociceptiva se manifesta como consequência de uma lesão atual ou futura em um tecido não neural e decorre da ativação de nociceptores que detectam a presença de estímulos potencialmente prejudiciais (WOOLF, 2004; HEHN *et al.*, 2012; TEIXEIRA *et al.*, 2016). De acordo com a localização dos nociceptores, a dor nociceptiva pode ser subdividida em dor somática e visceral (OMS, 2012).

A dor somática é desencadeada pela ativação de nociceptores em tecidos superficiais como (pele e mucosas) ou tecidos profundos (tecidos ósseo, muscular, conjuntivo e articulações). Cortes e entorses são exemplos de causas de dor somática superficial, enquanto as câibras musculares podem resultar em dor somática profunda. A dor visceral, por sua vez, é causada pela ativação de nociceptores localizados nas vísceras torácicas e abdominais (OMS, 2012).

Como mencionado anteriormente, a transdução de estímulos mecânicos, térmicos e químicos na dor nociceptiva ocorre por atividade elétrica nos nociceptores. Na ausência de estímulos, há pouca atividade espontânea dos nociceptores, devido a uma grande condutância de K^+ através de canais iônicos. Existem receptores específicos para a transdução de cada estímulo (Fig. 1), mas apenas a presença desse transdutor não necessariamente confere sensibilidade ao estímulo. Por exemplo, a presença de TRPM8, um transdutor de estímulo frio, não é suficientemente capaz de conferir a sensibilidade ao frio. A sensibilidade ao frio também pode depender da expressão de canais para K^+ (GOLD & GEBHART, 2010).

A dor nociceptiva deve ser controlada apenas em situações clínicas específicas, como procedimentos cirúrgicos ou traumas, evitando que este sistema seja incapacitado. Dessa forma, ocorre preservação da função protetora e, conseqüentemente, preservação de tecidos, caracterizando a dor nociceptiva como uma sensação fisiológica vital (WOOLF, 2004).

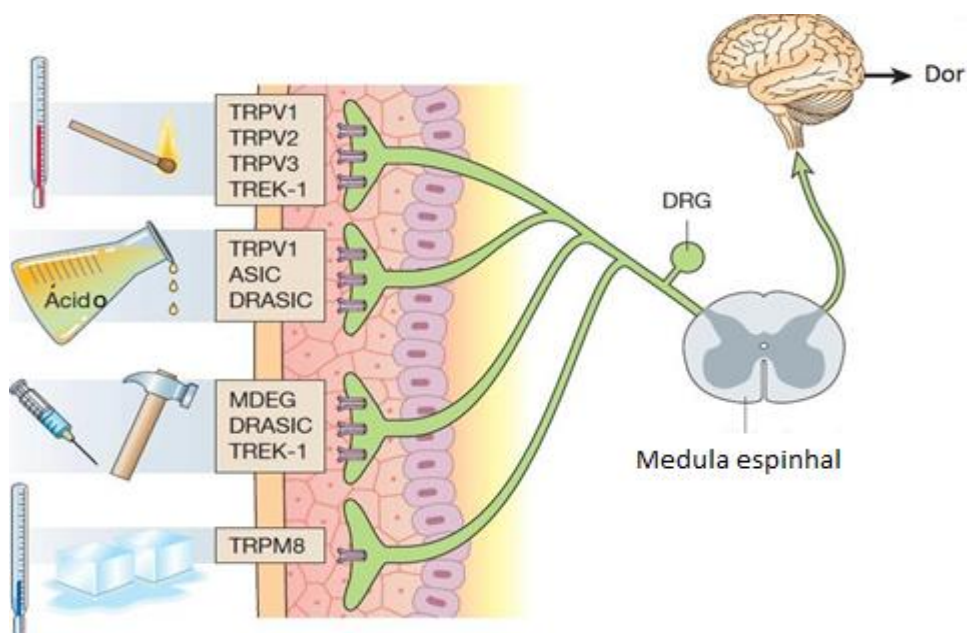


Figura 1. Dor nociceptiva. Adaptada de SCHOLZ & WOOLF, 2002.

1.3. Dor inflamatória

A dor inflamatória ocorre devido à ativação e/ou sensibilização direta de nociceptores induzida por mediadores inflamatórios (SCHOLZ & WOOLF, 2002; WOOLF, 2004; VADEH *et al.*, 2016). Esse tipo de dor influencia negativamente na qualidade de vida dos pacientes, principalmente na realização de atividades normais, devido à redução do funcionamento e mobilidade da área acometida (COBOS *et al.*, 2012).

Os danos teciduais são acompanhados pelo acúmulo de mediadores liberados de nociceptores ativados ou células não neurais que residem ou se infiltram na área afetada como mastócitos, basófilos, plaquetas, macrófagos, neutrófilos e células endoteliais. Esses mediadores são de naturezas diversas e incluem aminas bioativas, prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanos, bradicinina, substância P, peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), fator de crescimento neural (NGF) e citocinas como interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral- α (TNF- α), entre outros (BASBAUM *et al.*, 2009; VADEH *et al.*, 2016).

Os nociceptores expressam um ou mais receptores de superfície celular capazes de reconhecer e responder a esses mediadores. A interação dos mediadores inflamatórios aumenta a excitabilidade dos nociceptores, gerando um aumento da sensibilidade a estímulos térmicos ou mecânicos, por exemplo (BASBAUM *et al.*, 2009). Os mediadores inflamatórios também induzem mudanças pós-transducionais de nociceptores. Um exemplo é o NGF, que pode aumentar a expressão do canal TRPV1 e, conseqüentemente, a transdução de estímulos nos nociceptores (VADEH *et al.*, 2016). Além disso, os mediadores também aumentam a excitabilidade e a sinalização dos nociceptores por aumentar a expressão de canais para sódio voltagem dependentes, como Nav 1.7, Nav 1.8 e Nav 1.9 (CHAHINE & O'LEARY, 2014; VADEH *et al.*, 2016).

Também ocorre um aumento da expressão de ciclooxigenase 2 nos neurônios da medula espinhal após inflamação periférica, decorrente da resposta gerada por citocinas de ação sistêmica como IL-1 β . Como resultado, ocorre aumento da produção de PGE₂ no sistema nervoso central (SNC), o que poderia explicar o quadro hiperalgésico que ocorre em determinadas situações inflamatórias (SAMAD *et al.*, 2001).

1.4. Dor disfuncional

A dor disfuncional é uma designação relativamente nova, sendo classificada como um tipo de dor crônica. As síndromes dolorosas disfuncionais englobam diversas doenças que possuem em comum a ausência de lesão tecidual que justifique a sensação dolorosa. Entre essas, destacam-se a fibromialgia, a síndrome do intestino irritável, a doença da articulação temporomandibular, a cistite intersticial, a migrânea e outras cefaleias primárias (NAGAKURA, 2015; SPECIALI *et al.*, 2016).

Atualmente, as prevalências de dores disfuncionais são razoavelmente altas, sendo de 2-8% para fibromialgia, 7-21% para síndrome do intestino irritável e 0,05-0,5% para a cistite intersticial/síndrome da bexiga dolorosa. A presença dessas desordens reduz significativamente a qualidade de vida dos pacientes (NAGAKURA, 2015).

Essas síndromes são causadas pelo mau funcionamento do aparelho somatossensorial e ocorrem em situações em que não há estímulo nocivo identificável no sistema nervoso (COSTIGAN *et al.*, 2009). Entretanto, ainda não estão bem elucidados as alterações neuroquímicas e os marcadores dessa condição dolorosa (NAGAKURA, 2015; SPECIALI *et al.*, 2016).

Em condições como fibromialgia, síndrome do intestino irritável e cistite intersticial, a dor está relacionada com uma amplificação autônoma de sinais nociceptivos no SNC, juntamente com a alteração do processamento sensorial (COSTIGAN *et al.*, 2009; VADEH *et al.*, 2016).

A farmacoterapia analgésica disponível não proporciona alívio adequado da dor disfuncional. Em parte, isso se deve à falta de compreensão dos mecanismos biológicos dessa condição dolorosa (NAGAKURA *et al.*, 2015).

1.5. Dor neuropática

A dor neuropática (DN) é a dor causada por lesões ou doenças do sistema somatossensorial, que é responsável pela percepção de toque, pressão, dor, temperatura, vibrações e movimentos (COLLOCA *et al.*, 2017; MEACHAM *et al.*, 2017). As prevalências da DN na população mundial variam de 6,9 a 10%, sendo mais comum em mulheres e pacientes idosos (VAN HECKE *et al.*, 2014; POSSO *et al.*, 2016; COLLOCA *et al.*, 2017). As causas mais comuns da DN são as infecções pelo vírus varicela-zoster, lesões dos nervos trigêmeos, radiculopatia dolorosa, neuropatia diabética, infecções pelo

vírus da imunodeficiência humana (HIV), amputações, hanseníase, esclerose múltipla, acidente vascular cerebral (AVC), deficiência de vitamina B₁₂, câncer e quimioterapia (COLLOCA *et al.*, 2017; MEACHAM *et al.*, 2017; ZILLIOX, 2017).

Assim como outras condições dolorosas crônicas, a DN também está associada a vários fatores que afetam negativamente a vida dos pacientes, como ansiedade, insônia, mau humor e depressão, ocasionando uma redução da qualidade de saúde. Essa condição também implica em um aumento do número de prescrições medicamentosas e cuidados dos profissionais da saúde, resultados decorrentes de falhas da farmacoterapia (COLLOCA *et al.*, 2017; ZILLIOX, 2017).

Os sintomas da DN são classificados em positivos e negativos. Os sintomas positivos correspondem às sensações do tipo parestesias e disestesias, sendo dolorosas e, geralmente, descritas como queimaduras, formigamentos ou picadas. Esses sintomas estão associados à hiperalgesia, que é um aumento da dor após contato com um estímulo que normalmente provoca dor, e alodínia, que é a dor após contato com um estímulo que normalmente não provocaria a dor. Os sintomas negativos são sensações do tipo anestesia tátil, hipoestesia térmica e perda de sensação vibratória (NICKEL *et al.*, 2012; ZILLIOX, 2017). Geralmente, esses sintomas são descritos como desconfortáveis pelo paciente, mas não dolorosos, e ocorrem devido à lesão direta dos neurônios sensoriais, gerando morte celular e comprometimento da transdução sensorial (HEHN *et al.*, 2012; NICKEL *et al.*, 2012).

As síndromes neuropáticas são divididas em duas categorias: DN decorrente de uma lesão periférica (quimioterapia, deficiência de vitamina B₁₂, neuropatia diabética, reticulopatia, infecção pelo HIV, entre outras) e DN decorrente de uma lesão ou doença no SNC (esclerose múltipla, AVC, lesão da medula espinhal, mielopatia de compressão e síringomielia) (MEACHAM *et al.*, 2017; ZILLIOX, 2017).

Após lesões das fibras C e fibras A δ , causadas por toxinas, medicamentos e mediadores inflamatórios, ocorre uma alteração da densidade dessas fibras e uma hiperexcitabilidade neuronal, com mudança da expressão gênica e ativação de uma resposta imunológica. A hiperexcitabilidade neuronal pode ser explicada pelo aumento da expressão de isoformas de canais para sódio voltagem dependentes do tipo Nav. Os canais Nav também são expressos nos gânglios da raiz dorsal (DRG), originando potenciais de ação anormais ao longo da via nociceptiva. Dessa forma, a alteração da expressão e distribuição dos canais

Nav nos neurônios sensoriais é responsável pela produção de potenciais de ação de origem espontânea. Esse fenômeno é chamado de atividade ectópica e explica o relato de dor que ocorre na ausência de qualquer estímulo externo. Esses canais são ativados após a detecção de estímulos pelos receptores do tipo TRP (TRPA1/TRPV4 para estímulos mecânicos, TRPA1/TRPM8 para frio e TRPV1 para calor) (HEHN *et al.*, 2012; GARCIA-LARREA, 2014; COLLOCA *et al.*, 2017; MEACHAM *et al.*, 2017).

Na DN, também é observada menor ativação e expressão de canais para potássio do tipo Kv, que são canais repolarizantes e reguladores dos potenciais de ação. A modulação negativa de canais para K⁺ sensíveis a ATP (K_{ATP}) resulta em uma diminuição das correntes de K⁺ e, conseqüentemente, um aumento da excitação dos neurônios sensoriais (SARANTOPOULOS *et al.*, 2003; MEACHAM *et al.*, 2017). Há também um aumento de infiltrado de células imunitárias (macrófagos, neutrófilos e mastócitos) tanto no local da lesão quanto nos DRG, gerando fornecimento contínuo de mediadores inflamatórios, sendo estes responsáveis por manter a sensibilização das fibras nervosas e, conseqüentemente, um prolongamento da experiência dolorosa (ZHANG *et al.*, 2016; REN & DUBNER, 2010; SCHOLZ & WOOLF, 2007).

A hiperexcitabilidade periférica induz a sensibilização de neurônios de segunda ordem na região do corno dorsal da medula espinhal ou tronco cerebral, ocasionando uma estimulação excitatória central (NICKEL *et al.*, 2012). Animais submetidos a uma ligação dos nervos espinhais L5 e L6 (modelo experimental de DN SNL) apresentam um aumento da expressão da subunidade $\alpha 2/\delta$ dos canais para Ca²⁺ voltagem dependentes nos DRG (LUO *et al.*, 2001). O aumento da atividade dos canais para Ca²⁺ contribui significativamente para a liberação de neurotransmissores excitatórios nos terminais das fibras nociceptivas. O glutamato, um desses neurotransmissores envolvidos no processamento nociceptivo, interage com três receptores: ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazelopropiônico (AMPA), N-metil-D-aspartato (NMDA) e os receptores acoplados à proteína G (NICKEL *et al.*, 2012; GARCIA-LARREA, 2014). Alguns desses receptores, como AMPA e NMDA, estão aumentados, principalmente no corno dorsal da medula espinhal em modelos experimentais de DN, gerando uma transmissão nociceptiva central sustentada (TOMIYAMA *et al.*, 2005; LIM *et al.*, 2006). Peptídeos, como substância P, que são liberadas dos terminais das fibras nociceptivas, revertem a inibição fisiológica dos receptores NMDA que normalmente são bloqueados por íons Mg²⁺,

contribuindo para hiperexcitabilidade ocasionada por estímulos nocivos (KHASABOV *et al.*, 2002).

Alterações de várias cascatas de sinalização celular também estão envolvidas no processo de sensibilização central da DN como a ativação de proteína cinase C, proteína cinase ativada por mitógeno (MAPK) e vias de sinalização de óxido nítrico (NICKEL *et al.*, 2012).

Além disso, também ocorre ativação de células da glia como a micróglia e astrócitos (NICKEL *et al.*, 2012; COLLOCA *et al.*, 2017). Essas células participam da sensibilização através da liberação de mediadores inflamatórios, aumentando a estimulação dos neurônios do corno dorsal, contribuindo para o prolongamento e manutenção da DN (NICKEL *et al.*, 2012; GARCIA-LARREA, 2014; COLLOCA *et al.*, 2017).

Na DN, também ocorre deficiência dos sistemas endógenos inibitórios da dor, aumentando a sensibilidade a estímulos nocivos (ZIMMERMANN, 2001). Parece que as vias noradrenérgica e serotoninérgica, que inibem no corno dorsal a estimulação da via ascendente, estão inibidas em quadros de DN. Além disso, ocorre uma diminuição da expressão de receptores μ opioides no corno dorsal, diminuindo atuação de agonistas opioides endógenos e contribuindo para a hiperexcitabilidade (COSTIGAN *et al.*, 2009).

O diagnóstico preciso da DN ainda é um obstáculo, pois não existe um teste diagnóstico ou um sintoma específico dessa condição. Levam-se em consideração a história prévia e o exame físico do paciente. Deve ser realizada uma avaliação clínica cuidadosa, analisando a intensidade, a duração e a localização dos sintomas descritos pelos pacientes. Geralmente, empregam-se testes sensoriais que avaliam diferentes modalidades como toque leve, vibração, temperatura (ZILIOX, 2017).

1.6. DN induzida por quimioterápicos (DNIQ)

Um dos grandes problemas enfrentados por pacientes com câncer submetidos à quimioterapia é a neuropatia periférica induzida por quimioterápico (NPIQ), geralmente acompanhada de DN (PARK *et al.*, 2013; SISIGNANO *et al.*, 2014). Essa condição afeta cerca de 40% dos pacientes submetidos à quimioterapia, persistindo por anos após o tratamento (WOLF *et al.*, 2008; PARK *et al.*, 2013). Fatores como idade do paciente, dose, duração da farmacoterapia, co-administração com outros agentes quimioterápicos e

condições patológicas pré-existent, como diabetes, influenciam no desenvolvimento e evolução da NPIQ (WOLF *et al.*, 2008). A presença dessa condição, além de diminuir acentuadamente a qualidade de vida dos pacientes, limita a dose e a seleção de fármacos que serão empregados na quimioterapia (PARK *et al.*, 2013; CAROZZI *et al.*, 2014; SISIGNANO *et al.*, 2014).

A DNIQ pode ocorrer após o tratamento com quimioterápicos diversos, incluindo os compostos de platina (cisplatina, carboplatina, oxaliplatina), taxanos (paclitaxel, docetaxel), alcaloides da vinca (vincristina, vinblastina), talidomida e bortezomibe (PARK *et al.*, 2013; CAROZZI *et al.*, 2014; SISIGNANO *et al.*, 2014). Os sintomas mais frequentes são dor aguda, parestesias, disestesias e alodínia mecânica (WOLF *et al.*, 2008; SISIGNANO *et al.*, 2014). As terminações de neurônios sensoriais presentes nas extremidades das mãos e dos pés são inicialmente as mais afetadas (Fig. 2) (PARK *et al.*, 2013).

A gênese da DNIQ está associada à neurotoxicidade dos quimioterápicos, normalmente envolvendo estruturas como terminais de neurônios sensoriais, DRG e medula espinhal (Fig. 2) (PARK *et al.*, 2013; CAROZZI *et al.*, 2014; SISIGNANO *et al.*, 2014). Os DRG, devido à sua vulnerabilidade, parecem ser um dos principais alvos desses agentes neurotóxicos, justificando o grande envolvimento sensorial em pacientes que apresentam NPIQ (PARK *et al.*, 2013). A quimioterapia ocasiona perda de terminais sensoriais, alterações de receptores de membrana e da sinalização intracelular, o que resulta em mudança na excitabilidade e na neurotransmissão (BOYETTE-DAVIS *et al.*, 2015).

O manejo da DNPIQ ainda é visto como um obstáculo para a área clínica, devido à falta de fármacos que previnem ou aliviam essa condição dolorosa (HERSHMAN *et al.*, 2014; SISIGNANO *et al.*, 2014). Por isso, há necessidade do desenvolvimento de pesquisas pré-clínicas e clínicas visando à identificação de farmacoterapia que contribua para a diminuição da ocorrência dessa condição clínica e a melhora da qualidade de vida dos pacientes.

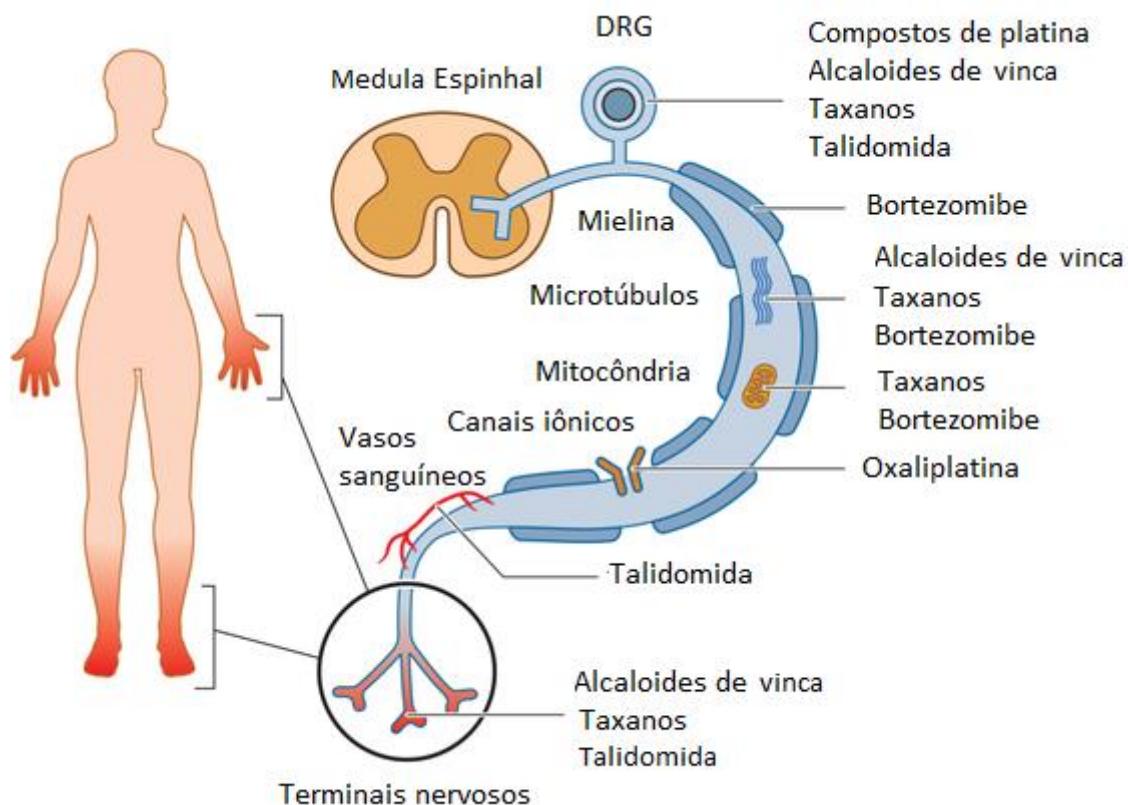


Figura 2. Representação dos locais de ação de alguns agentes quimioterápicos no sistema nervoso periférico. Adaptado de PARK *et al.*, 2013.

1.7. DN Induzida pelo Paclitaxel

O paclitaxel (Fig. 3) é um agente antiproliferativo extraído da planta *Taxus brevifolia* (WANI *et al.*, 1971) e utilizado no tratamento de pacientes com vários tipos de câncer como o de mama, pulmão, cérebro e ovário. A ação antiproliferativa resulta da inibição da divisão celular através da sua ligação a microtúbulos em crescimento (MARUPUDI *et al.*, 2007; CAROZZI *et al.*, 2015). Por ser um fármaco lipofílico, o paclitaxel apresenta ampla distribuição tecidual, além de alta ligação às proteínas plasmáticas (88-98%) (MARUPUDI *et al.*, 2007).

A neurotoxicidade é um dos principais efeitos adversos associados ao paclitaxel e acontece devido à interrupção da função dos microtúbulos neurais, gerando alteração no transporte axonal e, conseqüentemente, alteração da excitabilidade e sobrevivência dos neurônios sensoriais (SISIGNANO *et al.*, 2014). Em um estudo realizado por Reyes-Gibby *et al.* (2009), de todos os pacientes com câncer de mama submetidos à quimioterapia com paclitaxel, cerca de 64 % apresentaram NPIQ e, entre esses, 27 % foram diagnosticados com DNIQ, afetando negativamente a sua qualidade de vida. Após administração

intravenosa, o paclitaxel acumula-se em grandes concentrações nos DRG e, em menores concentrações, no nervo isquiático, na medula espinhal e em algumas regiões cerebrais (CAVALETTI *et al.*, 2000).

Os sintomas como parestesias e perda de sensibilidade, aparecem inicialmente nos pés dos pacientes, ocorrendo, posteriormente, nas mãos, como resultado da degeneração de axônios distais (CAROZZI *et al.*, 2015). Após a administração de paclitaxel, o pico de sensação dolorosa ocorre em torno de três a quatro dias (SISIGNANO *et al.*, 2014).

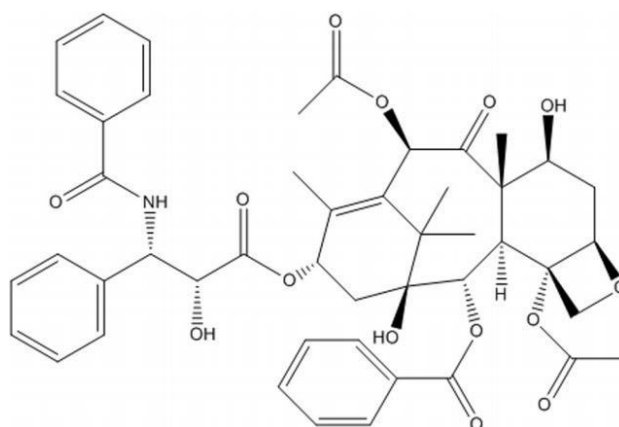


Figura 3. Estrutura química do paclitaxel.

Vários mecanismos contribuem para a DN induzida pelo paclitaxel. Em um estudo com pacientes em tratamento com paclitaxel, Dougherty *et al.* (2004) observaram que o quimioterápico promove lesão principalmente de fibras aferentes A e, em menor extensão, de fibras aferentes C. O tratamento com paclitaxel também induz degeneração axonal grave (Fig. 4) em nervos sensoriais e, conseqüentemente, diminuição acentuada da densidade axonal, com perda da integridade da mielina (CHEN *et al.*, 2017).

O paclitaxel altera a estrutura e a permeabilidade de mitocôndrias presentes nas fibras nociceptivas. Isso acontece em decorrência da abertura do poro de transição da permeabilidade mitocondrial, ocasionando perda do potencial de membrana da mitocôndria. Conseqüentemente, aumenta-se a quantidade de espécies reativas de oxigênio (ROS), liberação de Ca^{2+} e redução das concentrações de trifosfato de adenosina (ATP). Ocorre, então, um fenômeno descrito como vacuolização da mitocôndria (Fig. 5), seguido da perda da funcionalidade mitocondrial em axônios de neurônios sensoriais. Como as mitocôndrias são responsáveis pela regulação intracelular de Ca^{2+} , a alteração da sua permeabilidade é, então, responsável pelo aumento da propagação de sinais de Ca^{2+} e

aumento da excitabilidade das fibras nociceptivas. A mitotoxicidade é a causa primária da DN induzida pelo paclitaxel (SISIGNANO *et al.*, 2014; CAROZZI *et al.*, 2015).

