

**U. PORTO**



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR  
UNIVERSIDADE DO PORTO



**Mestrado Integrado em Medicina**  
**Dissertação**

**Tratamento da Neuropatia Periférica – Fármacos**  
**Modificadores de Doença**

Artigo de Revisão Bibliográfica

**Ana Sofia dos Santos Rua**

**Orientador: Dr. Rui Manuel Fonseca Morais Carvalho**

**Porto**

**2013**

**U. PORTO**



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR  
UNIVERSIDADE DO PORTO



**Mestrado Integrado em Medicina**  
**Dissertação**

**Tratamento da Neuropatia Periférica – Fármacos**  
**Modificadores de Doença**

Artigo de Revisão Bibliográfica

**Ana Sofia dos Santos Rua**

6º Ano do Mestrado Integrado em Medicina

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto

Rua de Jorge Viterbo Ferreira n.º 228, 4050-313 PORTO

sofiarua\_@hotmail.com

**Orientador: Dr. Rui Manuel Fonseca Morais Carvalho**

Licenciado em Medicina

Assistente Graduado de Endocrinologia no Centro Hospitalar do Porto

**Porto**

**2013**

## Índice

|                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------|----|
| Índice de Abreviaturas .....                                        | 3  |
| Resumo .....                                                        | 4  |
| Palavras-chave .....                                                | 4  |
| <b>1. Introdução</b> .....                                          | 6  |
| <b>2. Objetivos</b> .....                                           | 7  |
| <b>3. Fármacos Modificadores de Doença</b> .....                    | 7  |
| <b>3.1. Controlo Intensivo da Glicemia</b> .....                    | 8  |
| <b>3.2. Antioxidantes</b> .....                                     | 8  |
| 3.2.1. Ácido $\alpha$ -lipóico .....                                | 8  |
| 3.2.2. Ácido $\gamma$ -linolénico .....                             | 9  |
| <b>3.3. Inibidores da Enzima de Conversão da Angiotensina</b> ..... | 10 |
| <b>3.4. Produtos da Glicosilação Avançada</b> .....                 | 11 |
| <b>3.5. L-Acetil-Carnitina</b> .....                                | 12 |
| <b>3.6. Inibidores da Poli(ADP-ribose) Polimerase</b> .....         | 13 |
| <b>3.7. Benfotiamina</b> .....                                      | 14 |
| <b>3.8. Sildenafil</b> .....                                        | 14 |
| <b>3.9. Proteína cinase C</b> .....                                 | 15 |
| <b>3.10. Fatores de Crescimento</b> .....                           | 16 |
| 3.10.1. Neurotrofinas .....                                         | 16 |
| 3.10.2. Fator de Crescimento Insulina-like .....                    | 17 |
| 3.10.3. Fator neurotrófico derivado Ciliar .....                    | 18 |
| 3.10.4. Fator de Crescimento Endotelial Vascular .....              | 19 |
| 3.10.5. Proteína Associada à Neogénese das Ilhotas .....            | 20 |
| 3.10.6. Eritropoietina .....                                        | 20 |
| <b>3.11. Peptídeo C</b> .....                                       | 21 |
| <b>3.12. Inibidores da Aldose Redutase</b> .....                    | 23 |
| <b>3.13. Análogos das Prostaglandinas</b> .....                     | 24 |
| <b>3.14. Baicaleína</b> .....                                       | 24 |
| <b>3.15. Timosina <math>\beta</math>4</b> .....                     | 25 |
| <b>4. Conclusão</b> .....                                           | 25 |
| <b>5. Bibliografia</b> .....                                        | 27 |

## Índice de Abreviaturas

- ACE – Enzima de conversão da angiotensina
- ACEI – Inibidor da enzima de conversão da angiotensina
- AGE – Produtos de glicosilação avançada
- ALC – L-Acetil-Carnitina
- BDNF – Fator neurotrófico derivado do cérebro
- BPS – Beraprost sódico
- cGMP – Monofosfato de guanosina cíclico
- CNTF – Fator neurotrófico derivado ciliar
- DM – Diabetes Mellitus
- EPO – Eritropoietina
- IGF – Fator de crescimento insulina-like
- INGAP – Proteína associada à neogénese das ilhotas
- IRA – Inibidores da aldose redutase
- ISO – 1,5-isoquinolidiol
- NDP – Neuropatia diabética periférica
- NFG – Fator de crescimento neuronal
- NT-3 – Neutrofina 3
- p38 MAPK – Proteína cinase p38 activada por mitogénios
- PARP – Poli(ADP-ribose) polimerase
- PDE5 – Fosfodiesterase 5
- PKC – Proteína cinase C
- PKG – Proteínas cinases dependentes do cGMP
- RAGE – Recetor dos produtos de glicosilação avançada
- VEGF – Fator de crescimento endotelial vascular

## Resumo

A Neuropatia Diabética Periférica, complicação tardia da diabetes, é uma entidade complexa, com manifestações somáticas e autonómicas do sistema nervoso periférico. Esta é bastante prevalente entre diabéticos e, tendo em consideração a morbilidade e mortalidade associadas, as opções terapêuticas atuais são um tanto limitadas.<sup>1-5</sup> Mais importante que as estratégias de prevenção e tratamento sintomático, impõe-se a necessidade de encontrar fármacos modificadores de doença.

O controlo intensivo da glicemia não só previne como evita a progressão da neuropatia em diabéticos do tipo 1, com efeito prolongado no tempo, sendo uma terapêutica sempre a considerar. Outras intervenções na doença têm vindo a ser propostas e investigadas e, ainda que inicialmente demonstrem um grande potencial, a maioria revela falta de eficácia ou efeitos laterais indesejáveis, pelo que as opções são ainda muito restritas.

## Palavras-chave

Diabetes Mellitus; Neuropatia Diabética Periférica; Fármacos Modificadores de Doença.

## **Abstract**

Diabetic Peripheral Neuropathy is a late and complex consequence of diabetes that includes manifestations in the somatic and autonomic parts of the peripheral nervous system. It's a prevalent disorder in patients with diabetes, with associated morbidity and mortality and limited therapeutic options.<sup>1-5</sup> Besides prevention and symptomatic treatment, there is need for disease-modifying treatments.

Intensive glycemic control should always be sought, since it prevents the onset of neuropathy and attenuates its progression in patients with type 1 diabetes, with long-lasting effects. Although several interventions have been proposed and studied, initially presenting potential benefits, most of them reveal unacceptable lateral effects of lack of efficacy so, currently, the available options are really restricted.

## **Keywords**

Diabetes Mellitus; Diabetic Peripheral Neuropathy; Disease-modifying Treatment.

## 1. Introdução

A neuropatia diabética define-se como a existência de sintomatologia evidente ou de um quadro subclínico, incluindo manifestações somáticas e autonómicas do sistema nervoso periférico, em indivíduos com Diabetes Mellitus (DM), sem outras causas.<sup>1,2</sup> Esta neuropatia diabética periférica (NDP) é uma entidade complexa, com importante morbilidade e mortalidade associadas e que, apesar de tudo, é bastante comum, surgindo, por norma, como uma complicação tardia da diabetes.<sup>3-5</sup> No entanto, estima-se que, entre diabéticos tipo 2 com diagnóstico recente, a sua prevalência seja de 10 a 18%.<sup>1</sup>

De forma geral, aproximadamente 30% dos indivíduos diabéticos apresentam neuropatia e irá eventualmente desenvolver-se em até 50% dos restantes.<sup>3</sup> Além disso, admite-se que 11 a 20% dos doentes irão desenvolver NDP dolorosa, acarretando prejuízo significativo na qualidade de vida.<sup>4</sup>

Estas alterações neurológicas ocorrem tanto na DM tipo 1 como no tipo 2 e vários fatores intervêm no seu desenvolvimento, nomeadamente metabólicos, vasculares, autoimunes, além de défices neuro-hormonais e de fatores de crescimento. Entre estes, e em particular de entre as alterações metabólicas, a hiperglicemia persistente afigura-se como o fator causal primário e de maior importância.<sup>6</sup> Juntamente com o mau controlo glicémico, também a duração da DM é reconhecidamente um fator de risco para início da neuropatia periférica, assim como outros componentes do síndrome metabólico, como dislipidemia, hipertrigliceridemia, obesidade e hipertensão.<sup>3-5,7</sup> Diversos estudos referem ainda como a excreção aumentada de albumina, o tabagismo e a hiperinsulinemia.<sup>4,5</sup>

Consoante o padrão de lesão neurológica, a neuropatia pode ser classificada em rapidamente reversível, neuropatia focal ou multifocal e polineuropatia simétrica persistente. Esta última, engloba a polineuropatia distal somática sensitivo-motora, com envolvimento predominante de grandes fibras, a neuropatia autonómica e a neuropatia de pequenas fibras.<sup>2</sup>

A neuropatia de pequenas fibras pode ocorrer precocemente, muitas das vezes, com dor e hiperalgesia observáveis antes ainda de serem detetáveis a desaceleração da condução nervosa e o défice sensitivo, com diminuição ou perda das sensibilidades dolorosa e térmica.<sup>2</sup>

O envolvimento de grandes fibras, com alterações sensitivas e motoras, leva a redução ou perda da sensibilidade ao toque e pressão, da sensibilidade vibratória, da capacidade de discriminação entre dois pontos, perda dos reflexos profundos, atrofia muscular e ataxia. A lesão de fibras sensitivas provoca ainda sintomas como parestesia, disestesia e dor.<sup>2,6</sup>

A forma de aparecimento mais comum e relevante é a polineuropatia periférica simétrica e sensitiva ou sensitivo-motora, sendo responsável por significativa incapacidade, morbidade e diminuição da qualidade de vida.<sup>2,3</sup> Esta tem início insidioso e, na ausência de intervenção, o seu curso é crónico e progressivo, verificando-se um atingimento inicial das extremidades com evolução no sentido proximal ao longo dos membros inferiores. Caso os membros superiores sejam também afetados, observa-se então uma neuropatia periférica em “luva e peúga”.<sup>2,6</sup> A PNP, que se associa frequentemente a lesão autonómica, com desajuste da vasorregulação e sudorese local, aumenta o risco de formação de calosidades, deformidade e úlceras.<sup>6,8</sup>

## **2. Objetivos**

Este trabalho tem como objetivo realizar uma revisão bibliográfica dos fármacos atualmente considerados para o tratamento da neuropatia periférica enquanto modificadores da doença. Pretende-se, assim, uma análise das terapêuticas cujo intuito é evitar ou atrasar a sua progressão em doentes diabéticos, uma vez que, e apesar das estratégias existentes, esta patologia continua a ser bastante prevalente e a acarretar importantes consequências tanto para o doente como para os serviços de saúde.

