UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Neuropatia sensorial periférica induzida pela cisplatina: estudo dos
mecanismos de neurotoxicidade da cisplatina e do efeito protetor do
éster fenetil do ácido cafeico (CAPE) em células PC12

Rafaela Scalco Ferreira

Ribeirão Preto

2018

RESUMO

FERREIRA, R. S. **Neuropatia sensorial periférica induzida pela cisplatina: estudo dos mecanismos de neurotoxicidade da cisplatina e do efeito protetor do éster fenetil do ácido cafeico (CAPE) em células PC12**. 2018. 134f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

Cisplatina é um agente quimioterápico altamente eficaz utilizado no tratamento de vários tipos de câncer. No entanto, seu uso clínico é limitado por ser o mais neurotóxico entre os derivados de platina. A neuropatia sensorial periférica induzida pela cisplatina é caracterizada pela degeneração distal dos axônios podendo progredir para a degeneração dos corpos celulares e apoptose. O mecanismo de ação tóxica tem sido associado aos danos no DNA, mas a cisplatina também pode interferir no crescimento de neuritos. No entanto, o mecanismo neurotóxico ainda permanece incerto. Embora vários compostos tenham demonstrado efeito protetor contra a neurotoxicidade induzida pela cisplatina, nenhum tratamento efetivo foi desenvolvido. O éster fenetil do ácido cafeico (CAPE) é um composto fenólico extraído da própolis, cujo efeitos neuroprotetores tem sido atribuído às suas propriedades antioxidantes. Do contrário, poucos estudos avaliam o potencial neurotrófico do CAPE como uma possível fonte de proteção. Sendo assim, no presente estudo foram investigados os mecanismos pelos quais a cisplatina induz neurotoxicidade, bem como o possível efeito neuroprotetor do CAPE e os mecanismos envolvidos na neuroproteção. Os resultados demonstraram que os efeitos neurotóxicos da cisplatina foram induzidos por uma concentração não citotóxica (5 μ M), a qual foi capaz de inibir o crescimento de neuritos e reduzir a expressão das proteínas neuronais (GAP-43, sinapsina I e sinaptofisina) e do citoesqueleto (NF-200, β -III-tubulina e F-actina) em células PC12 sem induzir dano mitocondrial, apoptose e estresse oxidativo. Neste estágio, a neurotoxicidade da cisplatina não foi mediada pelo NGF e nem pelos receptores trkA, sugerindo um mecanismo independente da via NGF/trkA. A diminuição da captação da glicose induzida pela cisplatina, pode estar associada à redução na expressão das proteínas relacionadas ao estado energético, sugerindo que a regulação negativa da AMPK α , da fosfo-AMPK α e da SIRT1 podem estar envolvidas no mecanismo de neurotoxicidade da cisplatina. A cisplatina também inibiu a captação do glutamato via EAAT2 de uma maneira não específica, sugerindo que outros processos podem ser modulados e participarem desta inibição. O CAPE atenuou os efeitos inibitórios da cisplatina sobre a diferenciação celular, sobre os marcadores da neuroplasticidade axonal (GAP-43, sinapsina I e sinaptofisina), sobre as proteínas do citoesqueleto (NF-200, β -III-tubulina e F-actina) e também sobre os marcadores do perfil energético (AMPK α , da fosfo-AMPK α e da SIRT1). O CAPE também aumentou a viabilidade das células PC12 expostas à IC₅₀ da cisplatina. O mecanismo neuroprotetor do CAPE é independente e não aditivo ao efeito do NGF, pode envolver a ativação dos receptores trkA, bem como das vias de sinalização neurotrófica MAPK/Erk e PI3K/Akt. Tais resultados sugerem a contribuição da neuroplasticidade no mecanismo de neuroproteção do CAPE contra a neurotoxicidade induzida pela cisplatina.

Palavras-chave: Cisplatina, Neuropatia sensorial periférica, CAPE, Neuroproteção, Neuritogênese.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Cisplatina

O grande impacto provocado pela cisplatina (*cis*-diaminodicloroplatina II) no tratamento do câncer é um paradigma no uso de metais na medicina. A cisplatina foi o primeiro metal pesado a ser utilizado como agente antineoplásico e, desde a sua aprovação em 1978, é um dos agentes quimioterápicos mais utilizados na terapia oncológica (CEPEDA et al., 2007; KELLAND, 2007; CHIORAZZI; SEMPERBONI; MARMIROLI, 2015). Possui um amplo espectro de ação contra vários tipos de câncer, podendo ser administrada sozinha ou em associação com outros agentes antineoplásicos (MACCIO; MADEDDU, 2013).

A propriedade antineoplásica da cisplatina foi descoberta ao acaso, cerca de 125 anos após a síntese e a caracterização de sua estrutura química (CEPEDA et al., 2007). Em um experimento realizado em 1965, Rosenberg observou que a aplicação de um campo elétrico em eletrodos de platina imersos em solução aeróbica de *Escherichia coli* promovia o crescimento filamentosso bacteriano sem que houvesse a multiplicação do número de células. Os eletrodos de platina liberavam, por meio de reação redox, alguns complexos platínicos, os quais eram responsáveis por tal efeito. Dentre os complexos platínicos, verificou-se que o complexo bivalente *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂] ou cisplatina, era ativo, e seu isômero *trans*, era inativo (Figura 1) (ROSENBERG; VANCAMP; KRIGAS, 1965; ROSENBERG et al., 1969).

Figura 1. Isômeros cisplatina (esquerda) e transplatina (direita)

Desde a identificação da cisplatina como o agente responsável pelo efeito antiproliferativo, foi despertado um interesse considerável no uso de tais complexos para o tratamento do câncer. Aprovado em 1978 pelo FDA (*American Food and Drug Administration*), o uso clínico da cisplatina revolucionou o tratamento do câncer de testículos, elevando o percentual de cura para mais de 90%, podendo atingir 100% nos casos de detecção precoce (WANG; LIPPARD, 2005). Desde então, a cisplatina é um dos agentes quimioterápicos mais utilizados na América do Norte e na Europa (CHABNER; LONGO, 2006), para o tratamento de vários tipos de câncer, incluindo o de ovário, o carcinoma de pulmão de células não pequenas (NSCLC, do inglês “*No Small Cell Lung Cancer*”), câncer de cabeça e pescoço, bexiga, melanoma, linfomas, câncer de cólon e gástrico (CHABNER; LONGO, 2011; AMABLE, 2016).

1.2 Farmacocinética e Farmacodinâmica da cisplatina

O mecanismo de ação anticâncer da cisplatina se inicia com a entrada na célula, pois a passagem pela membrana celular é necessária para que possa ocorrer a interação com o seu alvo, o DNA nuclear (JOHNSTONE; SUNTHARALINGAM; LIPPARD, 2015). O mecanismo bioquímico pelo qual a cisplatina atravessa a membrana celular ainda é incerto. Estudos iniciais sugeriam que a cisplatina entraria nas células principalmente por difusão passiva, uma vez que sua captação prosseguia linearmente com o tempo em mais de 60 minutos, não saturando até uma concentração de 1,0 mM. Além disso, a sua absorção não era inibida pelos seus análogos estruturais, e a entrada nas células não dependia de um pH ótimo (HROMAS; NORTH; BURNS, 1987; BINKS; DOBROTA, 1990; MANN; ANDREWS; HOWELL, 1991). No entanto, estudos mais recentes demonstraram que parte da absorção de cisplatina dependia de energia. Tais observações apontavam para uma conexão direta entre as concentrações celulares de cobre e platina, propondo um transporte ativo pelo transportador de cobre de alta afinidade Ctr1 (WANG; LIPPARD, 2005; CEPEDA et al., 2007). Adicionalmente, os compostos platínicos podem, ativamente, entrar nas células normais e tumorais através de transportadores catiônicos orgânicos e transportadores de carnitina (AVAN et al., 2015).

Uma vez na corrente sanguínea, mais de 90% da cisplatina liga-se de modo covalente às proteínas plasmáticas. A fração não ligada, composta principalmente pelo fármaco original, diminui em poucos minutos. Altas concentrações de cisplatina

são encontradas nos rins, fígado, intestino e testículos. Apenas uma pequena parte do fármaco é excretada pelos rins durante as primeiras 6 horas e, em 24 horas, são excretados 25% e, em cinco dias, até 43% da cisplatina administrada é recuperada na urina. A excreção biliar e intestinal da cisplatina é mínima (BRUNTON, 2012).

A cisplatina é um fármaco de configuração plana, possuindo um átomo central de platina ligado a dois átomos de cloro e dois grupos amônia. A presença de íons cloreto no plasma e nas células modula a reatividade da cisplatina. Os dois átomos de cloro são estáveis na corrente sanguínea. Fora das células, a concentração de íons cloreto é cerca de 100 mM, enquanto no interior da célula, a concentração varia de 2 a 30 mM. A baixa concentração intracelular dos íons cloreto facilita o processo de ativação da cisplatina, isto é, moléculas de água podem substituir um ou os dois íons cloretos da molécula da cisplatina, resultando na formação de complexos aquosos carregados positivamente e altamente reativos (ALI; AL MOUNDHRI, 2006). Assim, o efeito antineoplásico da cisplatina depende da sua hidrólise intracelular, com consequente formação de dois metabólitos altamente reativos, mono-cloro-mono-aquo-diamino-platino e diaquo-diamino-platino (Figura 2) (LIPPARD, 1987; JAMIESON; LIPPARD, 1999; WANG; LIPPARD, 2005).

Os metabólitos resultantes da hidrólise intracelular da cisplatina são mais reativos aos alvos celulares. Embora a cisplatina interaja com outros componentes celulares, o DNA é o alvo biológico primário (JAMIESON; LIPPARD, 1999). O átomo central de platina se liga covalentemente a posição N⁷ das bases purínicas, formando ligações cruzadas intra (maior proporção) e interfilamentares (menor proporção). A formação dos adutos DNA-cisplatina desencadeia uma série de respostas celulares tais como: inibição da replicação, inibição da transcrição, paralisação do ciclo celular, reparo do DNA e morte apoptótica das células (Figura 2) (WANG; LIPPARD, 2005). Menos de 1% da lesão celular induzida pela cisplatina está relacionada às ligações DNA-proteínas, enquanto as ligações cruzadas intrafilamentares entre o DNA e a cisplatina, representam as lesões mais frequentes. Neste contexto, a cisplatina frequentemente está mais ligada a sítios do DNA contendo bases purínicas, principalmente entre duas guaninas adjacentes (65%), uma adenina e uma guanina adjacente (25%) ou com duas guaninas separadas por uma ou duas bases (9%) (BURSTYN et al., 2000).

Figura 2. Mecanismo de ação da cisplatina

Legenda: (i) captação celular; (ii) ativação da cisplatina; (iii) interação com DNA; (iv) processos celulares resultando em apoptose. Adaptado de Johnstone, Suntharalingam e Lippard (2015).

A interrupção da progressão do ciclo celular é uma resposta comum quando as células sofrem danos no DNA, e possibilitam que tal dano seja reparado antes de ser transmitido para as células filhas. Quando as células são expostas à cisplatina, o dano provocado no DNA induz a paralisação do ciclo celular na fase G2, o que é essencial para induzir apoptose após a exposição à cisplatina (SORENSEN; EASTMAN, 1988; WANG; LIPPARD, 2005). A principal forma de reparar o dano induzido pela cisplatina no DNA é o reparo por excisão de nucleotídeos (WANG; LIPPARD, 2005). Se o dano não puder ser reparado, as células iniciam o processo de morte celular programada conhecido como apoptose. Após o dano ao DNA, a expressão de genes pró-apoptóticos regulados pela proteína p53, incluindo BAX, aumentam, levando à liberação de citocromo c das mitocôndrias, com subsequente clivagem das procaspase 9 e ativação das caspases 3, 6 e 7 (HAUPT et al., 2003). Tais caspases degradam os componentes celulares essenciais para a viabilidade (JOHNSTONE; SUNTHARALINGAM; LIPPARD, 2015).

1.3 Limitações no uso clínico da cisplatina

Existem dois problemas associados ao uso clínico da cisplatina: a resistência e a toxicidade.

A resistência à cisplatina tem sido atribuída a três mecanismos moleculares: aumento do reparo do DNA, alteração no acúmulo celular de cisplatina e inativação citosólica da droga (AMABLE, 2016). O acúmulo alterado de cisplatina nas células é resultante de duas vias celulares: diminuição da captação ou aumento da exportação. Foi observado que células resistentes exibem baixos níveis de cisplatina (GATELY; HOWELL, 1993). Já a inativação citosólica da cisplatina resulta na incapacidade da cisplatina em reagir com o DNA. Consequentemente, são produzidos menos danos ao DNA e a célula cancerosa consegue sobreviver ao tratamento medicamentoso. A primeira forma de inativação da cisplatina é a conjugação com a glutathione (GSH) e a segunda forma é por ligação a metalotioneínas (AMABLE, 2016).

Estudos demonstraram que estes três mecanismos contribuem para o processo de resistência, porém, há diferenças em relação ao nível de resistência induzido por cada um. Em baixos níveis de resistência, cerca de 10-15 vezes acima da linha de base, o principal mecanismo de resistência é o aumento do reparo do DNA. Os níveis intermediários de resistência (40-50 vezes acima da linha de base) são decorrentes da redução do acúmulo de compostos de platina, enquanto que, em níveis muito elevados de resistência, a inativação citosólica da cisplatina é o principal mecanismo envolvido. No entanto, tais estudos ainda ressaltam que, em muitas linhagens celulares, mais de um mecanismo pode ocorrer (RICHON; SCHULTE; EASTMAN, 1987; EASTMAN; SCHULTE, 1988; FERRY; HAMILTON; JOHNSON, 2000; AMABLE, 2016).

A resistência tumoral aos quimioterápicos limita a eficácia das terapias contra o câncer, fazendo-se necessário utilizar doses cada vez maiores para obter a mesma eficácia terapêutica. Como muitos outros antineoplásicos, a cisplatina caracteriza-se por possuir baixo índice terapêutico e elevado potencial tóxico (LEE et al., 2001). A toxicidade para os tecidos normais limita a quantidade de fármaco que pode ser administrado e os efeitos farmacocinéticos (absorção, distribuição, metabolismo e eliminação) limitam a quantidade de fármaco que atinge o tumor (HOLOHAN et al., 2013).