A DN induzida pelo paclitaxel também está associada a um aumento da expressão das subunidades $\alpha 2/\delta$ dos canais para Ca^{2+} no corno dorsal da medula espinhal (XIAO *et al.*, 2007) e de canais para sódio do tipo Nav1.7 nos DRG (ZHANG & DOUGHERTY, 2014).

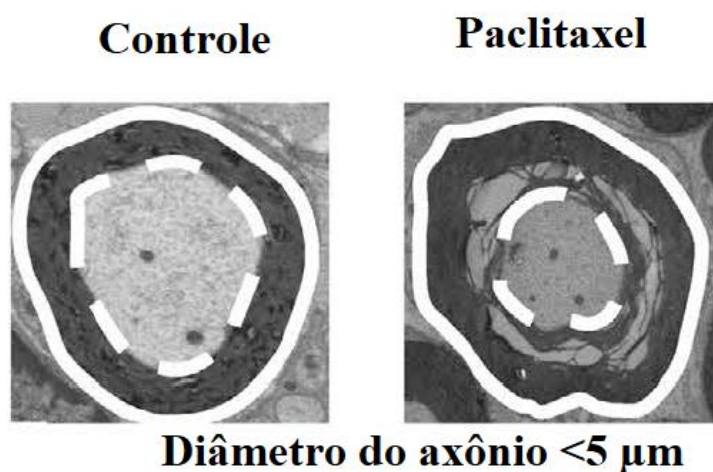


Figura 4. Microscopia de transmissão do nervo isquiático de camundongos, mostrando a degeneração axonal causada pelo tratamento com paclitaxel. A linha tracejada branca mostra o axônio e o círculo branco mostra a circunferência da mielina. Adaptado de CHEN *et al.*, 2017.

O aumento da produção de ROS via danos mitocondriais pode sensibilizar os transdutores do tipo TRP, como TRPA1 e TRPM8, aumentando a sensibilidade a estímulos diversos (SISIGNANO *et al.*, 2014; BOYETTE-DAVIS *et al.*, 2015). Além disso, a administração de antagonistas seletivos para TRPV1 (HARA *et al.*, 2013) e TRPV4 (ALESSANDRI-HABER *et al.*, 2004; MATERAZZI *et al.*, 2012) reduz a alodínia mecânica em animais tratados com paclitaxel, indicando uma possível participação desses transdutores na DN induzida por esse quimioterápico.

O paclitaxel também diminui a expressão de transportadores de glutamato na medula espinhal, gerando maior acúmulo desse neurotransmissor excitatório no espaço extracelular e, conseqüentemente, hiperexcitabilidade neuronal (CATA *et al.*, 2004). Além disso, esse quimioterápico ativa receptores NMDA no SNC, por meio de fosforilação, levando à ativação da via glutamatérgica e posterior experiência dolorosa (SISIGNANO *et al.*, 2014; BOYETTE-DAVIS *et al.*, 2015).

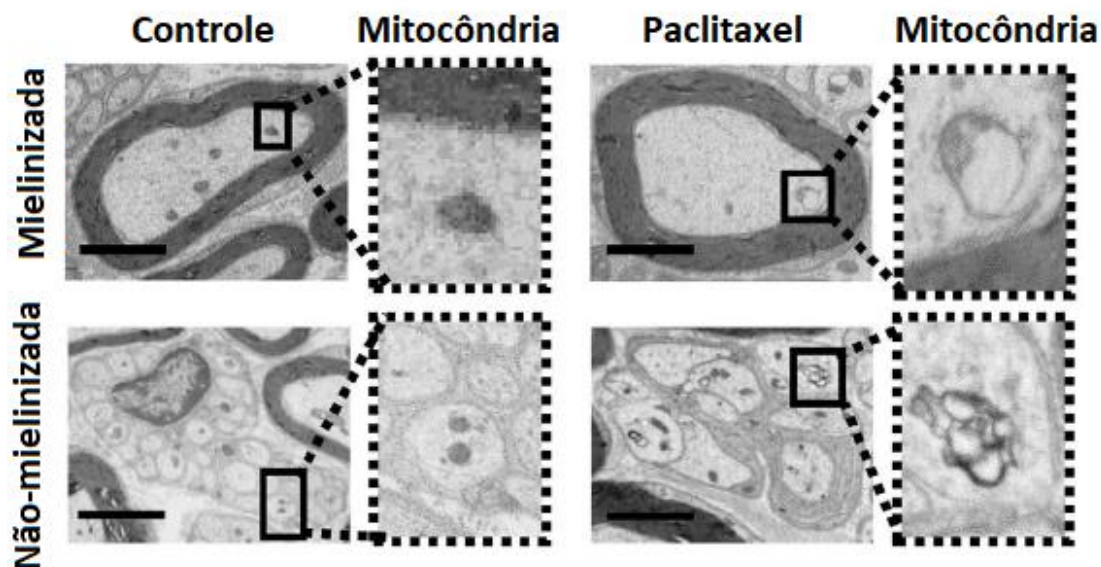


Figura 5. Imagens de microscopia de transmissão mostrando o processo de vacuolização (mitocôndrias atípicas) como consequência do tratamento com paclitaxel. Adaptado de CHEN *et al.* 2017.

O tratamento com paclitaxel também pode ativar vários mecanismos inflamatórios que estão envolvidos na gênese da DN. Aumenta-se o número de células de Langerhans nos DRG, que liberam fatores neurotróficos e mediadores inflamatórios diversos e induzem hipersensibilização de nociceptores. Ocorre acúmulo e ativação de macrófagos nos DRG, além da ativação de células gliais, gerando maior liberação de citocinas inflamatórias, principalmente IL-6, IL-1 β e TNF- α (SISIGNANO *et al.*, 2014; CAROZZI *et al.*, 2015). O processo inflamatório induzido pelo paclitaxel geralmente se inicia entre quatro a sete dias após o tratamento e se mantém, justificando a cronificação da DNIQ (SISIGNANO *et al.*, 2014).

A indução da sensibilização após administração de paclitaxel em animais experimentais tem sido demonstrada em diversos estudos (MORAIS *et al.*, 2018; CHEN *et al.*, 2017; KO *et al.*, 2014; AMI *et al.*, 2012). Administrando doses intercaladas de paclitaxel em quatro dias, gera-se sensibilização das fibras nociceptivas, com alteração do limiar nociceptivo a partir do segundo dia após a administração da primeira dose desse agente quimioterápico, com a presença de alodínia mecânica e fria e hiperalgesia térmica, sendo que a sensibilização pode persistir por 35 dias (MORAIS *et al.*, 2018; POLOMANO *et al.*, 2000). Este modelo é útil na compreensão da fisiopatologia da DN induzida pelo paclitaxel e na busca de novas farmacoterapias que possam diminuir a neurotoxicidade

que ocorre durante o tratamento com esse agente quimioterápico e melhorar a qualidade de vida dos pacientes.

1.8. Farmacoterapia da DN

Em geral, o manejo da DN é voltado apenas para o alívio sintomático, sendo utilizados fármacos antiepilépticos ou antidepressivos como primeira alternativa (COLLOCA *et al.*, 2017; PESSOA *et al.*, 2015; SISIGNANO *et al.*, 2014). Na prática clínica, ocorre um alívio parcial (40-50%) da dor após a utilização desses fármacos (PESSOA *et al.*, 2015). Os antidepressivos mais utilizados são os tricíclicos (amitriptilina e nortriptilina) e os inibidores da recaptção de serotonina/noradrenalina (principalmente, duloxetina e venlafaxina) (COLLOCA *et al.*, 2017; MCCARBERG *et al.*, 2017; ZILLIOX, 2017).

O emprego desses fármacos para o alívio da dor baseia-se principalmente na ação sobre os controles inibitórios descendentes (vias noradrenérgica e serotoninérgica) por meio do aumento da disponibilidade de noradrenalina e/ou serotonina (GILRON *et al.*, 2015; COLLOCA *et al.*, 2017; ZILLIOX, 2017). Além de induzir a analgesia, os antidepressivos fornecem outros benefícios, como o tratamento de sintomas secundários como a depressão, frequentemente associada à DN (GILRON *et al.*, 2015).

Em um estudo randomizado, duplo-cego, realizado por Kautio *et al.*, (2009), demonstrou-se que a amitriptilina apresentou baixa eficácia na reversão dos sintomas associados à DN em pacientes submetidos à quimioterapia com alcaloides da vinca, derivados da platina ou taxanos. No estudo de fase III, realizado por Hammack *et al.* (2002), a nortriptilina também apresentou baixa eficácia no alívio da DN induzida por cis-diaminodicloroplatina. Por outro lado, a duloxetina mostrou-se eficaz (em torno de 59%) no manejo da DN em pacientes submetidos à quimioterapia com paclitaxel ou oxaliplatina (SMITH *et al.*, 2013). Em pacientes submetidos à quimioterapia com oxaliplatina, a neurotoxicidade sensorial foi reduzida em torno de 39% nos pacientes que foram tratados com venlafaxina (DURAND *et al.*, 2012).

Os antiepilépticos mais indicados para o manejo da DN são a gabapentina (análogo do ácido γ -aminobutírico-GABA) e a pregabalina. Os mecanismos de ação que contribuem para os efeitos analgésicos induzidos pelos dois fármacos são semelhantes, envolvendo a interação com a subunidade $\alpha 2\delta$ dos canais para Ca^{2+} voltagem dependentes, levando a uma diminuição da liberação de neurotransmissores excitatórios (PACHMAN *et al.*, 2011; COLLOCA *et al.*, 2017; ZILLIOX, 2017). A afinidade da pregabalina pela

subunidade $\alpha 2\delta$ dos canais para Ca^{2+} pré-sinápticos é superior quando comparada àquela da gabapentina (ZILLIOX, 2017).

A gabapentina é eficaz no manejo de diversas síndromes que desencadeiam DN como neuropatia diabética, infecções por vírus varicela-zoster e síndrome do membro fantasma (WOLF *et al.*, 2008). Em contrapartida, esse fármaco é ineficaz no manejo da NP em pacientes submetidos à quimioterapia com taxanos, derivados da platina e alcaloides da vinca, em um estudo de fase III desenvolvido por Rao *et al.* (2007). A pregabalina tem aprovação pela *Food and Drug Administration* para o alívio de quadros dolorosos associados a condições como neuropatia diabética, infecções pelo vírus varicela-zoster e fibromialgia (PACHMAN *et al.*, 2011). Esse fármaco alivia parcialmente a DN causada pela oxaliplatina em pacientes com câncer gastrointestinal (SAIF *et al.*, 2010).

Os analgésicos de uso tópico como a lidocaína 5% e a capsaicina 8% são utilizados como segunda alternativa durante o manejo da DN decorrente de algumas causas específicas como infecções pelo vírus varicela-zoster. A lidocaína bloqueia canais para Na^+ , diminuindo a hiperexcitabilidade das fibras nociceptivas (COLLOCA *et al.*, 2017; ZILLIOX, 2017). A capsaicina induz dessensibilização das fibras nociceptivas por meio da inativação de canais TRPV1 (COLLOCA *et al.*, 2017). Demant *et al.* (2015) demonstraram que a lidocaína 5% é eficaz no tratamento de pacientes com DN causada por infecções pelo vírus varicela-zoster. A capsaicina também é indicada para o manejo da DN em pacientes com infecção pelo vírus varicela-zoster e neuropatia causada pela infecção pelo HIV (MOU *et al.*, 2013). Estudos pré-clínicos demonstram que a administração sistêmica de lidocaína ou mexiletina (substância semelhante estruturalmente com a lidocaína) reduz a sensibilização induzida pela vincristina (KAMEI *et al.*, 2006) e oxaliplatina (EGASHIRA *et al.*, 2010). No entanto, são necessários mais estudos clínicos que avaliem a utilidade desses fármacos para o manejo da DNIQ.

O tramadol e o tapentadol são analgésicos opioides de baixa eficácia, podendo ser considerados como a segunda alternativa para o manejo da DN por apresentarem melhor perfil de segurança quando comparados a analgésicos opioides de elevada eficácia. Esses fármacos agem como agonistas de receptores μ opioides e inibem a recaptção de serotonina e norepinefrina, exercendo, dessa forma, seus efeitos analgésicos (MCCARBERG *et al.*, 2017; ZILLIOX, 2017).

O uso de analgésicos opioides de alta eficácia, como morfina e oxicodona, ainda é controverso, pois esses fármacos apresentam perfil de segurança inferior, sendo considerados como terceira alternativa no manejo da DN (COLLOCA *et al.*, 2017; MCCARBERG *et al.*, 2017; ZILLIOX, 2017). Terapias prolongadas com esses analgésicos podem gerar maior grau de dependência química e ocorrência de efeitos adversos como náuseas, vômitos, constipação e sedação, que estão associados à descontinuação do tratamento (GILRON *et al.*, 2015; MCCARBERG *et al.*, 2017; ZILLIOX, 2017).

A neurotoxina botulínica A também tem sido empregada como terceira alternativa, por apresentar eficácia em pacientes com neuropatia periférica (COLLOCA *et al.*, 2017). A neurotoxina botulínica A demonstrou bons resultados em estudos com pacientes com DN induzida por infecção pelo vírus varicela-zoster e lesões no nervo trigêmeo (SHACKLETON *et al.*, 2016) e neuropatia diabética (LAKHAN *et al.*, 2015). Por outro lado, antiinflamatórios não esteroides (AINEs) e analgésicos opioides de baixa eficácia, como codeína, são pouco eficazes para o alívio dessa condição dolorosa (COLLOCA *et al.*, 2017).

Vale ressaltar que quando são combinadas terapias analgésicas visando ao alívio da DN, deve-se levar em consideração a dose de cada fármaco e a tolerabilidade de cada paciente aos efeitos adversos (COLLOCA *et al.*, 2017). A terapia analgésica combinada geralmente não é recomendada durante o manejo da DNIQ, condição na qual deve ser empregada a monoterapia, a fim de evitar reatividades cruzadas entre os fármacos e, conseqüentemente, diminuição da efetividade da quimioterapia (SISIGNANO *et al.*, 2014).

A farmacoterapia atualmente disponível visando ao alívio da DNIQ é limitada em termos de fármacos disponíveis e da sua eficácia. Apesar do grande esforço de pesquisadores vinculados às academias e às indústrias farmacêuticas, a aprovação de novos fármacos pelas agências regulatórias tem diminuído nos últimos anos (ASHBURN & THOR, 2004; BASTOS & COELHO, 2013). O processo de descoberta de novos fármacos é geralmente demorado (10-17 anos) e requer muitas etapas até alcançar a fase clínica propriamente dita, sendo que durante essa fase do estudo a probabilidade de sucesso é inferior a 10% (ASHBURN & THOR, 2004). O reposicionamento de fármacos é um processo que vem ganhando força e incentivo para contornar a produtividade decrescente das indústrias farmacêuticas, oferecendo uma possibilidade de redução do tempo, aumento na taxa de

sucesso terapêutico e diminuição do custo envolvidos no desenvolvimento de novas terapias. O reposicionamento consiste na identificação de novas indicações para fármacos já existentes (ASHBURN & THOR, 2004; BASTOS & COELHO, 2013). O reposicionamento de fármacos tem se mostrado uma importante ferramenta para identificação de novas terapias visando ao alívio de diversas condições dolorosas (BASTOS & COELHO, 2013). Dessa forma, há a expectativa de que o reposicionamento de fármacos permita identificar novas terapias para a DNIQ.

1.9. Reposicionamento das vitaminas do complexo B para o alívio de condições dolorosas

Diversos estudos pré-clínicos têm demonstrado a eficácia de fármacos, como minoxidil (CHEN *et al.*, 2017), nicorandil (MORAIS *et al.*, 2018) e sirolimus (ZHANG *et al.*, 2018), em modelos animais de DNIQ. Entre os fármacos que ainda podem ser investigados com o objetivo de identificar novas terapias para pacientes com DNIQ, estão as vitaminas do complexo B, em especial a tiamina, a nicotinamida e a riboflavina. Vários estudos demonstraram a atividade dessas vitaminas em diferentes modelos de dor crônica e dor aguda (GRANADOS-SOTO *et al.*, 2004; BERTOLLO *et al.*, 2006; MOALLEM *et al.*, 2008; KOPRUSZINSKI *et al.*, 2012; YU *et al.*, 2014; KOPRUSZINSKI *et al.*, 2015; MENEZES *et al.*, 2017).

1.9.1. Tiamina

A tiamina, conhecida como vitamina B1, é um cofator para enzimas envolvidas no metabolismo de diversos compostos. Essa vitamina é uma substância hidrossolúvel, sendo absorvida de forma passiva ou ativa no intestino delgado por meio de proteínas transportadoras próprias. A estrutura química da tiamina [3-(4-amino-2-metil-5-pirimidinil) metil-5-(2-hidroximetil)-4-cloreto de metiltiazólio] é caracterizada por uma pirimidina substituída e um anel tiazol (Fig. 6) (COLLIE *et al.*, 2017; MANZETTI *et al.*, 2014).

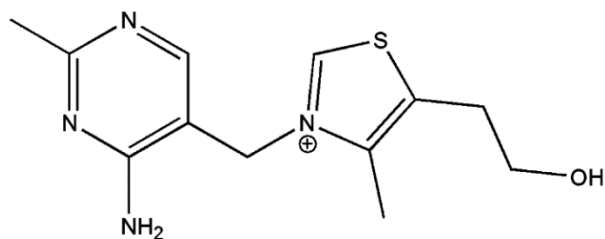


Figura 6. Estrutura química da tiamina.

Após ser absorvida, a tiamina é fosforilada em pirofosfato de tiamina, sendo esta a sua forma ativa que participa do metabolismo de carboidratos, lipídios e aminoácidos. O pirofosfato de tiamina é necessário como coenzima para os complexos enzimáticos mitocondriais como α -cetoglutarato desidrogenase e piruvato desidrogenase, participando, assim, da geração de energia celular (SRIRAM *et al.*, 2012; ABDYOU *et al.*, 2015). A deficiência de tiamina pode ocasionar um comprometimento do metabolismo oxidativo, levando a uma diminuição da síntese de ATP (ABDOU *et al.*, 2015).

A deficiência de tiamina pode ter diversas causas como redução da absorção gastrointestinal (processos cirúrgicos), alcoolismo, neoplasias, obesidade e diabetes mellitus, entre outras. Como consequência da deficiência de tiamina podem ocorrer comprometimentos cardiovascular, neurológico e imunológico (MANZETTI *et al.*, 2014; ABDYOU *et al.*, 2015).

Além de desempenhar funções biológicas essenciais, a tiamina vem sendo avaliada em estudos que buscam identificar novas terapias para pacientes com processos patológicos diversos, incluindo aqueles associados a condições dolorosas. Diversos estudos demonstraram a atividade antinociceptiva da tiamina em diferentes modelos experimentais (Tabela 1). No entanto, há poucas investigações a respeito da sua eficácia em modelos de DN, principalmente em modelos de DNIQ.

Tabela 1. Estudos que investigaram a atividade antinociceptiva da tiamina em modelos experimentais.

Estudo	Modelo	Dose (mg/Kg) e vias de Administração	Possíveis mecanismos	Resultado
Caram-Salas <i>et al.</i>, 2006	SNL	75, 150, 300 e 600 <i>s.c.</i>	-	Redução da alodínia mecânica
Moallem <i>et al.</i>, 2008	CCI	50, 100 e 120 <i>i.p.</i>	-	Efeito antinociceptivo
	PQ		-	Efeito antinociceptivo
Song <i>et al.</i>, 2009	CGRD	66 <i>i.p.</i>	Bloqueio de canais para Na ⁺ nos DRG	Redução da hiperexcitabilidade neuronal e hiperalgesia térmica
Kopruszinski <i>et al.</i>, 2012	CNI	180 <i>s.c.</i>	-	Redução da hiperalgesia induzida pelo calor
Yu <i>et al.</i>, 2013	SCII	33 <i>i.p.</i>	Redução da ativação de células gliais	Redução da hiperalgesia térmica
Kopruszinski <i>et al.</i>, 2015	CNI	180 <i>s.c.</i>	Modulação dos receptores TRPV1	Redução de hiperalgesia Térmica
Liu <i>et al.</i>, 2016	SNL	30, 60 e 120 <i>i.p.</i>	-	Redução da hiperalgesia térmica
Menezes <i>et al.</i>, 2017	CFA	150, 300 ou 600 <i>p.o.</i>	Redução da produção de TNF- α e IL-6	Redução da alodínia mecânica
Onk <i>et al.</i>, 2018	Cisplatina	25 <i>i.p.</i>	Redução da	Redução da alodínia

CCI: constrição crônica do nervo isquiático; CFA: adjuvante completo de Freund; CGRD: compressão dos gânglios da raiz dorsal; CNI: constrição do nervo infraorbitário; PQ: placa quente; SCII: lesão de reperfusão isquêmica medular; SNL: Ligação dos nervos espinhais L5 e L6.

1.9.2. Riboflavina

A riboflavina, conhecida como vitamina B₂ (Fig.7), é uma vitamina essencial que atua como precursora de coenzimas como mononucleotídeo de flavina (FMN) e dinucleotídeo de adenina e flavina (FAD), que participam de diversas reações de fosforilação oxidativa (THAKUR *et al.*, 2016; UDHAYABANU *et al.*, 2017). Assim como a tiamina, a riboflavina é uma substância hidrossolúvel absorvida pelo intestino por meio de proteínas transportadoras próprias (THAKUR *et al.*, 2016). FMN e FAD são importantes para síntese de diversas proteínas como a hemoglobina, a óxido nítrico sintase, as enzimas do citocromo P450 e as proteínas envolvidas nas transferências de elétrons e transporte de oxigênio, além de apresentarem atividade antioxidante (KENNEDY, 2016).

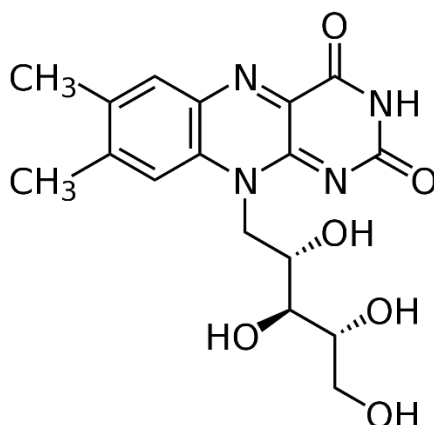


Figura 7. Estrutura química da riboflavina.

A riboflavina é considerada um componente de grande importância para produção de energia mitocondrial. O FMN atua no complexo I da cadeia transportadora de elétrons, enquanto o FAD está envolvido no complexo II, também presente na mitocôndria. Defeitos nesses complexos podem levar à produção de ROS que danificam o DNA de diversas células como, por exemplo, os neurônios (UDHAYABANU *et al.*, 2017).

A riboflavina está presente em uma grande variedade de alimentos, como laticínios, carnes, ovos e vegetais, sendo recomendado o consumo diário de 1,4 mg para uma pessoa adulta. A deficiência dessa vitamina é muito comum por baixa ingestão diária, ocorrendo

principalmente em países em desenvolvimento e subdesenvolvidos, mas também pode ser resultado de infecções, doença hepática e alcoolismo. Como consequência da deficiência, podem ocorrer hiperemia, diminuição de hemoglobina, alterações degenerativas no sistema nervoso, danos renais e edema de mucosas (THAKUR *et al.*, 2016; POWERS, 2003).

Alguns estudos têm demonstrado a atividade antinociceptiva da riboflavina em modelos de dor aguda e de dor crônica (Tabela 2). Dessa forma, os resultados disponíveis também justificam interesse em investigar a atividade da riboflavina em modelos de DNIQ.

Tabela 2. Estudos que investigaram a atividade antinociceptiva da riboflavina em modelos experimentais.

Estudo	Modelo	Dose (mg/Kg) e via de administração	Possível mecanismo de ação	Resultado
Granados-soto <i>et al.</i>, 2004	Formalina	6,25-50; <i>p.o.</i>	Liberação de NO e abertura de canais de K _{ATP}	Efeito antinociceptivo e redução da hiperalgesia térmica
Bertollo <i>et al.</i>, 2006	Formalina	25, 50 e 100; <i>i.p.</i>	-	Efeito antinociceptivo
	Carragenina		-	Redução da alodínia mecânica
	PQ		-	Efeito antinociceptivo
Luca <i>et al.</i>, 2015	PQ	100; <i>p.o.</i>	-	Efeito antinociceptivo
	IA/DV			Efeito antinociceptivo na dor visceral

Menezes <i>et al.</i>, 2017	CFA	150, 300 e 600 <i>p.o.</i>	Redução da produção de TNF- α e IL-6	Redução da alodínia mecânica
--	-----	-------------------------------	---	---------------------------------

CFA: adjuvante completo de Freund; IA/DV: injeções de ácido acético para indução de dor visceral; PQ: placa quente; SNL: ligação dos nervos espinhais L5 e L6.

1.9.3. Nicotinamida

A nicotinamida (Fig. 8) é um componente da vitamina B₃, sendo derivada da amida do ácido nicotínico. Essa vitamina é um doador de adenina dinucleotídeo (NAD⁺) que age como uma coenzima em diversos processos bioquímicos, principalmente na produção de ATP. A nicotinamida é encontrada em carnes e grãos, sendo recomendado a ingestão diária de 20 mg para um indivíduo adulto. A nicotinamida tem sido utilizada na prática clínica por mais de 60 anos, inicialmente para prevenção de pelagra, doença caracterizada por demência e dermatite (MAIESE *et al.*, 2003; KNIP *et al.*, 2000; LIN *et al.*, 2001).

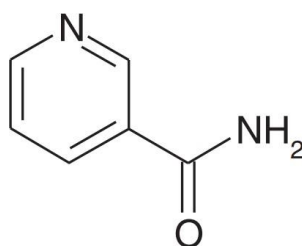


Figura 8. Estrutura química da nicotinamida.