## **3. Fármacos Modificadores de Doença**

O tratamento na neuropatia diabética periférica baseia-se na prevenção, diminuição dos fatores de risco e das complicações e, quando necessário, tratamento sintomático. No entanto, impõe-se a necessidade de encontrar fármacos modificadores de doença, tendo sido propostos o controlo intensivo da glicemia e fármacos como o ácido  $\alpha$ -lipóico, inibidores da aldose redutase, fatores de crescimento, L-acetil-carnitina, entre outros discutidos adiante.<sup>3</sup>

De forma geral, para avaliação dos resultados obtidos com os vários fármacos são avaliados parâmetros clínicos, recorrendo nomeadamente a *scores* de avaliação de sintomas neuropáticos pré-existentes, eletrofisiológicos, como a velocidade de condução nervosa, e histológicos, como a visualização e quantificação de fibras nervosas epidérmicas, portanto, parâmetros considerados objetivos, reprodutíveis e com correlação às alterações das fibras nervosas subjacentes.<sup>9-11</sup>

### 3.1. Controlo Intensivo da Glicemia

Entre diabéticos do tipo 1, o controlo intensivo da glicemia, avaliado no *Diabetes Control and Complications Trial* (DCCT), com a manutenção da glicemia em valores tão próximos do normal quanto possível, não só diminui a incidência como também atrasa o desenvolvimento da NDP.<sup>1,12-16</sup> Além disso, o *Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications* (EDIC) veio demonstrar a existência de memória metabólica, ou efeito de legado, com benefício a longo prazo, por mais de 10 anos, em indivíduos previamente tratados com esquemas intensivos de insulina.<sup>1,12-14</sup> Apesar de tudo não há evidência que a terapia intensiva permita a regressão da neuropatia.<sup>1,13</sup>

No *UK Prospective Diabetes Study* (UKPDS), o tratamento intensivo de diabéticos do tipo 2 com metformina, sulfonilureias e insulina levou a diminuição das complicações microvasculares comparativamente à terapêutica convencional, também demonstrando efeitos favoráveis a longo prazo ou efeito de legado.<sup>17-20</sup> No entanto, os parâmetros para avaliação da NDP em particular eram limitados, não se encontrando evidência de alteração da sua progressão.<sup>1,13</sup>

### 3.2. Antioxidantes

Na diabetes induzida experimentalmente, o tratamento com diversos antioxidantes, como o butil-hidroxitolueno, a glutatona, o probucol, o ácido  $\alpha$ -lipóico e o ácido  $\gamma$ -linolénico, previnem tanto a deterioração da condução nervosa motora e sensitiva como as alterações no fluxo sanguíneo nervoso. De forma geral, estes apresentam capacidade de funcionar como captador (*scavenger*) de radicais livres, sendo que os agentes lipofílicos, tais como ácido  $\alpha$ -lipóico ou probucol, parecem ser mais eficazes do que os hidrofílicos, como a glutatona. Ainda que inicialmente promissores, muitos destes fármacos não demonstraram os resultados pretendidos em estudos clínicos.<sup>21</sup>

#### 3.2.1. Ácido $\alpha$ -lipóico

O ácido  $\alpha$ -lipóico, ou ácido tióctico, é um antioxidante capaz de regenerar outros antioxidantes e de quelar iões metálicos.<sup>22</sup> Os mecanismos pelos quais o ácido  $\alpha$ -lipóico exerce o seu efeito sobre os sintomas neuropáticos são ainda pouco exatos, no entanto, são consideradas duas hipóteses de maior consenso. A primeira descreve o crescimento dose-

dependente dos neuritos e alterações na fluidez da membrana mediadas pelos seus grupos sulfidrílo. Com a administração de ácido  $\alpha$ -lipóico há aumento de substâncias com grupos sulfidrílo no axónio e redução acentuada do desenvolvimento da neuropatia induzida experimentalmente. *In vivo*, o crescimento neurológico espontâneo e a integridade da membrana, na região terminal do nervo, podem ser mantidas através da administração deste fármaco.<sup>21</sup>

O stress oxidativo apresenta um papel de destaque no desenvolvimento de disfunção neurovascular mediada por radicais livres, quer por aumento da sua produção quer por alterações no metabolismo dos sistemas de defesa, predispondo a progressiva lesão celular e estando implicado na patogénese de diversas doenças neurodegenerativas, entre as quais a polineuropatia diabética.<sup>1,21,23</sup> O segundo mecanismo de ação do ácido  $\alpha$ -lipóico, e provavelmente o de maior importância, refere-se à sua capacidade de atuar como captador de radicais livres, sendo a base do seu potencial na terapêutica da neuropatia diabética.<sup>21,24</sup>

De facto, a administração do ácido  $\alpha$ -lipóico resultou em redução significativa de sintomas deficitários e neuropáticos após 3 semanas, num esquema de 600 mg I.V. por dia.<sup>1,22-</sup><sup>25</sup> Observa-se não só redução da dor e parestesias, mas também da sensação de queimor e dormência e, quando estes sintomas são avaliados conjuntamente por meio de *scores*, a diferença é observada após 5 dias. Ao longo do restante tempo de tratamento, até ao final da terceira semana, regista-se uma melhoria contínua e sustentada. A análise detalhada da dor através de questionários multidimensionais revela que os componentes afectivo e sensitivo da dor, ou seja, a experiência e percepção da dor, podem sofrer também alívio.<sup>21</sup> Há simultaneamente melhoria significativa no que se refere aos défices neuropáticos, avaliados por *scores* de incapacidade por neuropatia. Estes efeitos rápidos podem relacionar-se com um efeito agudo sobre a microcirculação, aumentando do fluxo sanguíneo ao nervo.<sup>23</sup>

O seu benefício e segurança foram também demonstrados, inclusivamente em estudos a longo prazo, observando-se boa tolerância, tendo sido licenciado na Alemanha e utilizado atualmente no tratamento sintomático da neuropatia diabética.<sup>1</sup> Apesar dos resultados positivos, permanece subutilizado em diversos países, embora comercialmente disponível enquanto suplemento nutricional.<sup>22</sup>

### 3.2.2. Ácido $\gamma$ -linolénico

O ácido  $\gamma$ -linolénico é um ácido gordo essencial, metabolizado em ácido dihomo-gama-linolénico, sendo um componente fosfolipídico da membrana neuronal. É ainda substrato para a formação da prostaglandina E, interferindo na manutenção da perfusão

sanguínea nervosa. Na diabetes, a conversão do ácido linoleico está diminuída e, portanto, há diminuição na produção dos metabolitos, com alteração da função normal.<sup>6,26</sup> O tratamento com ácido  $\gamma$ -linolénico durante 1 ano leva a melhorias significativas em tanto em medidas clínicas como eletrofisiológicas e há ainda um efeito hipolipemiante favorável.<sup>25,26</sup>

### **3.3. Inibidores da Enzima de Conversão da Angiotensina**

No tratamento da nefropatia e retinopatia diabéticas os inibidores da enzima de conversão da angiotensina (ACEI) são extensamente utilizados, sendo sugerido por alguns autores que, uma vez que previnem um tipo de complicação, podem também ter efeitos favoráveis noutras complicações, como a neuropatia.<sup>10,22,27</sup>

A enzima de conversão da angiotensina (ACE) tem um papel fundamental no equilíbrio entre as propriedades vasodilatadoras e natriuréticas da bradicinina, e as propriedades vasoconstritoras e retentoras de sal da angiotensina II. Um aumento na atividade da ACE, como observado na diabetes, altera esta homeostasia e promove a vasoconstrição e retenção de sal, efeito revertido pelos ACEI ao diminuir a formação de angiotensina II e a degradação da bradicinina.<sup>27</sup>

Também a perda da capacidade de relaxamento vascular das arteríolas epineurais, induzida pela acetilcolina, dependente do endotélio e mediada pelo óxido nítrico, predispõe para o compromisso da função neurológica.<sup>27</sup> Adicionalmente, fatores vasculares causam disfunção endotelial generalizada, como a hipertensão, um fator de risco independente para o desenvolvimento de neuropatia cuja intervenção passa pelos ACEI.<sup>10</sup>