Os efeitos tóxicos induzidos pela cisplatina são dose-dependentes e limitam a administração de doses mais altas, comprometendo assim, a eficácia terapêutica (MACCIO; MADEDDU, 2013). Geralmente, os mecanismos de ação dos agentes quimioterápicos responsável pela ação antineoplásica estão também associados ao desenvolvimento dos efeitos tóxicos, dificultando minimizar a toxicidade sem diminuir a eficácia terapêutica (CAROZZI; CANTA; CHIORAZZI, 2015). Os efeitos colaterais decorrentes da utilização da cisplatina incluem: náuseas, vômitos, supressão da medula óssea, ototoxicidade, nefrotoxicidade e neurotoxicidade (HORVATH et al., 2006). Análogos de cisplatina foram sintetizados e submetidos a testes clínicos em uma tentativa de reduzir os efeitos colaterais e a resistência à cisplatina. Entre eles, apenas a carboplatina e a oxaliplatina conseguiram aprovação pelo FDA e outros análogos de segunda e terceira geração ainda estão em estudo (CHIORAZZI; SEMPERBONI; MARMIROLI, 2015). A carboplatina provoca menos efeitos colaterais, é menos neurotóxica, porém, menos eficaz do que a cisplatina. A oxaliplatina induz severa neurotoxicidade periférica, porém a cisplatina é o mais neurotóxico entre os compostos de platina usados como quimioterápicos (AMPTOULACH; TSAVARIS, 2011).

1.4 Neuropatia sensorial periférica induzida pela cisplatina

O primeiro caso de neurotoxicidade foi descrito por Kedar, Cohen e Freeman (1978), no fim da década de 70, ao observar dormência e formigamento nos membros de uma paciente portadora de osteosarcoma, a qual tinha recebido dose cumulativa de 500 mg/m² de cisplatina. Atualmente, sabe-se que a neuropatia sensorial periférica induzida pela cisplatina é dose-dependente e que as doses são cumulativas. Normalmente, a neuropatia está associada a doses cumulativas superiores a 300 mg/m², desenvolvendo-se em aproximadamente 50% dos pacientes, sendo que cerca de 10 %, apresentam sintomas incapacitantes (PACE et al., 2010; GRISOLD; CAVALETTI; WINDEBANK, 2012; MILTENBURG; BOOGERD, 2014).

O aparecimento da neuropatia induzida pela cisplatina é variável. Alguns pacientes relatam o surgimento dos primeiros sintomas logo após a primeira dose, enquanto outros, após doze ciclos de terapia (CERSOSIMO, 1989). Os sintomas da neurotoxicidade induzida pela cisplatina são sensoriais e ocorrem simetricamente nas mãos e nos pés, em uma distribuição do tipo “meias e luvas” (Figura 3) (BROUWERS

et al., 2009). Os sintomas incluem dormência, formigamento, sensação de queimação, diminuição ou aumento da sensibilidade e dor (HAUSHEER et al., 2006).

Figura 3. Representação da distribuição “meias e luvas” típica da neuropatia periférica induzida pela cisplatina.

Fonte: Adaptado de Park et al. (2013).

Estudos neuropatológicos evidenciaram predomínio de perda das longas fibras sensoriais mielinizadas. Os sintomas sensoriais se desenvolvem primeiro nas extremidades, mãos e pés, indicando que os axônios mais longos são os primeiros a serem afetados. Os pacientes se queixam de parestesia e disestesia nas extremidades inferiores. No exame clínico, foi observada alteração da sensação de vibração e propriocepção com redução ou ausência de reflexos nos tendões. A perda da mielinização e as mudanças no citoesqueleto dos axônios provavelmente alteram a estrutura e função dos nervos periféricos, o que pode contribuir para o desenvolvimento da percepção alterada (STAROBOVA; VETTER, 2017). Em pacientes com alto grau de neuropatia, ataxia sensorial pode se desenvolver (BERNHARDSON; TISHELMAN; RUTQVIST, 2007; GRISOLD; CAVALETTI; WINDEBANK, 2012).

Os sintomas da neuropatia podem persistir por vários meses após a interrupção do tratamento ou podem progressivamente piorar com o tempo, um fenômeno conhecido como “*coasting*” (SIEGAL; HAIM, 1990). A neuropatia sintomática ou assintomática é encontrada em uma porcentagem considerável de pacientes (10-38%), os quais foram avaliados muitos anos após o fim da quimioterapia (ARGYRIOU et al., 2012). Com altas doses cumulativas e longo tempo de exposição à cisplatina, a severidade da neuropatia pode aumentar, assim como a probabilidade de desenvolver uma neuropatia crônica e irreversível (CERSOSIMO, 1989; GREGG et al., 1992). A neuropatia crônica induzida pela cisplatina foi relatada em aproximadamente 5-20% dos pacientes (PARK et al., 2013; STAROBOVA; VETTER, 2017).

1.5 Mecanismos de neurotoxicidade da cisplatina

Embora diversos mecanismos moleculares pelos quais a cisplatina induz neurotoxicidade já tenham sido propostos, o mecanismo exato ainda permanece incerto (KELLEY et al., 2014). A formação de adutos com o DNA nuclear é o principal mecanismo pelo qual a cisplatina induz apoptose nas células cancerígenas e, provavelmente, exerce um papel central no desenvolvimento da neurotoxicidade (CAROZZI; CANTA; CHIORAZZI, 2015). O dano neuronal oxidativo, a disfunção mitocondrial e a alteração do metabolismo energético são outros eventos que contribuem para a apoptose induzida pela cisplatina nos neurônios sensoriais (CAROZZI; MARMIROLI; CVALETTI, 2010).

1.5.1 Degeneração axonal - Vulnerabilidade do Sistema Nervoso Periférico (SNP)

O Sistema Nervoso Periférico (SNP) é frequentemente alvo da ação tóxica de vários agentes antineoplásicos (CAVALETTI et al., 2011). A maioria deles e, principalmente a cisplatina, possuem como alvo principal o gânglio da raiz dorsal (GRD) do sistema nervoso sensorial. O GRD é o tecido neural de acúmulo preferencial da cisplatina, uma vez que, não é protegido pela barreira hematoencefálica (BHE), possui transportadores de membrana específicos (transportadores catiônicos orgânicos) que facilitam o influxo da cisplatina e tem reduzida quantidade de glutathione detoxificante (GREGG et al., 1992; CAROZZI; CANTA; CHIORAZZI, 2015).

Uma vez no interior do GRD, ocorre a formação de adutos DNA-cisplatina. A cisplatina produz, aproximadamente, três vezes mais adutos no GRD em relação à oxaliplatina, fato consistente com sua maior neurotoxicidade (WANG et al., 2006). Como os neurônios do GRD são pós-mitóticos e, portanto, não se dividem, a formação de adutos DNA-cisplatina não é letal, embora a quantidade de adutos acumulados esteja fortemente correlacionada ao grau de neurotoxicidade (DZAGNIDZE et al., 2007; AVAN et al., 2015). A cisplatina se acumula e persiste por longo tempo no interior do GRD, prejudicando o metabolismo celular e o transporte axonal. Embora a cisplatina induza apoptose nos neurônios sensoriais, os danos axonais parecem preceder a morte neuronal e estão associados a alterações na montagem da estrutura de microtúbulos axonais responsáveis pelo transporte axonal e ao crescimento dos neuritos (QUASTHOFF; HARTUNG, 2002; HAUSHEER et al., 2006).

A cisplatina induz uma degeneração axonal do tipo *Walleriana*, a qual se inicia na porção distal dos axônios sensoriais, consistente com os primeiros sintomas relatados pelos pacientes nas extremidades dos membros inferiores e superiores (distribuição tipo “meias e luvas”). Então, a patogênese da neuropatia periférica estaria relacionada ao início da axonopatia (Figura 4), através da degeneração retrógrada (*dying back*) induzida pelo dano na parte distal do axônio, seguida pela neuronopatia, na qual os corpos celulares do GRD seriam afetados (CAROZZI; CANTA; CHIORAZZI, 2015) e, por fim, apoptose neuronal. Essa questão é importante uma vez que a degeneração distal do axônio pode ser reversível depois da interrupção do tratamento, enquanto a degeneração do corpo celular leva à perda neuronal (KRARUP-HANSEN et al., 2007; PARK et al., 2008).

Figura 4. Origem da neurotoxicidade

Legenda: Axonopatía, degeneração retrógrada (*dying back*) induzida pelo dano na parte distal do axônio e neuronopatía, envolvendo os corpos celulares no GRD. Adaptado de Park et al. (2008).

1.5.2 Dano neuronal oxidativo, disfunção mitocondrial e os prejuízos no metabolismo energético

O dano oxidativo, disfunção mitocondrial e as mudanças no metabolismo energético são outros importantes mecanismos que contribuem significativamente para a atividade antineoplásica da cisplatina e também estão relacionados ao desenvolvimento da neurotoxicidade (MACCIO; MADEDDU, 2013).

A cisplatina, assim como a maioria dos agentes quimioterápicos, causa danos às mitocôndrias neuronais e não-neuronais, levando a um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e consequente aumento no estresse oxidativo (MCDONALD; WINDEBANK, 2002). A cisplatina induz estresse oxidativo aumentando os níveis das ERO e diminuindo as defesas antioxidantes, especialmente da glutatona reduzida (GSH), bem como das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase, glutatona peroxidase e glutatona redutase (SRIVASTAVA et al., 2010).

A cisplatina se liga covalentemente ao DNA mitocondrial e forma adutos, os quais não podem ser reparados, uma vez que a mitocôndria não expressa sistema de reparo de DNA (CANTA; POZZI; CAROZZI, 2015). Podratz et al. (2011) demonstrou que a cisplatina forma adutos com o DNA mitocondrial na mesma proporção que com

o DNA nuclear e, tais adutos podem inibir a replicação do DNA mitocondrial e causar vacuolização mitocondrial e degradação dos neurônios do GRD, *in vitro* e *in vivo* (PODRATZ et al., 2011). Estes efeitos da cisplatina no DNA mitocondrial podem produzir falhas energéticas graduais e também prolongar a neurotoxicidade da cisplatina, uma possível explicação para a piora dos sintomas da neuropatia (fenômeno “*coasting*”) observado após a interrupção do tratamento (GRUNBERG et al., 1989).

A disfunção mitocondrial induzida pela cisplatina, geralmente provoca dano oxidativo no sistema nervoso periférico. O estresse oxidativo induzido pela cisplatina no fígado, rins e no coração é bem documentado (DOS SANTOS et al., 2007; SANTOS et al., 2007; WANG et al., 2009), porém, estes eventos são menos estudados nos neurônios sensoriais do gânglio da raiz dorsal (CAROZZI; MARMIROLI; CAVALETTI, 2010). Alguns mecanismos sugerem a indução da apoptose pela ativação das caspases 3 e 7, por meio da via Bax-mitocondrial-citocromo c, ou pela ligação ao DNA mitocondrial ou pela inibição da transcrição e/ou síntese de proteínas mitocondriais com a subsequente perda da função mitocondrial (WINDEBANK; GRISOLD, 2008; CAROZZI; CANTA; CHIORAZZI, 2015).

Estudo realizado em culturas de neurônios do gânglio da raiz dorsal (GRD) demonstrou que, após a exposição a concentrações tóxicas de cisplatina, tais neurônios apresentaram redução nas mitocôndrias funcionais, perda do potencial de membrana e alterações estruturais características de degeneração vacuolar (MELLI et al., 2008). O potencial de membrana mitocondrial é responsável pela produção de ATP (adenosina trifosfato), utilizado pelos neurônios como fonte de energia para conduzir os processos bioquímicos envolvidos em várias funções celulares (MATTSON; LIU, 2002). A disfunção e degeneração do citoesqueleto são fenômenos resultantes da alteração do potencial de membrana mitocondrial, anormalidades na cadeia transportadora de elétrons e falhas energéticas, que afetam o transporte de mitocôndrias ao longo dos axônios (MELLI et al., 2008).

Estima-se que cerca de 95% das mitocôndrias do sistema nervoso periférico (SNP) estejam situadas nos axônios (CAROZZI; CANTA; CHIORAZZI, 2015). Durante o desenvolvimento e regeneração neuronal, o transporte de mitocôndrias está associado com o crescimento de axônios (DEDOV; ARMATI; ROUFOGALIS, 2000). Mitocôndrias com elevado potencial de membrana são transportadas em direção ao cone de crescimento, um local com grande demanda de energia necessária para os

axônios em crescimento. Por outro lado, as mitocôndrias com potencial despolarizado são transportadas em direção ao corpo celular, supostamente como um passo inicial no processo de autofagia. Esses dados sustentam a hipótese de que, na neuropatia periférica induzida por compostos de platina, a perda da dinâmica e da função mitocondrial exerce um papel importante na patogênese da neurodegeneração (MELLI et al., 2008).

As fibras nervosas periféricas mais longas, tais como fibras sensoriais que transportam a sensação de toque, temperatura e dor, são mais suscetíveis às interferências no metabolismo energético, função mitocondrial e, principalmente a distúrbios no transporte axonal, sendo este direta ou indiretamente associado com alterações no citoesqueleto (WINDEBANK; GRISOLD, 2008; PRIOR et al., 2017).

O transporte axonal é classificado de acordo com a velocidade do transporte. O mecanismo rápido é um transporte vesicular baseado nos microtúbulos, podendo ser anterógrado, quando vai do corpo celular para o axônio ou retrógrado, quando vai do axônio em direção ao corpo celular do neurônio. Diferentemente do transporte axonal rápido, o mecanismo lento pode ser apenas anterógrado e refere-se, principalmente aos elementos do citoesqueleto. O citoesqueleto não apenas assegura as características estruturais, como também suporta vários processos funcionais dentro do neurônio, como a dinâmica do transporte axonal. Duas proteínas dependentes de ATP são responsáveis por esse transporte. Os membros da família cinesina são responsáveis pelo transporte anterógrado, enquanto no transporte retrógrado, as dineínas são utilizadas como proteínas motoras. Estudo *in vitro* demonstrou a habilidade da cisplatina em danificar as proteínas motoras cinesinas e dineínas através da formação de adutos, e diretamente prejudicar o transporte axonal rápido (RUSSELL et al., 1995; NICOLINI; MONFRINI; SCUTERI, 2015; PRIOR et al., 2017).

1.5.3 Excitotoxicidade do glutamato

Glutamato é o principal mediador da sinalização excitatória no sistema nervoso central (SNC) dos mamíferos e essencial para as diversas funções cerebrais normais incluindo cognição, memória, aprendizado, plasticidade e potencialização a longo prazo (WANG; QIN, 2010; PENG et al., 2011). Além disso, o glutamato também possui função central em alguns processos de desenvolvimento do SNC, tais como a

formação e a eliminação de sinapses, migração celular, diferenciação e morte celular (DANBOLT, 2001; KOSTANDY, 2012).