Essa vitamina, assim como a tiamina e a riboflavina, também apresenta atividades anti-inflamatória (MAHMOUD & MAHMOUD, 2016; GODIN *et al.*, 2011), antinociceptiva (GODIN *et al.*, 2011) e neuroprotetora (BREWER & HADIN, 2004) em modelos experimentais *in vivo* (Tabela 3). As atividades da nicotinamida em modelos de dor aguda e crônica e inflamação, bem como as propostas de mecanismos de ação para essa vitamina, também justificam o interesse em avaliar a sua atividade em modelos de DNIQ.

Tabela 3. Estudos que investigaram as atividades antinoceptiva e neuroprotetora da nicotinamida.

Estudo	Modelo	Dose(mg/Kg) e Possível mecanismo		Resultado
		via de administração	de ação	
Brewer & Hardin, 2004	LM/IQ	500; <i>i.p.</i>	Diminuição da morte celular após lesão	Efeito neuroprotetor
Godin et al., 2011	Formalina	1000; <i>p.o.</i>	-	Efeito antinociceptivo
	PQ		-	Efeito antinociceptivo
	Carragenina		-	Redução da alodínia mecânica

LM/IQ: lesão medular por injeção intraespinal de ácido quisquálico; PQ: placa quente.

2. JUSTIFICATIVA

A DNIQ está associada a grandes problemas sociais, emocionais e físicos enfrentados pelos pacientes submetidos à quimioterapia. A farmacoterapia disponível apresenta eficácia reduzida e, muitas vezes, segurança inadequada. O reposicionamento de fármacos se tornou uma estratégia importante visando à identificação de novas terapias da DN, uma vez que essa é uma alternativa mais rápida e menos dispendiosa do que o desenvolvimento de novos fármacos. Estudos pré-clínicos e clínicos têm demonstrado as atividades antinociceptivas das vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina e nicotinamina), o que as torna objeto de investigação como a fim de obter o seu reposicionamento para a prevenção e/ou o alívio da DNIQ. A investigação das atividades dessas vitaminas em modelo experimental de DN induzida pelo paclitaxel, assim como dos possíveis mecanismos envolvidos nessas atividades, pode contribuir para a identificação de novas abordagens terapêuticas eficazes e seguras para o manejo de pacientes com DNIQ.

3. OBJETIVO

Avaliar as atividades das vitaminas do complexo B (riboflavina, tiamina e nicotinamina) em um modelo experimental de DN induzida pelo paclitaxel, bem como os possíveis mecanismos que medeiam essas atividades

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Animais

Foram utilizados camundongos Swiss machos (25 – 30 g). Os animais foram fornecidos pelo Biotério da Faculdade de Farmácia da UFMG e mantidos em sala com temperatura controlada de 27 ± 1 °C, correspondente à zona de termoneutralidade para roedores (GORDON, 1990). Água e ração foram fornecidos *ad libitum*. Os animais foram mantidos em um ciclo claro/escuro de 12 h, sendo acomodados em caixas de plástico (dimensões 40 x 34 x 17 cm) forradas com maravalha. Durante a realização de todos os protocolos, os animais foram manuseados de maneira cuidadosa, a fim de promover o menor estresse comportamental possível. Ao final dos experimentos, os animais foram submetidos à eutanásia. Todos os experimentos foram realizados de acordo com as recomendações para avaliação de dor experimental em animais (ZIMMERMANN, 1983). O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFMG (Protocolo n°249/2017).

4.2. Drogas e reagentes

Carboximetilcelulose (CMC; Galena, Brasil) - Veículo

Cloreto de sódio 0,9% (Equiplax, Brasil) - Veículo

Cloridrato de cetamina (União Química, Brasil) - Anestésico.

Cloridrato de ciproheptadina (Sigma, EUA) - Antagonista serotoninérgico.

Cloridrato de naltrexona (Sigma, EUA) - Antagonista opioidérgico.

Cloridrato de xilazina (União Química, Brasil) - Coadjuvante de anestesia.

Fenobarbital (Sanofi Aventis, Brasil) - Fármaco depressor do SNC.

Glibenclamida (Sigma, EUA) - Bloqueador de canais K_{ATP} .

Nicotinamida (Sigma, EUA) - Vitamina B₃

Paclitaxel (Sigma, EUA) - Fármaco antineoplásico

Pregabalina (Teuto, Brasil) - Fármaco anticonvulsivante

Riboflavina (Sigma, EUA) - Vitamina B₂

Tiamina (Sigma, EUA) - Vitamina B₁

4.3. Preparo, doses e vias de administração das soluções e suspensões

4.3.1. Preparo da solução de paclitaxel

A solução de paclitaxel foi preparada em solução de cloreto de sódio 0,9% p/v injetável imediatamente antes de cada administração. O paclitaxel foi administrado por via intraperitoneal (*i.p.*) em volume de 2 mL/Kg. A dose padronizada foi de 2 mg/Kg.dia, administrada durante quatro dias.

4.3.2. Preparo das suspensões de tiamina, riboflavina, nicotinamina e pregabalina

As suspensões de tiamina, riboflavina, nicotinamina e pregabalina foram preparadas em carboximetilcelulose (CMC) 0,5% p/v em solução de cloreto de sódio 0,9% p/v, imediatamente antes de cada administração. Todas as suspensões foram administradas *p.o.* em volume de 8 mL/Kg. Foram utilizadas doses de 125, 250 e 500 mg/Kg de riboflavina, 150, 300 e 600 mg/Kg de tiamina, 250, 500 e 1000 mg/Kg de nicotinamida, e 30 mg/Kg de pregabalina.

4.3.3. Solução de fenobarbital

A solução de fenobarbital foi preparada pela diluição do medicamento em solução de cloreto de sódio 0,9% p/v injetável. A dose utilizada foi de 50 mg/Kg, *p.o.*, em volume de 8 mL/Kg. O fenobarbital foi utilizado como controle positivo no modelo de haste girante e administrado 1 h antes da avaliação da coordenação motora.

4.3.4. Preparo das soluções de naltrexona, ciproheptadina e glibenclamida

As soluções de naltrexona, glibenclamida e ciproheptadina foram preparadas em solução de cloreto de sódio 0,9% p/v injetável imediatamente antes da administração. As doses de naltrexona e ciproheptadina utilizadas foram de 5 e 10 mg/Kg. Esses antagonistas foram administrados por via *i.p.* em volume de 2 mL/Kg. A glibenclamida foi administrada *p.o.*, nas doses de 20 e 40 mg/Kg, em volume de 8 mL/Kg.

4.4. Modelo experimental de DN induzida pelo paclitaxel

Os camundongos receberam injeções *i.p.* da solução de paclitaxel (2 mg/Kg) em salina. Foram feitas quatro injeções *i.p.* em dias alternados (dias 0, 2, 4 e 6). O grupo controle foi submetido ao mesmo procedimento, porém com injeções de salina estéril.

4.5. Avaliação da alodínia mecânica

Para avaliação da alodínia mecânica no modelo experimental de DN induzida pelo paclitaxel, os camundongos foram colocados em compartimentos de acrílico dispostos sobre um suporte que possui como base uma tela metálica. Os animais foram ambientados no aparato de realização do teste por no mínimo 60 min por dia durante dois dias antes da realização do experimento e por 20 min logo antes do início do experimento. A alodínia mecânica foi avaliada por meio de um analgesímetro digital (Insight, Ribeirão Preto, Brasil) que consiste de um transdutor de pressão manual adaptado a uma ponteira de polietileno de 0,5 mm², que mede o limiar para a retirada da pata, expresso em gramas. O filamento foi aplicado sobre a superfície plantar da pata traseira direita com um aumento gradual de pressão até que o animal retirasse a pata. O valor da pressão que induz a retirada da pata é registrado automaticamente, em uma faixa de 0,1 a 1000 g, ou aproximadamente 0,1 a 10 N. Foram feitas cinco medições, em intervalos de 20 s, sendo o maior e o menor valor eliminados e a resposta nociceptiva calculada como uma média das três valores restantes. Os animais foram testados antes e depois dos tratamentos. O limiar basal para retirada de pata de cada animal foi determinado no dia do teste e a divisão dos grupos para posterior tratamento foi feita de forma que as massas corporais e os limiares basais médios dos diferentes grupos experimentais fossem semelhantes. Para cada grupo experimental, foram utilizados seis animais.

4.6. Avaliação dos efeitos induzidos pela tiamina, nicotinamida e riboflavina no modelo de DN induzida pelo paclitaxel

Inicialmente, foi realizada a padronização do modelo de DN induzida pelo paclitaxel, sendo utilizados dois grupos: o controle, o qual recebeu salina e, o grupo que recebeu paclitaxel. Foi feita a avaliação dos valores basais de retirada de pata dos animais. Em seguida, foram feitas quatro administrações *i.p.* de paclitaxel (2 mg/Kg) ou veículo (salina) em dias alternados (0, 2, 4 e 6 dias). A alodínia mecânica foi avaliada a cada dois dias, durante 14 dias. A atividade das vitaminas tiamina, riboflavina e nicotinamina foi avaliada após o 7º dia de sensibilização com o quimioterápico. Os animais receberam *p.o.* duas doses de tiamina (150, 300 e 600 mg/Kg), riboflavina (125, 250 e 500 mg/Kg) ou nicotinamida (250, 500 e 1000 mg/Kg), com intervalo de 2 h (Fig. 9). Os animais também foram tratados com pregabalina em dose única (30 mg/Kg, *p.o.*). A alodínia mecânica foi avaliada 1, 3, 5 e 7 h após a primeira administração de cada vitamina ou de pregabalina.

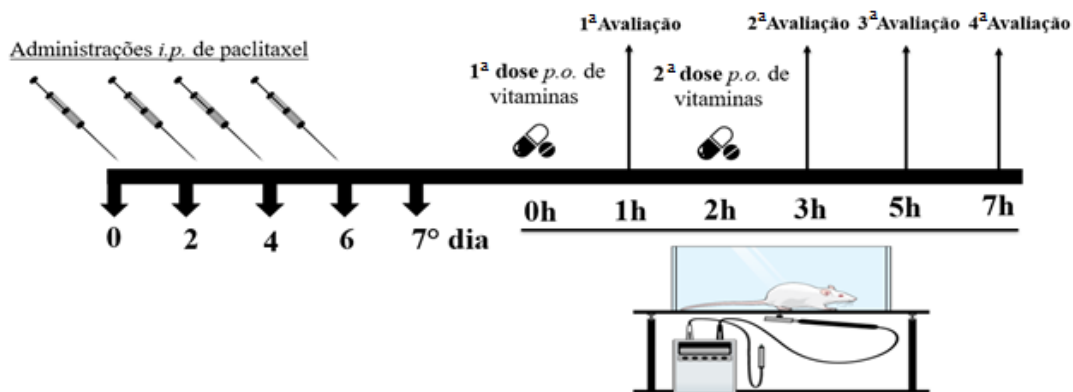


Figura 9. Escala temporal da avaliação do efeito induzido pelas vitaminas do complexo B em modelo experimental de DN induzida pelo paclitaxel.

4.7. Avaliação dos efeitos induzidos pela tiamina, nicotinamida e riboflavina sobre a coordenação motora

A coordenação motora foi avaliada na haste girante (VAZ *et al.*, 1996). Os animais foram treinados no aparato, a 14 rpm, durante dois dias antes do experimento, em duas sessões diárias, durante 2 min. A divisão dos grupos para posterior tratamento foi feita de forma que as médias dos tempos de permanência basais fossem semelhantes. No dia do experimento, com exceção do controle positivo (fenobarbital 50 mg/Kg, dose única, *p.o.*), os animais foram tratados por duas vezes, *p.o.*, em volume 8 mL/Kg, em um intervalo de 2 h, com tiamina 600 mg/Kg, nicotinamida 1000 mg/Kg, riboflavina (500 mg/Kg) ou CMC (controle negativo). Em seguida, o tempo de permanência de cada animal na haste girante (14 rpm) foi determinado 1, 3, 5 e 7 h após a primeira administração das vitaminas ou do fenobarbital (Fig. 10). O tempo de corte foi de 2 min.

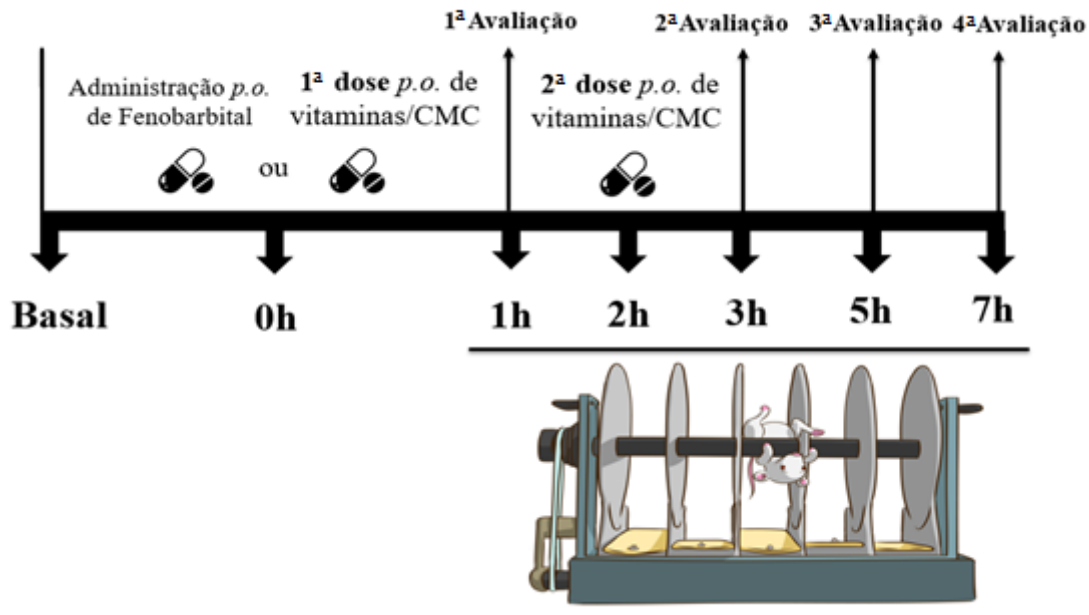


Figura 10. Escala temporal da avaliação do efeito induzido pela tiamina, nicotinamida e riboflavina sobre a coordenação motora

4.8. Avaliação dos efeitos induzidos por naltrexona, glibenclamida e ciproheptadina sobre a atividade das vitaminas do complexo B no modelo experimental de DN induzida pelo paclitaxel

Com o objetivo de avaliar os possíveis mecanismos envolvidos na atividade antinociceptiva das vitaminas do complexo B no modelo experimental de DN induzida pelo paclitaxel, foram utilizados antagonistas opioidérgico (naltrexona) e serotoninérgico (ciproheptadina) e um bloqueador de canais K_{ATP} (glibenclamida). A naltrexona (5 e 10 mg/Kg, *i.p.*) e a ciproheptadina (5 e 10 mg/Kg, *i.p.*) foram administradas 15 min antes da administração da tiamina (600 mg/Kg, *p.o.*), nicotinamida (1000 mg/Kg, *p.o.*) ou riboflavina (500 mg/Kg, *p.o.*) (Fig.11), enquanto a glibenclamida foi administrada *p.o.*, em volume 8 mL/Kg, 30 min antes da administração das vitaminas (Fig. 12). A alodínia mecânica foi avaliada 1, 3, 5 e 7 h após administração da primeira dose de cada vitamina.

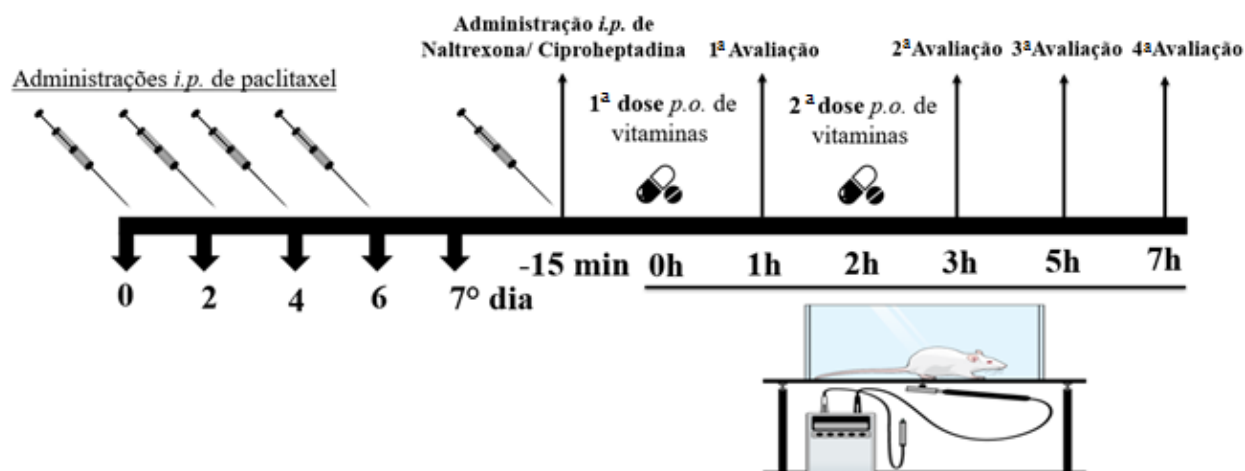


Figura 11. Escala temporal da avaliação do efeito induzido pelas vitaminas do complexo B, após tratamento prévio com naltrexona ou ciproheptadina, sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel.

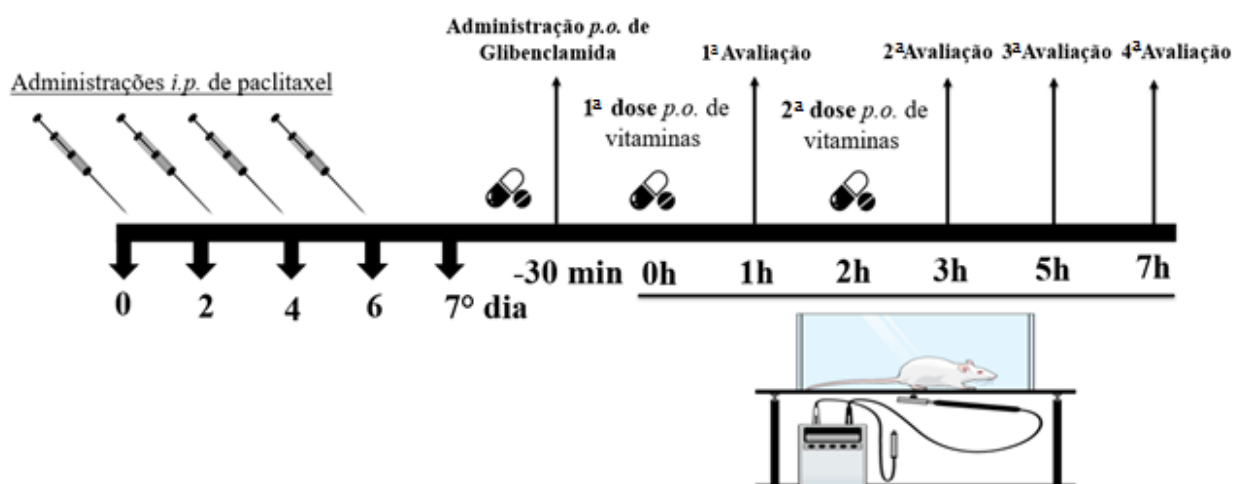


Figura 12. Escala temporal da avaliação do efeito induzido pelas vitaminas do complexo B, após tratamento prévio com glibenclamide, sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel.

4.9. Concentrações de TNF- α e CXCL-1

As concentrações de TNF- α e CXCL-1 nos DRG (L3-L5) e no tálamo foram determinadas utilizando ensaio imunoenzimático (ELISA), seguindo as instruções fornecidas pelo fabricante (kits DuoSet, R&D Systems, Minneapolis, EUA). Para investigar o efeito induzido pelas vitaminas sobre a produção de TNF- α e CXCL-1 no

modelo experimental de DN induzida pelo paclitaxel, os animais foram tratados com tiamina (600 mg/Kg, duas doses, *p.o.*), nicotinamida (1000 mg/Kg, duas doses, *p.o.*), riboflavina (500 mg/Kg, duas doses, *p.o.*) ou veículo (CMC, 0,5%) no 7º dia após a primeira injeção de paclitaxel ou salina estéril (controle negativo). Os camundongos foram submetidos à eutanásia 5 h após a administração da primeira dose das vitaminas do complexo B ou salina, sendo os DRG e o tálamo removidos. Após determinação das massas, os tecidos foram homogeneizados em solução salina tamponada com fosfato contendo Tween-20 (0,05%), fluoreto de fenilmetilsulfonil (0,1 mM), cloreto de benzametônio (0,1 mM), EDTA (10 mM), aprotinina A (2 mg/mL) e albumina de soro bovino (0,5%), seguida de centrifugação (20.000 rpm) durante 15 min a 4 °C. As amostras de sobrenadante foram armazenadas a -70 °C até a análise das concentrações de TNF- α e CXCL-1. Os resultados foram expressos em picogramas de citocinas por 100 mg do material coletado.

4.10. Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média. Os resultados foram analisados usando análise de variância de duas vias seguida pelo pós-teste de Bonferroni (curso temporal da alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel) ou análise de variância de uma via seguida pelo teste de Newman-Keuls (área sob a curva da alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel, coordenação motora e concentração de citocinas). $p < 0,05$ foi considerado significativo. A análise estatística foi realizada utilizando o GraphPrism 5.0.

5. RESULTADOS

5.1. Padronização do modelo experimental de DN induzida pelo paclitaxel

Inicialmente, foi realizada a padronização do modelo experimental de DN induzida pelo paclitaxel. A alodínia mecânica, avaliada por meio da determinação do limiar para retirada da pata traseira direita do animal, foi medida a cada dois dias durante 14 dias após a primeira injeção de paclitaxel (2 mg/Kg, *i.p.*). Observou-se que a alodínia mecânica se estabeleceu dois dias após a primeira administração de paclitaxel e se manteve durante todo o período avaliado. Os valores basais do limiar nociceptivo eram de aproximadamente 7,5 g e foram reduzidos para aproximadamente 3,2 g, oito dias após a primeira administração do paclitaxel. A alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel manteve-se por pelo menos 14 dias. Os animais do grupo controle (salina) não apresentaram alterações significativas no limiar nociceptivo durante o período avaliado (Fig. 13).

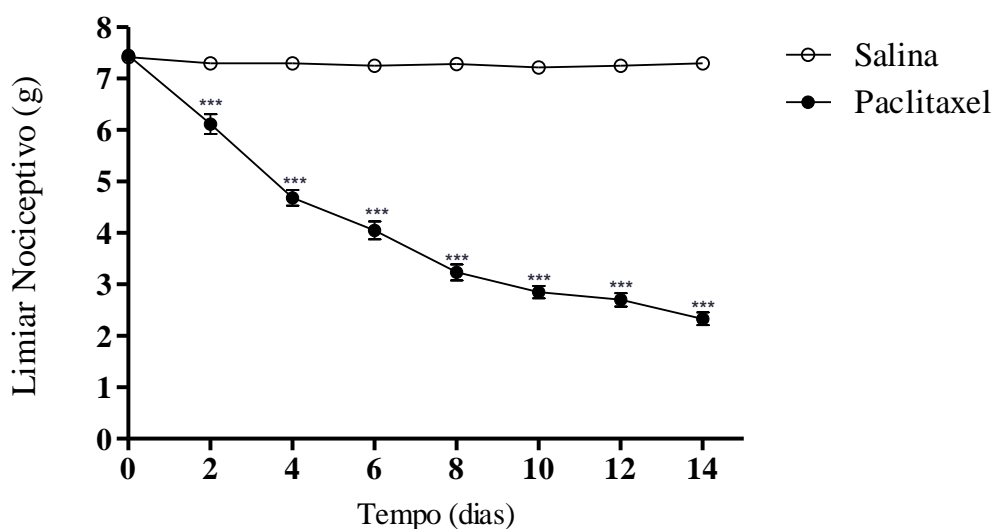


Figura 13. Curso temporal da alodínia mecânica induzida por repetidas administrações de paclitaxel. Paclitaxel (2 mg/Kg, dose cumulativa 8 mg/Kg, *i.p.*) ou salina (2 mL/Kg, *i.p.*) foram administrados em quatro dias alternados. *** indica diferença significativa em relação ao grupo salina ($p < 0,001$). $n = 6$.

5.2. Efeito induzido pela tiamina, nicotinamida e riboflavina sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel

Tiamina (150, 300 e 600 mg/Kg), nicotinamida (250, 500 e 1000 mg/Kg) e riboflavina (125, 250 e 500 mg/Kg) foram administradas *p.o.* no sétimo dia após a primeira administração de paclitaxel. Os animais receberam duas doses de cada vitamina no intervalo de 2 h (0 e 2 h). Tiamina (150, 300 e 600 mg/kg; Fig. 14), nicotinamida (500 e 1000 mg/Kg; Fig. 15) e riboflavina (250 e 500 mg/Kg; Fig. 16) atenuaram a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel quando comparadas com o grupo controle (CMC 0,5%). A maior dose de tiamina atenuou a alodínia mecânica em todos os tempos avaliados. A dose mais elevada de nicotinamida ou riboflavina atenuou a alodínia mecânica às 3, 5 e 7 h. Todas as vitaminas induziram efeito antinociceptivo máximo na 5^a h. CMC 0,5% não afetou a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel.