O tratamento com ACEI, em modelos animais, melhora a neuropatia diabética, aumentando a síntese de óxido nítrico e o relaxamento vascular mediado pela acetilcolina.<sup>27</sup> O enalapril, na diabetes experimental, em particular, diminui os défices neurovasculares, aumentando o fluxo sanguíneo e a velocidade de condução nervosa motora. Por efeitos semelhantes a este último, também o lisinopril reduz a disfunção nervosa em modelos experimentais.<sup>10,27</sup> E, tanto o lisinopril como o trandolapril, em indivíduos diabéticos, levaram a melhoria da neuropatia diabética.<sup>22,27</sup>

### 3.4. Produtos da Glicosilação Avançada

Como resultado direto da hiperglicemia, há aumento de um grupo heterogéneo de moléculas, resultantes da reação não enzimática entre açúcares redutores e proteínas, com ligação entre os grupos carbonilo e o grupo amino, que formam bases de Schiff, compostos de Amadori e sofrem, conseqüentemente, diversos rearranjos por desidratação irreversível, condensação e ligação cruzada. Os produtos finais deste processo são os denominados produtos da glicosilação avançada (AGE), que são reconhecidamente implicados na patogénese da lesão neurológica própria da neuropatia diabética.<sup>22,28-31</sup>

Além dos monossacarídeos, também os compostos altamente reativos de dicarbonil ou os oxoaldeídos intervêm na produção de AGE, alguns dos quais levam à modificação de proteínas, lípidos e ácidos nucleicos. Os compostos altamente reativos de dicarbonil são muito mais reativos do que a glicose, implicando uma maior produção de AGE.<sup>22,28-32</sup>

Os compostos derivados dos AGE e, em particular, os compostos reativos de dicarbonil, estão elevados no plasma de indivíduos diabéticos, acumulando-se em tecidos propensos a complicações, como a retina, rins ou vasos dos nervos periféricos.<sup>28</sup>

Os AGE interagem com recetores da superfície celular, denominados RAGE, presentes em células endoteliais endoneurais e perineurais e em células de Schwann dos nervos periféricos.<sup>28,30</sup> Deste modo, induzem a modificação de componentes estruturais celulares, limitam a sua degradação e aumentam a agregação e semi-vida de proteínas glicosiladas.<sup>28</sup> A interação AGE-RAGE ativa, entre outros, o fator de transcrição NF- $\kappa$ B, que regula a inflamação e apoptose e induz stress oxidativo.<sup>22,30-32</sup>

Deste modo, compreende-se que os AGE interferem na progressão da neuropatia, observando-se alteração do fluxo sanguíneo neuronal, hipóxia e diminuição do suporte neurotrófico.<sup>22,30</sup> Estudos referem também uma correlação entre a desaceleração da velocidade de condução nervosa sensitiva e o aumento da deposição de AGE.<sup>28</sup>

A terapêutica com inibidores dos AGE intervêm em diversas frentes, visando reduzir a sua formação ou evitar a ativação dos seus recetores.<sup>22,28,29,32</sup> Enquanto inibidores da formação de AGE de relevo na neuropatia periférica encontram-se os antioxidantes, como o ácido  $\alpha$ -lipóico, os inibidores sintéticos, como a aminoguanidina, e a benfotiamina.

A aminoguanidina é um composto que impede a glicosilação, reagindo com os grupos carbonilo de açúcares redutores e inibindo a óxido nítrico sintetase, reduzindo a formação de AGE. Inicialmente demonstrou efeito terapêutico na neuropatia diabética e melhoria da velocidade de condução nervosa em modelos animais.<sup>6,26,29</sup> No entanto, não se obtiveram os

resultados esperados, observando-se ainda efeitos colaterais nos doentes, como perturbações gastrointestinais, alteração das enzimas hepáticas ou anemia.<sup>1,22</sup>

A interação entre AGE e o seu recetor pode ser impedida através da utilização de anticorpos para este recetor ou por administração de esRAGE, uma variante do RAGE que se liga aos AGE e impossibilitando a sua ação. O RAGE também pode ser bloqueado por utilização de RAGE solúvel (sRAGE), um domínio extracelular de ligação ao ligando do RAGE, que compete pelo local de ligação ao recetor.<sup>29,32</sup> O tratamento com sRAGE em roedores diminuiu os níveis séricos de AGE, sem afetar a concentração plasmática de glicose ou de insulina, sugerindo efeito independente destas.<sup>29</sup> Estudos demonstram que o sRAGE apresenta ação local e sistémica, melhora a cicatrização de feridas e previne os défices sensitivos em modelos animais.<sup>22,31</sup>

### **3.5. L-Acetil-Carnitina**

Na neuropatia diabética, há redução da disponibilidade de grupos acetil, em particular de L-acetil-carnitina (ALC), necessários à síntese de fosfolípidos, facilitando o seu transporte através da membrana mitocondrial interna para  $\beta$ -oxidação, promovendo a sua disponibilidade energética e evitando a sua acumulação tóxica.<sup>32</sup> O défice de ALC está associado a lesão das bainhas de mielina e ao desenvolvimento da NDP.<sup>9,33,34</sup>

A ALC tem uma série de efeitos benéficos por ação em múltiplas vias metabólicas como nas alterações da atividade da  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase neuronal e da óxido nítrico sintetase, do mio-inositol neuronal, das prostaglandinas e da peroxidação lipídica.<sup>32,33</sup> É aceite que a ALC estimula o aumento de fator de crescimento neuronal (NFG) e corrige os défices eletrofisiológicos por modulação da sua atividade.<sup>9</sup>

Efetivamente, a administração exógena de ALC, em específico de levacecarnina, associa-se ao aumento da produção do NGF em modelos roedores, aceleração da maturação neuronal em cultura, aumento da atividade antioxidante e a alterações em proteínas de permeabilidade microvascular.<sup>9</sup> Estudos de longa duração em modelos animais revelaram efeitos preventivos e terapêuticos sobre a função dos nervos periféricos e sobre as alterações estruturais e do fluxo sanguíneo endoneural.<sup>34</sup>

A administração de ALC melhorou significativamente os parâmetros de condução nervosa em indivíduos com neuropatia diabética, sugerindo reversão da lesão estrutural. Verificou-se aumento dos valores médios da velocidade de condução nervosa sensitiva e motora nos membros inferiores, após 6 meses, com consolidação dos achados até aos 12

meses de terapêutica.<sup>9</sup> Foram também descritos um aumento sensibilidade vibratória, melhoria da dor e efeito protetor face ao seu desenvolvimento.<sup>33,34</sup>

A terapêutica com ALC é bem tolerada, sem alterações significativas nos sinais vitais ou parâmetros hematológicos e bioquímicos, indicando a ausência de lesão de órgão específico, mesmo após uso prolongado.<sup>9</sup> Portanto, tendo em conta o seu bom perfil de segurança e o seu potencial para atrasar ou interromper os processos neurodegenerativos justifica-se a consideração deste fármaco na neuropatia diabética.<sup>9,26,33</sup>

### **3.6. Inibidores da Poli(ADP-ribose) Polimerase**

A poli(ADP-ribose) polimerase (PARP) atua por clivagem do NAD<sup>+</sup> em nicotinamida e ADP-ribose ligados a proteínas nucleares.<sup>22</sup> Deste processo resultam a depleção de NAD<sup>+</sup>, alterações na transcrição e expressão génicas, aumento da concentração de radicais livres e oxidantes e desvio de intermediários para outras vias glicolíticas patogénicas, tais como a PKC e a formação de AGE.<sup>11,22,35,36</sup> Esta enzima nuclear encontra-se em células de Schwann, células endoteliais e em neurónios sensitivos, manifestando-se clinicamente com diminuição da velocidade de condução nervosa, neuropatia de pequenas fibras, alterações neurovasculares, hiperalgesia térmica e mecânica e alodinia tátil.<sup>22,37</sup>

Os inibidores da PARP, tais como o 1,5-isoquinolinediol (ISO) e a 3-aminobenzamida, potencialmente atrasam ou revertem as complicações da diabetes, incluindo a neuropatia.<sup>1,22</sup> O ISO, em particular, alivia a dor neuropática e reduz as alterações sensitivas.<sup>36</sup> Também a nicotinamida (vitamina B3), em roedores, demonstrou bom perfil de segurança e toxicidade limitada, atua como um antioxidante e inibidor da PARP, melhorando as complicações da NDP precoce.<sup>22,37</sup>

No entanto, admite-se que esta abordagem terapêutica quando administrada de forma prolongada, e tratando-se de uma enzima envolvida na reparação do ADN, pode resultar em envelhecimento prematuro, perda da estabilidade do genoma e outros efeitos laterais. De forma a evitar estes efeitos, a terapêutica com inibidores da PARP em baixas doses combinada com lisinopril, um inibidor da enzima de conversão da angiotensina, ou com salbutamol, um agonista adrenérgico  $\beta_2$ , foi alvo de estudo. Estes esquemas permitem uma inibição parcial da PARP, sendo eficaz face a várias manifestações da neuropatia diabética precoce e provocando aumento do fluxo sanguíneo e da permeabilidade endoneural. O tratamento combinado com ISO e lisinopril regulariza a condução nervosa sensitiva, enquanto

com ISO e salbutamol houve normalização da condução nervosa sensitiva e motora, em modelos experimentais, sendo um modo de intervenção válido a considerar.<sup>36</sup>

### **3.7. Benfotiamina**

Benfotiamina é um precursor lipossolúvel da tiamina, ou vitamina B1, que ativa a transcetolase, uma enzima conversora da frutose-6-fosfato em pentose-5-fosfato. A redução da frutose-6 fosfato diminui a atividade da via das hexosaminas, do NF-kB, do diacilglicerol e da proteína cinase C e a formação de AGE, intervenientes no desenvolvimento da NDP.<sup>22,29,38</sup> Adicionalmente, e de forma independente da diminuição da produção de AGE, este fármaco diminui ainda o stress oxidativo e previne a disfunção do endotélio vascular.<sup>39</sup>