No entanto, estudos também tem demonstrado o papel do glutamato na transdução sensorial periférica, bem como nas vias nociceptivas. Os terminais sensoriais periféricos expressam moléculas envolvidas na sinalização do glutamato e os ligantes glutamatérgicos podem causar comportamento nociceptivos em vários modelos experimentais de patologia (CAROZZI; MARMIROLI; CVALETTI, 2008).

A maioria dos neurônios e células da glia expressam em suas membranas plasmáticas receptores e transportadores envolvidos na sinalização do glutamato (BERGLES et al., 2000). Em condições fisiológicas normais, o glutamato é liberado nas fendas sinápticas e exerce seu papel ativando os receptores de glutamato pós-sinápticos (Figura 5). A estimulação dos receptores de glutamato é mediada pela concentração de glutamato na fenda sináptica. O glutamato é removido do espaço extracelular através da captação celular realizada pelos transportadores de glutamato (JOHNSTON, 1981; BEART; O'SHEA, 2007). Foram identificados e caracterizados 5 subtipos de transportadores aminoácidos excitatórios (em inglês *EAATs*, *excitatory amino acid transporters*), chamados EAAT1 - EAAT5 (AMARA; FONTANA, 2002), sendo o transportador aminoácidos excitatório tipo 2 (EAAT2/GLT-1, nomenclatura referente ao homólogo humano e de ratos) o subtipo de transportador de glutamato predominante no SNC desempenhando assim, um papel fundamental na regulação da transmissão do glutamato. Sendo assim, o EAAT2 remove o glutamato liberado no interior da fenda sináptica e mantém a concentração extracelular de glutamato abaixo dos níveis considerados neurotóxicos. Porém, em situações de excitotoxicidade, o glutamato é liberado em altas concentrações e seu *clearance* fica reduzido. Consequentemente, ocorre uma ativação excessiva dos receptores de glutamato, resultando em influxo de cálcio e ativação das caspases, fosfolipases, endonucleases e proteases que podem levar à morte celular apoptótica ou necrótica (FONTANA, 2015).

Figura 5. Sinalização glutamatérgica sob condições fisiológicas (A) e excitotóxicas (B)

Fonte: Adaptado de Fontana (2015).

O potencial envolvimento da toxicidade mediada pelo glutamato em doenças neurodegenerativas agudas e crônicas tem sido demonstrada por diversos estudos, sendo que, a excessiva liberação pré-sináptica e/ou a prejudicada reabsorção do glutamato são apontados como os principais mecanismos envolvidos nesses processos (CAROZZI; MARMIROLI; CAVALETTI, 2008; CAROZZI; CERESA, 2012; MEHTA et al., 2013).

Disfunções nos receptores de glutamato estão associados especificamente a condições neuropáticas, tais como a hiperalgesia, dor neuropática e crônica e outras neuropatias periféricas (WALKER et al., 2001; ANJANEYULU; BERENT-SPILLSON; RUSSELL, 2008). Por outro lado, disfunções na captação de glutamato determinadas pelas alterações na função e/ou na expressão dos EAATs, tem sido relacionadas à várias desordens neurológicas e neurodegenerativas do SNC, tais como o acidente vascular cerebral isquêmico (MALLOLAS et al., 2006; YI; HAZELL, 2006), a epilepsia (LU et al., 2008), a doença de Alzheimer (SCOTT et al., 2002; WOLTJER et al., 2010), a esclerose lateral amiotrófica (WILSON et al., 2003; VAN DEN BOSCH et al., 2006) entre outras, e também em vários modelos de danos nos nervos periféricos, dores neuropáticas e hiperalgesia induzida por quimioterápicos (AUTHIER et al., 2003a; AUTHIER et al., 2003b; MAWRIN et al., 2003; SUNG; LIM; MAO, 2003).

As funções do glutamato no SNC são continuamente alvo de vários estudos. No entanto, pouco ainda se sabe sobre as características básicas do sistema

glutamatérgico no SNP (CAROZZI et al., 2008), bem como o envolvimento da sinalização do glutamato na neurotoxicidade periférica induzida pela cisplatina.

As alterações induzidas por compostos de platina na expressão de algumas moléculas relacionadas à sinalização do glutamato são apontadas como responsáveis pelo desenvolvimento da neuropatia periférica (CAROZZI; CANTA; CHIORAZZI, 2015). Neste contexto, foi demonstrado que as alterações induzidas pela cisplatina na concentração de magnésio modificaram a taxa de ligação do glutamato ao seu receptor ionotrópico N-metil-D-aspartato (NMDA), evento apontado como o responsável pelo aumento dos sintomas nociceptivos (AUTHIER et al., 2003a; AUTHIER et al., 2003b). Além disso, outro estudo mostrou que a inibição farmacológica da enzima glutamato carboxipeptidase II (GCP II), reduziu a severidade da neurotoxicidade periférica induzida pela cisplatina em ratos (CAROZZI et al., 2010). No entanto, não foram encontrados estudos que avaliem o efeito da cisplatina sobre os transportadores de glutamato.

1.6 Marcadores do perfil celular energético

Neurônios são células de alto consumo de energia, cujas funções são grandemente afetadas pelo estado energético. Glicose é um dos principais combustíveis cerebrais, que deve, obrigatoriamente, ser fornecido continuamente pelo sangue para manter a função cerebral. No cérebro, a maioria da energia é consumida para gerar potenciais de ação e potenciais de ação pós-sinápticos. Adicionalmente, o metabolismo da glicose fornece energia para a biossíntese de neurotransmissores em neurônios diferenciados. Os transportadores de glicose GLUT1 e GLUT3 são responsáveis por mediar a captação da glicose do meio extracelular para as células da glia e neurônios, respectivamente (DIENEL, 2012; MAINARDI; FUSCO; GRASSI, 2015). A cisplatina interfere no metabolismo da glicose, sendo também apontado como uma das causas dos seus efeitos tóxicos (MACCIO; MADEDDU, 2013).

Pouco ainda se sabe a respeito do mecanismo molecular pelo qual a cisplatina reduz a captação de glicose. Apesar do DNA ser o alvo principal da cisplatina, ela pode afetar outros componentes celulares, tais como RNA, membrana plasmática, microfilamentos, mitocôndria e retículo endoplasmático (REBILLARD; LAGADIC-GOSSMANN; DIMANCHE-BOITREL, 2008). Consequentemente, existem diversos mecanismos possíveis para explicar a redução da captação de glicose. Em um estudo

realizado em linhagem celular de câncer de ovário, foi observada redução na captação de glicose em curto período de tempo após a exposição à cisplatina, sendo que esta redução foi atribuída à rápida modificação na distribuição dos transportadores GLUT1. A interação entre a cisplatina e a membrana plasmática pode ter afetado a distribuição dos transportadores (EGAWA-TAKATA et al., 2010).

Embora os neurônios sejam células de alta atividade metabólica, possuem baixa capacidade de armazenamento de nutrientes. As baixas reservas energéticas associadas a uma estreita margem entre a quantidade de energia gerada e a energia necessária, os tornam particularmente sensíveis às flutuações dos níveis de energia. A fim de manter um fornecimento energético constante, todas as células eucarióticas utilizam a proteína quinase ativada por adenosina monofosfato (AMPK) como um mecanismo de monitoramento entre a energia produzida e a energia consumida (SPASIC; CALLAERTS; NORGA, 2009).

De fato, a AMPK atua como um sensor celular energético que controla o metabolismo da glicose e de lipídeos em resposta às mudanças dos níveis de nutrientes e de energia intracelular. A AMPK é ativada pela elevação dos níveis de adenosina monofosfato (AMP), os quais são produzidos em condições de baixa produção de ATP (XU; ASH, 2016). Quando ativada, a AMPK protege as células contra a depleção de ATP estimulando processos como, a oxidação de ácidos graxos, os quais promovem a geração de ATP, e inibindo outros, como a síntese de lipídeos e proteínas, que também requerem ATP, porém não são necessários para a sobrevivência (HARDIE et al., 2003). A fosforilação de Thr172 na subunidade α é um marcador da ativação da AMPK (HARDIE; ALESSI, 2013).

Outra importante proteína relacionada ao metabolismo energético celular é a SIRT-1, uma desacetilase dependente de NAD^+ que funciona como um sensor de energia celular. Além dos seus efeitos bem caracterizados nos tecidos periféricos, evidências mais recentes sugerem que a atividade neuronal de SIRT-1 desempenha um papel na regulação do equilíbrio energético e do metabolismo da glicose (LU et al., 2013). A SIRT-1 faz uma ponte entre o estado metabólico celular a regulação da expressão gênica, modulando assim uma variedade de processos celulares, como sobrevivência, metabolismo de glicose, manutenção da homeostase de energia (LI, 2013), manutenção da estabilidade genômica, a supressão da inflamação, o aumento da plasticidade sináptica e a proteção contra a neurodegeneração (MIN et al., 2013).

1.7 Neuritogênese

A função do sistema nervoso depende de uma complexa arquitetura de redes neuronais. Os principais processos celulares críticos para o desenvolvimento normal do cérebro incluem a proliferação, diferenciação de células precursoras em neurônios ou glia, migração, formação de axônios e dendritos, formação de sinapses, mielinização e morte celular programada (COWAN; JESSELL; ZIPURSKY, 1997).

O bom funcionamento do cérebro depende da formação de uma conectividade cerebral adequada, a qual é dependente da germinação e alongamento dos axônios e dendritos no momento e direção correta. Apesar da ampla variedade de neurônios no cérebro em desenvolvimento, o surgimento inicial de um neurito pode ser observado para os neurônios de uma maneira similar. Inicialmente, as células ainda são relativamente arredondadas e exibem uma distribuição apolar da lamellipodia. Pouco tempo depois, o corpo celular é rompido, e os processos cilíndricos que contém o cone de crescimento na parte distal, começam a brotar. Os neuritos imaturos então formados não possuem características moleculares e estruturais de axônios e dendritos maduros. A transição para a próxima etapa consiste na seleção de um desses neuritos para formar o axônio. Este neurito é distinguido por um cone de crescimento maior que se alonga rapidamente sem retração. Após a formação do axônio, uma elaborada rede dendrítica é formada mais lentamente. A formação do dendrito é um processo mais dinâmico, o qual é controlado por uma combinação de fatores internos e externos, que conduzem a uma adição e retração contínua de ramos de dendritos. Finalmente, cerca de uma semana após a indução do neurito, os neurônios formam os contatos sinápticos criando, assim, as redes neuronais (Figura 6) (DA SILVA; DOTTI, 2002; KESSELS et al., 2011).

Figura 6. Eventos iniciais no crescimento de neuritos

Legenda: (A) Diagrama demonstrando os eventos iniciais no crescimento de neuritos ilustrando a ruptura do corpo celular para formação do botão inicial, seguida pela formação dos neuritos e por fim, a transformação dos processos em axônios e dendritos. (B) Imagens de contraste de fase demonstrando o crescimento de neuritos em células PC12 após 2, 48 e 72 horas de tratamento com 100 ng/mL de NGF (fator de crescimento neuronal). Adaptado de Radio e Mundy (2008).

As principais características morfológicas da diferenciação celular, também conhecida como neuritogênese, são as formações das extensões neuríticas, que produzem uma polaridade estrutural e funcional promovendo o alongamento dos axônios e ramificação dendrítica (BRADKE; DOTTI, 1997; KIRYUSHKO; BEREZIN; BOCK, 2004), os quais são tidos como uma condição prévia para a sinaptotogênese e a conectividade celular (HARRILL; ROBINETTE; MUNDY, 2011).

1.7.1 Proteínas neurotípicas características da neuritogênese

A neuritogênese é dependente dos principais componentes do citoesqueleto. O citoesqueleto é composto por três tipos de filamentos, sendo eles, os microtúbulos, os filamentos de actina e filamentos intermediários (também chamados de neurofilamentos) (LEWIS; COURCHET; POLLEUX, 2013). Existem centenas de moléculas acessórias que tanto interligam os filamentos entre si, como também os conectam aos outros componentes celulares. Os neurofilamentos são formados por subunidades que são, por si só, fibrosas e longas, enquanto os filamentos de actina e

os microtúbulos são formados por actina e tubulina, respectivamente (ALBERTS, 2010).

Os principais componentes do citoesqueleto dos quais a neuritogênese é dependente são os neurofilamentos, os microtúbulos e as proteínas associadas aos microtúbulos (MAPs). Os neurofilamentos são principais os filamentos intermediários encontrados nas células neuronais, os quais são responsáveis por fornecer suporte específico para o desenvolvimento do neurito e manutenção do calibre neuronal (MURPHY et al., 1993). São agrupados de acordo com seu peso molecular em NF-68, NF-160 e NF-200 kDa. O neurofilamento de 200 kDa (NF-200) é considerado um marcador axonal e de diferenciação neuronal muito útil na imunocitoquímica, uma vez que axônios maduros apresentam alta densidade desse neurofilamento (WU et al., 1998).

Os microtúbulos, por sua vez, são essenciais para diversos processos celulares, como a migração neuronal, a polaridade e a diferenciação. Dessa forma, a montagem, a organização e a remodelação dos microtúbulos são fatores essenciais para completar, com sucesso, todos os estágios de desenvolvimento neuronal (KAPITEIN; HOOGENRAAD, 2015). Os microtúbulos são constituídos por heterodímeros de α e β -tubulina. A maioria deles estão presentes nos corpos celulares, nos axônios e em dendritos dos neurônios maduros (CONDE; CACERES, 2009). Nos dendritos, os microtúbulos estão predominantemente localizados nos eixos, embora estudos recentes revelaram a entrada temporária dos microtúbulos nas espinhas dendríticas, uma região rica em actina, que se pensava ser desprovida de microtúbulos (HU et al., 2008; JAWORSKI et al., 2009). Vários distúrbios do desenvolvimento neurológico humano, assim como anormalidades do sistema nervoso tem sido associados às alterações nos microtúbulos. Estudos genéticos que identificaram diversas mutações nos membros da família das tubulinas fornecem evidências mais diretas do envolvimento dos microtúbulos nas doenças neurodegenerativas (FRANKER; HOOGENRAAD, 2013; KAPITEIN; HOOGENRAAD, 2015).