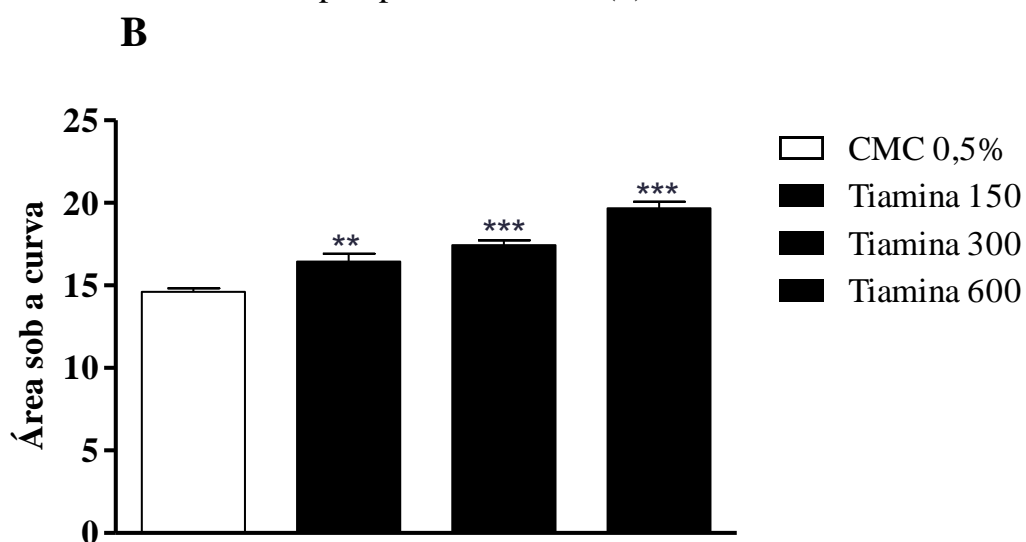
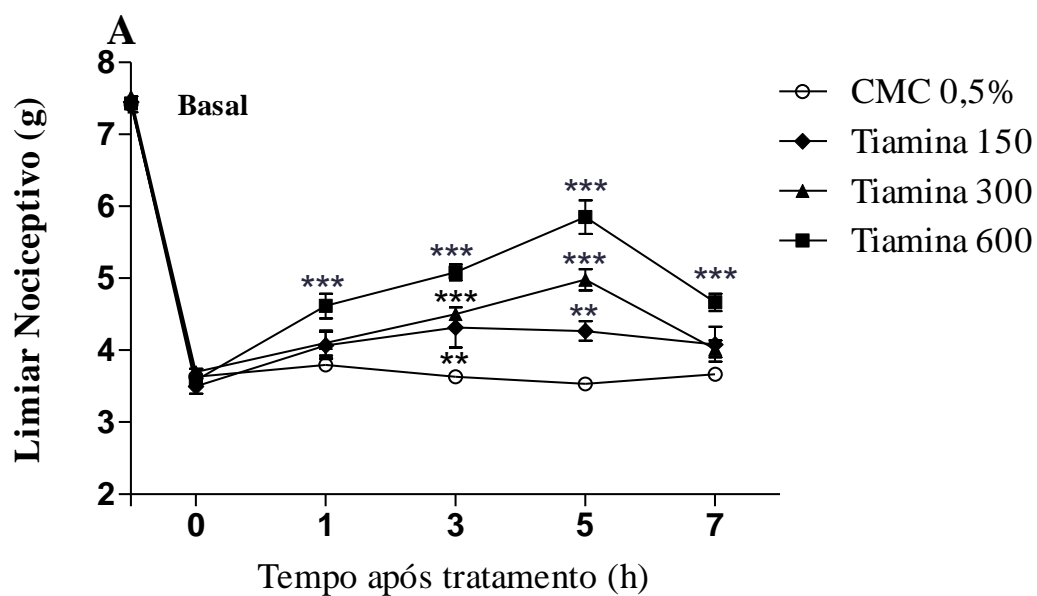


Figura 14. Efeito induzido por duas administrações de tiamina (150, 300 ou 600 mg/Kg, *p.o.*) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel. **A** representa o curso temporal e **B** representa a área sob a curva. ** e *** indicam diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo CMC 0,5% ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n=6$.

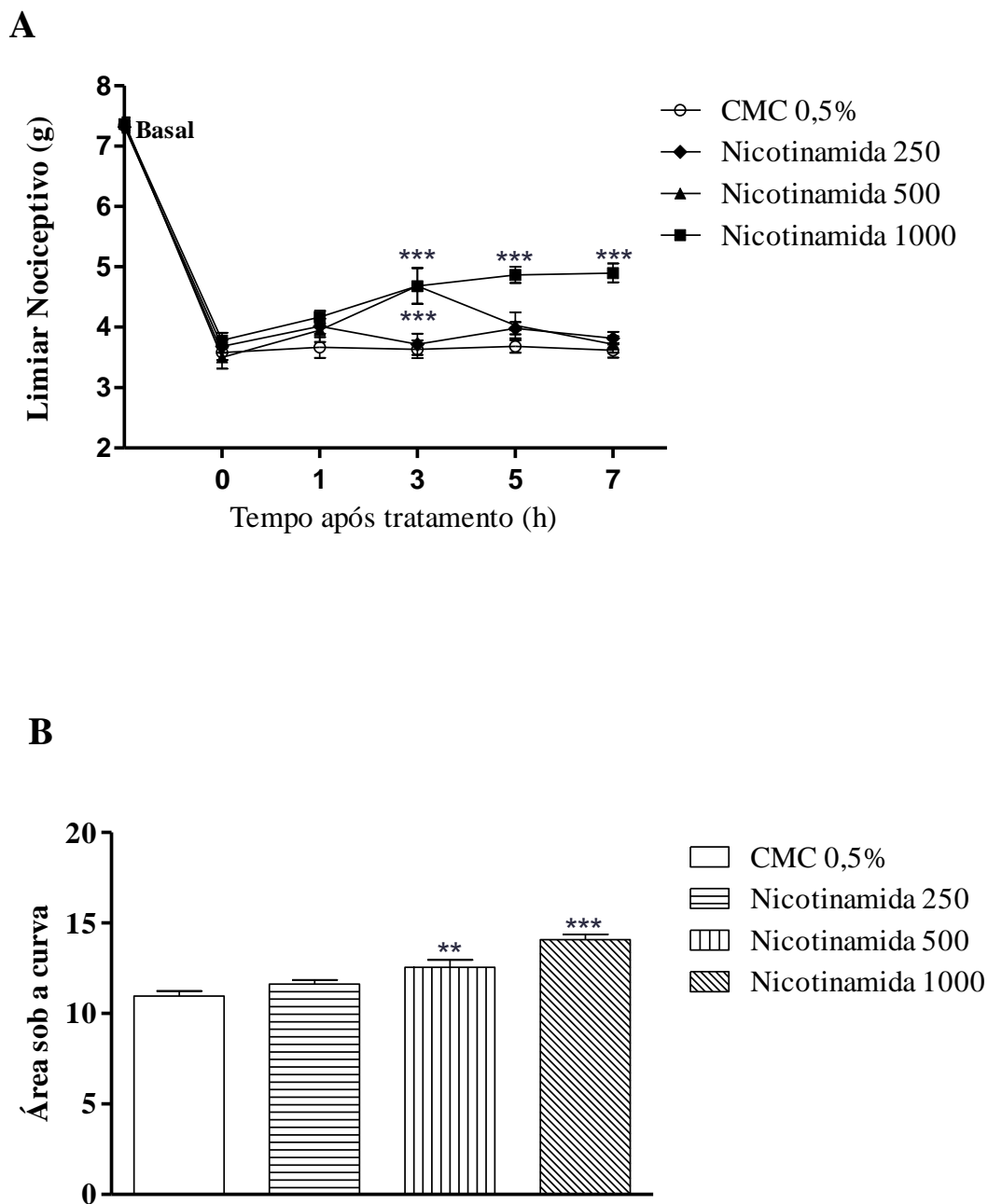


Figura 15. Efeito induzido por duas administrações de nicotinamida (250, 500 ou 1000 mg/Kg, *p.o.*) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel. **A** representa o curso temporal e **B** área sob a curva. ** e *** indicam diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo CMC 0,5% ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n = 6$.

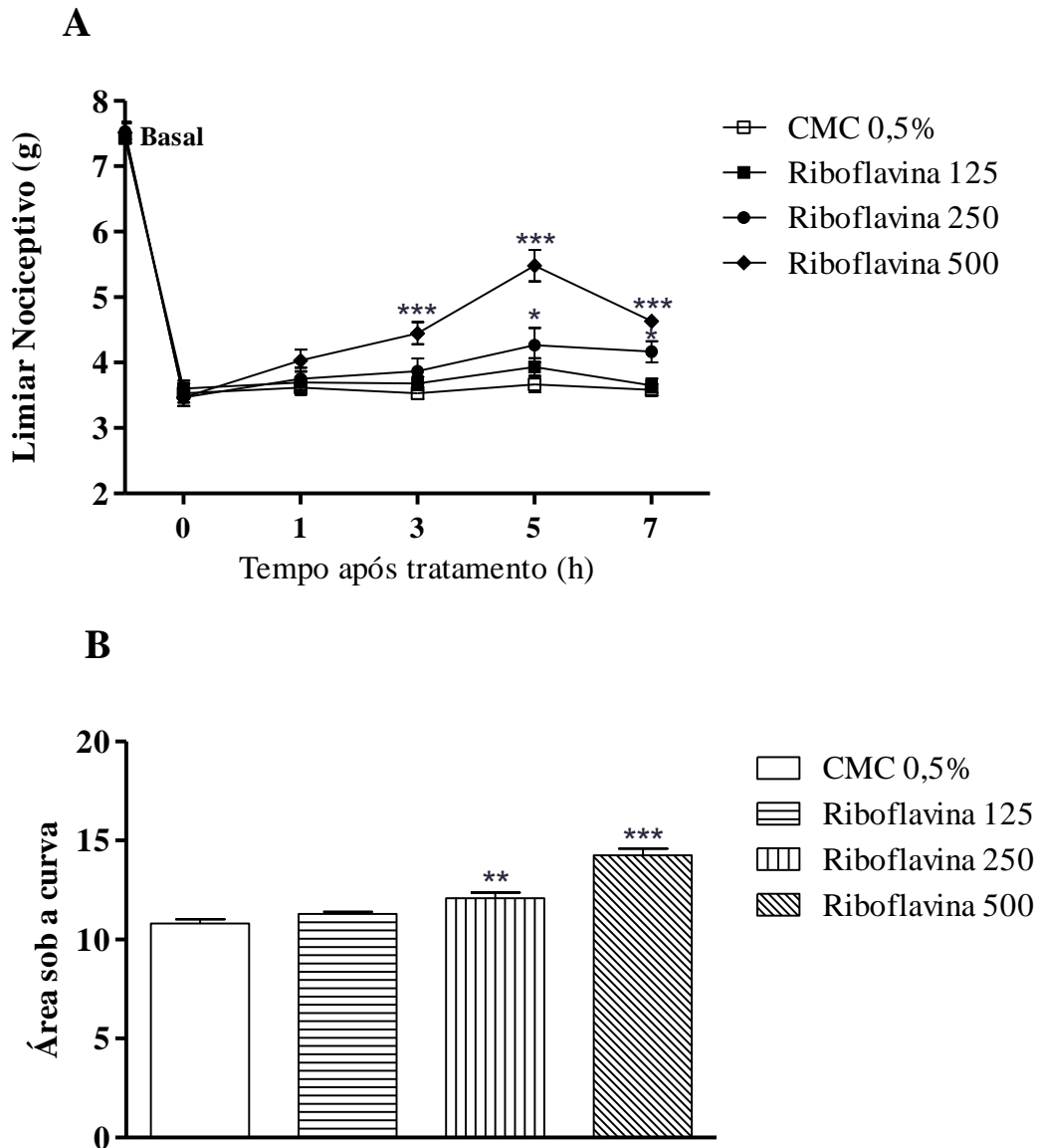


Figura 16. Efeito induzido por duas administrações de riboflavina (125, 250 ou 500 mg/Kg, *p.o.*) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel. **A** representa o curso temporal e **B** área sob a curva. *, ** e *** indicam diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo CMC 0,5% ($p < 0,5$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n=6$.

5.3. Efeito induzido pela tiamina, nicotinamida e riboflavina sobre a coordenação motora

Para investigar se o efeito antinociceptivo induzido pela tiamina, nicotinamida e riboflavina não é resultado de comprometimento da coordenação motora, foi avaliado o efeito induzido pelas vitaminas do complexo B sobre o tempo de permanência dos animais na haste girante. Tiamina (600 mg/Kg, *p.o.*), nicotinamida (1000 mg/Kg, *p.o.*) e riboflavina (500 mg/Kg, *p.o.*) foram administrados duas vezes em um intervalo de 2 h. Observamos que a coordenação motorada dos animais não foi alterada nos tempos avaliados (1, 3, 5 e 7 h) após a administração das vitaminas do complexo B. No entanto, dose única de fenobarbital (50 mg/Kg, *p.o.*) reduziu significativamente o tempo de permanência dos animais na haste girante (Fig. 17).

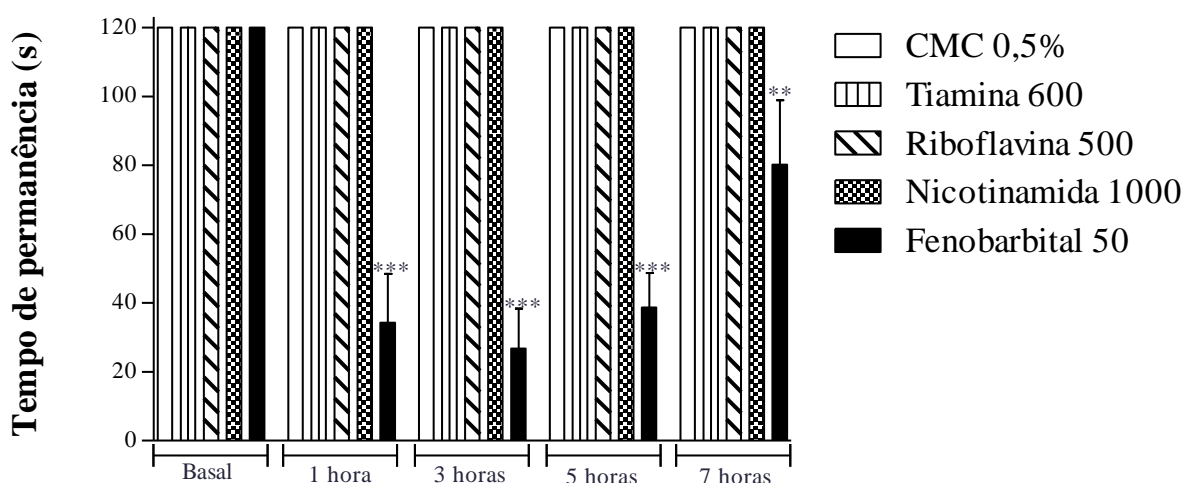


Figura 17. Efeito induzido por duas administrações de tiamina (600 mg/Kg, *p.o.*), nicotinamida (1000 mg/Kg, *p.o.*), riboflavina (500 mg/kg, *p.o.*), uma administração de fenobarbital (50 mg/Kg, *p.o.*) ou veículo (CMC 0,5%) sobre o tempo de permanência dos camundongos na haste girante. ** e *** indicam diferenças significativas em relação ao grupo CMC 0,5% ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n = 6$.

5.4. Efeito induzido pela pregabalina, tiamina, nicotinamida e riboflavina sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel

Em outro experimento, os efeitos induzidos pela tiamina (600 mg/Kg, *p.o.*), nicotinamida (1000 mg/Kg, *p.o.*) e riboflavina (500 mg/Kg, *p.o.*) foram comparados com o efeito induzido pela pregabalina (30 mg/Kg, *p.o.*) (Fig. 18) A pregabalina atenuou a alodínia mecânica em todos os tempos avaliados, com pico de atividade antinociceptiva na 3^a h. Na 5^a h de avaliação, as vitaminas do complexo B apresentaram atividade antinociceptiva similar a da pregabalina.

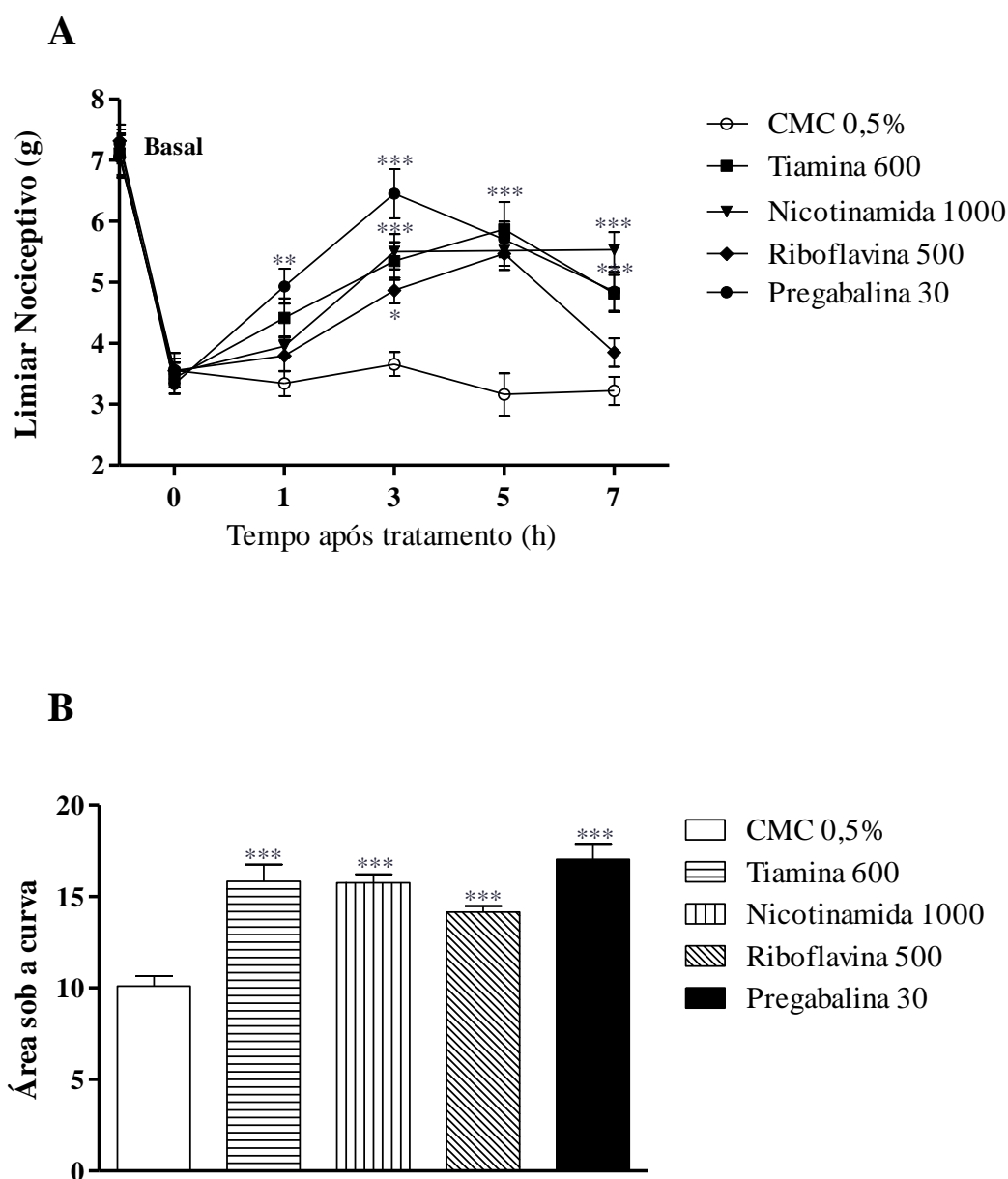


Figura 18. Efeito induzido por duas administrações de tiamina (600 mg/Kg, *p.o.*), nicotinamida (1000 mg/Kg, *p.o.*) e riboflavina (500 mg/Kg, *p.o.*) ou uma administração de pregabalina (30 mg/Kg, *p.o.*) sobre alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel. **A** representa o curso temporal e **B** representa a área sob a curva. *, ** e *** indicam diferenças significativas em relação ao grupo CMC 0,5% ($p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n = 6$.

5.5. Efeitos induzidos pela naltrexona, ciproheptadina ou glibenclamida sobre a atividade antinociceptiva da tiamina, nicotinamida e riboflavina

Para investigar mecanismos que medeiam a atividade antialodínica da tiamina, nicotinamida e riboflavina, antagonistas opioidérgico (naltrexona) e serotoninérgico (ciproheptadina) e um bloqueador de canais K_{ATP} (glibenclamida) foram utilizados. Naltrexona e ciproheptadina foram administradas 15 min antes, enquanto glibenclamida foi administrada 30 min antes da primeira administração das vitaminas do complexo B. A alodínia mecânica foi induzida pelo paclitaxel, como descrito anteriormente, e avaliada 7 dias após a primeira administração do quimioterápico. Tiamina (600 mg/Kg, *p.o.*, duas doses, 2 h de intervalo), nicotinamida (1000 mg/Kg, *p.o.*, duas doses, 2 h de intervalo) e riboflavina (500 mg/Kg, *p.o.*, duas doses, 2 h de intervalo) reduziram a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel. A atividade antinociceptiva da tiamina foi parcialmente atenuada pela administração prévia de naltrexona (10 mg/Kg, *i.p.*; Fig. 19) ou glibenclamida (20 e 40 mg/Kg, *p.o.*; Fig. 20), mas não pela administração prévia de ciproheptadina (5 e 10 mg/Kg, *i.p.*; Fig. 21). A atividade antinociceptiva da nicotinamida foi atenuada pela administração prévia de glibenclamida (20 e 40 mg/Kg, *p.o.*; Fig. 23), mas não pela administração prévia de naltrexona (5 e 10 mg/Kg, *i.p.*; Fig. 22) e ciproheptadina (5 e 10 mg/Kg, *i.p.*; Fig. 24). A atividade antinociceptiva da riboflavina também foi atenuada pela administração prévia de glibenclamida (40 mg/Kg, *p.o.*; Fig. 26) ou naltrexona (10 mg/Kg, *i.p.*; 25A), mas não pela administração prévia de ciproheptadina (5 e 10 mg/Kg, *i.p.*; Fig. 27). Naltrexona (10 mg/Kg, *i.p.*), ciproheptadina (10 mg/Kg, *i.p.*) ou glibenclamida (40 mg/Kg, *p.o.*) não alteraram a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel.

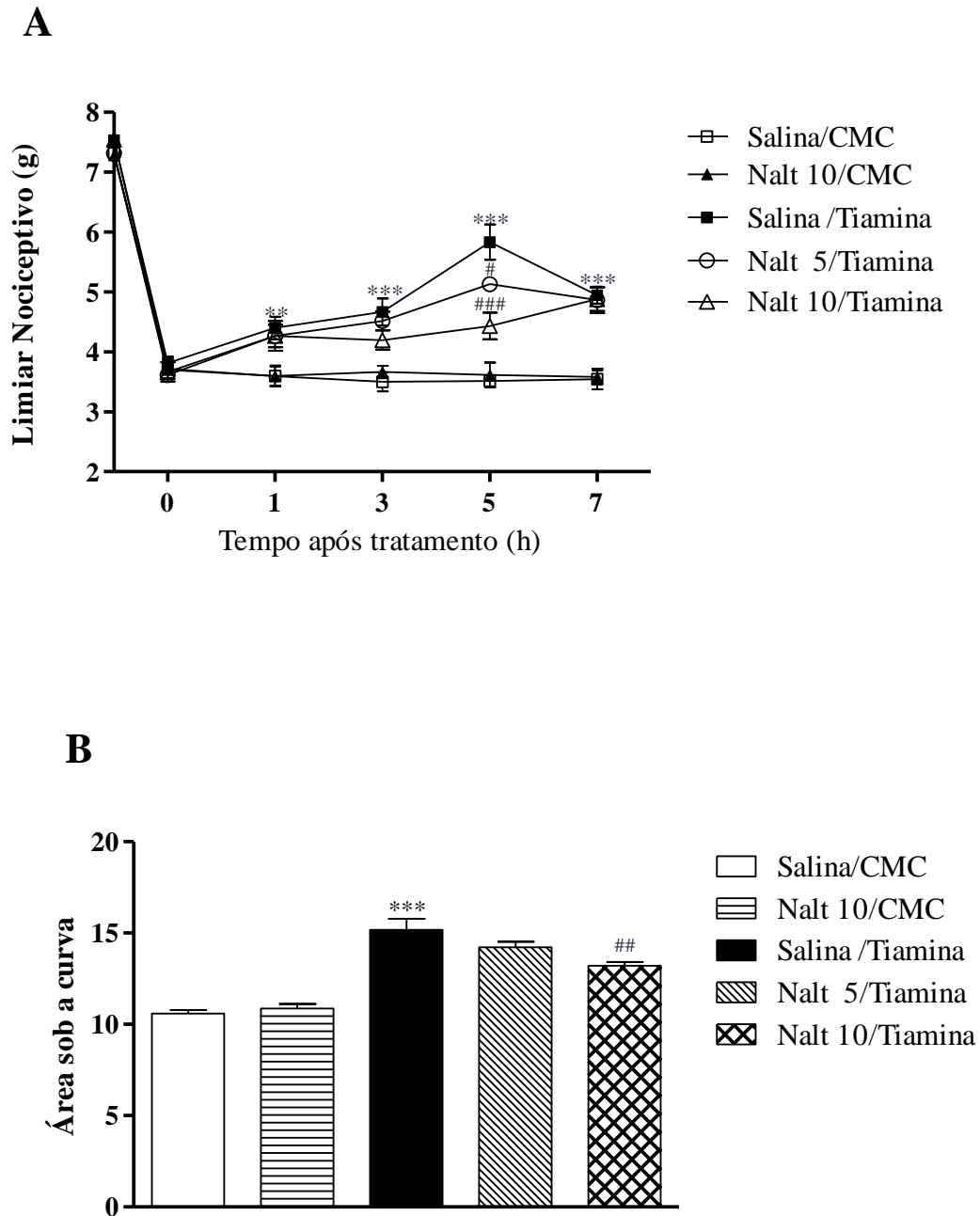


Figura 19. Efeito induzido por duas administrações de tiamina (600 mg/Kg, *p.o.*) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel em animais previamente (15 min) tratados com naltrexona (Nalt; 5 ou 10 mg/Kg, *i.p.*). **A** representa o curso temporal e **B** representa a área sob a curva. ** e *** indicam diferenças significativas em relação grupo salina/CMC ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). #, ## e ### indicam diferenças significativas em relação ao grupo salina/tiamina ($p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n = 6$.