Administrada em doses de 300 mg ou 600 mg, por 6 semanas, leva a redução dos sintomas neuropáticos, com melhoria significativa na função motora e em *scores* para avaliação da sintomatologia.<sup>1</sup> A benfotiamina exerce ainda um papel significativo na redução da dor neuropática e na melhoria da função sensitiva e do limiar de perceção da vibração em indivíduos com neuropatia diabética. Alguns estudos apontam para uma ausência de alterações da velocidade de condução nervosa, a menos que administrada juntamente com as vitaminas B6 e B12.<sup>38,39</sup>

### **3.8. Sildenafil**

O sildenafil, um inibidor da fosfodiesterase 5 (PDE5), reduz o catabolismo e causa a acumulação intracelular de monofosfato de guanosina cíclico (cGMP). O cGMP e as proteínas cinases dependentes do cGMP (PKG) regulam a proliferação celular, a orientação axonal e a plasticidade sináptica.<sup>40</sup>

A hiperglicemia determina um aumento da PDE5 em células de Schwann e os efeitos favoráveis do sildenafil na neuropatia periférica diabética são promovidos pela ativação da via cGMP/PKG. A elevação do cGMP por bloqueio da PDE5 com sildenafil medeia a função das células de Schwann na regeneração do sistema nervoso periférico, já que estas apresentam capacidade de proliferar, migrar e produzir neurotróficos, como o NGF, a neurotrofina 3 ou o BDNF.<sup>40</sup>

Estudos em modelos animais referem que este fármaco aumenta o óxido nítrico, que sofre regulação pelo cGMP, diminuindo a dor na hiperalgesia diabética.<sup>41</sup> A libertação de óxido

nítrico induz também vasodilatação com melhoria dos sintomas em doentes com neuropatia periférica diabética tratados com sildenafil, efeito atribuído ao aumento da perfusão sanguínea aos *vasa nervorum*.<sup>40,42</sup>

O aumento da PDE5 potencia o desenvolvimento da neuropatia periférica diabética e, contrariamente, a sua inibição em células de Schwann pelo sildenafil aumenta os níveis de cGMP interrompendo o habitual desenrolar da patogénese desta doença.<sup>40</sup>

### 3.9. Proteína cinase C

Elevados níveis de glicose estimulam o aumento de diacilglicerol, que ativa a PKC, implicando repercussões em indivíduos diabéticos, nomeadamente na evolução da neuropatia periférica.<sup>1,22,43</sup> A produção aumentada da PKC, e da sua isoforma PKC- $\beta$  em particular, tem sido implicada no aumento da expressão de diversos fatores, como o VEGF ou o NF- $\kappa$ B, verificando-se modificações da vasodilatação e da permeabilidade capilar. Estes processos podem causar hipóxia, alteração da angiogénese, espessamento da membrana basal e proliferação endotelial. Para além disto, a ativação da PKC também interfere na função da Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase e de outras enzimas cruciais para uma adequada condução nervosa.<sup>22,44</sup>

A ação da PKC na neuropatia não é clara, alguns autores referem níveis reduzidos de diacilglicerol nos nervos periféricos, diminuindo a atividade da PKC nestes locais. Contrariamente, outros autores relatam que os inibidores das isoformas da PKC melhoram a velocidade de condução do nervo motor e do fluxo sanguíneo endoneural em animais diabéticos.<sup>46</sup> Além disso, ratos diabéticos tratados com um inibidor não-específico da isoforma da PKC apresentam melhoria da velocidade de condução, da atividade da Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase e do fluxo sanguíneo dos nervos motores.<sup>45,46</sup>

A isoforma  $\beta$  da PKC, predominante nos tecidos vasculares, é altamente expressa durante a hiperglicemia sendo um fator subjacente às alterações vasculares em diabéticos.<sup>43,43</sup> A sua inibição específica pela ruboxistaurina normaliza as alterações na função microvascular, incluindo o fluxo sanguíneo endoneural e a velocidade de condução de nervos sensitivos e motores, em modelos animais diabéticos.<sup>44</sup> A ruboxistaurina, é então um inibidor competitivo da PKC- $\beta$ , cuja administração é bem tolerada mas, em geral, as mudanças no limiar de percepção da vibração e nos *scores* de sintomas associados à neuropatia produzidas não são significativas.<sup>22,46,47</sup> Apesar de tudo, há estudos em indivíduos com neuropatia periférica leve que indicam alívio dos sintomas sensitivos e melhoria da função das fibras nervosas, do limiar de percepção da vibração e dos *scores* de sintomatologia.<sup>44,45</sup>

### **3.10. Fatores de Crescimento**

Os fatores de crescimento promovem o crescimento e sobrevivência dos neurónios e, diretamente, o desenvolvimento dos neuritos. Dado que a neuropatia diabética é caracterizada por uma degeneração neuronal e lesão das células de Schwann, a alteração dos fatores de crescimento, como o fator de crescimento neuronal (NGF), o fator de crescimento insulina-like (IGF) e a neurotrofina 3 (NT-3), parecem estar também envolvidos na patogénese da neuropatia diabética.<sup>22</sup>

De facto, existe evidência de que o neurotropismo está diminuído em doentes com Diabetes Mellitus.<sup>1,22</sup> A falta relativa ou absoluta de fatores de crescimento tem um importante papel no desenvolvimento da neuropatia, adicionalmente a fatores metabólicos, imunológicos e vasculares. A sobrevivência e mesmo a regeneração de neurónios submetidos aos efeitos nocivos da diabetes são influenciadas por estes fatores.<sup>6</sup>

O estudo dos fatores de crescimento recai sobretudo sobre o fator de crescimento neuronal (NGF) e a neurotrofina 3. No entanto, outros fatores têm também sido alvo de interesse, nomeadamente o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), a proteína associada à neogénese das ilhotas, o fator de crescimento insulina-like, fator de crescimento recombinante derivado das plaquetas e a eritropoítina.<sup>1,22</sup>

#### **3.10.1. Neurotrofinas**

As neurotrofinas, que incluem o NGF, o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e as neurotrofinas 3 a 6, interferem no desenvolvimento e manutenção do sistema nervoso central e periférico.<sup>22</sup>

O NGF é produzido por queratinócitos e pelas células musculares e o seu recetor Trk A é expresso nos neurónios sensitivos e simpáticos.<sup>48</sup> Tem um amplo espectro de atividade, como vasodilatação, motilidade intestinal e nociceção.<sup>6</sup> O NGF não é necessário à sobrevivência dos neurónios sensitivos, mas regula o crescimento dos axónios e o fenótipo dos neurónios sensitivos. Estudos com NGF em ratos diabéticos resultaram em melhorias no sistema de sinalização do NGF e na função sistema nervoso periférico, além de efeitos favoráveis sobre a mielinização.<sup>22</sup>

Em modelos diabéticos experimentais, os níveis de NGF encontram-se reduzidos, tal como o seu transporte retrógrado, no entanto, quando os níveis de glicose normalizam, os níveis de NGF retornam também ao normal.<sup>22,48,49</sup> Isto indica que a diabetes, quer devido a

hiperglicemia, quer por falta de insulina, tem a capacidade de regular os fatores de crescimento.<sup>22</sup>

A diminuição da síntese de NGF na diabetes está envolvida da degeneração de pequenas fibras e, conseqüentemente, das sensibilidades dolorosa e térmica.<sup>6</sup> De facto, em indivíduos diabéticos, a expressão anormal de NGF correlaciona-se com manifestações precoces de neuropatia de pequenas fibras sensitivas.<sup>48</sup>

A administração de NGF humano recombinante em modelos animais restaura os níveis de neuropeptídeos, como a substância P e o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina, e impede a manifestação da neuropatia sensitiva.<sup>25,26</sup>

Em doentes com neuropatia sintomática de pequenas fibras e, de forma consistente com a distribuição dos Trk A, observa-se que a administração de NGF melhora os *scores* de incapacidade, favorecendo ainda o limiar da função de pequenas fibras A $\delta$  e a percepção da dor associada à temperatura.<sup>25</sup>

O BDNF é expresso tanto por neurónios periféricos como musculares, e o seu recetor, o Trk B, apresenta-se em neurónios motores e em alguns neurónios sensitivos. O transporte retrógrado endógeno do BDNF para os corpos celulares dos neurónios encontra-se modificado em ratos diabéticos, com diminuição da sua disponibilidade local nos terminais nervosos periféricos. Em modelos experimentais, o BDNF exógeno protege as grandes fibras sensitivas mielinizadas, mas não as pequenas fibras, estando de acordo com a distribuição da expressão do Trk B.<sup>22</sup>

Estudos evidenciaram resultados díspares relativamente à terapia com NT-3 exógena em ratos diabéticos, uns obtendo melhoria em grandes fibras sensitivas mas não em fibras motoras, outros descrevendo efeitos sobre ambas. A administração de NT-3 intratecal aumenta as fibras mielinizadas na pele de ratos diabéticos sem, no entanto, existir melhoria efetiva da função.<sup>22</sup>

### 3.10.2. Fator de Crescimento Insulina-like

Os IGF I e II têm sido implicados no crescimento, diferenciação e sobrevivência das fibras nervosas, mediados pela ativação do recetor de IGF-1 (IGF-IR). Os IGF e IGF-IR são expressos em todo o sistema nervoso e, em particular nos mesmos tipos de neurónios afetados pela diabetes, ou seja, sensitivos, simpáticos e motores.<sup>22,48,51</sup>