Os filamentos de actina (F-actina) representam outro abundante constituinte do citoesqueleto neuronal. O comportamento dinâmico do citoesqueleto de actina próximo à membrana celular o torna o principal responsável pela morfologia celular (POLLARD; COOPER, 2009). Nos neurônios, a actina é particularmente abundante nos cones de crescimento axonal, nos dendritos e nas espinhas dendríticas

(HOTULAINEN; HOOGENRAAD, 2010). O início da formação dos neuritos nas células neuronais requer a ruptura do corpo celular. Curiosamente, a lamelipodia formada durante a fase inicial, por si só, não é o suficiente para a neuritogênese, mas a ruptura da borda lamelipodial por protrusões filapodiais é de extrema importância. A formação de tais protrusões é extremamente dependente da polimerização dos filamentos de actina (WILLIAMS et al., 1988; EDSON; WEISSHAAR; MATUS, 1993).

A proteína 43 associada ao crescimento (GAP-43) é uma proteína neuro-específica, preferencialmente distribuída no cone de crescimento e nos axônios em alongamento durante o desenvolvimento e regeneração (MCGUIRE; SNIPES; NORDEN, 1988; SKENE, 1989; BENOWITZ; ROUTTENBERG, 1997). Os neurônios em desenvolvimento, tanto *in vivo* como *in vitro*, expressam altos níveis da proteína GAP-43, que são coincidentes com o início e o alongamento dos neuritos. Estudos sugerem o envolvimento da GAP-43 em sinais intra e extracelulares que regulam a organização do neuroesqueleto nas terminações nervosas, além de influenciar o crescimento do terminal pré-sináptico por meio da associação com as proteínas do citoesqueleto (DANI; ARMSTRONG; BENOWITZ, 1991; BENOWITZ; ROUTTENBERG, 1997; CHO; TIFFANY-CASTIGLIONI, 2004). Adicionalmente, foi demonstrado que os níveis de GAP-43 estão correlacionados com o crescimento axonal em culturas neuronais primárias (PRZYBORSKI; CAMBRAY-DEAKIN, 1994) e crescimento de neuritos em células PC12 (DAS; FREUDENRICH; MUNDY, 2004).

As sinapsinas e as proteínas relacionadas às sinaptofisinas são membros da família das fosfoproteínas que estão localizadas na membrana pré-sináptica e são responsáveis por regular a fusão das vesículas sinápticas e a liberação de neurotransmissores (THEIL, 1993). Os níveis de ambas proteínas aumentam com a formação de sinapses maduras (EHRHART-BORNSTEIN et al., 1991; FLETCHER et al., 1991). A sinapsina I foi descoberta em 1972 como sendo um dos principais substratos para a proteína quinase dependente de AMP cíclico (AMPC) e para a proteína quinase dependente de Ca^{2+} /calmodulina (JOHNSON et al., 1972). Desde então, outros membros da família das sinapsinas foram descobertos e, em conjunto, as sinapsinas representam uma das famílias de proteínas sinápticas mais abundantes, compreendendo cerca de 1% do total de proteínas no cérebro (UEDA; GREENGARD, 1977; FERREIRA; RAPOPORT, 2002). A expressão da sinapsina em células PC12 diferenciadas na presença de NGF, aumentou cerca de três vezes,

sendo esse aumento diretamente correlacionado com o aparecimento das vesículas sinápticas nos terminais nervosos maduros (THEIL, 1993).

Estudos *in vivo* e *in vitro* demonstraram que a sinapsina I e as proteínas relacionadas podem ser utilizadas como marcadores de danos induzidos por compostos tóxicos ao desenvolvimento de terminais nervosos (O'CALLAGHAN; MILLER, 1989; MONNET-TSCHUDI et al., 1995). Além disso, outro estudo demonstrou que a inibição induzida por compostos químicos na diferenciação das células PC12 foi refletida através da diminuição da expressão de GAP-43 e de sinapsina I (DAS; FREUDENRICH; MUNDY, 2004).

1.7.2 Células PC12 como modelo de diferenciação celular

As células PC12 são células clonais derivadas de um tumor transplantável da medula adrenal (feocromocitoma) de ratos. Exibem propriedades fenotípicas associadas aos feocromocitomas e também às células de cromafina da adrenal (GREENE; TISCHLER, 1976).

Na presença do fator de crescimento neuronal (NGF), as células PC12 sofrem mudanças drásticas no seu fenótipo, adquirindo propriedades características de neurônios simpáticos, incluindo expressão de neurotransmissores catecolaminérgicos, receptores colinérgicos e a acetilcolinesterase (FUJITA; LAZAROVICI; GUROFF, 1989).

Células PC12 tratadas com NGF paralisam a proliferação, estendem neuritos e se tornam eletricamente excitáveis (GREENE; TISCHLER, 1976). O NGF induz diferenciação nas PC12 através da sua ação sobre os receptores TrkA (KAPLAN; STEPHENS, 1994). Uma vez ligado ao receptor TrkA, uma série de cascatas de sinalização são desencadeadas, tais como, a via Raf/MEK/MAP quinases e a via PLC γ /PKC, as quais inibem a proliferação celular e promovem o crescimento de neuritos (OHMICHI; ZHU; SALTIEL, 1993; KAO et al., 2001).

Portanto, as células PC12 são consideradas um sistema útil para estudar tanto o mecanismo de ação de agentes tóxicos, como o potencial para alterar a diferenciação neuronal (DAS; FREUDENRICH; MUNDY, 2004; HARRILL; MUNDY, 2011). Adicionalmente, as PC12 são amplamente utilizadas para avaliar o envolvimento das vias de sinalização ativadas pelo NGF como um possível

mecanismo pelo qual os agentes neurotóxicos afetam a diferenciação e o crescimento de neuritos (WILLIAMS et al., 2000; PARRAN; BARONE; MUNDY, 2003).

1.8 Neuroproteção

A neuroproteção certamente é um dos objetivos terapêuticos mais desejáveis na maioria dos distúrbios neurológicos. Neuroproteção é definida como um mecanismo homeostático do sistema nervoso central (SNC) que protege os neurônios da apoptose ou da degeneração após uma lesão cerebral ou como consequência de uma doença neurodegenerativa (KIM, 2010). Logo, de um modo geral, a neuroproteção refere-se à preservação da estrutura e da função neuronal (CASSON et al., 2012; WIENDL et al., 2015).

Por muito tempo, acreditou-se que a regeneração do sistema nervoso fosse irreversível. No entanto, estudos recentes evidenciaram que tanto a regeneração fisiológica, como a de reparação ocorrem no sistema nervoso central para manter a homeostase e sustentar o reparo tecidual (MARTINO et al., 2011). Foi evidenciado que os neurônios danificados se regeneravam através de um processo ativo, na presença de fatores neurotróficos, como fator de crescimento neuronal (NGF) e fatores neurotróficos derivados do cérebro (BDNF) (FILBIN, 2000).

A habilidade dos fatores neurotróficos em prevenir ou reverter a degeneração neuronal, promover a regeneração dos neuritos e de aumentar a plasticidade sináptica em vários modelos *in vivo* e *in vitro*, fazem deles potenciais candidatos para terapias primárias ou adjuvantes em uma série de transtornos neurológicos (ALLEN; DAWBARN, 2006; CHAO; RAJAGOPAL; LEE, 2006). Adicionalmente, outros estudos destacaram a capacidade dos fatores neurotróficos em alterar o metabolismo energético neuronal e a produção de oxirradicais (MATTSON; LIU, 2002). Por exemplo, culturas de neurônios do hipocampo tratadas com fator básico de crescimento de fibroblasto (bFGF) ou fatores de crescimento semelhantes à insulina (ILGFs) apresentaram maior habilidade em manter a função mitocondrial sob condições de baixa disponibilidade de glicose (MATTSON; ZHANG; BOSE, 1993). Os fatores neurotróficos também agem localmente nos terminais sinápticos aumentando o transporte de glicose e a função mitocondrial, reforçando a habilidade dos terminais sinápticos em lidar com o estresse oxidativo (MATTSON; PARTIN, 1999; GUO; MATTSON, 2000).

Os níveis de fatores neurotróficos, bem como de seus receptores, encontram-se alterados na maioria das doenças neurodegenerativas e, portanto, tem sido proposto o uso de tais fatores como potenciais candidatos para o tratamento de tais doenças (LEVY et al., 2005). Entretanto, fatores neurotróficos, incluindo o NGF, não são capazes de atravessar a barreira hematoencefálica (LIN et al., 2010).

O NGF desempenha seu papel trófico durante o desenvolvimento e na idade adulta, garantindo a manutenção das características fenotípicas e funcionais de várias populações de neurônios. A ação do NGF em neurônios colinérgicos e em neurônios sensoriais do gânglio da raiz dorsal chamou a atenção de pesquisadores, com relação ao possível uso clínico em pacientes com a doença de Alzheimer e nas neuropatias periféricas, respectivamente. Estudos clínicos de fase I a fase III, utilizando NGF humano recombinante (rhNGF), foram conduzidos em pacientes diabéticos com sintomas de neuropatia periférica. Porém os estudos clínicos foram interrompidos devido ao desenvolvimento de efeitos colaterais, tais como mialgia, hiperalgesia e artralgias, impossibilitando o conhecimento da eficácia real do NGF no tratamento da neuropatia diabética (ALOE et al., 2012; MANNI et al., 2013).

Redução dos níveis de NGF circulantes foi observado em pacientes com neuropatia induzida por agentes quimioterápicos (DE SANTIS et al., 2000), existindo uma positiva correlação entre redução dos níveis circulantes e a severidade da neuropatia (CAVALETTI et al., 2004). Um estudo realizado em ratos demonstrou que a cisplatina reduziu os níveis de NGF em tecidos periféricos produtores de NGF e que, a administração exógena de NGF, restaurou os déficits neurológicos induzidos pela cisplatina nestes animais (ALOE et al., 2000).

1.8.1 Estratégias de prevenção e tratamento da neuropatia induzida pela cisplatina

Diferentes compostos tem sido propostos como sendo eficazes na prevenção da neuropatia induzida pela cisplatina (ALBERS et al., 2014). Alguns exemplos são descritos abaixo:

- Amifostina, um tiofosfato orgânico que atua como sequestrador de radicais livres, apresentou proteção seletiva dos tecidos normais contra os efeitos tóxicos induzidos pelos compostos de platina, sem influenciar a eficácia antitumoral (KANAT et al., 2003).

- Glutationa reduzida (GSH), cuja região nucleofílica apresenta alta afinidade para metais pesados, talvez seja capaz de prevenir o acúmulo de cisplatina no interior do gânglio da raiz dorsal (CASCINU et al., 2002).
- Neuropeptídeo Org 2766, um análogo do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), foi relatado como capaz de melhorar a neuropatia induzida pela cisplatina por meio de efeitos tróficos, reforçando os mecanismos endógenos de reparo do nervo (VAN DER HOOP et al., 1990).
- Vitamina E, um poderoso antioxidante, protege contra os danos induzidos pelos radicais livres (PACE et al., 2003).
- Acetilcisteína (NAC), um suplemento nutricional capaz de aumentar a concentração de glutathione no sangue, inibindo o acúmulo de cisplatina nos gânglios da raiz dorsal (LIN et al., 2006).
- Ácido retinóico – todos os *trans*-ácidos retinóicos se ligam e ativam receptores de ácido retinóico, além de estimular NGF e também a expressão de seus receptores (ARRIETA et al., 2005).

Dentre todos os compostos acima relatados, destacam-se a amifostina, glutathione e vitamina E, porém, os resultados ainda são modestos. Até o presente momento, não existem evidências sólidas da eficácia e segurança desses agentes que suportem seu uso terapêutico contra a neuropatia periférica induzida pela cisplatina (ALBERS et al., 2014; AVAN et al., 2015).

1.9 Éster fenetil do ácido cafeico (CAPE)

O éster fenetil do ácido cafeico (CAPE) é um composto bioativo extraído do própolis, um produto natural secretado pelas abelhas (MURTAZA et al., 2014). O CAPE é um polifenol com grupos hidroxilas, os quais são responsáveis por muitas de suas atividades biológicas (Figura 7) (WANG et al., 2006).

Figura 7. Estrutura química do CAPE.

Diversos estudos *in vivo* e *in vitro* vêm abordando o potencial neuroprotetor do CAPE; porém os mecanismos tem sido atribuídos principalmente às suas propriedades imunomodulatórias, anti-inflamatórias e anti-oxidantes (FAROOQUI; FAROOQUI, 2012; TOLBA et al., 2013). O aumento na produção de espécies reativas de oxigênio, mediadores pró-inflamatórios e citocinas são eventos comuns às diversas doenças neurodegenerativas (TOLBA et al., 2013) e as propriedades anti-inflamatórias e anti-oxidantes do CAPE poderiam ter efeitos benéficos nesses processos. Porém, muitos estudos tem associado a neurodegeneração do SNC e periférico aos efeitos precoces relacionados ao dano axonal e perdas na plasticidade sináptica (GORDON, 2009; KANAAN et al., 2013; CAMINITI et al., 2017). Tais estudos sugerem um papel relevante da regeneração da plasticidade axonal e sináptica nas estratégias de proteção contra a neurodegeneração e justificam a busca de moléculas com atividade neurotrófica, isto é, que sejam capazes de ativar receptores de neurotrofinas e ativar as mesmas vias das neurotrofinas endógenas, proporcionando novas opções terapêuticas para uma ampla gama de desordens neurológicas tanto do sistema nervoso central quanto periférico (LONGO; MASSA, 2013).

Em nosso laboratório já demonstramos a participação da atividade neurotrófica no mecanismo de proteção do CAPE em células PC12 tratadas com a neurotoxina MPP⁺, (SANTOS et al., 2014) e em ratos tratados com a neurotoxina 6-OHDA (SILVA et al., 2013), ambos modelos relacionados ao Parkinsonismo.

Até o momento não há estudos acerca do efeito protetor do CAPE contra a neurotoxicidade da cisplatina e pouco se sabe sobre os mecanismos neurotóxicos da cisplatina, particularmente com relação à plasticidade axonal e sináptica. Estes temas foram abordados no presente estudo.

6. CONCLUSÃO

Os efeitos neurotóxicos da cisplatina foram induzidos por uma concentração não citotóxica (5 μ M), a qual foi capaz de inibir o crescimento de neuritos e reduzir a expressão das proteínas neuronais (GAP-43, sinapsina I e sinaptofisina) e do citoesqueleto (NF-200, β -III-tubulina e F-actina) em células PC12 sem induzir dano mitocondrial, apoptose e estresse oxidativo. Neste estágio, a neurotoxicidade da cisplatina não foi mediada pelo NGF e nem pelos receptores trkA, uma vez que a cisplatina não afetou a expressão de NGF nas células PC12, porém, reduziu o crescimento de neuritos nas células SH-SY5Y, sugerindo um mecanismo independente da via NGF/trkA. Sendo assim, a cisplatina pode afetar a plasticidade axonal antes do dano ao DNA, da regulação negativa da via NFG/trkA, do dano mitocondrial ou da apoptose neuronal. A diminuição da captação da glicose induzida pela cisplatina, pode estar associada à redução na expressão das proteínas relacionadas ao estado energético, sugerindo que a regulação negativa da AMPK α , da fosfo-AMPK α e da SIRT1 podem estar envolvidas no mecanismo de neurotoxicidade da cisplatina. A cisplatina também inibiu a captação do glutamato via EAAT2 de uma maneira não específica, ressaltando a necessidade de estudos mais detalhados, uma vez que outros processos podem ser modulados e participarem desta inibição.