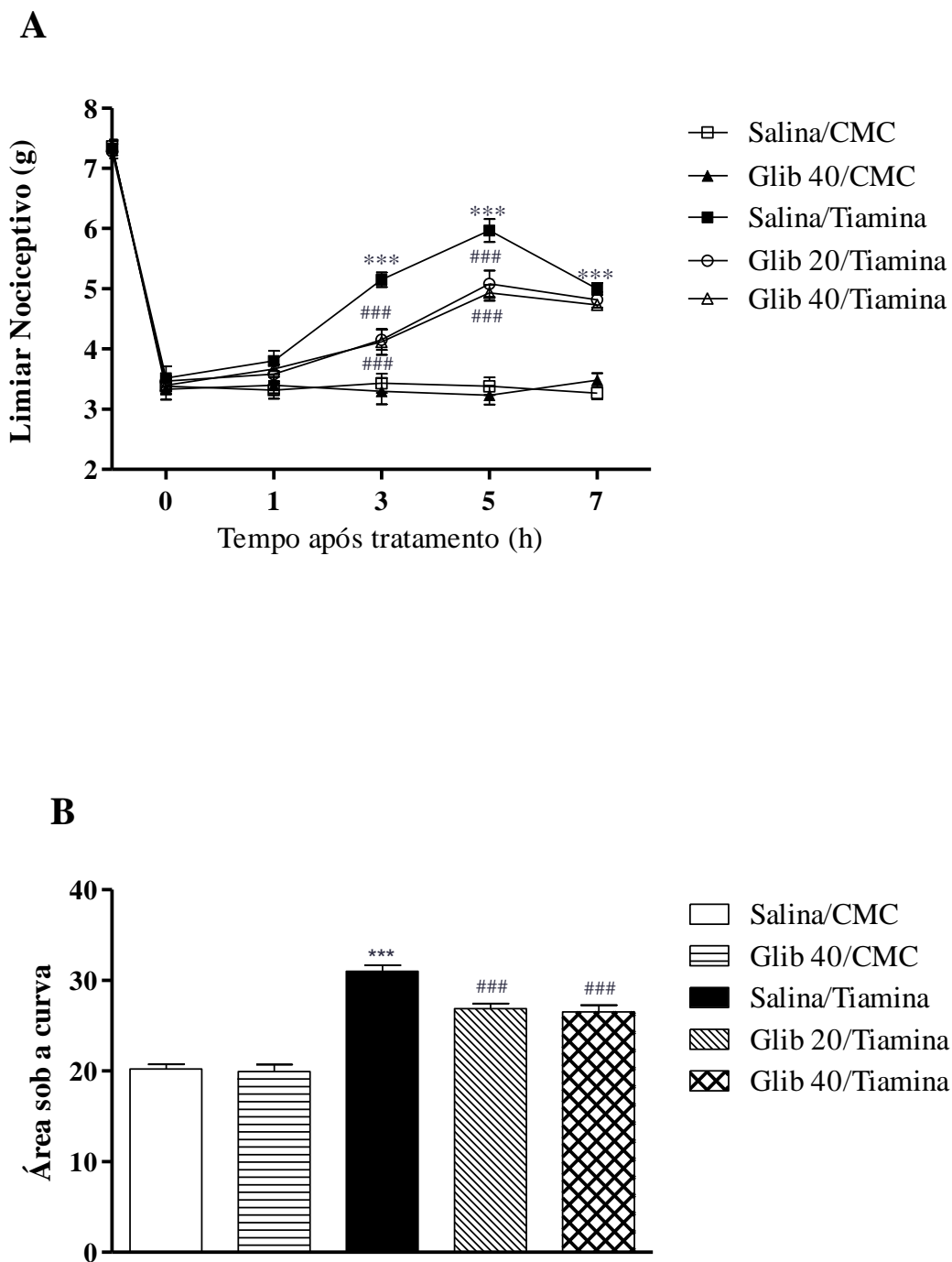


Figura 20. Efeito induzido por duas administrações de tiamina (600 mg/Kg, *p.o.*) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel em animais previamente (30 min) tratados com glibenclamida (Glib; 20 ou 40 mg/Kg, *i.p.*). **A** representa o curso temporal e **B** representa a área sob a curva. *** indica diferença significativa em relação ao grupo salina/CMC ($p < 0,001$). ### indica diferença significativa em relação ao grupo salina/tiamina ($p < 0,001$). $n = 6$.

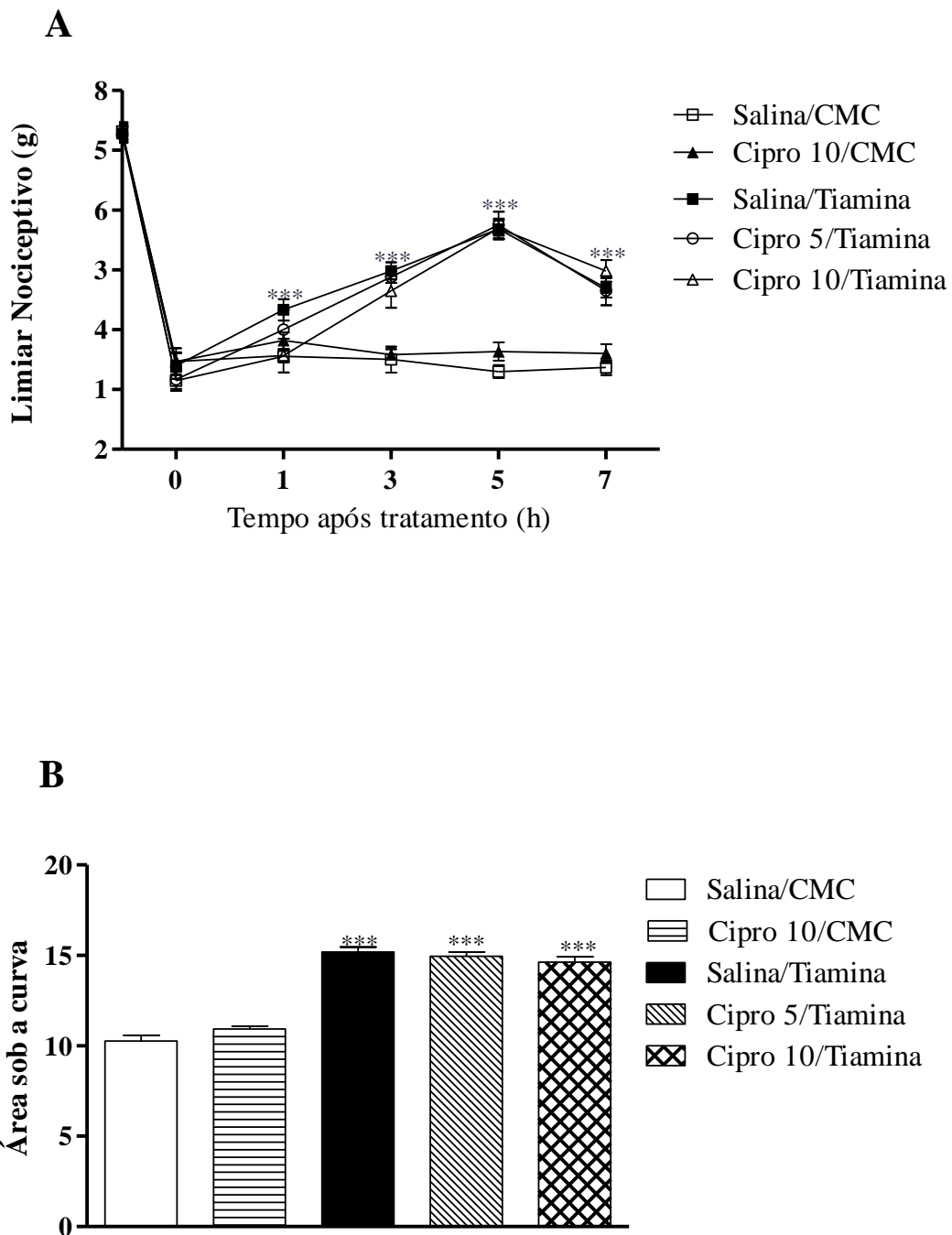


Figura 21. Efeito induzido por duas administrações de tiamina (600 mg/Kg, *p.o.*) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel em animais previamente (15 min) tratados com ciproheptadina (Cipro; 5 ou 10 mg/Kg, *i.p.*). **A** representa o curso temporal e **B** representa a área sob a curva. *** indica diferença significativa em relação ao grupo salina/CMC ($p < 0,001$). $n = 6$.

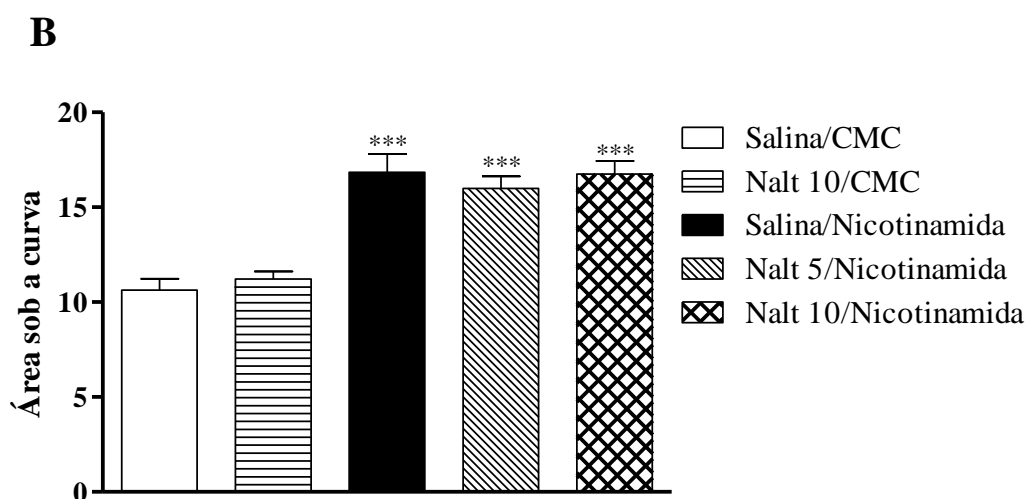
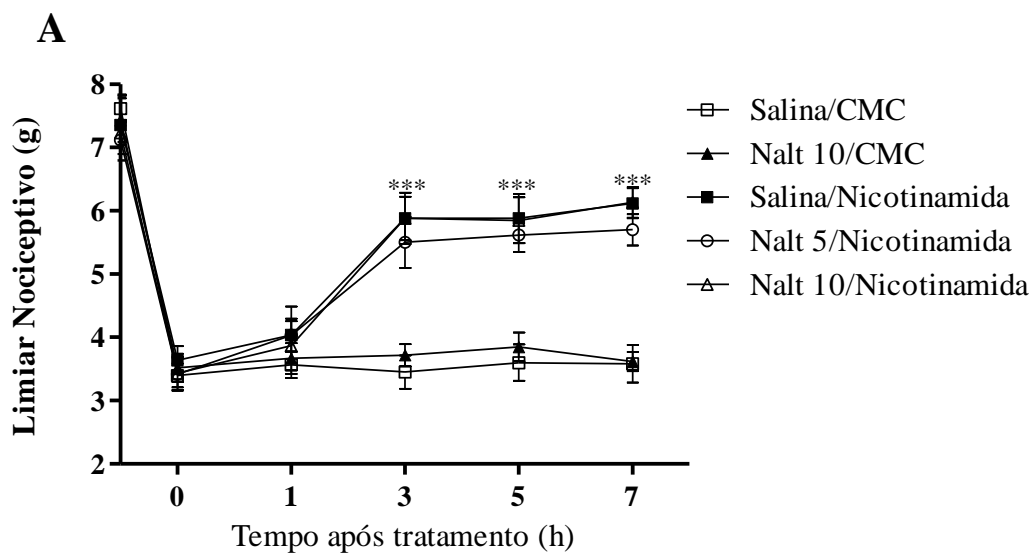


Figura 22. Efeito induzido por duas administrações de nicotinamida (1000 mg/Kg, *p.o.*) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel em animais previamente (15 min) tratados com naltrexona (Nalt; 5 ou 10 mg/Kg, *i.p.*). **A** representa o curso temporal e **B** representa a área sob a curva. *** indica diferença significativa em relação ao grupo salina/CMC ($p < 0,001$). $n = 6$.

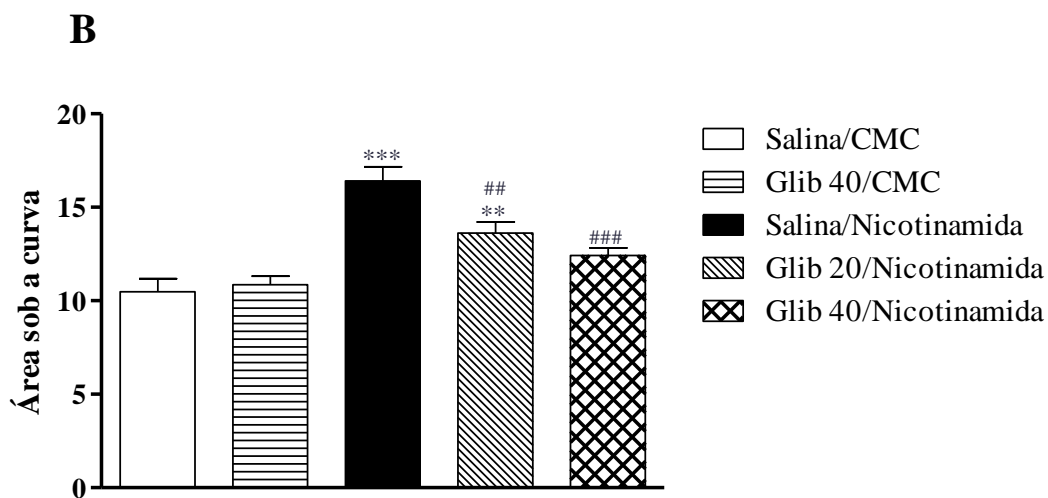
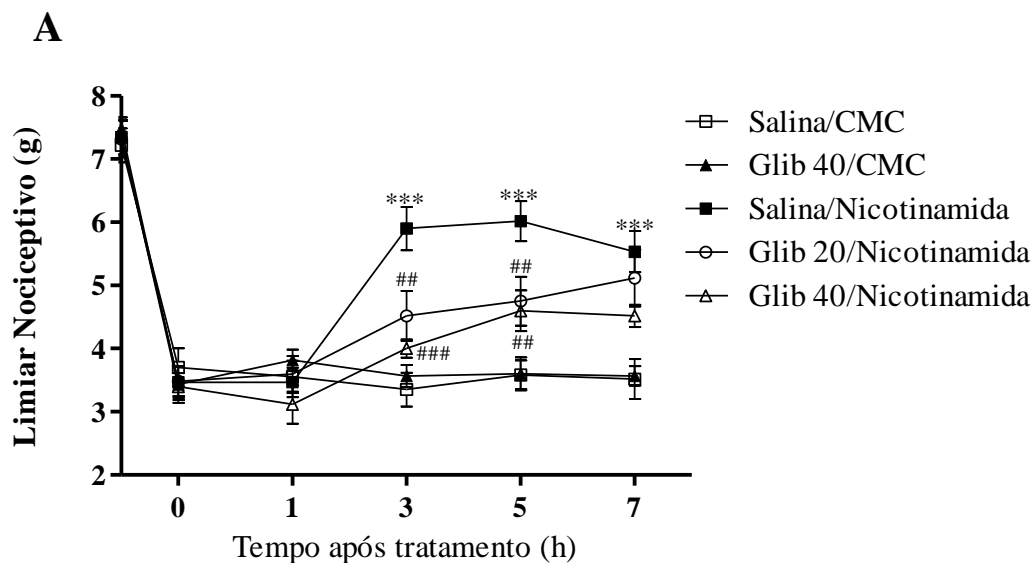


Figura 23. Efeito induzido por duas administrações de nicotinamida (1000 mg/Kg, *p.o.*) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel em animais previamente (30 min) tratados com glibenclamida (Glib; 20 ou 40 mg/Kg, *p.o.*). **A** representa o curso temporal e **B** representa a área sob a curva. ** e *** indicam diferenças significativas em relação ao grupo salina/CMC ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). ## e ### indicam diferenças significativas em relação ao grupo salina/nicotinamida ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n = 6$.

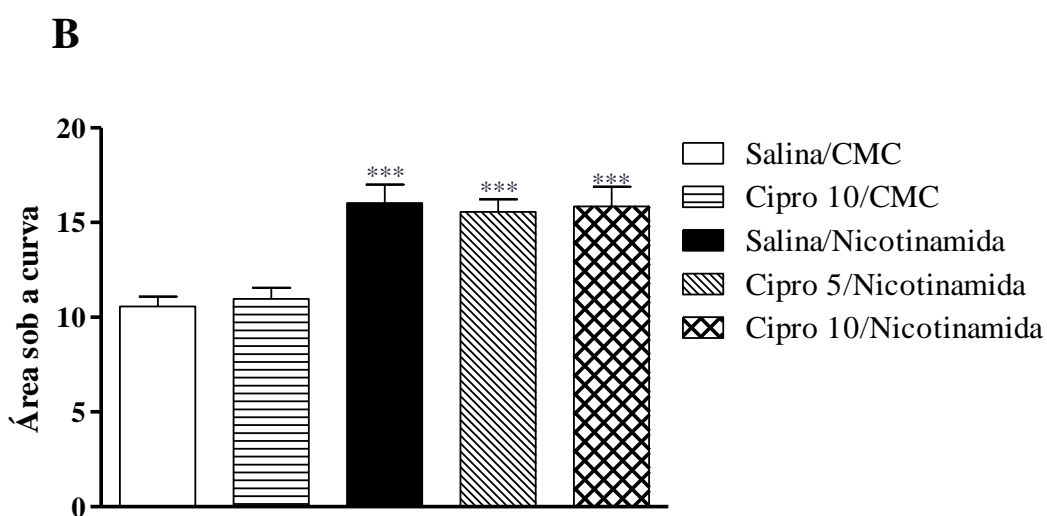
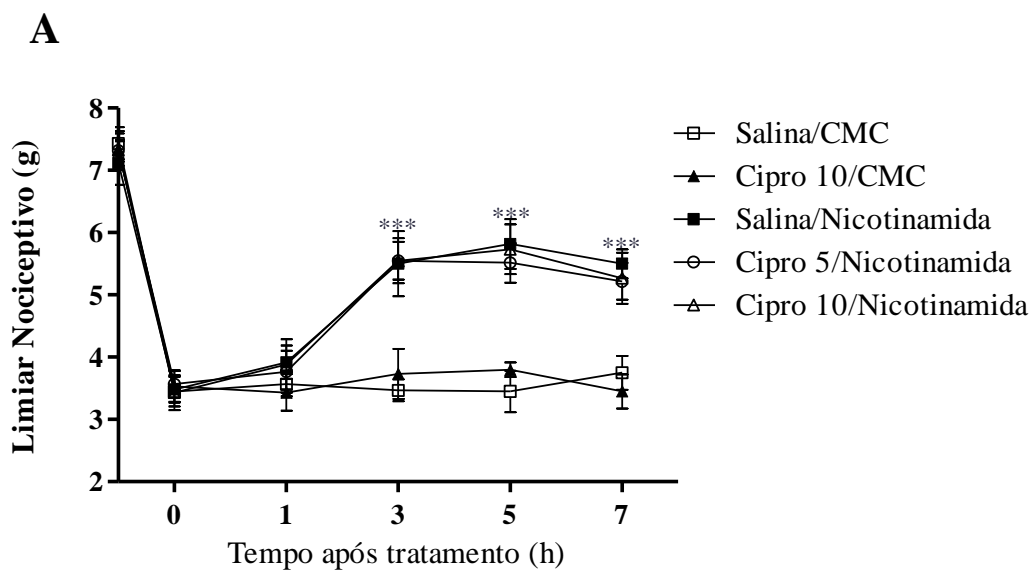


Figura 24. Efeito induzido por duas administrações de nicotinamida (1000 mg/Kg, *p.o.*) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel em animais previamente (15 min) tratados com ciproheptadina (Cipro; 5 ou 10 mg/Kg, *i.p.*). **A** representa o curso temporal e **B** representa a área sob a curva. *** indica diferença significativa em relação ao grupo salina/CMC ($p < 0,001$). $n = 6$.

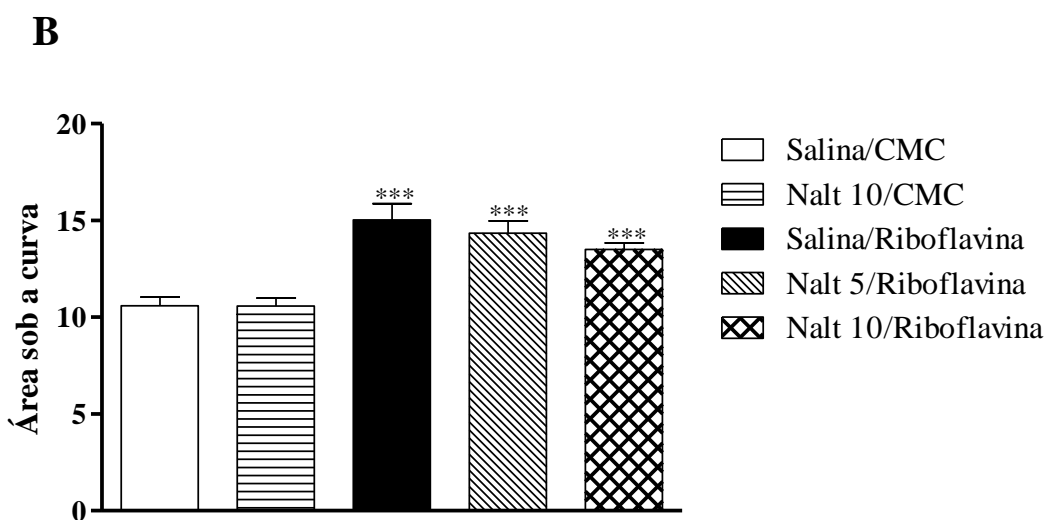
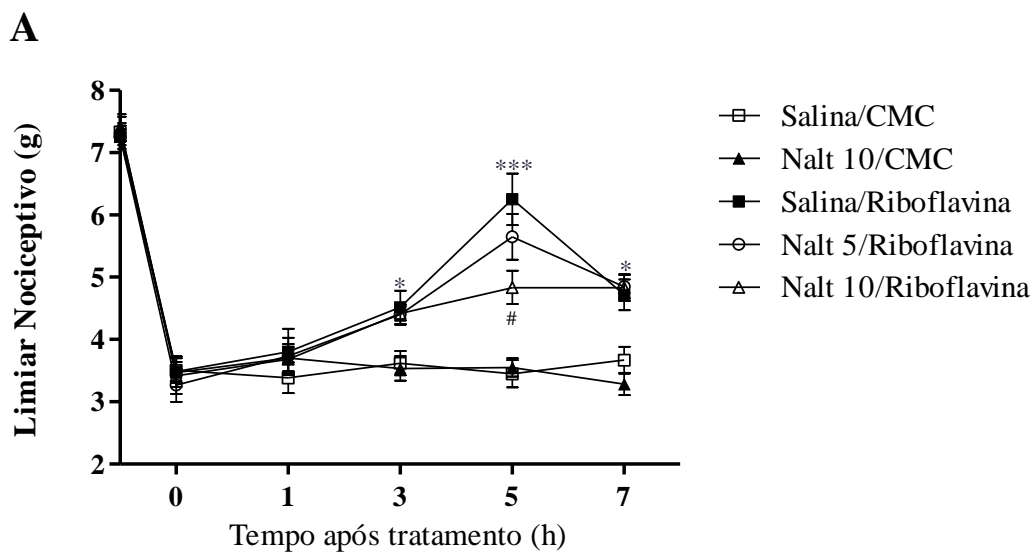


Figura 25. Efeito induzido por duas administrações de riboflavina (500 mg/Kg, *p.o.*) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel em animais previamente (15 min) tratados com naltrexona (Nalt; 5 ou 10 mg/Kg, *i.p.*). **A** representa o curso temporal e **B** representa a área sob a curva. *** indica diferença significativa em relação ao grupo salina/CMC ($p < 0,001$). # indica diferença significativa em relação ao grupo salina/riboflavina ($p < 0,05$). $n = 6$.