A sua atividade normal é regulada pela insulina e pela glicemia, pelo que na DM se regista uma redução dos níveis de IGFs e que a administração de insulina restaura a sua expressão, com normalização dos seus níveis.<sup>6,22</sup> A diminuição da atividade da insulina e do IGF na diabetes predispõem à neuropatia, podendo esta ser prevenida pela administração de

IGF.<sup>51</sup> Esta terapêutica determina efeitos neuroprotetores independentes da glicemia, evitando a lesão dos nervos periféricos e promovendo a regeneração do nervo mesmo perante hiperglicemia.<sup>51,52</sup>

A privação de IGF-1, em diabéticos do tipo 1, justifica a maior severidade da polineuropatia diabética relativamente a indivíduos com DM do tipo 2. Adicionalmente, demonstrou-se ainda que a redução dos níveis de IGF-1 em circulação é maior em doentes com neuropatia que naqueles sem queixas neuropáticas.<sup>50,52</sup>

O tratamento com IGF-1 humano recombinante tem em vista os resultados favoráveis, em modelos animais, com estabilização da hiperalgesia bem como capacidade de restaurar as velocidades de condução de nervos sensitivos e motores e inversão da distrofia neuroaxonal. Para além de que o IGF-1 aumenta a expressão de outros fatores neurotróficos, como a neurotrofina-3 ou o VEGF, proporcionando um benefício terapêutico mais amplo.<sup>50</sup>

### 3.10.3. Fator neurotrófico derivado Ciliar

O fator neurotrófico derivado ciliar (CNTF) é uma citocina com numerosas propriedades neurotróficas.<sup>22</sup> Expresso por células de Schwann no sistema nervoso periférico, promove a sobrevivência e a regeneração axonal de neurónios sensitivos e motores. Na diabetes, a expressão do CNTF encontra-se reduzida após 1 a 2 meses de hiperglicemia, como resultado do fluxo aumentado através da aldose redutase.<sup>22,53,54</sup>

Em neurónios sensitivos adultos, após lesão axonal, há elevação rápida do NF-κB, fator implicado no desenvolvimento da neuropatia sensitiva desde uma fase precoce. De facto, o perfil de bioenergética mitocondrial anormal dos neurónios sensitivos de roedores diabéticos é um alvo direto do CNTF modelado via fator de transcrição NF-κB. São conhecidas outras vias de transdução, além do NF-κB, que também interferem nos efeitos do fator neurotrófico ciliar, como a via da JAK-STAT.<sup>54</sup>

A melhoria do desempenho mitocondrial pelo CNTF leva ao aumento da síntese de ATP em condições de stress ou de aumento da demanda energética, protegendo os nervos periféricos das alterações funcionais e estruturais típicas da NDP e proporcionando a regeneração axonal.<sup>54</sup> Em modelos animais, a administração sistémica de CNTF alivia os défices na condução nervosa, na sensibilidade térmica e na regeneração nervosa após lesão.<sup>53,54</sup> Há também evidência de que o CNTF pode contribuir para a recuperação de neurónios adultos lesionados.<sup>22,53</sup>

Apesar de tudo isto, o uso terapêutico de CNTF é dificultado pelos seus efeitos sistémicos, particularmente enquanto causa de caquexia. Paralelamente, há interesse no CNTF

pela promoção da biogénese mitocondrial e da maior capacidade oxidativa no tecido adiposo com consequentes efeitos na redução da deposição de gordura. Estes efeitos favoráveis face à obesidade são, em parte, mediados através da modulação da fisiologia hipotalâmica e dos efeitos inibidores sobre a ingestão de alimentos. Além disso, alguns estudos encontram neste fármaco potencial terapêutico para outros transtornos neurológicos como a doença de Parkinson ou lesões medulares.<sup>54</sup>

#### 3.10.4. Fator de Crescimento Endotelial Vascular

O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) foi inicialmente descoberto como um fator de crescimento capaz de aumentar a permeabilidade vascular e de, por ligação aos recetores Flt1, Flk1, Nrp-1 e Nrp-2, promover a proliferação, migração e sobrevivência de células endoteliais, tanto na angiogénese fisiológica como tumoral. Além disso, é reconhecidamente um fator vasodilatador, interferindo também em processos inflamatórios. Posteriormente, observou-se que o VEGF exibe atividades pluripotente, especialmente no sistema nervoso, tendo ação trófica direta e protetora sobre diferentes tipos de neurónios e células de suporte.<sup>55,56</sup>

O VEGF diminui os níveis de stress neuronal e a disfunção mitocondrial consequentes à elevação da glicemia. Verifica-se melhoria da hiperalgesia mecânica em modelos animais tratados com VEGF e, de forma concordante, também em ensaios clínicos realizados em humanos, a terapia genética com VEGF intramuscular melhorou os sintomas da NDP.<sup>57</sup>

Tanto o VEGF como o peptídeo derivado do VEGF, que apresenta propriedades biológicas e funcionais semelhantes e capacidade de ligação aos mesmos recetores, mostram potencial terapêutico na neuropatia periférica induzida pela diabetes. Alguns estudos indicam ainda que terá potencial também em outras doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer ou a doença de Parkinson.<sup>56</sup>

No entanto, é apontado em vários estudos que doentes diabéticos com complicações macro e microvasculares apresentam um aumento dos níveis séricos de VEGF relativamente a indivíduos saudáveis. Relatam, assim, uma relação entre este fator angiogénico e o grau de neovascularização das complicações apresentadas, particularmente retinopatia e nefropatia, propondo que o VEGF estará implicado na patogénese e agravamento destas complicações.<sup>55</sup> Também de considerar na prática clínica é que a terapêutica sistémica com VEGF nas neuropatias periféricas tem um perfil de segurança questionável, podendo potenciar o crescimento tumoral. Assim sendo, o uso local deste fármaco será uma possibilidade para tentar evitar estes efeitos adversos.<sup>56</sup>

### 3.10.5. Proteína Associada à Neogénese das Ilhotas

A proteína associada à neogénese das ilhotas (INGAP) originalmente identificada como um fator de regeneração dos ácinos pancreáticos, é possivelmente produzida em resposta à diabetes, tendo efeito protetor.<sup>1,58,59</sup> A INGAP, bem como o péptido INGAP, são capazes de induzir a formação de novas ilhotas de Langerhans e, em modelos animais com DM do tipo 1, a administração crónica do péptido INGAP pode inverter a hiperglicemia. Este intervém ainda na diferenciação das ilhotas e na estimulação da secreção de insulina. Deste modo, alguns estudos visam, ao contrário da maioria dos restantes fármacos, com a administração do péptido INGAP, criar novas ilhotas de Langerhans funcionais.<sup>58,59</sup>

Entre as múltiplas funções do INGAP é de realçar a homologia com a família do gene Reg, cujos membros estão envolvidos na regeneração de neurónios sensitivos e motores, para além da formação de novas células  $\beta$ . O seu mecanismo de ação no sistema nervoso e recetores não foram ainda reconhecidos, tendo-se proposto um efeito indireto sobre os neurónios através da produção de fatores neurotróficos, como o NGF ou o IGF-1, por estimulação das células de Schwann.<sup>58,59</sup>

Deste modo, o péptido INGAP exerce efeitos sobre o sistema nervoso periférico sensitivo, promovendo melhoria da sensibilidade térmica, com correção da hipoalgesia térmica, mesmo perante hiperglicemia persistente. Aumenta ainda a função mitocondrial e a síntese de proteínas envolvidas na regeneração do nervo, como a tubulina e a actina, traduzindo-se numa maior capacidade regenerativa.<sup>58,59</sup>

A administração de péptidos de INGAP a doentes diabéticos poderia, então, além de restaurar o controlo glicémico, revelar-se eficaz na prevenção ou atraso do desenvolvimento de neuropatia diabética.<sup>59</sup>

### 3.10.6. Eritropoietina

A eritropoietina (EPO) é uma glicoproteína produzida principalmente pelas células peritubulares do córtex renal e que, por interação com os seus recetores nas células progenitoras da medula óssea, provoca proliferação das células eritroides e aumento da massa eritrocitária.<sup>58,60</sup> Os seus recetores de encontram-se também em neurónios centrais, astrócitos, células da glia, bem como em neurónios sensitivos e células de Schwann.<sup>58,61</sup>

Constatou-se que a EPO desempenha ainda um papel importante no desenvolvimento de células progenitoras neuronais e promove a neuroangiogénese, diferenciação e crescimento neuronal.<sup>60,61</sup> Alguns estudos revelaram melhorias na neuropatia autonómica e

periférica com a administração de eritropoietina em pacientes com nefropatia diabética moderada ou avançada.<sup>60</sup> Isto ocorre sem, apesar de tudo, serem conhecidos efeitos da eritropoietina sobre a glicemia.<sup>58</sup>

Quando há lesão axonal, é libertado óxido nítrico pelos neurónios sensitivos, o que desencadeia a liberação de EPO pelas células de Schwann, desencadeando a transcrição de genes que impedem a degeneração axonal.<sup>58</sup> A eritropoietina protege, então, contra os danos característicos da NDP através de ações variadas nos sistemas nervosos central e periférico, com ativação dos seus recetores em vias neuroprotetoras, anti-apoptóticas e antioxidantes.<sup>61</sup>