O CAPE atenuou os efeitos inibitórios da cisplatina sobre a diferenciação celular, sobre os marcadores de neuroplasticidade axonal (GAP-43, sinapsina I e sinaptofisina), sobre as proteínas do citoesqueleto (NF-200, β -III-tubulina e F-actina) e também sobre os marcadores do perfil energético (AMPK α , da fosfo-AMPK α e da SIRT1). Adicionalmente, o CAPE aumentou a viabilidade das células PC12 expostas à IC₅₀ da cisplatina. O mecanismo neuroprotetor do CAPE é independente e não aditivo ao efeito do NGF, pode envolver a ativação dos receptores trkA, bem como das vias de sinalização neurotrófica MAPK/Erk e PI3K/Akt. Tais resultados sugerem a contribuição da neuroplasticidade no mecanismo de neuroproteção do CAPE contra a neurotoxicidade induzida pela cisplatina, particularmente durante a fase inicial do processo, na qual ocorre o dano axonal. Portanto, o CAPE é um agente neuroprotetor promissor e a sua eficácia terapêutica na neuropatia sensorial periférica induzida pela cisplatina deveria ser objeto de futuros estudos *in vivo* e ensaios clínicos.

REFERÊNCIAS

- ABDUL MUNEEB, P. M. et al. Ethanol impairs glucose uptake by human astrocytes and neurons: protective effects of acetyl-L-carnitine. **Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol**, v. 3, n. 1, p. 48-56, 2011.
- ALBERS, J. W. et al. Interventions for preventing neuropathy caused by cisplatin and related compounds. **Cochrane Database Syst Rev**, n. 3, p. CD005228, 2014.
- ALBERTS, B. **Biologia Molecular da Célula**. Artmed 2010.
- ALI, B. H.; AL MOUNDHRI, M. S. Agents ameliorating or augmenting the nephrotoxicity of cisplatin and other platinum compounds: a review of some recent research. **Food Chem Toxicol**, v. 44, n. 8, p. 1173-83, Aug 2006.
- ALLEN, S. J.; DAWBARN, D. Clinical relevance of the neurotrophins and their receptors. **Clin Sci (Lond)**, v. 110, n. 2, p. 175-91, Feb 2006.
- ALOE, L. et al. Evidence that nerve growth factor promotes the recovery of peripheral neuropathy induced in mice by cisplatin: behavioral, structural and biochemical analysis. **Auton Neurosci**, v. 86, n. 1-2, p. 84-93, Dec 28 2000.
- ALOE, L. et al. Nerve growth factor: from the early discoveries to the potential clinical use. **J Transl Med**, v. 10, p. 239, Nov 29 2012.
- AMABLE, L. Cisplatin resistance and opportunities for precision medicine. **Pharmacol Res**, v. 106, p. 27-36, Apr 2016.
- AMARA, S. G.; FONTANA, A. C. Excitatory amino acid transporters: keeping up with glutamate. **Neurochem Int**, v. 41, n. 5, p. 313-8, Nov 2002.
- AMPTOULACH, S.; TSAVARIS, N. Neurotoxicity caused by the treatment with platinum analogues. **Chemother Res Pract**, v. 2011, p. 843019, 2011.
- ANGELETTI, P. U. et al. Effect of a Nerve Growth Factor on Glucose Metabolism by Sympathetic and Sensory Nerve Cells. **Biochim Biophys Acta**, v. 90, p. 445-50, Sep 4 1964.
- ANJANEYULU, M.; BERENT-SPILLSON, A.; RUSSELL, J. W. Metabotropic glutamate receptors (mGluRs) and diabetic neuropathy. **Curr Drug Targets**, v. 9, n. 1, p. 85-93, Jan 2008.
- AREVALO, J. C. et al. TrkA immunoglobulin-like ligand binding domains inhibit spontaneous activation of the receptor. **Mol Cell Biol**, v. 20, n. 16, p. 5908-16, Aug 2000.
- ARGYRIOU, A. A. et al. Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity (CIPN): an update. **Crit Rev Oncol Hematol**, v. 82, n. 1, p. 51-77, Apr 2012.

ARRIETA, O. et al. Retinoic acid increases tissue and plasma contents of nerve growth factor and prevents neuropathy in diabetic mice. **Eur J Clin Invest**, v. 35, n. 3, p. 201-7, Mar 2005.

AUTHIER, N. et al. An animal model of nociceptive peripheral neuropathy following repeated cisplatin injections. **Exp Neurol**, v. 182, n. 1, p. 12-20, Jul 2003a.

_____. A new animal model of vincristine-induced nociceptive peripheral neuropathy. **Neurotoxicology**, v. 24, n. 6, p. 797-805, Dec 2003b.

AVAN, A. et al. Platinum-induced neurotoxicity and preventive strategies: past, present, and future. **Oncologist**, v. 20, n. 4, p. 411-32, Apr 2015.

BEART, P. M.; O'SHEA, R. D. Transporters for L-glutamate: an update on their molecular pharmacology and pathological involvement. **Br J Pharmacol**, v. 150, n. 1, p. 5-17, Jan 2007.

BENOWITZ, L. I.; ROUTTENBERG, A. GAP-43: an intrinsic determinant of neuronal development and plasticity. **Trends Neurosci**, v. 20, n. 2, p. 84-91, Feb 1997.

BERGLES, D. E. et al. Glutamatergic synapses on oligodendrocyte precursor cells in the hippocampus. **Nature**, v. 405, n. 6783, p. 187-91, May 11 2000.

BERGMANN, M. et al. Expression of synaptophysin during the prenatal development of the rat spinal cord: correlation with basic differentiation processes of neurons. **Neuroscience**, v. 42, n. 2, p. 569-82, 1991.

BERNHARDSON, B. M.; TISHELMAN, C.; RUTQVIST, L. E. Chemosensory changes experienced by patients undergoing cancer chemotherapy: a qualitative interview study. **J Pain Symptom Manage**, v. 34, n. 4, p. 403-12, Oct 2007.

BINKS, S. P.; DOBROTA, M. Kinetics and mechanism of uptake of platinum-based pharmaceuticals by the rat small intestine. **Biochem Pharmacol**, v. 40, n. 6, p. 1329-36, Sep 15 1990.

BLAIR, L. A. et al. Akt-dependent potentiation of L channels by insulin-like growth factor-1 is required for neuronal survival. **J Neurosci**, v. 19, n. 6, p. 1940-51, Mar 15 1999.

BOEKELHEIDE, K.; ARCILA, M. E.; EVELETH, J. cis-diamminedichloroplatinum (II) (cisplatin) alters microtubule assembly dynamics. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 116, n. 1, p. 146-51, Sep 1992.

BOSS, V. et al. Nerve growth factor, but not epidermal growth factor, increases Fra-2 expression and alters Fra-2/JunD binding to AP-1 and CREB binding elements in pheochromocytoma (PC12) cells. **J Neurosci**, v. 21, n. 1, p. 18-26, Jan 1 2001.

BOTTONE, M. G. et al. Cell proliferation, apoptosis and mitochondrial damage in rat B50 neuronal cells after cisplatin treatment. **Cell Prolif**, v. 41, n. 3, p. 506-20, Jun 2008.

BRADKE, F.; DOTTI, C. G. Neuronal polarity: vectorial cytoplasmic flow precedes axon formation. **Neuron**, v. 19, n. 6, p. 1175-86, Dec 1997.

BROUWERS, E. E. et al. Persistent neuropathy after treatment with cisplatin and oxaliplatin. **Acta Oncol**, v. 48, n. 6, p. 832-41, 2009.

BRUNTON, L. L. **Goodman & Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2012.

BUNN, R. C.; JENSEN, M. A.; REED, B. C. Protein interactions with the glucose transporter binding protein GLUT1CBP that provide a link between GLUT1 and the cytoskeleton. **Mol Biol Cell**, v. 10, n. 4, p. 819-32, Apr 1999.

BURSTYN, J. N. et al. Formation of cis-diamminedichloroplatinum(II) 1,2-intrastrand cross-links on DNA is flanking-sequence independent. **Nucleic Acids Res**, v. 28, n. 21, p. 4237-43, Nov 1 2000.

CALABRESE, E. J. Enhancing and regulating neurite outgrowth. **Crit Rev Toxicol**, v. 38, n. 4, p. 391-418, 2008.

CAMINITI, S. P. et al. Axonal damage and loss of connectivity in nigrostriatal and mesolimbic dopamine pathways in early Parkinson's disease. **Neuroimage Clin**, v. 14, p. 734-740, 2017.

CANTA, A.; POZZI, E.; CAROZZI, V. A. Mitochondrial Dysfunction in Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy (CIPN). **Toxics**, v. 3, n. 2, p. 198-223, Jun 5 2015.

CARLSON, K.; EHRICH, M. Organophosphorus compounds alter intracellular F-actin content in SH-SY5Y human neuroblastoma cells. **Neurotoxicology**, v. 22, n. 6, p. 819-27, Dec 2001.

CAROZZI, V.; MARMIROLI, P.; CAVALETTI, G. Focus on the role of Glutamate in the pathology of the peripheral nervous system. **CNS Neurol Disord Drug Targets**, v. 7, n. 4, p. 348-60, Oct 2008.

CAROZZI, V. A.; CANTA, A.; CHIORAZZI, A. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: What do we know about mechanisms? **Neurosci Lett**, v. 596, p. 90-107, Jun 2 2015.

CAROZZI, V. A. et al. Expression and distribution of 'high affinity' glutamate transporters GLT1, GLAST, EAAC1 and of GCP II in the rat peripheral nervous system. **J Anat**, v. 213, n. 5, p. 539-46, Nov 2008.

CAROZZI, V. A.; CERESA, C. The role of glutamate in diabetic and in chemotherapy induced peripheral neuropathies and its regulation by glutamate carboxypeptidase II. **Curr Med Chem**, v. 19, n. 9, p. 1261-8, 2012.

CAROZZI, V. A. et al. Glutamate carboxypeptidase inhibition reduces the severity of chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity in rat. **Neurotox Res**, v. 17, n. 4, p. 380-91, May 2010.

CAROZZI, V. A. et al. Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity in immune-deficient mice: new useful ready-to-use animal models. **Exp Neurol**, v. 264, p. 92-102, Feb 2015.

CAROZZI, V. A.; MARMIROLI, P.; CAVALETTI, G. The role of oxidative stress and anti-oxidant treatment in platinum-induced peripheral neurotoxicity. **Curr Cancer Drug Targets**, v. 10, n. 7, p. 670-82, Nov 2010.

CASCINU, S. et al. Neuroprotective effect of reduced glutathione on oxaliplatin-based chemotherapy in advanced colorectal cancer: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **J Clin Oncol**, v. 20, n. 16, p. 3478-83, Aug 15 2002.

CASSON, R. J. et al. Translational neuroprotection research in glaucoma: a review of definitions and principles. **Clin Exp Ophthalmol**, v. 40, n. 4, p. 350-7, May-Jun 2012.

CAVALETTI, G. et al. Chemotherapy-induced neuropathy. **Curr Treat Options Neurol**, v. 13, n. 2, p. 180-90, Apr 2011.

CAVALETTI, G. et al. Early predictors of peripheral neurotoxicity in cisplatin and paclitaxel combination chemotherapy. **Ann Oncol**, v. 15, n. 9, p. 1439-42, Sep 2004.

CAVALETTI, G. et al. Cisplatin-induced peripheral neurotoxicity in rats reduces the circulating levels of nerve growth factor. **Neurosci Lett**, v. 322, n. 2, p. 103-6, Apr 5 2002.

CEPEDA, V. et al. Biochemical mechanisms of cisplatin cytotoxicity. **Anticancer Agents Med Chem**, v. 7, n. 1, p. 3-18, Jan 2007.

CERSOSIMO, R. J. Cisplatin neurotoxicity. **Cancer Treat Rev**, v. 16, n. 4, p. 195-211, Dec 1989.

CHABNER, B. A.; LONGO, D. L. E. Reed, Cisplatin, carboplatin, and oxaliplatin. In: B.A. CHABNER, D. L. L. E. (Ed.). **Cancer Chemotherapy and Biotherapy: Principles and Practice**. 4th edition, Lippincott, Williams & Wilkins. Philadelphia, 2006. p.332-343.

CHABNER, B. A.; LONGO, D. L. E. Reed, Platinum analogues. In: B.A. CHABNER, D. L. L. E. (Ed.). **Cancer Chemotherapy and Biotherapy: Principles and Practice**. 5th edition, Lippincott, Williams and Wilkins. Philadelphia, 2011. p.310-322.

CHANG, H. C.; GUARENTE, L. SIRT1 and other sirtuins in metabolism. **Trends Endocrinol Metab**, v. 25, n. 3, p. 138-45, Mar 2014.

CHAO, M. V.; RAJAGOPAL, R.; LEE, F. S. Neurotrophin signalling in health and disease. **Clin Sci (Lond)**, v. 110, n. 2, p. 167-73, Feb 2006.

CHIA, P. H.; LI, P.; SHEN, K. Cell biology in neuroscience: cellular and molecular mechanisms underlying presynapse formation. **J Cell Biol**, v. 203, n. 1, p. 11-22, Oct 14 2013.

CHIORAZZI, A.; SEMPERBONI, S.; MARMIROLI, P. Current View in Platinum Drug Mechanisms of Peripheral Neurotoxicity. **Toxics**, v. 3, n. 3, p. 304-321, Aug 7 2015.

CHO, T.; TIFFANY-CASTIGLIONI, E. Neurofilament 200 as an indicator of differences between mipafox and paraoxon sensitivity in Sy5Y neuroblastoma cells. **J Toxicol Environ Health A**, v. 67, n. 13, p. 987-1000, Jul 9 2004.

CONDE, C.; CACERES, A. Microtubule assembly, organization and dynamics in axons and dendrites. **Nat Rev Neurosci**, v. 10, n. 5, p. 319-32, May 2009.

COWAN, W. M.; JESSELL, T. M.; ZIPURSKY, S. L. Molecular and cellular approaches to neural development. **New York: Oxford University Press**, 1997.