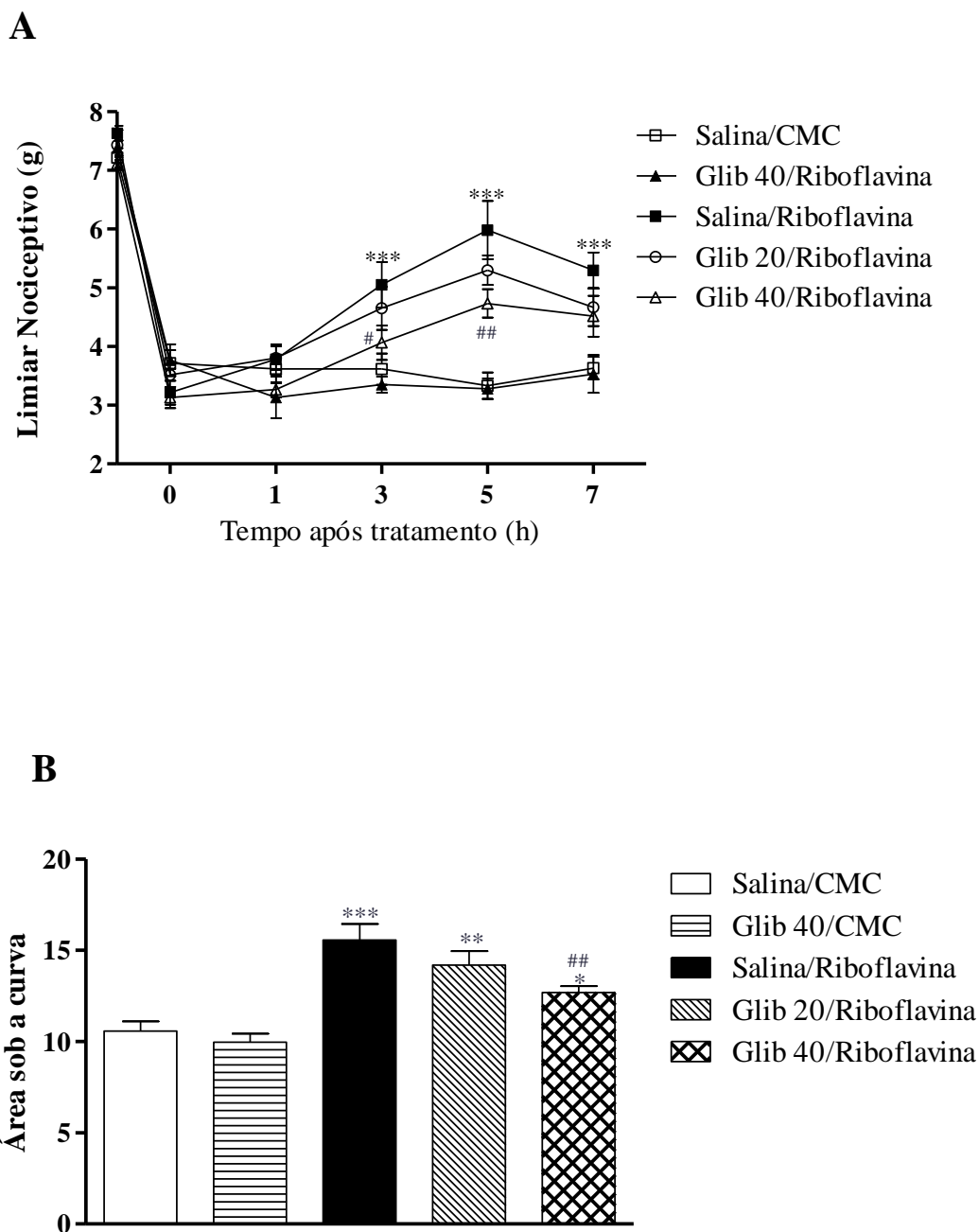


Figura 26. Efeito induzido por duas administrações de riboflavina (500 mg/Kg, *p.o.*) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel em animais previamente (30 min) tratados com glibenclamida (Glib; 20 ou 40 mg/Kg, *p.o.*). **A** representa o curso temporal e **B** representa a área sob a curva. *, ** e *** indicam diferenças significativas em relação ao grupo salina/CMC ($p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). # e ## indicam diferenças significativas em relação ao grupo salina/riboflavina ($p < 0,05$ e $p < 0,01$, respectivamente). $n = 6$.

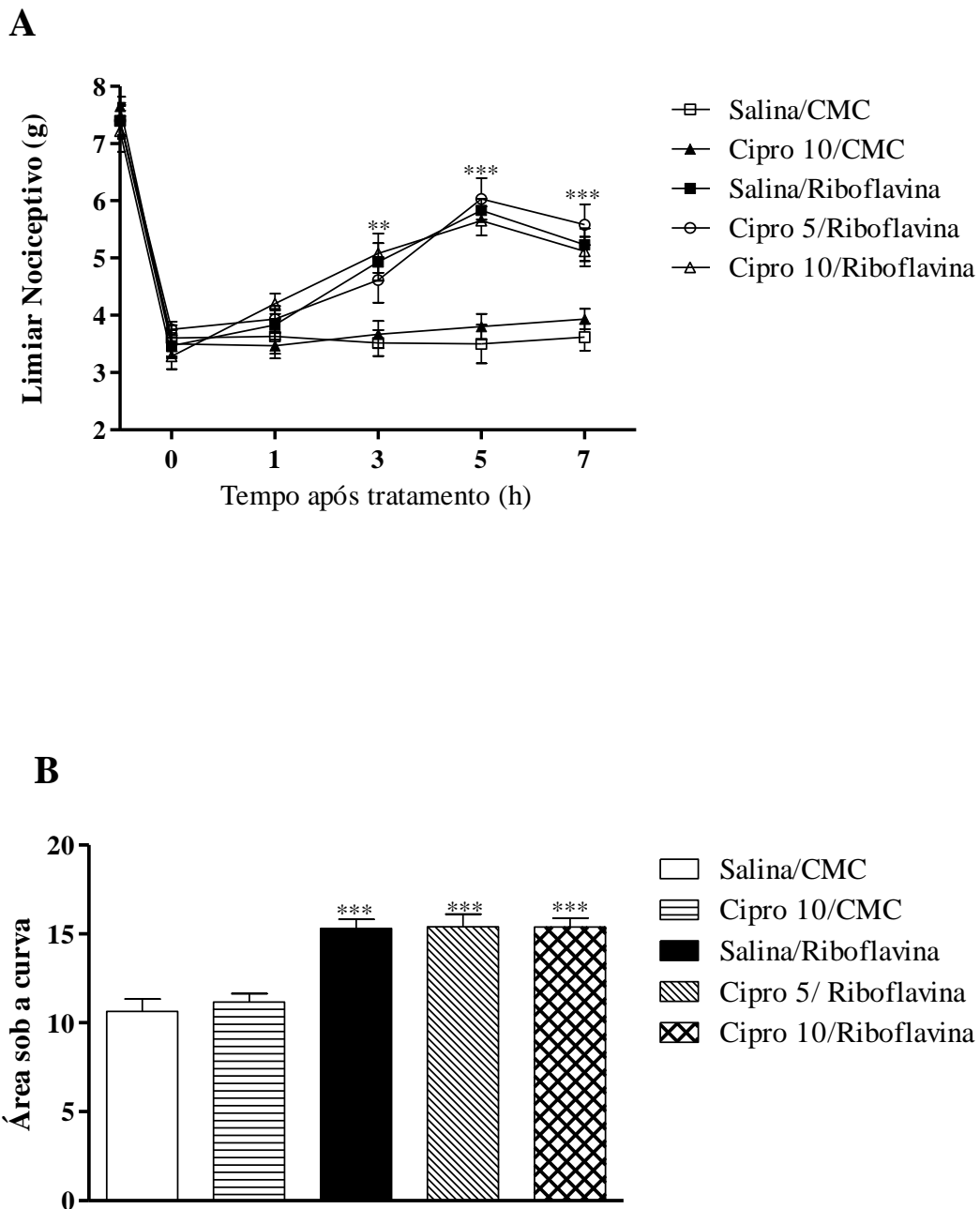


Figura 27. Efeito induzido por duas administrações de riboflavina (500 mg/Kg, *p.o.*) sobre a alodínia mecânica induzida pelo paclitaxel em animais previamente (15 min) tratados com ciproheptadina (Cipro; 5 ou 10 mg/Kg, *i.p.*). **A** representa o curso temporal e **B** representa a área sob a curva. ** e *** indicam diferenças significativas em relação ao grupo salina/CMC ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n = 6$.

5.6. Efeitos induzidos pela tiamina, nicotinamida e riboflavina sobre a produção de CXCL-1 e TNF- α nos DRG e tálamo

As concentrações de CXCL-1 (Fig. 28) e TNF- α (Fig. 29) nos DRG (L3-L5) e tálamo aumentaram sete dias após a primeira administração de paclitaxel. Os efeitos induzidos pela tiamina (600 mg/Kg, *p.o.*, duas doses, 2 h de intervalo), nicotinamida (1000 mg/Kg, *p.o.*, duas doses, 2 h de intervalo) e riboflavina (500 mg/Kg, *p.o.*, duas doses, 2 h de intervalo) sobre as concentrações de CXCL-1 e TNF- α foram avaliados na 5^a h após a administração das vitaminas do complexo B. Tiamina, nicotinamida e riboflavina reduziram significativamente as concentrações de CXCL-1 (Fig. 28) e TNF- α (Fig. 29) nos DRG e tálamo.

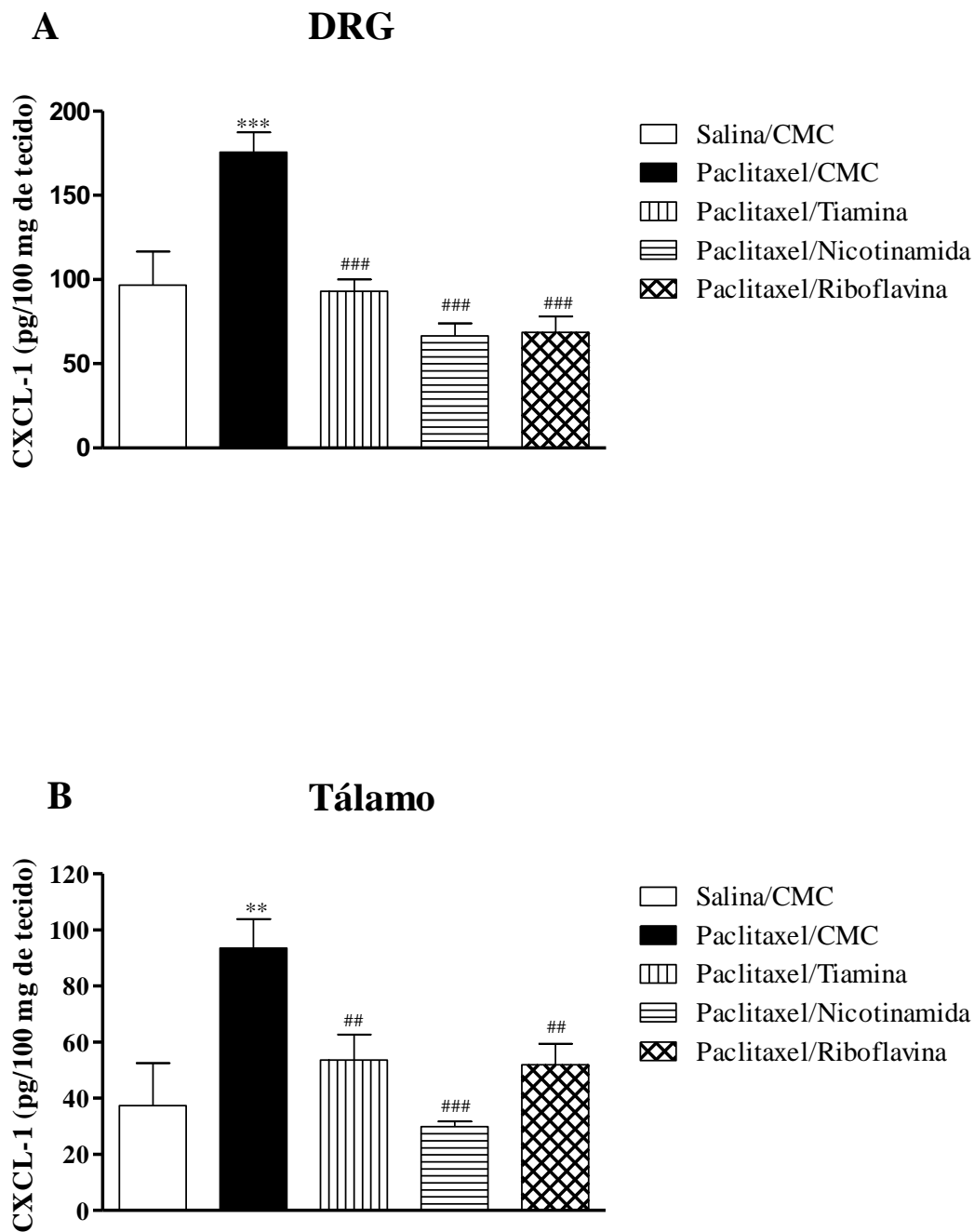


Figura 28. Efeito induzido por duas administrações de tiamina (600 mg/Kg, *p.o.*), nicotinamida (1000 mg/Kg, *p.o.*) ou riboflavina (500 mg/Kg, *p.o.*) sobre a produção de CXCL-1 nos DRG (A) e tálamo (B). ** e *** indicam diferenças significativas em relação ao grupo salina/CMC ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). ## e ### indicam diferenças significativas em relação ao grupo paclitaxel/CMC ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n=6$.

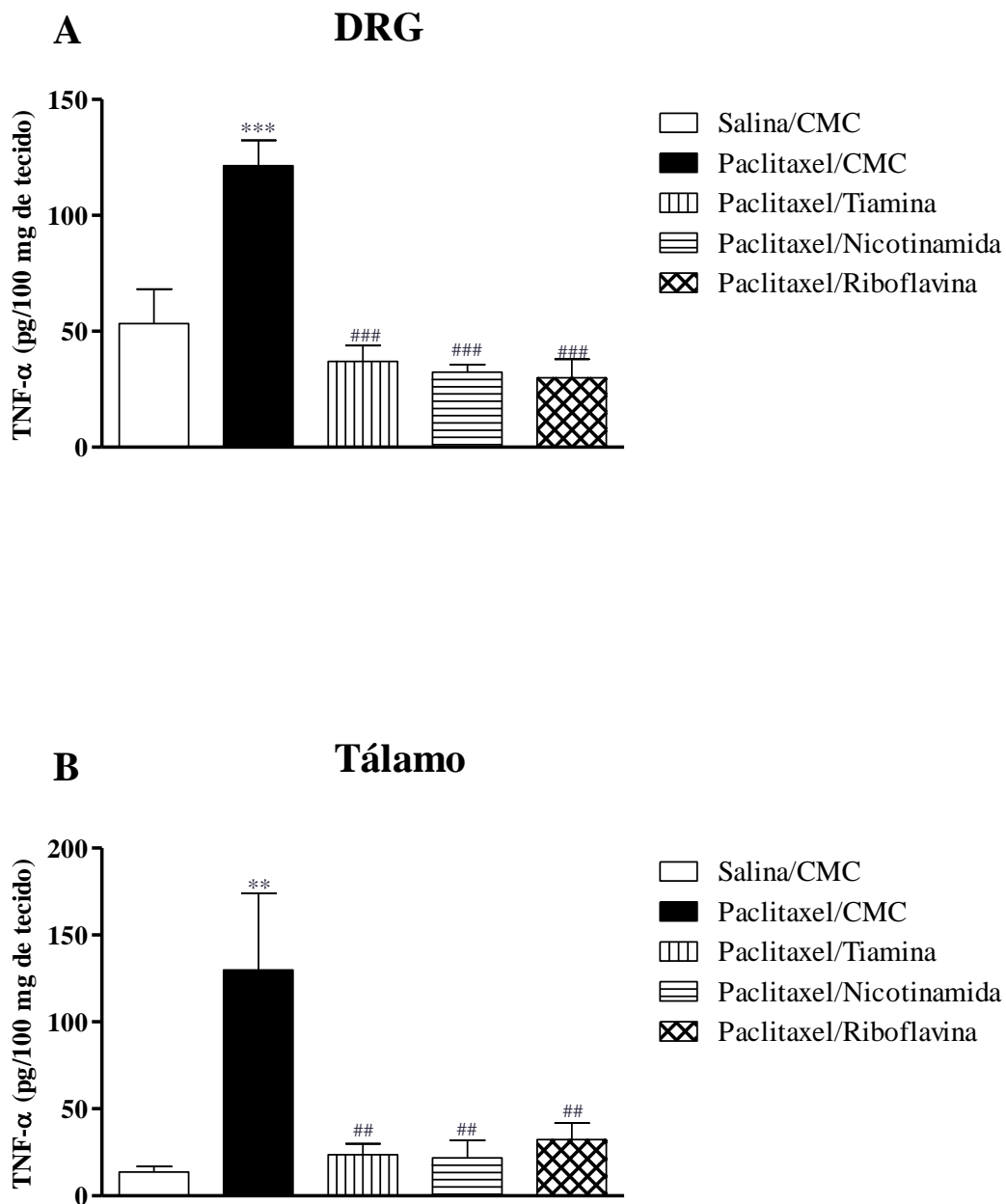


Figura 29. Efeito induzido por duas administrações de tiamina (600 mg/Kg, *p.o.*), nicotinamida (1000 mg/Kg, *p.o.*) ou riboflavina (500 mg/Kg, *p.o.*) sobre a produção de TNF- α nos DRG (A) e tálamo (B). ** e *** indicam diferenças significativas em relação ao grupo salina/CMC ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). ## e ### indicam diferenças significativas em relação ao grupo paclitaxel/CMC ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). $n=6$.

6. DISCUSSÃO

Os fármacos disponíveis para o manejo da DN apresentam baixa eficácia clínica, o que representa uma dificuldade para o manejo dos pacientes que apresentam diferentes condições patológicas que predisõem ao desenvolvimento desse tipo de dor (GILRON *et al.*, 2015; COLLOCA *et al.*, 2017). Dessa forma, investigações pré-clínicas e clínicas que tenham como objetivo identificar novas abordagens farmacoterapêuticas da DN, com eficácia e segurança adequadas, são de extrema importância.

No presente estudo, investigamos as atividades de algumas vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina e nicotinamida) em um modelo de DN induzida pelo quimioterápico paclitaxel. Para isso foram realizadas administrações repetidas de paclitaxel, de forma semelhante aos protocolos descritos por outros autores (POLOMANO *et al.*, 2001; MORAIS *et al.*, 2018). Administrações repetidas de paclitaxel induziram alodínia mecânica de longa duração a partir do segundo dia após a primeira administração. De forma semelhante aos resultados obtidos por MORAIS *et al.* (2018), após o sexto dia da primeira administração de paclitaxel, não ocorreu grande variação da magnitude da alodínia mecânica. Dessa forma, decidiu-se pela avaliação dos efeitos induzidos pelas vitaminas do complexo B, bem como dos possíveis mecanismos de ação envolvidos, no sétimo dia após a primeira administração de paclitaxel.

Embora diversos estudos pré-clínicos tenham demonstrado a atividade antinociceptiva da tiamina, riboflavina e nicotinamida em modelos de dor aguda (GRANADOS-SOTO *et al.*, 2004; BERTOLLO *et al.*, 2006; MOALLEM *et al.*, 2008; GODIN *et al.*, 2011) e dor inflamatória crônica (MENEZES *et al.*, 2017), o presente estudo forneceu a primeira demonstração de que essas vitaminas do complexo B também apresentam atividade em um modelo de DN induzida pelo paclitaxel.

Foi demonstrado que a tiamina, nicotinamida e riboflavina aumentaram o limiar nociceptivo dos animais sensibilizados pelo paclitaxel. As maiores doses de tiamina, nicotinamida e riboflavina não alteraram a coordenação motora dos animais, como aconteceu com o controle positivo fenorbabital. Assim, é improvável que a inibição do comportamento nociceptivo induzido pelas vitaminas do complexo B seja resultado de incoordenação motora ou efeito relaxante muscular.

Outros estudos também demonstraram que algumas vitaminas do complexo B, em particular a tiamina, apresentam atividade antinociceptiva em diferentes modelos

experimentais de DN nos quais a sensibilização foi induzida por constrição do nervo infraorbital (KOPRUSZINSKI *et al.*, 2012), ligadura de nervo espinal (SNL) (CARAM-SALAS *et al.*, 2006; LIU *et al.*, 2016), constrição do nervo isquiático (MOALLEM *et al.* 2008) ou tratamento com cisplatina (ONK *et al.*, 2018).

No presente estudo, também foi observado que as vitaminas do complexo B apresentam atividade antinociceptiva similar àquela da pregabalina, um anticonvulsivante que é empregado como primeira escolha para o tratamento de pacientes com DN. Liu *et al.* (2016) demonstraram que a pregabalina e a tiamina, de forma isolada, apresentam atividade antinociceptiva em um modelo de DN induzida pela ligação de nervo espinal em ratos. Nesse mesmo estudo, os autores também demonstraram que o tratamento combinado com tiamina e pregabalina induz efeito de maior magnitude quando comparado com o tratamento com os fármacos de forma isolada. Caram-Salas *et al.* (2006), por sua vez, demonstraram maior atividade antinociceptiva induzida pela associação de tiamina e dexametasona no modelo de alodínia mecânica induzida pela ligação de nervo espinal em ratos.

Estudos clínicos também demonstraram a eficácia da associação de vitaminas do complexo B com outros fármacos com ação analgésica em condições dolorosas associadas à neuropatia diabética (STRACKE *et al.*, 1996; ABBAS & SWAI, 1997; MEDINA-SANTILLAN *et al.*, 2004) ou decorrentes de procedimentos cirúrgicos (ALEMANNO *et al.*, 2016). Por outro lado, a farmacoterapia com riboflavina alivia a enxaqueca em 59% dos pacientes, mas esse efeito não é aumentado pela adição de aspirina (SCHOENEN *et al.*, 1994, SCHOENEN *et al.*, 1998).

Vários mecanismos podem estar envolvidos no desenvolvimento e na manutenção da DN causada por um agente quimioterápico (SISIGNANO *et al.*, 2014; CAROZZI *et al.*, 2015). Há evidências de que a sensibilização induzida pelo paclitaxel, que pode levar ao relato de dor, está associada a uma variedade de alterações, como aumento da produção de mediadores inflamatórios por ativação de células gliais no corno dorsal da medula espinal, atividade alterada de canais iônicos e aumento da produção de ROS (SISIGNANO *et al.*, 2014; BOYETTE-DAVIS *et al.*, 2015).

Dessa forma, foram investigados possíveis mecanismos que poderiam contribuir para a atividade antinociceptiva das vitaminas do complexo B no modelo de DN induzida pelo paclitaxel. A administração prévia de naltrexona atenuou parcialmente a atividade

antialodínica da tiamina e da riboflavina, mas não da nicotinamida. Esses resultados indicam que a ativação das vias opioidérgicas pode contribuir para a atividade antinociceptiva da tiamina e da riboflavina. Reyes-García *et al.* (2001) fizeram observação semelhante ao demonstrarem que a administração prévia de naloxona, outro antagonista opioidérgico, atenua parcialmente a atividade antinociceptiva de uma associação de vitaminas do complexo B, incluindo tiamina, em um modelo de dor inflamatória induzida por formaldeído. Entretanto, Granados-Soto *et al.* (2004) demonstraram que a naloxona não atenua a atividade da riboflavina em um modelo experimental de dor nociceptiva e inflamatória induzida por formaldeído, indicando que nesse modelo a atividade antinociceptiva da riboflavina provavelmente não envolve a ativação de vias opioidérgicas. Os resultados do presente estudo e de outros autores indicam que a contribuição da ativação de mecanismos opioidérgicos para a atividade antinociceptiva das vitaminas do complexo B varia de acordo com a vitamina avaliada e com o modelo experimental utilizado. Não está claro se a tiamina e a riboflavina interagem diretamente com receptores opioides ou estimulam a liberação de peptídeos opioides endógenos, ações que poderiam contribuir para sua atividade antinociceptiva.

Quando liberados, os peptídeos opioides endógenos (β -endorfina, encefalinas e dinorfinas) interagem com receptores acoplados à proteína G transmembrana (receptores μ , δ e κ). Após ativação do receptor opioide, ocorre inibição da enzima adenilato ciclase e, conseqüentemente, redução da produção intracelular de adenosil monofosfato cíclico (AMPC), gerando fechamento dos canais para cálcio voltagem dependentes nas terminações pré-sinápticas, reduzindo a liberação de neurotransmissores. A ativação de receptores opioides pós-sinápticos resulta na ativação de canais para K^+ , gerando efluxo desses íons e conseqüente hiperpolarização. Esses receptores, além de sua distribuição pré-sináptica, também são encontrados em interneurônios, que liberam opioides endógenos que interagem com os receptores opioides, principalmente receptor μ , no corno dorsal da medula espinhal. Dessa forma, a liberação de peptídeos opioides endógenos e, conseqüentemente, a estimulação dos receptores μ , inibe a transmissão sináptica na medula espinhal e tronco cerebral, o que contribui para menor acesso da informação nociceptiva ao tálamo e córtex cerebral e, conseqüentemente, menor experiência dolorosa (FORNASARI, 2017).

O papel da serotonina ou 5-hidroxitriptamina (5-HT) no processamento nociceptivo no SNC é bastante conhecido. A 5-HT, quando liberada por neurônios que se projetam da

substância cinzenta periaquedutal e do núcleo magno da rafe para a medula espinhal, interage com receptores 5-HT₃ (ionotrópicos) e 5-HT_{2A} (acoplados à fosfolipase C) em interneurônios inibitórios localizados no corno dorsal da medula espinhal. A ativação desses interneurônios inibitórios resulta na inibição de neurônios de segunda ordem no corno dorsal e, conseqüentemente, do processamento nociceptivo. A 5-HT também pode interagir com receptores 5-HT_{1A} e 5-HT_{1B} presentes nos neurônios das camadas mais externas do corno dorsal. A interação da 5-HT com esses receptores induz a abertura de canais para K⁺ e fechamento de canais para Ca²⁺ por inibição da adenilato ciclase, gerando hiperpolarização e, conseqüentemente, diminuição da transmissão sináptica (MILLAN, 2002; SOMMER, 2010). Entretanto, os resultados do presente estudo indicam que a atividade antinociceptiva da tiamina, riboflavina e nicotinamida no modelo de DN induzida pelo paclitaxel parece não estar relacionada com a ativação de vias serotoninérgicas, pois a administração prévia de ciproheptadina, um antagonista serotoninérgico não seletivo, não atenuou a atividade dessas vitaminas.

Por outro lado, o efeito antinociceptivo induzido pela tiamina, riboflavina e nicotinamida no modelo de DN induzida pelo paclitaxel foi atenuado pela administração prévia de glibenclamida. Esses resultados indicam que o efeito antinociceptivo induzido por essas vitaminas é mediado em parte pela ativação de canais K_{ATP}. Evidências crescentes têm demonstrado a participação dos canais K_{ATP} no processamento nociceptivo (SARANTOPOULOS *et al.*, 2003; KAWANO *et al.*, 2009; XIA *et al.*, 2014; ZOGA *et al.*, 2010; ZHU *et al.*, 2015). Os canais K_{ATP} são formados pela combinação de duas proteínas: Kir6 e SUR (receptor de sulfonilureia). Esses canais são inibidos por altas concentrações de ATP, que interage com as subunidades Kir6, e são ativados quando a relação ADP/ATP aumenta, sendo que o ADP interage com as subunidades SUR (NICOHLS, 2006). Os canais K_{ATP} são expressos em neurônios sensoriais e têm papel importante no processamento nociceptivo. Em modelos de DN induzida por CCI, ocorre uma redução da expressão de canais K_{ATP}, o que pode contribuir para a sensibilização a estímulos nocivos e não nocivos (SARANTOPOULOS *et al.*, 2003). Zoga *et al.* (2010) também demonstraram que esses canais são regulados negativamente nos DRG e em células de Schwann após ligadura de nervos espinhais, contribuindo, dessa forma, para a sensibilização que ocorre em modelos de DN. A inibição dos canais K_{ATP} nos DRG leva à despolarização e, conseqüentemente, facilitação da neurotransmissão na via nociceptiva (KAWANO *et al.*, 2009).