Uma das limitações da utilização da EPO no tratamento DPN é o seu potencial para induzir o excesso de produção de eritrócitos.<sup>58,61</sup> Diversas estratégias foram consideradas para resolver este problema, como o desenvolvimento de derivados de EPO que não possuem propriedades estimuladoras da eritropoiese, mantendo os efeitos neuroprotetores. Outra questão a considerar prende-se com o desenvolvimento de autoanticorpos contra a EPO, exigindo assim futura investigação de alternativas viáveis.<sup>58</sup>

No entanto, nem todos os estudos são consensuais, sendo que alguns afirmam que, pelo menos em tratamentos de curta duração e com doses baixas, não se verificam os efeitos neuroprotetores ou de estimulação do desenvolvimento neuronal atribuídos à EPO, ou seja, não haverá melhoria ou atraso da progressão da NDP nestas condições.<sup>60</sup>

### **3.11. Peptídeo C**

O peptídeo C, inicialmente considerado inerte, é secretado juntamente com a insulina, em igual proporção, apresentando tempo de vida superior pelo que é utilizado como marcador da função residual da célula  $\beta$  na diabetes tipo 1.<sup>22,58</sup> Liga-se à pró-insulina, a molécula precursora da insulina, e por clivagem conduz à exposição do terminal C da cadeia  $\beta$  da insulina e a mudanças conformacionais subsequentes necessárias à ligação da insulina ao seu recetor. Além do seu papel na dobragem da insulina, o peptídeo C não exerce quaisquer efeitos diretos sobre os níveis de glicose no sangue, no entanto, reconhece-se que terá um papel ativo em diversos tecidos, designadamente nas complicações características da DM.<sup>58</sup>

O peptídeo C favorece os efeitos da insulina e aumenta a fosforilação do seu recetor e, através da via de sinalização da insulina, estimula a síntese de glicogénio e a captação de aminoácidos.<sup>62</sup> O peptídeo C utiliza sistemas mediados pela insulina, exercendo efeitos semelhantes a esta e mimetizando-a também em diversos tipos de células neuronais.<sup>58</sup> Alguns autores propõem que este interage com o recetor da insulina, por outro lado, foi também

colocada a hipótese da ligação do peptídeo C a um recetor específico da membrana ainda indeterminado.<sup>62</sup>

O peptídeo C parece ter vários alvos que levam aos seus efeitos na NDP, nomeadamente a  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase, que estimula de modo dose-dependente, numa variedade de tecidos, incluindo células tubulares renais, ilhotas pancreáticas, tecido de granulação e eritrócitos.<sup>62</sup> Promove também a vasodilatação em células endoteliais através da estimulação da síntese de óxido nítrico, e portanto não só fornece suporte neurotrófico, como também melhora os defeitos da microcirculação.<sup>58</sup> Contribui para a normalização do fluxo endoneural sem, no entanto, afetar diretamente as vias de stress oxidativo.<sup>62</sup>

O peptídeo C exerce ação reguladora sobre vários fatores neurotróficos tais como NGF, IGF-1, e NT-3, e os seus respetivos recetores, intervindo, portanto, sobre a rede de suporte neurotrófico, e prevenindo e mesmo revertendo a disfunção neurológica.<sup>63</sup>

Deste modo, previne significativamente a diminuição da velocidade de condução nervosa motora e sensitiva, bem como a hiperalgesia térmica.<sup>62</sup> Observam-se benefícios significativos face às alterações agudas da condução nervosa, ainda que na presença de hiperglicemia significativa.<sup>62,64</sup> No entanto, estes efeitos não são completos, estão associados a defeitos funcionais residuais, por vezes significativos, decorrentes das anormalidades metabólicas subjacentes à hiperglicemia.<sup>62</sup>

Doentes tratados com peptídeo C mostraram melhoria significativa na velocidade de condução nervosa e na perceção vibratória após 3 meses de tratamento, numa dose de 600 nmol/dia, relativamente a uma terapêutica apenas com insulina. Também se registou melhoria do limiar de discriminação da temperatura e da função autonómica cardíaca após a sua introdução em diabéticos do tipo 1.<sup>62</sup>

Os efeitos insulinomiméticos do peptídeo C são capazes de prevenir e, em alguns casos, melhorar as alterações metabólicas, funcionais e estruturais estabelecidas, reduzindo as alterações do suporte neurotrófico e promovendo a integridade axonal, nodal e paranodal, preservando assim a função do nervo periférico. Há benefício na administração conjunta de insulina e peptídeo C para controlo da neuropatia periférica na diabetes do tipo 1 e, provavelmente, de outros tipos de complicações microvasculares.<sup>62,63</sup>

### 3.12. Inibidores da Aldose Redutase

Os inibidores da aldose redutase (IRA) reduzem o fluxo de glicose ao interferirem na via do poli-ol, reduzindo a acumulação intracelular de sorbitol e frutose e, conseqüentemente, evitando os processos oxidativos.<sup>1,6,25,26</sup>

A aldose redutase reduz a glicose a sorbitol com consumo de NADPH e, em seguida, a sorbitol desidrogenase oxida o sorbitol em frutose. A hiperglicemia ativa esta via alternativa do metabolismo da glicose, com conseqüente aumento do sorbitol e um estado intracelular hipertónico relativo, de que decorre efluxo compensatório de outros osmólitos. Com a oxidação do sorbitol a frutose, é promovida a glicosilação, esgotando o NADPH e aumentando ainda mais o desequilíbrio redox.<sup>22,48</sup> Além destas alterações que determinam stress oxidativo e osmótico, há várias outras alterações bioquímicas envolvidas, nomeadamente o aumento dos produtos da glicosilação avançada (AGE) e a ativação da proteína cinase C (PKC), induzindo a disfunção vascular característica da diabetes.<sup>65</sup>

Além disto, vários estudos clínicos apontam para que a velocidade de condução nervosa seja favorecida por alguns inibidores da aldose-reductase, para além de também prevenir a degeneração de pequenas fibras sensitivas.<sup>48</sup>

Em geral, muitos dos IRA estudados até à data apresentam falta de eficácia e, frequentemente, toxicidade sistémica, com manifestações dermatológicas, renais e hepáticas.<sup>65,66</sup> Neste contexto, efeitos adversos comuns, como linfadenopatia, erupção cutânea, febre ou pancitopenia, justificaram o abandono de alguns destes fármacos, sendo que a alguns se soma ainda a ausência de benefício da terapia a longo prazo.<sup>6,26</sup>

Apenas um inibidor da aldose redutase, o epalrestat, é atualmente comercializado, sendo a terapêutica padrão para a neuropatia diabética no Japão.<sup>22,65-67</sup> Este fármaco determina alívio dos sintomas comuns, como parestesias, e impede a deterioração da velocidade de condução nervosa motora, apresentando efeitos colaterais mínimos.<sup>1,22</sup>

O fidarestat também demonstrou um bom perfil de segurança em ensaios clínicos.<sup>65</sup> Tanto em doentes com diabetes tipo 1 como do tipo 2 com neuropatia periférica a administração de fidarestat foi associada a melhoria significativa, registada especialmente no que se refere às medidas eletrofisiológicas.<sup>1</sup>

### 3.13. Análogos das Prostaglandinas

A disfunção endotelial, estreitamente relacionada com o desenvolvimento de complicações microvasculares na DM, ocorre por diminuição da capacidade de vasodilatação consequente à diminuição da produção do óxido nítrico derivado do endotélio.<sup>68</sup> O beraprost sódico (BPS) é um análogo da prostaglandina I<sub>2</sub> oralmente ativo que afeta a expressão da óxido nítrico sintetase endotelial, melhorando o fluxo sanguíneo regional, por vasodilatação, protegendo o endotélio.<sup>68,69</sup> Deste modo o BPS é considerado na terapêutica da neuropatia diabética pela sua possível capacidade de aliviar os sintomas relacionados à disfunção microcirculatória.<sup>68</sup>

Estudos relatam que após 8 semanas de tratamento com BPS se observou uma melhoria significativa dos *scores* relativos aos sintomas neuropáticos e diminuição da dor em diabéticos com neuropatia periférica dolorosa. No entanto, não se observou melhoria significativa na disfunção endotelial conforme seria de esperar.<sup>68,69</sup>

### 3.14. Baicaleína

Considerando a etiologia multifatorial da neuropatia periférica diabética, o fármaco ou a combinação de diferentes fármacos ideal seria a que permitiria atingir vários mecanismos patogénicos de maior relevo simultaneamente. Surge então a baicaleína, um flavonoide cuja ação tem influência em mecanismos variados passando pela proteína cinase p38 ativada por mitogénios (p38 MAPK), stress oxidativo e 12/15-lipoxigenase.<sup>69,70</sup>

A eficácia da baicaleína face à disfunção de pequenas e grandes fibras nervosas provavelmente está relacionada com a inibição dos três mecanismos supracitados. Quando patentes, estes mecanismos iniciam e perpetuam um ciclo vicioso, o stress oxidativo induzido pela diabetes promove a ativação da p38 MAPK que contribui para a lesão oxidativa. A 12/15-lipoxigenase é excessivamente ativada e expressa, incitando tanto o stress oxidativo como a ativação da p38 MAPK que, por intermédio da ativação do NF-κB e Ca<sup>2+</sup> citosólico, leva a um aumento na atividade da 12/15-lipoxigenase. A baicaleína, em modelos experimentais, interfere ainda com outros processos, nomeadamente impedindo a acumulação de sorbitol e reduzindo as alterações na sinalização e inflamação, sem se relacionar com a hiperglicemia.<sup>69</sup>