CROWDER, R. J.; FREEMAN, R. S. Phosphatidylinositol 3-kinase and Akt protein kinase are necessary and sufficient for the survival of nerve growth factor-dependent sympathetic neurons. **J Neurosci**, v. 18, n. 8, p. 2933-43, Apr 15 1998.

_____. The survival of sympathetic neurons promoted by potassium depolarization, but not by cyclic AMP, requires phosphatidylinositol 3-kinase and Akt. **J Neurochem**, v. 73, n. 2, p. 466-75, Aug 1999.

DA SILVA, J. S.; DOTTI, C. G. Breaking the neuronal sphere: regulation of the actin cytoskeleton in neuritogenesis. **Nat Rev Neurosci**, v. 3, n. 9, p. 694-704, Sep 2002.

DANBOLT, N. C. Glutamate uptake. **Prog Neurobiol**, v. 65, n. 1, p. 1-105, Sep 2001.

DANI, J. W.; ARMSTRONG, D. M.; BENOWITZ, L. I. Mapping the development of the rat brain by GAP-43 immunocytochemistry. **Neuroscience**, v. 40, n. 1, p. 277-87, 1991.

DAS, K. P.; FREUDENRICH, T. M.; MUNDY, W. R. Assessment of PC12 cell differentiation and neurite growth: a comparison of morphological and neurochemical measures. **Neurotoxicol Teratol**, v. 26, n. 3, p. 397-406, May-Jun 2004.

DE SANTIS, S. et al. Patients treated with antitumor drugs displaying neurological deficits are characterized by a low circulating level of nerve growth factor. **Clin Cancer Res**, v. 6, n. 1, p. 90-5, Jan 2000.

DECHANT, G.; BARDE, Y. A. The neurotrophin receptor p75(NTR): novel functions and implications for diseases of the nervous system. **Nat Neurosci**, v. 5, n. 11, p. 1131-6, Nov 2002.

DEDOV, V. N.; ARMATI, P. J.; ROUFOGALIS, B. D. Three-dimensional organisation of mitochondrial clusters in regenerating dorsal root ganglion (DRG) neurons from neonatal rats: evidence for mobile mitochondrial pools. **Journal of the Peripheral Nervous System**, v. 5, n. 1, p. 3-10, Mar 2000.

DEFRONZO, R. A.; TRIPATHY, D. Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v. 32 Suppl 2, p. S157-63, Nov 2009.

DIENEL, G. A. Fueling and imaging brain activation. **ASN Neuro**, v. 4, n. 5, Jul 20 2012.

DOS SANTOS, N. A. et al. Dimethylthiourea protects against mitochondrial oxidative damage induced by cisplatin in liver of rats. **Chem Biol Interact**, v. 170, n. 3, p. 177-86, Dec 15 2007.

DOS SANTOS, N. A. et al. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) protects PC12 cells from MPP⁺ toxicity by inducing the expression of neuron-typical proteins. **Neurotoxicology**, v. 45, p. 131-8, Dec 2014.

DUDEK, H. et al. Regulation of neuronal survival by the serine-threonine protein kinase Akt. **Science**, v. 275, n. 5300, p. 661-5, Jan 31 1997.

DWYER, D. S. et al. Attachment of PC12 cells to adhesion substratum induces the accumulation of glucose transporters (GLUTs) and stimulates glucose metabolism. **Neurochem Res**, v. 23, n. 8, p. 1107-16, Aug 1998.

DZAGNIDZE, A. et al. Repair capacity for platinum-DNA adducts determines the severity of cisplatin-induced peripheral neuropathy. **J Neurosci**, v. 27, n. 35, p. 9451-7, Aug 29 2007.

EASTMAN, A.; SCHULTE, N. Enhanced DNA repair as a mechanism of resistance to cis-diamminedichloroplatinum(II). **Biochemistry**, v. 27, n. 13, p. 4730-4, Jun 28 1988.

EDSJO, A. et al. Differences in early and late responses between neurotrophin-stimulated trkA- and trkC-transfected SH-SY5Y neuroblastoma cells. **Cell Growth Differ**, v. 12, n. 1, p. 39-50, Jan 2001.

EDSON, K.; WEISSHAAR, B.; MATUS, A. Actin depolymerisation induces process formation on MAP2-transfected non-neuronal cells. **Development**, v. 117, n. 2, p. 689-700, Feb 1993.

EGAWA-TAKATA, T. et al. Early reduction of glucose uptake after cisplatin treatment is a marker of cisplatin sensitivity in ovarian cancer. **Cancer Sci**, v. 101, n. 10, p. 2171-8, Oct 2010.

EHRHART-BORNSTEIN, M. et al. Parallel expression of synaptophysin and evoked neurotransmitter release during development of cultured neurons. **Int J Dev Neurosci**, v. 9, n. 5, p. 463-71, 1991.

EID, H. M. et al. Caffeic acid methyl and ethyl esters exert potential antidiabetic effects on glucose and lipid metabolism in cultured murine insulin-sensitive cells through mechanisms implicating activation of AMPK. **Pharm Biol**, v. 55, n. 1, p. 2026-2034, Dec 2017.

FAROOQUI, T.; FAROOQUI, A. A. Beneficial effects of propolis on human health and neurological diseases. **Front Biosci (Elite Ed)**, v. 4, p. 779-93, 2012.

FERREIRA, A.; RAPOPORT, M. The synapsins: beyond the regulation of neurotransmitter release. **Cell Mol Life Sci**, v. 59, n. 4, p. 589-95, Apr 2002.

FERRY, K. V.; HAMILTON, T. C.; JOHNSON, S. W. Increased nucleotide excision repair in cisplatin-resistant ovarian cancer cells: role of ERCC1-XPF. **Biochem Pharmacol**, v. 60, n. 9, p. 1305-13, Nov 1 2000.

FILBIN, M. T. Axon regeneration: Vaccinating against spinal cord injury. **Curr Biol**, v. 10, n. 3, p. R100-3, Feb 10 2000.

FLASKOS, J. et al. The effects of carbaryl and trichlorphon on differentiating mouse N2a neuroblastoma cells. **Toxicol Lett**, v. 110, n. 1-2, p. 79-84, Oct 29 1999.

FLETCHER, T. L. et al. The distribution of synapsin I and synaptophysin in hippocampal neurons developing in culture. **J Neurosci**, v. 11, n. 6, p. 1617-26, Jun 1991.

FONTANA, A. C. Current approaches to enhance glutamate transporter function and expression. **J Neurochem**, v. 134, n. 6, p. 982-1007, Sep 2015.

FRANKER, M. A.; HOOGENRAAD, C. C. Microtubule-based transport - basic mechanisms, traffic rules and role in neurological pathogenesis. **J Cell Sci**, v. 126, n. Pt 11, p. 2319-29, Jun 1 2013.

FRYE, R. A. Phylogenetic classification of prokaryotic and eukaryotic Sir2-like proteins. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 273, n. 2, p. 793-8, Jul 5 2000.

FUJITA, K.; LAZAROVICI, P.; GUROFF, G. Regulation of the differentiation of PC12 pheochromocytoma cells. **Environ Health Perspect**, v. 80, p. 127-42, Mar 1989.

GATELY, D. P.; HOWELL, S. B. Cellular accumulation of the anticancer agent cisplatin: a review. **Br J Cancer**, v. 67, n. 6, p. 1171-6, Jun 1993.

GEUNA, S. et al. Plasticity and regeneration in the peripheral nervous system. **Ital J Anat Embryol**, v. 115, n. 1-2, p. 91-4, 2010.

GILL, J. S.; WINDEBANK, A. J. Cisplatin-induced apoptosis in rat dorsal root ganglion neurons is associated with attempted entry into the cell cycle. **J Clin Invest**, v. 101, n. 12, p. 2842-50, Jun 15 1998.

GONZALEZ, V. M. et al. Is cisplatin-induced cell death always produced by apoptosis? **Mol Pharmacol**, v. 59, n. 4, p. 657-63, Apr 2001.

GORDON, T. The role of neurotrophic factors in nerve regeneration. **Neurosurg Focus**, v. 26, n. 2, p. E3, Feb 2009.

GREENE, L. A.; TISCHLER, A. S. Establishment of a noradrenergic clonal line of rat adrenal pheochromocytoma cells which respond to nerve growth factor. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 73, n. 7, p. 2424-8, Jul 1976.

GREGG, R. W. et al. Cisplatin neurotoxicity: the relationship between dosage, time, and platinum concentration in neurologic tissues, and morphologic evidence of toxicity. **J Clin Oncol**, v. 10, n. 5, p. 795-803, May 1992.

GRISOLD, W.; CAVALETTI, G.; WINDEBANK, A. J. Peripheral neuropathies from chemotherapeutics and targeted agents: diagnosis, treatment, and prevention. **Neuro Oncol**, v. 14 Suppl 4, p. iv45-54, Sep 2012.

GRUNBERG, S. M. et al. Progressive paresthesias after cessation of therapy with very high-dose cisplatin. **Cancer Chemother Pharmacol**, v. 25, n. 1, p. 62-4, 1989.

GUO, Z. H.; MATTSON, M. P. In vivo 2-deoxyglucose administration preserves glucose and glutamate transport and mitochondrial function in cortical synaptic terminals after exposure to amyloid beta-peptide and iron: evidence for a stress response. **Exp Neurol**, v. 166, n. 1, p. 173-9, Nov 2000.

HANSEN, M. B.; NIELSEN, S. E.; BERG, K. Re-examination and further development of a precise and rapid dye method for measuring cell growth/cell kill. **J Immunol Methods**, v. 119, n. 2, p. 203-10, May 12 1989.

HARDIE, D. G.; ALESSI, D. R. LKB1 and AMPK and the cancer-metabolism link - ten years after. **BMC Biol**, v. 11, p. 36, Apr 15 2013.

HARDIE, D. G.; CARLING, D. The AMP-activated protein kinase--fuel gauge of the mammalian cell? **Eur J Biochem**, v. 246, n. 2, p. 259-73, Jun 1 1997.

HARDIE, D. G. et al. Management of cellular energy by the AMP-activated protein kinase system. **FEBS Lett**, v. 546, n. 1, p. 113-20, Jul 3 2003.

HARRILL, J. A.; MUNDY, W. R. Quantitative assessment of neurite outgrowth in PC12 cells. **Methods Mol Biol**, v. 758, p. 331-48, 2011.

HARRILL, J. A.; ROBINETTE, B. L.; MUNDY, W. R. Use of high content image analysis to detect chemical-induced changes in synaptogenesis in vitro. **Toxicol In Vitro**, v. 25, n. 1, p. 368-87, Feb 2011.

HAUPT, S. et al. Apoptosis - the p53 network. **J Cell Sci**, v. 116, n. Pt 20, p. 4077-85, Oct 15 2003.

HAUSHEER, F. H. et al. Diagnosis, management, and evaluation of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. **Semin Oncol**, v. 33, n. 1, p. 15-49, Feb 2006.

HEATHER WEST GREENLEE, M. et al. Glucose uptake in PC12 cells: GLUT3 vesicle trafficking and fusion as revealed with a novel GLUT3-GFP fusion protein. **J Neurosci Res**, v. 73, n. 4, p. 518-25, Aug 15 2003.

HOLOHAN, C. et al. Cancer drug resistance: an evolving paradigm. **Nat Rev Cancer**, v. 13, n. 10, p. 714-26, Oct 2013.

HORVATH, P. et al. Changes in tracheo-bronchial sensory neuropeptide receptor gene expression pattern in rats with cisplatin-induced sensory neuropathy. **Neuropeptides**, v. 40, n. 1, p. 77-83, Feb 2006.

HOTULAINEN, P.; HOOGENRAAD, C. C. Actin in dendritic spines: connecting dynamics to function. **J Cell Biol**, v. 189, n. 4, p. 619-29, May 17 2010.

HROMAS, R. A.; NORTH, J. A.; BURNS, C. P. Decreased cisplatin uptake by resistant L1210 leukemia cells. **Cancer Lett**, v. 36, n. 2, p. 197-201, Aug 1987.

HU, X. et al. Activity-dependent dynamic microtubule invasion of dendritic spines. **J Neurosci**, v. 28, n. 49, p. 13094-105, Dec 3 2008.

HUANG, E. J.; REICHARDT, L. F. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. **Annu Rev Neurosci**, v. 24, p. 677-736, 2001.

_____. Trk receptors: roles in neuronal signal transduction. **Annu Rev Biochem**, v. 72, p. 609-42, 2003.

HWANG, J. T.; KWON, D. Y.; YOON, S. H. AMP-activated protein kinase: a potential target for the diseases prevention by natural occurring polyphenols. **N Biotechnol**, v. 26, n. 1-2, p. 17-22, Oct 1 2009.

JAMIESON, E. R.; LIPPARD, S. J. Structure, Recognition, and Processing of Cisplatin-DNA Adducts. **Chem Rev**, v. 99, n. 9, p. 2467-98, Sep 8 1999.

JAWORSKI, J. et al. Dynamic microtubules regulate dendritic spine morphology and synaptic plasticity. **Neuron**, v. 61, n. 1, p. 85-100, Jan 15 2009.

JOHNSON, E. M. et al. Adenosine 3',5-monophosphate-dependent phosphorylation of a specific protein in synaptic membrane fractions from rat cerebrum. **J Biol Chem**, v. 247, n. 17, p. 5650-2, Sep 10 1972.

JOHNSTON, G. A. R. Glutamate: Transmitter in the Central Nervous System. In: WILEY (Ed.). Chichester, UK, 1981. p.77.

JOHNSTONE, T. C.; SUNTHARALINGAM, K.; LIPPARD, S. J. Third row transition metals for the treatment of cancer. **Philos Trans A Math Phys Eng Sci**, v. 373, n. 2037, Mar 13 2015.

KANAAN, N. M. et al. Axonal degeneration in Alzheimer's disease: when signaling abnormalities meet the axonal transport system. **Exp Neurol**, v. 246, p. 44-53, Aug 2013.

KANAT, O. et al. Protective effect of amifostine against toxicity of paclitaxel and carboplatin in non-small cell lung cancer: a single center randomized study. **Med Oncol**, v. 20, n. 3, p. 237-45, 2003.

KAO, S. et al. Identification of the mechanisms regulating the differential activation of the mapk cascade by epidermal growth factor and nerve growth factor in PC12 cells. **J Biol Chem**, v. 276, n. 21, p. 18169-77, May 25 2001.

KAPITEIN, L. C.; HOOGENRAAD, C. C. Building the Neuronal Microtubule Cytoskeleton. **Neuron**, v. 87, n. 3, p. 492-506, Aug 5 2015.