Vários estudos demonstraram o papel da ativação de canais K_{ATP} na atividade antinociceptiva de diversos fármacos analgésicos como morfina (RODRIGUES & DUARTE; 2000), dipirona (ALVES & DUARTE; 2002) e fentanila (RODRIGUES *et al.*, 2005). Granados-Soto *et al.* (2004) também demonstraram que a ativação de canais K_{ATP} também contribui para a atividade antinociceptiva da riboflavina em um modelo experimental de dor inflamatória induzida por formaldeído. Foi demonstrado que a nicotinamida interage com esses receptores, especificamente com a subunidade SUR2A, que serve como uma subunidade reguladora dos canais K_{ATP} . Dessa forma, ocorre ativação dessa subunidade, com posterior abertura dos canais K_{ATP} , gerando efluxo de K^+ e hiperpolarização (SUKHODUB *et al.*, 2010; SUKHODUB *et al.*, 2011). As subunidades SUR2A são expressas nos DRG, desempenhando um papel importante na excitabilidade neuronal e processamento nociceptivo em condições dolorosas diversas (SUN & FENG, 2013; TSANTOULAS & MCMAHON, 2014).

A administração de paclitaxel aumentou as concentrações dos mediadores inflamatórios TNF- α e CXCL1 nos DRG e tálamo. Por outro lado, o tratamento com tiamina, nicotinamida ou riboflavina reduziu a concentração desses mediadores. Outros estudos demonstraram que o paclitaxel induz aumento das concentrações plasmáticas de diversas citocinas e quimiocinas inflamatórias, bem como o aumento da sua expressão nos DRG, o que contribui para o desenvolvimento e a manutenção da DN induzida por esse agente quimioterápico (WANG *et al.*, 2012; AL-MAZIDI *et al.*, 2018). A produção aumentada desses mediadores inflamatórios, como TNF- α e IL-1 β , provavelmente está associada à infiltração de macrófagos nos DRG (SCHOLZ & WOOLF, 2007; ZHANG *et al.* 2016). O tálamo é o principal local de projeção da via espinotalâmica e está envolvido no processamento da informação nociceptiva antes da transmissão para o córtex cerebral (AB AZIZ & AHMAD, 2006). O aumento das concentrações de citocinas, como TNF- α e IL-1 β , no tálamo também parece estar envolvido no desenvolvimento de diferentes condições dolorosas, incluindo DN (APKARIAN *et al.*, 2006; HESS *et al.*, 2011; DEL-REY *et al.*, 2013). Esse aumento pode estar relacionado com maior ativação de células microgliais no tálamo, o que contribui para hiperexcitabilidade neuronal (ZHAO *et al.*, 2007; BANATI *et al.*, 2001).

Tendo em vista que o paclitaxel acumula-se principalmente nos DRG (CAVALETTI *et al.*, 2000) e induz um aumento da expressão e da concentração de citocinas inflamatórias (WANG *et al.*, 2012) nessas estruturas, os resultados do presente estudo sugerem que os

DRG são importantes locais de ação das vitaminas do complexo B, principalmente na redução de mediadores inflamatórios como CXCL-1 e TNF- α . Embora outros estudos tenham demonstrado que ocorre um aumento da concentração de mediadores inflamatórios no tálamo induzido por lesões de nervos (APKARIAN *et al.*, 2006; ZHAO *et al.*, 2007; DEL-REY *et al.*, 2013), não há estudos que tenham demonstrado aumento semelhante após o tratamento com paclitaxel, bem como o acúmulo do quimioterápico nessa estrutura após administrações repetidas. No presente estudo, foi demonstrado um aumento das concentrações de CXCL-1 e TNF- α no tálamo e sua redução após tratamento com as vitaminas do complexo B. Assim, a inibição da produção de citocinas inflamatórias no tálamo pode representar um mecanismo importante que medeia a atividade antinociceptiva das vitaminas do complexo B avaliadas no presente estudo.

Menezes *et al.* (2017) demonstraram que o tratamento com riboflavina e tiamina reduz a produção das citocinas TNF- α e IL-6 em um modelo crônico de inflamação induzido por adjuvante completo de Freund (CFA). O pirofosfato de tiamina, metabólito ativo da tiamina, também inibe a produção de IL-1 β em um modelo de DN induzida por cisplatina (ONK *et al.*, 2018). Outros estudos demonstraram que a nicotinamida reduz a produção *in vitro* e *in vivo* de várias citocinas inflamatórias como IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α (PERO *et al.*, 1999; UNGERSTEDT *et al.* 2003). Dutra (2016) demonstrou que a nicotinamida reduz as concentrações de TNF- α no tecido da pata, no modelo de inflamação induzida pela injeção intraplantar de CFA, e IL-1 β e CXCL-1 no tecido periarticular, no modelo de inflamação induzida pela injeção intrarticular de cristais de urato (MSU). O mesmo estudo demonstrou que a nicotinamida também reduz o recrutamento de neutrófilos para a cavidade articular e para o tecido periarticular nos modelos de inflamação induzida por zimozano ou MSU, representando um mecanismo importante que pode contribuir para atividade antinociceptiva da vitamina nesses modelos.

O efeito inibitório induzido pela nicotinamida sobre a produção de TNF- α pode estar associado à redução da transcrição gênica do NF- κ B (PERO *et al.*, 1999). A via de sinalização do NF- κ B é importante para regulação da expressão de muitos genes, incluindo aqueles para citocinas inflamatórias como TNF- α e quimiocinas (SHIH *et al.*, 2015). O envolvimento do NF- κ B na indução da sensibilização em diversos modelos de dor, incluindo modelos de DN, é bem estabelecido (BETHEA *et al.*, 1998; MA & BISBY, 1998). Ocorre um aumento da ativação dessa via de sinalização nos DRG e na medula espinhal em associação à sensibilização observada em modelos de DN (MA & BISBY,

1998; POLLOCK *et al.*, 2005). Alguns fármacos, como a aspirina (YIN *et al.*, 1998) e os anti-inflamatórios esteroides (AUPHAN *et al.*, 1995; SCHEINMAN *et al.*, 1995), inibem a ativação do NF- κ B. Essa atividade, muito provavelmente, contribui para as atividades analgésica e anti-inflamatória desses fármacos e justifica o seu uso clínico no manejo de quadros dolorosos que envolvem inflamação.

As MAPKs são uma família de serina/treonina cinases que consiste em três membros principais: a cinase regulada por sinal extracelular (ERK, incluindo ERK1/2), a p38 e a c-Jun N terminal cinase (JNK) (JOHNSON & LAPADAT, 2002). ERK, p38 e JNK representam componentes de três diferentes cascatas de sinalização que transduzem vários estímulos extracelulares em diversas respostas intracelulares, sendo associadas ao desenvolvimento da hiperexcitabilidade neuronal de modelos nociceptivos, incluindo aqueles de DN (JI *et al.*, 2009). Essas proteínas regulam positivamente a síntese de diversos mediadores inflamatórios como TNF- α e também participam da ativação de células gliais no corno dorsal da medula espinhal, contribuindo para a sensibilização em modelos de dor (JI & SUTER, 2007; JI *et al.*, 2009). A riboflavina inibe a fosforilação da p38, reduzindo liberação de citocinas inflamatórias como IL-6 (COBIANCHI, *et al.* 2008). A benfotiamina, um análogo lipossolúvel da tiamina, inibe as vias de sinalização ERK1/2, JNK e NF- κ B, o que contribui para menor produção de TNF- α por células microgliais estimuladas por endotoxina (BOZIC *et al.*, 2015).

Outros estudos também indicaram possíveis mecanismos que podem contribuir para a atividade antinociceptiva das vitaminas do complexo B. Song *et al.* (2009) demonstraram que a tiamina reduz a hiperexcitabilidade neuronal induzida por compressão dos DRG por meio da diminuição das correntes de Na⁺, um efeito que pode contribuir para a atividade antinociceptiva dessa vitamina nesse modelo de dor. Kopruszinski *et al.* (2015), usando um modelo de DN induzida por constrição do nervo infraorbital, demonstraram que o tratamento com uma combinação de vitaminas do complexo B, incluindo a tiamina, reduz a hiperalgesia térmica, possivelmente por modulação dos receptores TRPV1. O pré-tratamento com N-nitro-L-arginina metil éster reduz a atividade antinociceptiva da riboflavina em modelo de dor induzida por formaldeído (GRANADOS-SOTO *et al.*; 2004), o que indica que essa vitamina possivelmente induz seus efeitos antinociceptivos por meio da liberação do óxido nítrico. A nicotinamida inibe a produção de PGE₂ e a migração de leucócitos em um modelo de pleurisia induzida por carragenina (CUZZOCREA *et al.*, 1999). Alguns estudos também têm demonstrado que alguns

derivados da nicotinamida podem induzir efeito nociceptivo por bloquearem canais para sódio voltagem-dependentes do tipo Nav 1.8 (KORT *et al.*, 2010) e receptores TRPV1 (WESTAWAY *et al.*, 2008).

Em conclusão, tiamina, nicotinamida e riboflavina exibem atividades antinociceptivas em modelo de DN induzida pelo paclitaxel. Essa atividade parece ser mediada pela ativação de canais K_{ATP} e vias opioidérgicas, no caso da tiamina e riboflavina. As vitaminas do complexo B avaliadas também reduzem a concentração de TNF- α e CXCL-1 nos DRG e tálamo, o que também pode contribuir para a atividade antinociceptiva. Os resultados do presente estudo indicam que tiamina, nicotinamida e riboflavina podem representar novas alternativas no manejo farmacológico da DN.

7. REFERÊNCIAS

- AB AZIZ, C.B. & AHMAD, A.H. The role of the thalamus in modulating pain. **Malaysian Journal of Medical Sciences**, v. 13, p. 11-18, 2006.
- ABBAS, Z.G. & SWAI, A.B. Evaluation of the efficacy of thiamine and pyridoxine in the treatment of symptomatic diabetic peripheral neuropathy. **East African Medical Journal**, v. 74, p. 803-808, 1997.
- ABDOU, E. & HAZELL, A. S. Thiamine deficiency: An update of pathophysiologic mechanisms and future therapeutic considerations. **Neurochemical Research**, v. 40, p. 353–361, 2014.
- AL-MAZIDI, S.; ALOTAIBI, M.; NEDJADI, T.; CHAUDHARY, A.; ALZOGHAIBI, M.; DJOUHRI, L. Blocking of cytokines signalling attenuates evoked and spontaneous neuropathic pain behaviours in the paclitaxel rat model of chemotherapy-induced neuropathy. **European Journal of Pain**, v. 22, p. 810-821, 2018.
- ALEMANNI, F.; GHISI, D.; WESTERMANN, B.; BETTONI, A.; FANELLI, A.; LA COLLA, L.; DANELLI, G.; CESANA, B.M. The use of vitamin B1 as a perineural adjuvant to middle interscalene block for postoperative analgesia after shoulder surgery. **Acta Biomedica**, v. 87, p. 22-27, 2016.
- ALESSANDRI-HABER, N.; DINA, O.A.; YEH, J.J.; PARADA, C.A.; REICHLING, D.B.; LEVINE, J.D. Transient receptor potential vanilloid 4 is essential in chemotherapy-induced neuropathic pain in the rat. **Journal of Neuroscience**, v. 24, p. 4444–4452, 2004.
- ALVES, D. & DUARTE, I. Involvement of ATP-sensitive K⁽⁺⁾ channels in the peripheral antinociceptive effect induced by dipyrrone. **European Journal of Pharmacology**, v. 444, p. 47-52, 2002.
- AMI, N.; OKAMOTO, K.; OSHIMA, H. Analgesic effect of magnetic stimulation on paclitaxel-induced peripheral neuropathic pain in mice. **Brain Research**, v. 1461 p. 24-29, 2012.
- APKARIAN, A.V.; LAVARELLO, S.; RANDOLF, A.; BERRA, H.H.; CHIALVO, D.R.; BESEDOVSKY, H.O.; DEL REY, A. Expression of IL- beta in supraspinal brain regions in rats with neuropathic pain. **Neuroscience Letters**, v. 407, p. 176—181, 2006.
- ASHBURN, T.T. & THOR, K.B. Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, p. 673–683, 2004.
- AUPHAN, N.; DIDONATO, J. A.; ROSETTE, C.; HELMBERG, A.; KARIN, M. Immunosuppression by glucocorticoids: inhibition of NF-kappa B activity through induction of I kappa B synthesis. **Science**, v. 270, p. 286–290, 1995.
- BANATI, R.B.; CAGININ, A.; BROOKS, D.J.; GUNN, R.N.; MYERS, R.; JONES, T.; BIRCH, R.; ANAND, P. Long-term trans-synaptic glial responses in the human thalamus after peripheral nerve injury. **NeuroReport**, v. 12, p. 3439–3442, 2001.

BAUSBAUM, A.I.; BAUTISTA, D.M.; SCHERRER, G.; JULIUS, D. Cellular and molecular mechanisms of pain. **Cell**, v. 139, p. 267 - 284, 2009.

BASTOS, L.F.S.; COELHO, M.M. Drug repositioning: Playing dirty to kill pain. **CNS Drugs**, v. 28, p. 46-61, 2013.

BETHEA, J.R.; CASTRO, M.; KEANE, R.W.; LEE, T.T.; DIETRICH, W.D.; YEZIERSKI, R.P. Traumatic spinal cord injury induces nuclear factor-kappaB activation. **Journal of Neuroscience**, v. 18, p. 3251– 3260, 1998.

BEHAR, R. Neuropathic pain: a narrative review of etiology, assessment, diagnosis, and treatment for primary care providers. **Current Medical Research and Opinion**, v. 33, p. 1361-1369, 2017.

BERTOLLO, C.M.; OLIVEIRA, A.C.; ROCHA, L.T.; COSTA, K. A.; NASCIMENTO JR, E. B.; COELHO, M. M. Characterization of the antinociceptive and antiinflammatory activities of riboflavin in different experimental models. **European Journal of Pharmacology**, v. 547, p. 184-191, 2006.

BOYETTE-DAVIS, J.A.; WALTERS, E.T.; DOUGHERTY, P.M. Mechanisms involved in the development of chemotherapy-induced neuropathy. **Pain Management**, v. 5, p. 285-296, 2015.

BOZIC, I.; SAVIC, D.; LAKETA D.; BJELOBABA I.; MILDNKOVIC I.; PEKOVIC S.; NEDELIKOVIC N.; LAVRNIA I. Benfotiamine attenuates inflammatory response in LPS stimulated BV-2 microglia. **PLoS One**, v. 10, p. 1-23, 2015.

BREWER, K.L.; HARDIN, J.S. Neuroprotective effects of nicotinamide after experimental spinal cord injury. **Academic Emergency Medicine**, v.11, p.125-130, 2004.

CARAM-SALAS, N.L.; REYES-GARCIA, G.; MEDINA-SANTILLÁN, R.; GRANADOS-SOTO, V. Thiamine and cyanocobalamin relieve neuropathic pain in rats: Synergy with dexamethasone. **Pharmacology**, v. 77, p. 53–62, 2006.

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.

CATA, J.P.; WENG, H.R.; CHEN, J.H.; DOUGHERTY, P.M. Altered discharges of spinal wide dynamic range neurons and down-regulation of glutamate transporter expression in rats with paclitaxel-induced hyperalgesia. **Neuroscience**, v. 138, p.329-338, 2006.

CAVALETTI, G.; CAVALLETTI, E.; OGGIONI, N.; SOTTANI, C.; MINOIA, C.; D'INCALCI, M.; ZUCCHETTI M.; MARMIROLI, P.; TREDICI, G. Distribution of paclitaxel within the nervous system of the rat after repeated intravenous administration. **Neurotoxicology**, v. 21, p. 389-93, 2000.

CHAHINE, M. & O'LEARY, M.E. Regulation/modulation of sensory neuron sodium channels. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v. 221, p. 111-135, 2014.

CHEN, Y.; CHEN, L.; YEH, Y. WU, P.; CHEN, Y.; CHANG, L.; CHANG, J.; SHEN, M. Minoxidil is a potential neuroprotective drug for paclitaxel induced peripheral neuropathy. **Scientific Reports**, v.7, p.1-13, 2017.

COBIANCHI L.; FORNONI, A.; PILEGGI, A.; MOLANO, R.D.; SANABRIA, N.Y.; GONZALEZ-QUINTANA J.; BOCCA, N.; MARZORATI, S.; ZAHR, E.; HOGAN, A.R.; RICORDI, C; INVERARDI, L. Riboflavin inhibits IL-6 expression and p38 activation in islet cells. **Cell Transplantation**, v. 17, p. 559-566, 2008.

COBOS, E.J.; GHASEMLOU, N.; ARALDI, D.; SEGAL, D.; DUONG, K.; WOOLF, C.J. Inflammation-induced decrease in voluntary wheel running in mice: A nonreflexive test for evaluating inflammatory pain and analgesia. **Pain**, v. 153, p. 876-884, 2012.

COLLIE, J.T.B.; GREAVES,R.F.; JONES, O.A.H.; LAM,Q.; EASTWOOD,G.M.; BELLOMO,R. Vitamin B1 in critically ill patients: needs and challenges. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, p. 1-17, 2017.

COLLOCA, L.; LUDMAN, T.; BOUHASSIRA, D.; BARON, R.; DICKENSON, A.H.; YARNITSKY, D.; FREEMAN, R. TRUINI, A.; ATTAL, N.; FINNERUP, N. B.; ECCLESTON, C.; KALSO, E.; BENNETT, D.L.; DWORKIN, R.H.; RAJA, S.N. Neuropathic pain. **Nature Reviews Disease Primers**, v.3, p.1-19, 2017.

COSTIGAN, M.; SCHOLZ, J.; WOOLF, C.J. Neuropathic pain: A maladaptive response of the nervous system to damage. **Annual Reviews of Neuroscience**, v. 32, p. 1-32, 2009.

CUZZOCREA, S.; SAUTEBIN, L.; COSTANTINO, G.; ROMBOLA, L.; MAZZON, E.; CAPUTI, A.P. Regulation of prostaglandin production by inhibition of poly (ADP-ribose) synthase in carrageenan-induced pleurisy. **Life Sciences**, v. 65, p.1297-1304, 1999.

DEL-REY, A.; APKARIAN, A.V.; MARTINA, M.; BESEDOVSKY, H.O. Chronic neuropathic pain-like behavior and brain-borne IL-1 β . **Annals of New York Academy of Sciences**, v. 1262, p. 101-107, 2012.

DEMANT, D. T.; LUND, K.; FINNERUP, N.B.; VOLLERT, J.; MAIER, C.; SEGERDAHL, M.S.; JENSEN, T.S.; SINDRUP, S.H. Pain relief with lidocaine 5% patch in localized peripheral neuropathic pain in relation to pain phenotype: a randomised, double-blind, and placebo-controlled, phenotype panel study. **Pain**, v. 156, p. 2234–2244, 2015.

DOUGHERTY, P.M.; CATA, J.P.; CORDELLA, J.V.; BURTON, A.; WENG, H.R. Taxol-induced sensory disturbance is characterized by preferential impairment of myelinated fiber function in cancer patients. **Pain**, v. 109, p. 132-142, 2004.

DURAND, J. P.; DEPLANQUE, G.; MONTHEIL, V.; GORMET, J.M.; SCOTTE, F.; MIR, O.; CESSOT, A.; CORIAT, R.; RAYMOND, E.; MITRY, E.; HERAIT, P.; YATAQHENE, Y.; GOLDWASSER, F. Efficacy of venlafaxine for the prevention and relief of oxaliplatin-induced acute neurotoxicity: results of EFFOX, a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III trial. **Annals of Oncology**, v. 23, p. 200–205, 2012.

DUTRA, M.M.G.B. Atividades da nicotinamida, do ácido nicotínico e do nicorandil em modelos experimentais de inflamação articular: uma avaliação visando ao reposicionamento de fármacos. 2016. 128f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016.

EGASHIRA, N.; HIRAKAWA, S.; KAWASHIRI, T.; YANO, T.; IKESUE, H.; OISHI, R. Mexiletine reverses oxaliplatin-induced neuropathic pain in rats. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 112, p. 473-476, 2010.

FORNASARI, D. Pharmacotherapy for neuropathic pain: A review. **Pain Therapy**, v.6, p.25-33, 2017.

GARCIA-LARREA, L. The pathophysiology of neuropathic pain: Critical review of models and mechanisms. **Pain**, v. 43, p. 453-475, 2014.

GILRON, I.; BARON, R.; JENSEN, T. Neuropathic pain: Principles of diagnosis and treatment. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 90, p. 532-545, 2015.

GODIN, A. M.; FERREIRA, W. C.; SENIUK, J. G.; PAIVA, A. L.; MERLO, L. A.; NASCIMENTO JUNIOR, E. B.; BASTOS, L. F.; COELHO, M. M. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of nicotinamide and its isomers in different experimental models. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 99, p. 782-788, 2011.

GOLD, M.S & GEBHART, G.F. Nociceptor sensitization in pain pathogenesis. **Nature Medicine**, v. 16, p. 1248-1257, 2010.

GORDON, C. J. Thermal biology of the laboratory rat. **Physiology & Behaviour**, v. 47, p. 963-991, 1990.

GRANADOS-SOTO, V.; TERÁN-ROSALES, F.; ROCHA-GONZÁLEZ, H. I.; REYESGARCÍA, G.; MEDINA-SANTILLÁN, R.; RODRÍGUEZ-SILVERIO, J.; FLORES MURRIETA, F. J. Riboflavin reduces hyperalgesia and inflammation but not tactile allodynia in the rat. **European Journal of Pharmacology**, v. 492, p. 35-40, 2004.

HAMMACK, J. E.; MICHALACK, J.C.; LOPRINZI C.L.; SLOAN J.A.; NOVOTNY P.J.; SOORI, G.S.; TIRONA, M.T.; ROWLAND, K.M.; STELLA, P.J.; JOHNSON, J.A. Phase III evaluation of nortriptyline for alleviation of symptoms of cisplatin-induced peripheral neuropathy. **Pain**, v. 98, p. 195-203, 2002.

HARA, T.; CHIBA, T.; ABE, K.; MAKABE, A.; IKENO, S.; KAWAKAMI, K.; UTSUNOMIVA, I.; HAMA, T.; TAQUCHI, K. Effect of paclitaxel on transient receptor potential vanilloid 1 in rat dorsal root ganglion. **Pain**, v. 154, p. 882-889, 2013.

HEHN, C.A.; BARON, R.; WOOLF, C.J. Deconstructing the neuropathic pain phenotype to reveal neural mechanisms. **Neuron**, v. 73, p. 638-652, 2012.

HERSHMAN, D. L. , LACCHETTI, C.; DWORKIN, R.H.; LAVOIE, E.M.; BLEEKER, J.; CAVALETTI, G.; CHAUHAN, C.; GAVIN, P.; LAVINO, A.; LUSTBERG, M.B.; PAICE, J.; SCHNEIDER, B.; SMITH, M.L.; SMITH, T.; TERSTRIEP, S.; WAGNER-JOHNSTON, N.; BAK, K.; LOPRINZI, C.L. Prevention and management of chemotherapy-induced peripheral neuropathy in survivors of adult cancers: American

Society of Clinical Oncology clinical practice guideline. **Journal of Clinical Oncology**, v. 32, p. 1941-1967, 2014.

HESS, A.; AXMANN, R.; RECH, J.; FINZEL, S.; HEINDL, C.; KREITZ, S.; SERGEEVA, M.; SAAKE, M.; GARCIA, M.; KOLLIAS, G.; STRAUB, R.H.; SPORNS, O.; DOERFLER, A. BRUNE, K.; SCHETT, G. Blockade of TNF α rapidly inhibits pain responses in the central nervous system. **Proceedings of the National Academy of Sciences of USA**, v. 108, p. 3731-3736, 2011.

International Association for the Study of Pain – IASP. Disponível em: <<http://www.iasp-pain.org/Taxonomy>>. Acesso em 27 de novembro de 2018.

Jl, R.R.; GEREAU, R.W.; MALCANGIO, M.; STRIACHARTZ, G.R. MAP kinase and pain. **Brain Research**, v.60, p.135-148, 2009.

Jl, R.R. & SUTER, M.R. p38 MAPK, microglial signaling, and neuropathic pain. **Molecular Pain**, v. 33, p. 1-9, 2007.

JOHNSON, G.L. & LAPADAT, R. Mitogen-activated protein kinase pathways mediated by ERK, JNK, and p38 protein kinases. **Science**, v. 298, p. 1911-1912, 2002.

JULIUS, D. TRP channels and pain. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 29, p. 355-384, 2013.

KAMEI, J.; NOZAKI, C.; SAITOH, A. Effect of mexiletine on vincristine-induced painful neuropathy in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 536, p. 123-127, 2006.

KAUTIO, A. L.; HAANPÄÄ, M.; LEMINEN, A.; KALSO, E.; KAUTIAINEN, H.; SAARTO, T. Amitriptyline in the prevention of chemotherapy-induced neuropathic symptoms. **Anticancer Research**, v. 29, p. 2601-2606, 2009.

KAWANO, T.; ZOGA, V.; GEMES, G.; MCCALLUM, J.B.; WU, H.E.; PRAVDIC, D. Suppressed Ca^{2+} /CaM/CaMKII-dependent KATP channel activity in primary afferent neurons mediates hyperalgesia after axotomy. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 106, p. 8725–8730, 2009.

KENNEDY, D.O. B Vitamins and the brain: mechanisms, dose and efficacy: A review. **Nutrients**, v. 68, p. 1-29, 2016.