A baicaleína melhora a velocidade de condução nervosa sensitiva e motora e os défices de pequenas fibras sensitivas, com alívio da hipoalgesia térmica e da alodinia táctil.<sup>69,70</sup> Apesar

de tudo, a baicaleína não induz a regeneração de fibras nervosas intra-epidérmicas, tende apenas a desacelerar a sua deterioração sem a cessar por completo.<sup>69</sup>

### **3.15. Timosina $\beta$ 4**

A timosina  $\beta$ 4 é um dos principais péptidos sequestradores de actina-G intracelular, está presente na maioria das células, tendo diversas funções, como efeitos na angiogénese ou na promoção da cicatrização de feridas diabéticas, recuperando e regenerando tecidos danificados.<sup>71</sup>

As angiopoietinas, Ang1 e Ang2, e o seu recetor TIE-2 regulam o desenvolvimento vascular e estão implicadas nas vias da timosina  $\beta$ 4. A Ang-1 promove a estabilização e maturação vascular enquanto a Ang2 atua como um agonista parcial ou antagonista da primeira, dependendo da biodisponibilidade do VEGF. A hiperglicemia diminui a Ang1 e aumenta a Ang2, que está elevada em doentes com NDP. A timosina  $\beta$ 4 reverte a expressão da Ang1 e Ang2, regulando assim a angiogénese e propiciando a normalização da função vascular e, conseqüentemente, reduzindo a disfunção neurovascular.<sup>71</sup>

O tratamento com timosina  $\beta$ 4, em modelos roedores, aumenta a densidade vascular funcional, a perfusão e o fluxo sanguíneo regional. Estudos apontam para uma ação sobre células endoteliais e de Schwann, preservando ou restabelecendo a função vascular, com a melhoria da função dos nervos periféricos, daí o seu potencial no tratamento da NDP.<sup>71</sup>

## **4. Conclusão**

Em 2030, espera-se que 472 milhões de indivíduos no mundo apresentem diabetes, o que implica então que cerca de 236 milhões sofrerão de neuropatia periférica diabética, pelo que não é desprezível o seu impacto quer para os serviços de saúde quer para a sociedade.<sup>5</sup>

A patogénese da NDP é complexa e influenciada por mecanismos distintos que, curiosamente, se associam e influenciam entre si, oferecendo opções variadas para a intervenção terapêutica. Isto cria um amplo campo de investigação que, no entanto, se tem traduzido em resultados teoricamente mais promissores do que se tem confirmado em ensaios clínicos, tanto por falta de eficácia como por efeitos laterais inaceitáveis. De forma a superar esta ausência de resultados é discutida a procura de fármacos ou associações cujos mecanismos de ação abarquem mais que um mecanismo patogénico simultaneamente.

Portanto, diversos estudos percorreram as múltiplas vias metabólicas alteradas no contexto da NDP, na tentativa de encontrar fármacos modificadores de doença e, assim, intervir de uma forma proativa no decorrer desta patologia, ou seja, além do tratamento sintomático. Alguns fármacos demonstraram resultados favoráveis e estão disponíveis em alguns países mas, apesar de tudo, não existe ainda uma terapêutica universalmente aceite e incluída nas recomendações para o tratamento da neuropatia diabética.

O controlo intensivo da glicemia é apontado como um fator preventivo preponderante e como modificador da doença pois interrompe o desenvolvimento das complicações microvasculares, com efeito prolongado no tempo. Entre diabéticos do tipo 1, o efeito na neuropatia é reconhecido, com atraso na sua progressão, justificando a ponderação deste tipo de terapêutica precocemente, mantendo a glicemia tão próximo do normal quando possível, alterando assim a típica evolução da doença.

## 5. Bibliografia

- [1] Shakher, J. et al (2011). Update on the Management of Diabetic Polyneuropathies; Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy; 4: 289–305.
- [2] Ziegler, D. (2010). Diabetic Peripheral Neuropathy, in Textbook of Diabetes, Quarta Edição (Holt, R.I.G. et al, ed), cap. 38: 615 -634. Wiley-Blackwell; Oxford, UK.
- [3] Callaghan, B.C. et al (2012). Diabetic Neuropathy: Clinical Manifestations and Current Treatments; Lancet Neurol.; 11: 521–34.
- [4] Rai, S. et al (2008). Diabetic Peripheral Neuropathy - Emerging Pharmacologic Options; Bombay Hospital Journal; 50: 595-606.
- [5] Tesfaye, S. and Selvarajah, D. (2012). Advances in the Epidemiology, Pathogenesis and Management of Diabetic Peripheral Neuropathy; Diabetes Metab. Res. Rev.; 28 (1): 8-14.
- [6] Gagliardi, A.R.T. (2003). Neuropatia Diabética Periférica; J. Vasc. Br.; 2 (1): 67-74.
- [7] The DCCT Research Group (1988). Factors in Development of Diabetic Neuropathy, Baseline Analysis of Neuropathy in Feasibility Phase of Diabetes Control and Complications Trial (DCCT); Diabetes; 37: 476-481.
- [8] Almeida, C. C. et al (2006). Pé Diabético – Recomendações para o Diagnóstico, Profilaxia e Tratamento; Sociedade Portuguesa de Cirurgia Vasculuar, Capítulo de Cirurgia Vasculuar: 1-21.
- [9] De Grandis, D. and Minardi, C. (2002). Acetyl-L-Carnitine (Levacecarnine) in the Treatment of Diabetic Neuropathy: A Long-Term, Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Study; Drugs R&D; 3 (4): 223-231.
- [10] Malik, R. A. et al (1998). Effect of Angiotensin-converting-enzyme (ACE) Inhibitor Trandolapril on Human Diabetic Neuropathy: Randomised Doubleblind Controlled Trial; The Lancet; 352: 1978-1981.
- [11] Pacher, P. (2008). Poly(ADP-Ribose)Polymerase Inhibition as a Novel Therapeutic Approach Against Intraepidermal Nerve Fiber Loss and Neuropathic Pain Associated with Advanced Diabetic Neuropathy: A Commentary on PARP Inhibition or Gene Deficiency Counteract Intraepidermal Nerve Fiber Loss and Neuropathic Pain in Advanced Diabetic Neuropathy; Free Radic. Biol. Med.; 44 (6): 969–971.
- [12] Albers, J. W. et al (2010). Effect of Prior Intensive Insulin Treatment During the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) on Peripheral Neuropathy in Type 1 Diabetes During the Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) Study; Diabetes Care; 33: 1090–1096.

- [13] Bril, V. (2012). Treatments for Diabetic Neuropathy; *Journal of the Peripheral Nervous System*; 17: 22-27.
- [14] Martin, C. L. et al (2006). Neuropathy Among the Diabetes Control and Complications Trial Cohort 8 Years After Trial Completion; *Diabetes Care*; 29(2): 340–344.
- [15] Parry, G. J. (1999). Management of Diabetic Neuropathy; *The American Journal of Medicine*; 107 (2B): 27S-33S.
- [16] The Diabetes Control and Complications Trial Research Group (1993). The Effect of Intensive Treatment of Diabetes on the Development of Long-term Complications in Insulin-Dependent Diabetes Mellitus; *N. Eng. J. Med.*; 329: 977-986.
- [17] Holman, R. R. et al (2008). 10-Year Follow-up of Intensive Glucose Control in Type 2 Diabetes; *N. Engl. J. Med.*; 359: 1577-89.
- [18] King, P. et al (1999). The UK Prospective Diabetes Study (UKPDS): clinical and therapeutic implications for type 2 diabetes; *Br. J. Clin. Pharmacol.*; 48: 643–648.
- [19] UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group (1998). Effect of Intensive Blood-glucose Control with Metformin on Complications in Overweight Patients with Type 2 Diabetes (UKPDS 34); *Lancet*; 352: 854–65.
- [20] UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group (1998). Intensive Blood-glucose Control with Sulphonylureas or Insulin Compared with Conventional Treatment and Risk of Complications in Patients with Type 2 Diabetes (UKPDS 33); *Lancet*; 352: 837–53.
- [21] Ziegler, D. (1995). Treatment of Symptomatic Diabetic Peripheral Neuropathy with the Anti-oxidant  $\alpha$ -lipoic Acid; *Diabetologia*; 38: 1425-1433.
- [22] Edwards, J. L. et al (2008). Diabetic Neuropathy: Mechanisms to Management; *Pharmacology & Therapeutics*; 120: 1–34.
- [23] Ziegler, D. et al (2004). Treatment of Symptomatic Diabetic Polyneuropathy with the Antioxidant  $\alpha$ -lipoic Acid: a Meta-analysis; *Diabetic Medicine*; 21: 114–121.
- [24] Ziegler, D. (2004). Thiotic Acid for Patients with Sintomatic Diabetic Polyneuropahty, A critical Review; *Treat Endocrinol*; 3(3): 173-189.
- [25] Bansal, V. et al (2008). Diabetic Neuropathy; *Postgrad. Med. J.*; 82: 95–100.
- [26] Vinik, A. I. (1999). Diabetic Neuropathy: Pathogenesis and Therapy; *The American Journal of Medicine*; 107 (2B): 21S-26S.
- [27] Hanif, K. et al (2010). Reinventing the ACE Inhibitors: Some Old and New Implications of ACE Inhibition; *Hypertension Research*; 33: 11–21.
- [28] Jack, M. and Wright, D. (2012). Role of Advanced Glycation Endproducts and Glyoxalase I in Diabetic Peripheral Sensory Neuropathy; *Translational Research*; 159: 355–365.