KAPLAN, D. R. et al. Induction of TrkB by retinoic acid mediates biologic responsiveness to BDNF and differentiation of human neuroblastoma cells. Eukaryotic Signal Transduction Group. **Neuron**, v. 11, n. 2, p. 321-31, Aug 1993.

KAPLAN, D. R.; MILLER, F. D. Neurotrophin signal transduction in the nervous system. **Curr Opin Neurobiol**, v. 10, n. 3, p. 381-91, Jun 2000.

KAPLAN, D. R.; STEPHENS, R. M. Neurotrophin signal transduction by the Trk receptor. **J Neurobiol**, v. 25, n. 11, p. 1404-17, Nov 1994.

KEDAR, A.; COHEN, M. E.; FREEMAN, A. I. Peripheral neuropathy as a complication of cis-dichlorodiammineplatinum(II) treatment: a case report. **Cancer Treat Rep**, v. 62, n. 5, p. 819-21, May 1978.

KELLAND, L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. **Nat Rev Cancer**, v. 7, n. 8, p. 573-84, Aug 2007.

KELLEY, M. R. et al. Role of the DNA base excision repair protein, APE1 in cisplatin, oxaliplatin, or carboplatin induced sensory neuropathy. **PLoS One**, v. 9, n. 9, p. e106485, 2014.

KESSELS, M. M. et al. Controlling actin cytoskeletal organization and dynamics during neuronal morphogenesis. **Eur J Cell Biol**, v. 90, n. 11, p. 926-33, Nov 2011.

KEVENAAR, J. T.; HOOGENRAAD, C. C. The axonal cytoskeleton: from organization to function. **Front Mol Neurosci**, v. 8, p. 44, 2015.

KIM, D. H. et al. SIRT1 activation by resveratrol ameliorates cisplatin-induced renal injury through deacetylation of p53. **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 301, n. 2, p. F427-35, Aug 2011.

KIM, H. B.; YOO, B. S. Propolis Inhibits Neurite Outgrowth in Differentiating SH-SY5Y Human Neuroblastoma Cells. **Toxicol Res**, v. 32, n. 3, p. 239-43, Jul 2016.

KIM, Y. C. Neuroprotective phenolics in medicinal plants. **Arch Pharm Res**, v. 33, n. 10, p. 1611-32, Oct 2010.

KIRYUSHKO, D.; BEREZIN, V.; BOCK, E. Regulators of neurite outgrowth: role of cell adhesion molecules. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1014, p. 140-54, Apr 2004.

KIZILAY, A. et al. Caffeic acid phenethyl ester ameliorated ototoxicity induced by cisplatin in rats. **J Chemother**, v. 16, n. 4, p. 381-7, Aug 2004.

KLEIN, R.; BROWN, D.; TURNLEY, A. M. Phenoxodiol protects against Cisplatin induced neurite toxicity in a PC-12 cell model. **BMC Neurosci**, v. 8, p. 61, 2007.

KOSTANDY, B. B. The role of glutamate in neuronal ischemic injury: the role of spark in fire. **Neurol Sci**, v. 33, n. 2, p. 223-37, Apr 2012.

KRARUP-HANSEN, A. et al. Neuronal involvement in cisplatin neuropathy: prospective clinical and neurophysiological studies. **Brain**, v. 130, n. Pt 4, p. 1076-88, Apr 2007.

KURAUCHI, Y. et al. Caffeic acid phenethyl ester protects nigral dopaminergic neurons via dual mechanisms involving haem oxygenase-1 and brain-derived neurotrophic factor. **Br J Pharmacol**, v. 166, n. 3, p. 1151-68, Jun 2012.

L'EPISCOPO, F. et al. A Wnt1 regulated Frizzled-1/beta-Catenin signaling pathway as a candidate regulatory circuit controlling mesencephalic dopaminergic neuron-astrocyte crosstalk: Therapeutical relevance for neuron survival and neuroprotection. **Mol Neurodegener**, v. 6, p. 49, 2011.

LEE, E. S. et al. CAPE (caffeic acid phenethyl ester) stimulates glucose uptake through AMPK (AMP-activated protein kinase) activation in skeletal muscle cells. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 361, n. 4, p. 854-8, Oct 5 2007.

LEE, R. H. et al. Cisplatin-induced apoptosis by translocation of endogenous Bax in mouse collecting duct cells. **Biochem Pharmacol**, v. 62, n. 8, p. 1013-23, Oct 15 2001.

LEHRE, K. P. et al. Differential expression of two glial glutamate transporters in the rat brain: quantitative and immunocytochemical observations. **J Neurosci**, v. 15, n. 3 Pt 1, p. 1835-53, Mar 1995.

LEVY, Y. S. et al. Therapeutic potential of neurotrophic factors in neurodegenerative diseases. **BioDrugs**, v. 19, n. 2, p. 97-127, 2005.

LEWIS, T. L., JR.; COURCHET, J.; POLLEUX, F. Cell biology in neuroscience: Cellular and molecular mechanisms underlying axon formation, growth, and branching. **J Cell Biol**, v. 202, n. 6, p. 837-48, Sep 16 2013.

LI, D. et al. Cardioprotection of CAPE-oNO₂ against myocardial ischemia/reperfusion induced ROS generation via regulating the SIRT1/eNOS/NF- κ B pathway in vivo and in vitro. **Redox Biology**, v. 15, p. 62-73, 2018.

LI, L. et al. Caffeic acid phenethyl ester attenuates lipopolysaccharide-stimulated proinflammatory responses in human gingival fibroblasts via NF- κ B and PI3K/Akt signaling pathway. **Eur J Pharmacol**, v. 794, p. 61-68, Jan 5 2017.

LI, X. SIRT1 and energy metabolism. **Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)**, v. 45, n. 1, p. 51-60, Jan 2013.

LIANG, X. J. et al. SIRT1 contributes in part to cisplatin resistance in cancer cells by altering mitochondrial metabolism. **Mol Cancer Res**, v. 6, n. 9, p. 1499-506, Sep 2008.

LIN, C. W. et al. Neurotrophic and cytoprotective action of luteolin in PC12 cells through ERK-dependent induction of Nrf2-driven HO-1 expression. **J Agric Food Chem**, v. 58, n. 7, p. 4477-86, Apr 14 2010.

LIN, P. C. et al. N-acetylcysteine has neuroprotective effects against oxaliplatin-based adjuvant chemotherapy in colon cancer patients: preliminary data. **Support Care Cancer**, v. 14, n. 5, p. 484-7, May 2006.

LIPPARD, S. J. Chemistry and molecular biology of cisplatin anticancer drugs. **Pure Appl. Chem**, v. 59, p. 731-42, 1987.

LOBNER, D. Comparison of the LDH and MTT assays for quantifying cell death: validity for neuronal apoptosis? **J Neurosci Methods**, v. 96, n. 2, p. 147-52, Mar 15 2000.

LONGO, F. M.; MASSA, S. M. Small-molecule modulation of neurotrophin receptors: a strategy for the treatment of neurological disease. **Nat Rev Drug Discov**, v. 12, n. 7, p. 507-25, Jul 2013.

LU, M. et al. Neuronal Sirt1 Deficiency Increases Insulin Sensitivity in Both Brain and Peripheral Tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 15, p. 10722-10735, 03/01 12/10/received 02/26/revised 2013.

LU, Z. et al. The expression of glutamate transporters in chest compression-induced audiogenic epilepsy: a comparative study. **Neurol Res**, v. 30, n. 9, p. 915-9, Nov 2008.

MACCIO, A.; MADEDDU, C. Cisplatin : an old drug with a newfound efficacy -- from mechanisms of action to cytotoxicity. **Expert Opin Pharmacother**, v. 14, n. 13, p. 1839-57, Sep 2013.

MAEDER, C. I.; SHEN, K.; HOOGENRAAD, C. C. Axon and dendritic trafficking. **Curr Opin Neurobiol**, v. 27, p. 165-70, Aug 2014.

MAINARDI, M.; FUSCO, S.; GRASSI, C. Modulation of hippocampal neural plasticity by glucose-related signaling. **Neural Plast**, v. 2015, p. 657928, 2015.

MALLOLAS, J. et al. A polymorphism in the EAAT2 promoter is associated with higher glutamate concentrations and higher frequency of progressing stroke. **J Exp Med**, v. 203, n. 3, p. 711-7, Mar 20 2006.

MANN, S. C.; ANDREWS, P. A.; HOWELL, S. B. Modulation of cis-diamminedichloroplatinum(II) accumulation and sensitivity by forskolin and 3-isobutyl-1-methylxanthine in sensitive and resistant human ovarian carcinoma cells. **Int J Cancer**, v. 48, n. 6, p. 866-72, Jul 30 1991.

MANNI, L. et al. Nerve growth factor: basic studies and possible therapeutic applications. **Growth Factors**, v. 31, n. 4, p. 115-22, Aug 2013.

MARSHALL, C. J. Specificity of receptor tyrosine kinase signaling: transient versus sustained extracellular signal-regulated kinase activation. **Cell**, v. 80, n. 2, p. 179-85, Jan 27 1995.

MARTINO, G. et al. Brain regeneration in physiology and pathology: the immune signature driving therapeutic plasticity of neural stem cells. **Physiol Rev**, v. 91, n. 4, p. 1281-304, Oct 2011.

MATTSON, M. P.; LIU, D. Energetics and oxidative stress in synaptic plasticity and neurodegenerative disorders. **Neuromolecular Med**, v. 2, n. 2, p. 215-31, 2002.

MATTSON, M. P.; PARTIN, J. Evidence for mitochondrial control of neuronal polarity. **Journal of Neuroscience Research**, v. 56, n. 1, p. 8-20, Apr 1 1999.

MATTSON, M. P.; ZHANG, Y.; BOSE, S. Growth factors prevent mitochondrial dysfunction, loss of calcium homeostasis, and cell injury, but not ATP depletion in hippocampal neurons deprived of glucose. **Exp Neurol**, v. 121, n. 1, p. 1-13, May 1993.

MAWRIN, C. et al. Changes of retinal glutamate transporter GLT-1 mRNA levels following optic nerve damage. **Mol Vis**, v. 9, p. 10-3, Jan 13 2003.

MCDONALD, E. S.; WINDEBANK, A. J. Cisplatin-induced apoptosis of DRG neurons involves bax redistribution and cytochrome c release but not fas receptor signaling. **Neurobiol Dis**, v. 9, n. 2, p. 220-33, Mar 2002.

MCGUIRE, C. B.; SNIPES, G. J.; NORDEN, J. J. Light-microscopic immunolocalization of the growth- and plasticity-associated protein GAP-43 in the developing rat brain. **Brain Res**, v. 469, n. 1-2, p. 277-91, Jun 1 1988.

MEHTA, A. et al. Excitotoxicity: bridge to various triggers in neurodegenerative disorders. **Eur J Pharmacol**, v. 698, n. 1-3, p. 6-18, Jan 5 2013.

MELLI, G. et al. Alpha-lipoic acid prevents mitochondrial damage and neurotoxicity in experimental chemotherapy neuropathy. **Exp Neurol**, v. 214, n. 2, p. 276-84, Dec 2008.

MENG, L. et al. Carbon Nanotubes: Short Multiwall Carbon Nanotubes Promote Neuronal Differentiation of PC12 Cells via Up-Regulation of the Neurotrophin Signaling Pathway (Small 9–10/2013). **Small**, v. 9, n. 9-10, p. 1413-1413, 2013.

MILLER, R. H.; LASEK, R. J. Cross-bridges mediate anterograde and retrograde vesicle transport along microtubules in squid axoplasm. **J Cell Biol**, v. 101, n. 6, p. 2181-93, Dec 1985.

MILTENBURG, N. C.; BOOGERD, W. Chemotherapy-induced neuropathy: A comprehensive survey. **Cancer Treat Rev**, v. 40, n. 7, p. 872-82, Aug 2014.

MIN, S.-W. et al. Sirtuins in neurodegenerative diseases: an update on potential mechanisms. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 5, p. 53, 09/25 07/17/received 09/02/accepted 2013.

MIYAMOTO, E. Molecular mechanism of neuronal plasticity: induction and maintenance of long-term potentiation in the hippocampus. **J Pharmacol Sci**, v. 100, n. 5, p. 433-42, 2006.

MONNET-TSCHUDI, F. et al. Microglial responsiveness as a sensitive marker for trimethyltin (TMT) neurotoxicity. **Brain Res**, v. 690, n. 1, p. 8-14, Aug 28 1995.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J Immunol Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, Dec 16 1983.

MURPHY, A. et al. Neurofilament expression in human T lymphocytes. **Immunology**, v. 79, n. 1, p. 167-70, May 1993.

MURTAZA, G. et al. Caffeic acid phenethyl ester and therapeutic potentials. **Biomed Res Int**, v. 2014, p. 145342, 2014.

NICOLINI, G.; MONFRINI, M.; SCUTERI, A. Axonal Transport Impairment in Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. **Toxics**, v. 3, n. 3, p. 322-341, Aug 7 2015.

O'CALLAGHAN, J. P.; MILLER, D. B. Assessment of chemically-induced alterations in brain development using assays of neuron- and glia-localized proteins. **Neurotoxicology**, v. 10, n. 3, p. 393-406, Fall 1989.

OHMACHI, M.; ZHU, G.; SALTIEL, A. R. Nerve growth factor activates calcium-insensitive protein kinase C-epsilon in PC-12 rat pheochromocytoma cells. **Biochem J**, v. 295 (Pt 3), p. 767-72, Nov 1 1993.

OZEN, S. et al. Role of caffeic acid phenethyl ester, an active component of propolis, against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. **J Appl Toxicol**, v. 24, n. 1, p. 27-35, Jan-Feb 2004.

PACE, A. et al. Vitamin E neuroprotection for cisplatin neuropathy: a randomized, placebo-controlled trial. **Neurology**, v. 74, n. 9, p. 762-6, Mar 2 2010.

PACE, A. et al. Neuroprotective effect of vitamin E supplementation in patients treated with cisplatin chemotherapy. **J Clin Oncol**, v. 21, n. 5, p. 927-31, Mar 1 2003.

PARK, S. B. et al. Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity: a critical analysis. **CA Cancer J Clin**, v. 63, n. 6, p. 419-37, Nov-Dec 2013.

PARK, S. B. et al. Mechanisms underlying chemotherapy-induced neurotoxicity and the potential for neuroprotective strategies. **Curr Med Chem**, v. 15, n. 29, p. 3081-94, 2008.