KHASABOV, S.G.; ROGERS, S.D.; GHILARDI, J.R.; PETERS, C.M.; MANTYH, P.W.; SIMONE, D.A. Spinal neurons that possess the substance P receptor are required for the development of central sensitization. **Journal of Neuroscience**, v. 22, p. 9086-9098, 2002.

KNIP, M.; DOUEK, I. F.; MOORE, W. P. T.; GILLMOR, H. A.; MCLEAN, A. E. M.; BINGLEY, P. J.; GALEL, E. A. M. Safety of high-dose nicotinamide: a review. **Diabetologia**, v. 43, p. 1337-1345, 2000.

KO, M.; HU, M.; HSIEH, Y.; LAN, C.; TSENG, T. Peptidergic intraepidermal nerve fibers in the skin contribute to the neuropathic pain in paclitaxel-induced peripheral neuropathy. **Neuropeptides**, v. 48, p. 109-117, 2014.

KOPRUSZINSKI, C.M.; REIS, R.C.; BRESSAN, E.; REEH, P.W.; CHICHORRO, J.G. Vitamin B complex attenuated heat hyperalgesia following infraorbital nerve constriction in rats and reduced capsaicin in vivo and in vitro effects. **European Journal of Pharmacology**, v. 762, p. 326-332, 2015.

KOPRUSZINSKI, C.M.; REIS, R.C.; CHICHORRO, J.G. B vitamins relieve neuropathic pain behaviors induced by infraorbital nerve constriction in rats. **Life Sciences**, v. 91, p.1187-1195, 2012.

KORT, M.E.; ATKINSON, R.N.; THOMAS, J.B.; DRIZIN, I.; JOHNSON, M.S.; SECREST, M.A. Subtype selective Na(v)1.8 sodium channel blockers: identification of potent, orally active nicotinamide derivatives. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 20, p. 6812-6815, 2010.

LAKHAN, S. E.; VELASCO, D. N.; TEPPER, D. Botulinum toxin-A for painful diabetic neuropathy: a meta-analysis. **Pain Medicine**, v. 16, 1773-1780, 2015.

LIM, J.; LIM, G.; SUNG, B.; WANG, S.; MAO, J. Intrathecal midazolam regulates spinal AMPA receptor expression and function after nerve injury in rats. **Brain Research**, v. 1123, p. 80-88, 2006.

LIN, S.H.; CHONG, Z. Z.; MAIESE, K. Nicotinamide: A nutritional supplement that provides protection against neuronal and vascular injury. **Journal of Medicinal Food**, v. 4, p. 27-38, 2001.

LIU, S.H.M.; XIA, L. J. The influence of thiamin on the efficacy of pregabalin in rats with spinal nerve ligation (SNL)-induced neuropathic pain. **Neurological Research**, v. 38, p. 717-724, 2016.

LOESER, J.D. & MELZACK, R. Pain: an overview. **Lancet**, v. 353, p. 1607-1609, 1999.

LOESER, J.D. & TREEDE, R.D. The Kyoto protocol of IASP basic pain terminology. **Pain**, v. 137, p. 473-477, 2008.

LUCA, A.; ALEXA, T.; DONDAS, A.; CRACANA, I.M., BADESCU, M.; BOHOTIN, C. The effects of riboflavin and methylene blue on nociception and visceral pain. **Revista Medico-Chirurgicala a Societatii de Medici si Naturalisti din Iasi**, v. 119, p. 466-472, 2015.

LUO, Z.D.; CHAPLAN, S.R.; HIGUERA, E.S.; SORKIN, L.S.; STAUDERMAN, K.A.; WILLIAMS, M.E.; YAKSH, T.L. Upregulation of dorsal root ganglion $\alpha 2\delta$ calcium channel subunit and its correlation with allodynia in spinal nerve injured rats. **Journal of Neuroscience**, v. 21, p. 1868–1875, 2001.

MA, W. & BISBY, M.A. Increased activation of nuclear factor kappa B in rat lumbar dorsal root ganglion neurons following partial sciatic nerve injuries. **Brain Research**, v. 797, p. 243-254, 1998.

MAHMOUD, Y.I. & MAHMOUD, A.A. Role of nicotinamide (vitamin B3) in acetaminophen induced changes in rat liver: Nicotinamide effect in acetaminophen-damaged liver. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 68, p. 345-354, 2016.

- MAIESE, K. & CHONG, Z. Z. Nicotinamide: necessary nutrient emerges as a novel cytoprotectant for the brain. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 24, p. 228–232, 2003.
- MANNING, T.; PLUMMER, S.; WOODS, R.; WYLIE, G.; PHILLIPS, D.; KRAJEWSKI, L. Cell line studies and analytical measurements of three paclitaxel complex variations. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, p. 2793-2799, 2017.
- MANZETTI, S.; ZHANG, J.; VAN DER SPOEL, D. Thiamin function, metabolism, uptake, and transport. **Biochemistry**, v. 53, p. 821-835, 2014.
- MARUPUDI, N.I.; HAN, J.E.; LI, K.W.; RENARD, V.M.; TYLER, B.M.; BREM, H. Paclitaxel: a review of adverse toxicities and novel delivery strategies. **Expert Opinion on Drug Safety**, v. 6, p. 609-621, 2007.
- MATERAZZI, S.; FUSI, C.; BENEMEI, S.; PEDRETTI, P.; PATACCHINI, R.; NILIUS, B.; PRENEN J.; CREMINON, C.; GEPPETTI, P.; NASSINI, R. TRPA1 and TRPV4 mediate paclitaxel-induced peripheral neuropathy in mice via a glutathione-sensitive mechanism. **European Journal of Physiology**, v. 463, p. 561-569, 2012.
- MCCARBERG, B.; D'ARCY, Y.; PARSONS, B.; SADOSKY, A.; THORPE, A. Neuropathic pain: a narrative review of etiology, assessment, diagnosis, and treatment for primary care providers. **Current Medical Research Opinion**, v. 33, p. 1361-1369, 2017.
- MEACHAM, K.; SHEPHERD, A.; MOHAPATRA, D.P.; HAROUTOUNIAN, S. Neuropathic pain: central vs. peripheral mechanisms. **Current Pain Headache Reports**, v. 6, p. 21-28, 2017.
- MEDINA-SANTILLÁN, R.; MORALES-FRANCO, G.; ESPINOZA-RAVA, J.; GRANADOS-SOTO, V.; REYES-GARCIA, G. Treatment of diabetic neuropathic pain with gabapentin alone or combined with vitamin B complex. Preliminary results. **Proceedings of the Western Pharmacology Society**, v. 47, p. 109-112, 2004.
- MENEZES, R.; GODIN, A.M.; RODRIGUES, F.F.; COURA, G.M.E.; MELO, I.S.F.; BRITO, A.M.S.; BERTOLLO, C.M.; PAULINO, T.P.; RACHID, M.A.; MACHADO, R.R.; COELHO, M.M. Thiamine and riboflavin inhibit production of cytokines and increase the anti-inflammatory activity of a corticosteroid in a chronic model of inflammation induced by complete Freund's adjuvant. **Pharmacological Reports**, v. 69, p. 1036-1043, 2017.
- MICKLE, A.D.; SHEPHERD, A.J.; MOHAPATRA, D.P. Nociceptive TRP channels: sensory detectors and transducers in multiple pain pathologies. **Pharmaceuticals**, v. 9, p. 1-26, 2016.
- MILLAN, M.J. Descending control of pain. **Progress in Neurobiology**, v. 66, p. 355-474, 2002.
- MOALLEM, S. A.; HOSSEINZADEH, H.; FARAHI, S. A study of acute and chronic anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of thiamine in mice. **Iranian Biomedical Journal**, v. 12, p. 173-178, 2008.

- MORAIS, M.I.; RODRIGUES, F.F.; COSTA, S.O.A.M.; GOULART, F.A., COSTA, F.C., MELO, I.S.F.; AUGUSTO, P.S.A.; DUTRA, M.M.G.B.; DE FÁTIMA, Â.; COELHO, M.M.; MACHADO, R.R. Nicorandil inhibits mechanical allodynia induced by paclitaxel by activating opioidergic and serotonergic mechanisms. **European Journal of Pharmacology**, v. 824, p. 108-114, 2018.
- MOU, J.; PAILLARD, F.; TURNBULL, B.; TRUDEAU, J.; STOKER, M.; KATZ, N.P. Efficacy of Qutenza® (capsaicin) 8% patch for neuropathic pain: a meta-analysis of the Qutenza Clinical Trials Database. **Pain**, v. 154, p. 1632-1639, 2013.
- NAGAKURA, Y. Challenges in drug discovery for overcoming ‘dysfunctional pain’: an emerging category of chronic pain. **Drug Discovery**, v. 10, p. 1043-1045, 2015.
- NICKEL, F.T.; SEIFERT, F.; LANZ, S.; MAIHÖFNER, C. Mechanisms of neuropathic pain. **European Neuropsychopharmacology**, v. 22, p. 81-91, 2012.
- NICOHLS, C.G. K_{ATP} channels as molecular sensors of cellular metabolism. **Nature**, v. 440, p. 470-476, 2006.
- ONK, D.; MAMMADOV, R.; SULEYMAN, B.; CIMEN, F.K.; CANKAYA, M. GUL, V.; ALTUNER, D.; SENOL, O.; KADIOGLU, Y.; MALKOC, I.; SULEYMAN, H. The effect of thiamine and its metabolites on peripheral neuropathic pain induced by cisplatin in rats. **Experimental Animals**, v. 67, p. 259-269, 2018.
- OMS. **Organização Mundial da Saúde**. WHO guidelines on the pharmacological treatment of persisting pain in children with medical illnesses. 172 p. 2012.
- PACHMAN, D.R.; BARTON, D.L.; WATSON, J. C., & Loprinzi, C. L. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: prevention and treatment. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 90, p. 377–387, 2011.
- PARK, S. B.; GOLDSTEIN, D.; KRISHNAN, A.V.; LIN, C.S.; FRIEDLANDER, M.L.; CASSIDY, J.; KOLTZENBURG, M.; KIERNAN, M.C. Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity: a critical analysis. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 63, p. 419-437, 2013.
- PERO, R.W.; AXELSSON, B.; SIEMANN, D.; CHAPLIN, D.; DOUGHERTY, G. Newly discovered anti-inflammatory properties of the benzamides and nicotinamides. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 193, p. 119-125, 1999.
- PESSOA, B.L.; ESCUDEIRO, G.; NASCIMENTO, O.J.M. Emerging treatments for neuropathic pain. **Current Pain Headache Reports**, v. 56, p. 1-9, 2015.
- POLLOCK, G.; PENNYPACKER, K. R.; MEMET, S.; ISRAEL, A.; SAPORTA, S. Activation of NF-kappaB in the mouse spinal cord following sciatic nerve transection. **Experimental Brain Research**, v. 165, p. 470–477, 2005.
- POLOMANO, R.C.; MANNES, A.J.; CLARK, U.S.; BENNETT, G.J. A painful peripheral neuropathy in the rat produced by the chemotherapeutic drug, paclitaxel. **Pain**, v. 94, p. 293-304, 2001.

POSSO, I.P.; PALMEIRA, C.C.A.; VIEIRA, E.B.M. Epidemiologia da dor neuropática. **Revista Dor**, v. 17, p. 11-14, 2016.

POWERS, H. J. Riboflavin (vitamin B-2) and health. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 77, 1352-1360, 2003.

RAO, R. D.; MICHALAK, J.C.; SLOAN, J.A.; LOPRINZI, C.L.; SOORI, G.S.; NIKCEVICH, D.A.; WARNER, D.O.; NOVOTNY, P.; KUTTEH, L.A; WONG, G.Y. Efficacy of gabapentin in the management of chemotherapy-induced peripheral neuropathy: a phase 3 randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover trial (N00C3). **Cancer**, v. 110, p. 2110-2118, 2007.

REN, K. & DUBNER, R. Interactions between the immune and nervous systems in pain. **Nature Medicine**, v. 16, p. 1267-1276, 2010.

REYES-GARCÍA, G.; MEDINA-SANTILLÁN, R.; TERÁN-ROSALES, F.; CASTILLO-HENKEL, C.; RODRÍGUEZ-SILVERIO, J.; TORRES-LÓPEZ, J.E.; OCHOA-CETINA, L.; MEDINA-TATO, D.A.; GRANADOS-SOTO, V. Analgesic effect of B vitamins in formalin-induced inflammatory pain. **Proceeding of the Western Pharmacology Society**, v. 44, p. 139-140, 2001.

REYES-GIBBY, C.C.; MORROW, P.K.; BUZDAR, A.; SHETE, S. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy as a predictor of neuropathic pain in breast cancer patients previously treated with paclitaxel. **Pain**, v. 10, p. 1146-1150, 2009.

ROCHA, A.P.C.; KRAYCHETE, D.C.; LEMONICA, L.; CARVALHO, L.R.; BARROS, G.A.M.; GARCIA, J.B.S.; SAKATA, R.K. Dor: aspectos atuais da sensibilização periférica e central. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 57, p. 94 - 105, 2007.

RODRIGUES, A.R.; CASTRO, M.S.; FRANCISCHI, J.N.; PEREZ, A.C.; DUARTE, I.D. Participation of ATP-sensitive K⁺ channels in the peripheral antinociceptive effect of fentanyl in rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, p. 91-97, 2005.

RODRIGUES, A.R.; DUARTE, I.D. The peripheral antinociceptive effect induced by morphine is associated with ATP-sensitive K⁽⁺⁾ channels. **British Journal of Pharmacology**, v. 129, p. 110-114, 2000.

SAIF, M.W.; SYRIGOS, K.; KALEY, K.; ISUFI, I. Role of pregabalin in treatment of oxaliplatin-induced sensory neuropathy. **Anticancer Research**, v. 30, p. 2927-2933, 2010.

SAMAD, T.A.; MOORE, K.A.; SAPIRSTEIN, A.; BILLET, S.; ALLCHORNE, A.; POOLE, S.; BONVENTRE, J.V.; WOOLF, C.J. Interleukin-1beta-mediated induction of Cox-2 in the CNS contributes to inflammatory pain hypersensitivity. **Nature**, v. 410, p. 471-475, 2001.

SARANTOPOULOS, C.; MCCALLUM, B.; SAPUNAR, D. ATP-sensitive potassium channels in rat primary afferent neurons: The effect of neuropathic injury and gabapentin. **Neuroscience Letters**, v. 343, p. 185-189, 2003.

- SCHEINMAN, R.I.; COGSWELL, P.C.; LOFQUIST, A.K.; BALDWIN, A.S. Role of transcriptional activation of I kappa B alpha in mediation of immunosuppression by glucocorticoids. **Science**, v. 270, p. 283-286, 1995.
- SCHOENEN, J.; JACQUY, J.; LENAERTS, M. Effectiveness of high-dose riboflavin in migraine prophylaxis. A randomized controlled trial. **Neurology**, v. 50, p. 466-470, 1998.
- SCHOENEN, J.; LENAERTS, M.; BASTINGS, E. High-dose riboflavin as a prophylactic treatment of migraine: results of an open pilot study. **Cephalalgia**, v. 14, p. 328-329, 1994.
- SCHOLZ, J. & WOOLF, C.J. Can we conquer pain? **Nature Neuroscience**, v. 5, p. 1062-1067, 2002.
- SCHOLZ, J.; WOOLF, C.J. The neuropathic pain triad: neurons, immune cells and glia. **Nature Neuroscience**, v. 10, 1361-1368, 2007.
- SHACKLETON, T.; RAM, S.; BLACK, M.; RYDER, J.; CLARK, G.T.; ENCISO, R. The efficacy of botulinum toxin for the treatment of trigeminal and postherpetic neuralgia: a systematic review with meta-analyses. **Oral Medicine**, v. 122, p. 61-71, 2016.
- SHIH, R.H.; WANG, C.Y.; YANG, C.M. NF-kappaB signaling pathways in neurological inflammation: A mini review. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 18, p. 8-77, 2015.
- SISIGNANO, M.; BARON, R.; SCHOLICH, K.; GEISLINGER, G. Mechanism-based treatment for chemotherapy-induced peripheral neuropathic pain. **Nature Reviews Neurology**, v. 10, p. 694-707, 2014.
- SMITH, E. M.; PANG, H.; CIRINCIONE, C.; FLEISHMAN, S.; PASKETT, E.D.; AHLES, T.; BRESSLER, L.R.; FADUL, C.E.; KNOX, C.; LE-LINDGWISTER, N.; GILMAN, P.B.; SHAPIRO, C.L. Effect of duloxetine on pain, function, and quality of life among patients with chemotherapy-induced painful peripheral neuropathy: a randomized clinical trial. **Journal of the American Medical Association**, v. 309, p. 1359-1367, 2013.
- SOMMER, C. Serotonin in pain and pain control. **Handbook of Behavioral Neuroscience**, v. 21, p. 457-471, 2010.
- SONG, X. S.; HUANG, Z. J.; SONG, X. J. Thiamine suppresses thermal hyperalgesia, inhibits hyperexcitability, and lessens alterations of sodium currents in injured, dorsal root ganglion neurons in rats. **Anesthesiology**, v. 110, p. 387-400, 2009.
- SPECIALI, J.G.; FLEMING, N.R.P.; FORTINI, I. Cefaleias primárias: dores disfuncionais. **Revista Dor**, v. 17, p. 72-74, 2016.
- SRIRAM, K.; MANZANARES, W.; JOSEPH, K. Thiamine in nutrition therapy. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 27, p. 41-50, 2012.
- STRACKE, H.; LINDEMANN, A.; FEDERLIN, K. A benfotiamine-vitamin B combination in treatment of diabetic polyneuropathy. **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes**, v. 104, p. 311-316, 1996.

- SUKHODUB, A.; DU, Q.; JOVANOCIC, S.; JOVANOVIC, A. Nicotinamide-rich diet protects the heart against ischaemia–reperfusion in mice: A crucial role for cardiac SUR2A. **Pharmacological Research**, v. 61, p. 564-570, 2010.
- SUKHODUB, A.; SUDHIR, R.; DU, Q.; JOVANOCIC, S.; JOVANOVIC, A. Nicotinamide-rich diet improves physical endurance by up-regulating SUR2A in the heart. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 15, p. 1703-1712, 2011.
- SUN, H. & FENG, Z. Neuroprotective role of ATP-sensitive potassium channels in cerebral ischemia. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 34, p. 24-32, 2013.
- SUTER, M.R.; WEN, Y.R.; DECOSTERD, I.; JI, R.R. Do glial cells control pain? **Neuron Glia Biology**, v. 3, p. 255-268, 2007.
- TEIXEIRA, J.T.; ALMEIDA, D.B.; YENG, L.T. Conceito de dor neuropática aguda. O papel do nervi nervorum na distinção entre dores agudas nociceptiva e neuropática. **Revista Dor**, v. 17, p. 5-10, 2016.
- THAKUR, K.; TOMAR, S. K.; SINGH, A. K.; MANDAL, S.; ARORA, S. Riboflavin and health: A review of recent human research. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, p. 3650–3660, 2016.
- TOMIYAMA, M.; FURUSAWA, K.; KAMIJO, M.; KIMURA, T.; MATSUNAGA, M.; BABA, M. Upregulation of mRNAs coding for AMPA and NMDA receptor subunits and metabotropic glutamate receptors in the dorsal horn of the spinal cord in a rat model of diabetes mellitus. **Molecular Brain Research**, v. 136, p. 275–281, 2005.
- TREEDE, R.; RIEF, W.; BARKE, A.; AZIZ, Q.; BENETT, M.; BENOLIEL, R.; COHEN, M.; EVERS, S.; FINNERUP, N.; FIRST, M.; GIAMBERARDINO, M. A.; KAASA, S.; KOSEK, E.; LAVAND’HOMME, P.; NICHOLAS, M.; PERROT, S.; SCHOLZ, J.; SCHUG, S.; SMITH, B.H.; SVENSSON, P.; VLAEYEN, J.W.S.; WANG, S. A classification of chronic pain for ICD-11. **Pain**, v. 156, p. 1003-1007, 2015.
- TSANTOULAS, C. & MCMAHON, S.B. Opening paths to novel analgesics: the role of potassium channels in chronic pain. **Trends in Neurosciences**, v. 37, p. 146-158, 2014.
- UDHAYABANU, T.; MANOLE, A.; RAJESHWARI, M.; VARALAKSHMI, P.; HOULDEN, H.; ASHOKKUMAR, B. Riboflavin responsive mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases. **Journal of Clinical Medicine**, v. 52, p. 1-13, 2017.
- UNGERSTEDT, J.S.; BLOMBACK, M.; SODERTROM, T. Nicotinamide is a potent inhibitor of proinflammatory cytokines. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 131, p. 48-52, 2003.
- VAN HECKE, O.; AUSTIN, S.K.; KHAN, R.A.; SMITH, B.H. Torrance N. Neuropathic pain in the general population: a systematic review of epidemiological studies. **Pain**, v. 155, p. 654-662, 2014.
- VARDEH, D.; MANNION, R.J.; WOOLF, C.J. Toward a mechanism-based approach to pain diagnosis. **Pain**, v. 17, p. 50-69, 2016.
- VASCONCELOS, F.H. & ARAÚJO, G.C. Prevalência de dor crônica no Brasil: estudo descritivo. **Brazilian Journal of Pain**, v. 2, p. 176-179, 2018.

- VAZ, Z.R.; FILHO, V.C.; YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. Antinociceptive action of 2-(4-bromobenzoyl)-3-methyl-4,6-dimethoxy benzofuran, a novel xanthoxyline derivative on chemical and thermal models of nociception in mice. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 278, p. 304 - 312, 1996.
- WANG, X.M.; LEHKY, T.J.; BRELL, J.M.; DORSEY, S.G. Discovering cytokines as targets for chemotherapy-induced painful peripheral neuropathy. **Cytokine**, v. 59, p. 3-9, 2012.
- WANI, M. C.; TAYLOR, H.L.; WALL, M.E.; COGGON, P.; MCPHAIL, A.T. Plant antitumor agents. VI. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. **Journal of the American Chemical Society**, v. 93, p. 2325–2327, 1971.
- WESTAWAY, S.M.; THOMPSON, M.; RAMI, H.K.; STEMP, G.; TROUW, L.S.; MITCHELL, D.J. Design and synthesis of 6-phenylnicotinamide derivatives as antagonists of TRPV1. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 18, p. 5609–5613, 2008.
- WOLF, S.; BARTON, D.; KOTTSCHADE, L.; GROTHEY, A.; LOPRINZI, C. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: prevention and treatment strategies. **European Journal of Cancer**, v. 44, p. 1507–1515, 2008.
- WOOLF, C.J. Pain: moving from symptom control toward mechanism-specific pharmacologic treatment. **Annals of Internal Medicine**, v. 140, p. 441 - 451, 2004.
- XIA, H.; ZHANG, D.; YANG, S.; WANG, Y.; XU, L.; WU, J.; REN, J.; YAO, W.; FAN, L.; ZHANG, C.; TIAN, Y.; PAN, H.L.; WANG, X. Role of ATP-sensitive potassium channels in modulating nociception in rat model of bone cancer pain. **Brain Research**, v. 1554, p. 29-35, 2014.
- XIAO, W.; BOROUJERDI, A.; BENNETT, G.J.; LUO, Z.D. Chemotherapy-evoked painful peripheral neuropathy: analgesic effects of gabapentin and effects on expression of the alpha-2-delta type-1 calcium channel subunit. **Neuroscience**, v. 144, p. 714–720, 2007.
- YIN, M. J.; YAMAMOTO, Y.; GAYNOR, R. B. The anti-inflammatory agents aspirin and salicylate inhibit the activity of I (kappa) B kinase-beta. **Nature**, v. 396, p. 77–80, 1998.
- YU, C.; LIU, Y.; LIU, S.; YAN, M.; HU, S.; SONG, X. Systematic administration of B vitamins attenuates neuropathic hyperalgesia and reduces spinal neuron injury following temporary spinal cord ischaemia in rats. **European Journal of Pain**, v. 18, p. 76-85, 2014.
- ZHAO, P.; WAXMAN, S.G.; HAINS, B.C. Modulation of thalamic nociceptive processing after spinal cord injury through remote activation of thalamic microglia by cysteine cysteine chemokine ligand 21. **Journal of Neuroscience**, v.27, 8893-8902, 2007.
- ZHANG, H. & DOUGHERTY, P.M. Enhanced excitability of primary sensory neurons and altered gene expression of neuronal ion channels in dorsal root ganglion in paclitaxel-induced peripheral neuropathy. **Anesthesiology**, v. 120, p. 1463–1475, 2014.

ZHANG, H. LI, Y.; DE CARVALHO, M.; KAVELAARS, A.; HEIJNEN, C.J.; ALBRECHT, P.J.; DOUGHERTY, P.M. Dorsal root ganglion infiltration by macrophages contributes to paclitaxel chemotherapy-induced peripheral neuropathy. **Journal of Pain**, v. 17, p. 775-86, 2016.

ZHANG, X.; JIANG, N.; LI, J.; ZHANG, D.; LV, X. Rapamycin alleviates proinflammatory cytokines and nociceptive behavior induced by chemotherapeutic paclitaxel. **Neurological Research**, v. 16, p. 1-8, 2018.

ZHU, H.; XU, J.; SHEN, K.; PANG, R.; WEI, X.; LIU, X. Bulleyaconitine A depresses neuropathic pain and potentiation at C-fiber synapses in spinal dorsal horn induced by paclitaxel in rats. **Experimental Neurology**, v. 273, p. 263-272, 2015.

ZILLIOX, L.A. Neuropathic pain. **Continuum**, v. 23, p. 512-532, 2017.

ZIMMERMANN, M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. **Pain**, v. 16, p. 109 - 110, 1983.

ZIMMERMANN, M. Pathobiology of neuropathic pain. **European Journal of Pharmacology**, v. 429, p. 23-37, 2001.

ZOGA, V.; KAWANO, T.; LIANG, M.Y.; BIENENGRAEBER, M.; WEIHRAUCH, D.; MCCALLUM, B.; GEMES, G.; HOGAN, Q.; SARANTOPOULOS, C. K_{ATP} channel subunits in rat dorsal root ganglia: alterations by painful axotomy. **Molecular Pain**, v. 26, p. 1-15, 2010.