- [29] Myint, K. M. et al (2005). Blockade of Diabetic Vascular Injury by Controlling of AGE-RAGE System; *Current Drug Targets*; 6: 447-452.
- [30] Sugimoto, K. et al (2008). Role of Advanced Glycation End Products in Diabetic Neuropathy; *Current Pharmaceutical Design*; 14: 953-961.
- [31] Win, M. T. T. et al (2012). Regulation of RAGE for Attenuating Progression of Diabetic Vascular Complications; *Experimental Diabetes Research*; 2012: 1-8.
- [32] Yamagishi, S. et al (2008). Receptor for Advanced Glycation End Products (RAGE): A Novel Therapeutic Target for Diabetic Vascular Complication; *Current Pharmaceutical Design*; 14: 487-495.
- [33] Sima, A. F. F. (2007). Acetyl-L-Carnitine in Diabetic Polyneuropathy: Experimental and Clinical Data; *CNS Drugs*; 21 (1): 13-23.
- [34] Sima, A. F. F. et al (2005). Acetyl-L-Carnitine Improves Pain, Nerve Regeneration, and Vibratory Perception in Patients with Chronic Diabetic Neuropathy; *Diabetes Care*, 28: 96–101.
- [35] Kuchmerovska, T. et al (2004). Poly(ADP-ribose)ation Enhancement in Brain Cell Nuclei is Associated with Diabetic Neuropathy; *Journal of Diabetes and Its Complications*; 18: 198–204.
- [36] Li, F. et al (2005). Low-Dose Poly (ADP-Ribose) Polymerase Inhibitor – Containing Combination Therapies Reverse Early Peripheral Diabetic Neuropathy; *Diabetes*; 54: 1514-1522.
- [37] Ilnytska, O. et al (2006). Poly(ADP-Ribose) Polymerase Inhibition Alleviates Experimental Diabetic Sensory Neuropathy; *Diabetes*; 55 (6): 1686–1694.
- [38] Haupt, E. et al (2005). Benfotiamine in the Treatment of Diabetic Polyneuropathy - a Three-week Randomized, Controlled Pilot Study (BEDIP Study); *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*; 43: 71-77.
- [39] Balakumar, P. et al (2010). The Multifaceted Therapeutic Potential of Benfotiamine; *Pharmacological Research*; 61: 482–488.
- [40] Wang, L. et al (2011). Phosphodiesterase-5 is a Therapeutic Target for Peripheral Neuropathy in Diabetic Mice; *Neuroscience*; 193: 399–410.
- [41] Patil, C. S. et al (2004). Modulatory Effect of the PDE-5 Inhibitor Sildenafil in Diabetic Neuropathy; *Pharmacology*; 72: 190–195.
- [42] Oliver, J. J. (2006). Diabetic Neuropathy – a Further Indication for Phosphodiesterase Type 5 Inhibitors?; *Int. J. Clin. Pract.*; 60: 1027.

- [43] Vijayakumar, B. and Velmurugan, D. (2012). Designing of Protein Kinase C  $\beta$ -II Inhibitors against Diabetic Complications: Structure Based Drug Design, Induced Fit Docking and Analysis of Active Site Conformational Changes; *Bioinformation*; 8 (12): 568-573.
- [44] Casellini, C. M. et al (2007). A 6-Month, Randomized, Double-Masked, Placebo-Controlled Study Evaluating the Effects of the Protein Kinase C- $\beta$  Inhibitor Ruboxistaurin on Skin Microvascular Blood Flow and Other Measures of Diabetic Peripheral Neuropathy; *Diabetes Care*; 30: 896–902.
- [45] Brooks, B. et al (2008). Endothelial and Neural Regulation of Skin Microvascular Blood Flow in Patients with Diabetic Peripheral Neuropathy: Effect of Treatment with the Isoform-specific Protein Kinase C  $\beta$  Inhibitor, Ruboxistaurin; *Journal of Diabetes and Its Complications*; 22: 88–95.
- [46] Das Evcimen, N. and King, G. L. (2007). The Role of Protein Kinase C Activation and the Vascular Complications of Diabetes; *Pharmacological Research*, 55: 498–510.
- [47] Vinik, A. I. et al (2005). Treatment of Symptomatic Diabetic Peripheral Neuropathy with the Protein Kinase C  $\beta$ -Inhibitor Ruboxistaurin Mesylate During a 1-Year, Randomized, Placebo-Controlled, Double- Blind Clinical Trial; *Clinical Therapeutics*; 27: 1164-1180.
- [48] Greene, D. A. et al (2003). Diabetic Neuropathy: Scope of the Syndrome; *Am. J. Med.*; 107 (2B): 2S–8S.
- [49] Dyck, P. J. (1996). Nerve Growth Factor and Diabetic Neuropathy; *The Lancet*; 348: 1044-1045.
- [50] Chu, Q. et al (2008). Systemic Insulin-like Growth Factor-1 Reverses Hypoalgesia and Improves Mobility in a Mouse Model of Diabetic Peripheral Neuropathy; *Molecular Therapy*; 16 (8): 1400–1408.
- [51] Ishii, D. N. and Lupien, S. B. (2003). Insulin-Like Growth Factor Replacement Therapy for Diabetic Neuropathy: Experimental Basis; *Experimental Diab. Res.*; 4: 257–269.
- [52] Morgado, C. et al. (2011). Changes in Serotonergic and Noradrenergic Descending Pain Pathways During Painful Diabetic Neuropathy: The Preventive Action of IGF1; *Neurobiology of Disease*; 43: 275–284.
- [53] Mizisin, A. P. et al (2004). Ciliary Neurotrophic Factor Improves Nerve Conduction and Ameliorates Regeneration Deficits in Diabetic Rats; *Diabetes*; 53: 1807–1812.
- [54] Saleh, A. et al (2013). Ciliary Neurotrophic Factor Activates NF- $\kappa$ B to Enhance Mitochondrial Bioenergetics and Prevent Neuropathy in Sensory Neurons of Streptozotocin-induced Diabetic Rodents; *Neuropharmacology*; 65: 65–73.
- [55] Mahdy, R. A. et al (2010). The Role of Vascular Endothelial Growth Factor in the Progression of Diabetic Vascular Complications; *Eye*; 24: 1576–1584.

- [56] Verheyen, A. et al (2013). Therapeutic Potential of VEGF and VEGF-derived Peptide in Peripheral Neuropathies; *Neuroscience*; 244: 77–89.
- [57] Ropper, A. H. et al (2009). Vascular Endothelial Growth Factor Gene Transfer for Diabetic Polyneuropathy: A Randomized, Double-Blinded Trial; *Ann. Neurol.*; 65: 386–393.
- [58] Tam, J. et al (2006). Dual-action Peptides: a New Strategy in the Treatment of Diabetes-associated Neuropathy; *Drug Discovery Today (DDT)*; 11 (5-6): 254-260.
- [59] Tam, J. et al (2004). INGAP Peptide Improves Nerve Function and Enhances Regeneration in Streptozotocin-induced Diabetic C57BL/6 Mice; *The FASEB Journal*; 18 (14): 1767–1769.
- [60] Hosseini-Zare, M.S. et al (2012). Peripheral Neuropathy Response to Erythropoietin in Type 2 Diabetic Patients with Mild to Moderate Renal Failure; *Clinical Neurology and Neurosurgery*; 114: 663– 667.
- [61] Lipton, S. A. (2004). Erythropoietin for Neurologic Protection and Diabetic Neuropathy; *N. Engl. J. Med.* 350; 24: 2516-2517.
- [62] Sima, A. A. F. et al (2004). Type 1 Diabetic Neuropathy and C-peptide; *Experimental Diab. Res.*; 5: 65–77.
- [63] Sima, A. A. F. and Kamiya, H. (2008). Is C-Peptide Replacement the Missing Link for Successful Treatment of Neurological Complications in Type 1 Diabetes?; *Current Drug Targets*; 9: 37-46.
- [64] Ekberg, K. and Johansson, B.-L. (2008). Effect of C-Peptide on Diabetic Neuropathy in Patients with Type 1 Diabetes; *Experimental Diabetes Research*; 2008: 1-5.
- [65] Pathania, S. et al (2013). Prospecting for Novel Plant-Derived Molecules of *Rauvolfia serpentina* as Inhibitors of Aldose Reductase, a Potent Drug Target for Diabetes and Its Complications; *PLOS ONE*; 8 (4): e61327.
- [66] Habib, A. A. and Brannagan III; T. H. (2010). Therapeutic Strategies for Diabetic Neuropathy; *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.*; 10: 92–100.
- [67] Zochodne, D. W. (2007). Diabetes Mellitus and the Peripheral Nervous System: Manifestations and Mechanisms; *Muscle Nerve*; 36: 144–166.
- [68] Shin, S. et al (2013). The Effect of Oral Prostaglandin Analogue on Painful Diabetic Neuropathy: a Double-blind, Randomized, Controlled Trial; *Diabetes, Obesity and Metabolism*; 15: 185–188.
- [69] Stavniichuk, R. et al (2011). Baicalein Alleviates Diabetic Peripheral Neuropathy Through Inhibition of Oxidative–nitrosative Stress and p38 MAPK Activation; *Experimental Neurology*; 230: 106–113.
- [70] Yorek, M. A. (2011). Treatment of Diabetic Neuropathy with Baicalein: Intervention at Multiple Sites; *Experimental Neurology*; 232: 105–109.

[71] Wang, L. et al (2012). Thymosin  $\beta$ 4 promotes the Recovery of Peripheral Neuropathy in Type II Diabetic Mice; *Neurobiology of Disease*; 48: 546–555.