PARRAN, D. K.; BARONE, S., JR.; MUNDY, W. R. Methylmercury decreases NGF-induced TrkA autophosphorylation and neurite outgrowth in PC12 cells. **Brain Res Dev Brain Res**, v. 141, n. 1-2, p. 71-81, Mar 14 2003.

PENG, S. et al. Glutamate receptors and signal transduction in learning and memory. **Mol Biol Rep**, v. 38, n. 1, p. 453-60, Jan 2011.

PHAN, C. W. et al. Hericium erinaceus (Bull.: Fr) Pers. cultivated under tropical conditions: isolation of hericenones and demonstration of NGF-mediated neurite outgrowth in PC12 cells via MEK/ERK and PI3K-Akt signaling pathways. **Food Funct**, v. 5, n. 12, p. 3160-9, Dec 2014.

PODRATZ, J. L. et al. Cisplatin induced mitochondrial DNA damage in dorsal root ganglion neurons. **Neurobiol Dis**, v. 41, n. 3, p. 661-8, Mar 2011.

POLLARD, T. D.; COOPER, J. A. Actin, a central player in cell shape and movement. **Science**, v. 326, n. 5957, p. 1208-12, Nov 27 2009.

PRIOR, R. et al. Defective axonal transport: A common pathological mechanism in inherited and acquired peripheral neuropathies. **Neurobiol Dis**, v. 105, p. 300-320, Sep 2017.

PRZYBORSKI, S. A.; CAMBRAY-DEAKIN, M. A. Developmental changes in GAP-43 expression in primary cultures of rat cerebellar granule cells. **Brain Res Mol Brain Res**, v. 25, n. 3-4, p. 273-85, Sep 1994.

QUASTHOFF, S.; HARTUNG, H. P. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy. **J Neurol**, v. 249, n. 1, p. 9-17, Jan 2002.

RASBAND, W. S. **ImageJ, U. S. National Institutes of Health**. Bethesda, Maryland, USA <http://imagej.nih.gov/ij/> 1997-2014.

RAY, A. L. Neuroplasticity, Sensitization, and Pain In: DEER, T. R.; LEONG, M. S. e RAY, A. L. (Ed.). **Treatment of Chronic Pain by Integrative Approaches**, 2015. cap. 2, p.15-24.

REBILLARD, A.; LAGADIC-GOSSMANN, D.; DIMANCHE-BOITREL, M. T. Cisplatin cytotoxicity: DNA and plasma membrane targets. **Curr Med Chem**, v. 15, n. 26, p. 2656-63, 2008.

REICHARDT, L. F. Neurotrophin-regulated signalling pathways. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci**, v. 361, n. 1473, p. 1545-64, Sep 29 2006.

RICHON, V. M.; SCHULTE, N.; EASTMAN, A. Multiple mechanisms of resistance to cis-diamminedichloroplatinum(II) in murine leukemia L1210 cells. **Cancer Res**, v. 47, n. 8, p. 2056-61, Apr 15 1987.

RONNETT, G. V. et al. AMPK in the brain: its roles in energy balance and neuroprotection. **J Neurochem**, v. 109 Suppl 1, p. 17-23, May 2009.

ROSENBERG, B.; VANCAMP, L.; KRIGAS, T. Inhibition of Cell Division in Escherichia Coli by Electrolysis Products from a Platinum Electrode. **Nature**, v. 205, p. 698-9, Feb 13 1965.

ROSENBERG, B. et al. Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. **Nature**, v. 222, n. 5191, p. 385-6, Apr 26 1969.

RUSSELL, J. W. et al. Effect of cisplatin and ACTH4-9 on neural transport in cisplatin induced neurotoxicity. **Brain Res**, v. 676, n. 2, p. 258-67, Apr 10 1995.

SANTOS, N. A. et al. Cisplatin-induced nephrotoxicity is associated with oxidative stress, redox state unbalance, impairment of energetic metabolism and apoptosis in rat kidney mitochondria. **Arch Toxicol**, v. 81, n. 7, p. 495-504, Jul 2007.

SANTOS, N. A. G. D. et al. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) protects PC12 cells from MPP+ toxicity by inducing the expression of neurontypical proteins. **Neurotoxicology**, v. 45, p. 131-138, 2014.

SCHIMMELPFENG, J.; WEIBEZAHN, K. F.; DERTINGER, H. Quantification of NGF-dependent neuronal differentiation of PC-12 cells by means of neurofilament-L mRNA expression and neuronal outgrowth. **J Neurosci Methods**, v. 139, n. 2, p. 299-306, Oct 30 2004.

SCOTT, H. L. et al. Aberrant expression of the glutamate transporter excitatory amino acid transporter 1 (EAAT1) in Alzheimer's disease. **J Neurosci**, v. 22, n. 3, p. RC206, Feb 1 2002.

SIEGAL, T.; HAIM, N. Cisplatin-induced peripheral neuropathy. Frequent off-therapy deterioration, demyelinating syndromes, and muscle cramps. **Cancer**, v. 66, n. 6, p. 1117-23, Sep 15 1990.

SILVA, R. B. et al. Caffeic acid phenethyl ester protects against the dopaminergic neuronal loss induced by 6-hydroxydopamine in rats. **Neuroscience**, v. 233, p. 86-94, 2013.

SKENE, J. H. Axonal growth-associated proteins. **Annu Rev Neurosci**, v. 12, p. 127-56, 1989.

SOFRONIEW, M. V.; HOWE, C. L.; MOBLEY, W. C. Nerve growth factor signaling, neuroprotection, and neural repair. **Annu Rev Neurosci**, v. 24, p. 1217-81, 2001.

SORENSEN, C. M.; EASTMAN, A. Mechanism of cis-diamminedichloroplatinum(II)-induced cytotoxicity: role of G2 arrest and DNA double-strand breaks. **Cancer Res**, v. 48, n. 16, p. 4484-8, Aug 15 1988.

SPASIC, M. R.; CALLAERTS, P.; NORGA, K. K. AMP-activated protein kinase (AMPK) molecular crossroad for metabolic control and survival of neurons. **Neuroscientist**, v. 15, n. 4, p. 309-16, Aug 2009.

SRIVASTAVA, A. N. et al. Cisplatin combination chemotherapy induces oxidative stress in advance non small cell lung cancer patients. **Asian Pac J Cancer Prev**, v. 11, n. 2, p. 465-71, 2010.

STAROBOVA, H.; VETTER, I. Pathophysiology of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. **Front Mol Neurosci**, v. 10, p. 174, 2017.

SUNG, B.; LIM, G.; MAO, J. Altered expression and uptake activity of spinal glutamate transporters after nerve injury contribute to the pathogenesis of neuropathic pain in rats. **J Neurosci**, v. 23, n. 7, p. 2899-910, Apr 1 2003.

TAPLEY, P.; LAMBALLE, F.; BARBACID, M. K252a is a selective inhibitor of the tyrosine protein kinase activity of the trk family of oncogenes and neurotrophin receptors. **Oncogene**, v. 7, n. 2, p. 371-81, Feb 1992.

THEIL, G. Synapsin I, synapsin II, and synaptophysin: marker proteins for synaptic vesicle. **Brain Pathol**, v. 3, p. 87-95, 1993.

THOUDIS, G. et al. Glucose transporter Glut3 is targeted to secretory vesicles in neurons and PC12 cells. **J Biol Chem**, v. 274, n. 20, p. 14062-6, May 14 1999.

TOLBA, M. F. et al. Caffeic acid phenethyl ester, a promising component of propolis with a plethora of biological activities: a review on its anti-inflammatory, neuroprotective, hepatoprotective, and cardioprotective effects. **IUBMB Life**, v. 65, n. 8, p. 699-709, Aug 2013.

TSAI, C. F. et al. Regulatory effects of caffeic acid phenethyl ester on neuroinflammation in microglial cells. **Int J Mol Sci**, v. 16, n. 3, p. 5572-89, Mar 11 2015.

TSOULFAS, P. et al. TrkC isoforms with inserts in the kinase domain show impaired signaling responses. **J Biol Chem**, v. 271, n. 10, p. 5691-7, Mar 8 1996.

UEDA, M.; HAYASHIBARA, K.; ASHIDA, H. Propolis extract promotes translocation of glucose transporter 4 and glucose uptake through both PI3K- and AMPK-dependent pathways in skeletal muscle. **Biofactors**, v. 39, n. 4, p. 457-66, Jul-Aug 2013.

UEDA, T.; GREENGARD, P. Adenosine 3':5'-monophosphate-regulated phosphoprotein system of neuronal membranes. I. Solubilization, purification, and some properties of an endogenous phosphoprotein. **J Biol Chem**, v. 252, n. 14, p. 5155-63, Jul 25 1977.

VAN DEN BOSCH, L. et al. The role of excitotoxicity in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis. **Biochim Biophys Acta**, v. 1762, n. 11-12, p. 1068-82, Nov-Dec 2006.

VAN DER HOOP, R. G. et al. Prevention of cisplatin neurotoxicity with an ACTH(4-9) analogue in patients with ovarian cancer. **N Engl J Med**, v. 322, n. 2, p. 89-94, Jan 11 1990.

VANELLA, L. et al. Caffeic Acid Phenethyl Ester Regulates PPAR's Levels in Stem Cells-Derived Adipocytes. **PPAR Res**, v. 2016, p. 7359521, 2016.

VAUDRY, D. et al. Signaling pathways for PC12 cell differentiation: making the right connections. **Science**, v. 296, n. 5573, p. 1648-9, May 31 2002.

VERBERNE, A. J.; SABETGHADAM, A.; KORIM, W. S. Neural pathways that control the glucose counterregulatory response. **Front Neurosci**, v. 8, p. 38, 2014.

WALKER, K. et al. mGlu5 receptors and nociceptive function II. mGlu5 receptors functionally expressed on peripheral sensory neurones mediate inflammatory hyperalgesia. **Neuropharmacology**, v. 40, n. 1, p. 10-9, 2001.

WANG, D.; LIPPARD, S. J. Cellular processing of platinum anticancer drugs. **Nat Rev Drug Discov**, v. 4, n. 4, p. 307-20, Apr 2005.

WANG, J. et al. Resveratrol protects against Cisplatin-induced cardiotoxicity by alleviating oxidative damage. **Cancer Biother Radiopharm**, v. 24, n. 6, p. 675-80, Dec 2009.

WANG, L. Y.; TANG, Z. J.; HAN, Y. Z. Neuroprotective effects of caffeic acid phenethyl ester against sevoflurane-induced neuronal degeneration in the hippocampus of neonatal rats involve MAPK and PI3K/Akt signaling pathways. **Mol Med Rep**, v. 14, n. 4, p. 3403-12, Oct 2016.

WANG, X. et al. Cytoprotective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and catechol ring-fluorinated CAPE derivatives against menadione-induced oxidative stress in human endothelial cells. **Bioorg Med Chem**, v. 14, n. 14, p. 4879-87, Jul 15 2006.

WANG, Y.; QIN, Z. H. Molecular and cellular mechanisms of excitotoxic neuronal death. **Apoptosis**, v. 15, n. 11, p. 1382-402, Nov 2010.

WATKINS, J. C. L-glutamate as a central neurotransmitter: looking back. **Biochem Soc Trans**, v. 28, n. 4, p. 297-309, 2000.

WAYMAN, G. A. et al. An activity-regulated microRNA controls dendritic plasticity by down-regulating p250GAP. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 105, n. 26, p. 9093-8, Jul 1 2008.

WIENDL, H. et al. Gaps Between Aims and Achievements in Therapeutic Modification of Neuronal Damage ("Neuroprotection"). **Neurotherapeutics**, v. 12, n. 2, p. 449-54, Apr 2015.

WILLIAMS, D. S. et al. Disruption of microfilament organization and deregulation of disk membrane morphogenesis by cytochalasin D in rod and cone photoreceptors. **J Comp Neurol**, v. 272, n. 2, p. 161-76, Jun 8 1988.

WILLIAMS, T. M. et al. Lead enhances NGF-induced neurite outgrowth in PC12 cells by potentiating ERK/MAPK activation. **Neurotoxicology**, v. 21, n. 6, p. 1081-9, Dec 2000.

WILMES, A. et al. Mechanism of cisplatin proximal tubule toxicity revealed by integrating transcriptomics, proteomics, metabolomics and biokinetics. **Toxicol In Vitro**, v. 30, n. 1 Pt A, p. 117-27, Dec 25 2015.

WILSON, J. M. et al. Decrease in glial glutamate transporter variants and excitatory amino acid receptor down-regulation in a murine model of ALS-PDC. **Neuromolecular Med**, v. 3, n. 2, p. 105-18, 2003.

WINDEBANK, A. J.; GRISOLD, W. Chemotherapy-induced neuropathy. **J Peripher Nerv Syst**, v. 13, n. 1, p. 27-46, Mar 2008.

WOLTJER, R. L. et al. Aberrant detergent-insoluble excitatory amino acid transporter 2 accumulates in Alzheimer disease. **J Neuropathol Exp Neurol**, v. 69, n. 7, p. 667-76, Jul 2010.

WU, G. et al. Induction of axon-like and dendrite-like processes in neuroblastoma cells. **J Neurocytol**, v. 27, n. 1, p. 1-14, Jan 1998.

XU, L.; ASH, J. D. The Role of AMPK Pathway in Neuroprotection. **Adv Exp Med Biol**, v. 854, p. 425-30, 2016.

YAO, R.; COOPER, G. M. Requirement for phosphatidylinositol-3 kinase in the prevention of apoptosis by nerve growth factor. **Science**, v. 267, n. 5206, p. 2003-6, Mar 31 1995.

YI, J. H.; HAZELL, A. S. Excitotoxic mechanisms and the role of astrocytic glutamate transporters in traumatic brain injury. **Neurochem Int**, v. 48, n. 5, p. 394-403, Apr 2006.

ZENG, H. H.; LU, J. F.; WANG, K. The effect of cisplatin and transplatin on the conformation and association of F-actin. **Cell Biol Int**, v. 19, n. 6, p. 491-7, Jun 1995.

ZENG, H. H. et al. Studies on the thermokinetic characterisation of actin polymerization and the effect of cisplatin. **Int J Biol Macromol**, v. 18, n. 3, p. 161-6, Apr 1996.

ZENG, H. H.; XU, Z. H.; WANG, K. FT-Raman studies on the transformation of G-actin to F-actin, the binding of cisplatin and transplatin to F-actin and the effects of the conformation of F-actin. **Int J Biol Macromol**, v. 20, n. 2, p. 107-13, Apr 1997.

ZHANG, J. Z.; ISMAIL-BEIGI, F. Activation of Glut1 glucose transporter in human erythrocytes. **Arch Biochem Biophys**, v. 356, n. 1, p. 86-92, Aug 1 1998.