

Monografia
ETNA[®]

GR**SS**

Sumário

Introdução	03
Abreviaturas	04
Apresentação	05
Natureza molecular dos nucleotídeos de Etna® e Etna® Injetável	05
Origem e metabolismo fisiológico dos nucleotídeos pirimidínicos	06
Metabolismo nucleotídico no sistema nervoso	08
Uridina	09
Citidina	09
Considerações adicionais acerca da importância do aporte exógeno de nucleosídeos ao sistema nervoso	09
Nucleotídeos Pirimidínicos e receptores P2Y	09
Resposta nucleotídica neuronal à lesão em nervo periférico	13
Resposta nucleotídica glial à lesão em nervo periférico	14
Resposta citológica <i>in vitro</i> com nucleotídeos	14
Mecanismo de ação e base racional para a indicação de nucleotídeos em neuropatias periféricas	15
Hidroxocobalamina	19
Resposta com o uso experimental de nucleotídeos	20
Farmacocinética dos Nucleotídeos Pirimidínicos	21
Estudos clínicos em neuropatias compressivas	22
Conclusão	31
Sumário do produto Etna® e Etna® Injetável	31
Bibliografia disponível de Etna® e Etna® Injetável	35

Introdução

O Laboratório Gross, com quase 100 anos de história, é um dos laboratórios farmacêuticos mais tradicionais do país.

Uma empresa reconhecida pela classe médica na promoção, comercialização e divulgação de medicamentos diferenciados no mercado.

Os produtos do Gross têm como características principais a inovação e a entrega de benefícios exclusivos, quando comparados com outros medicamentos que compõem o mercado brasileiro. Nosso portfólio abrange diversas áreas terapêuticas, onde também se incluem suplementos alimentares e cosméticos, desenvolvidos para cuidados com a saúde.

Desenvolvemos produtos únicos, que são submetidos a rigorosos estudos clínicos de eficácia e segurança, e que atendem às normas de qualidade vigentes.

Visamos ofertar à classe médica o acesso a novas opções terapêuticas oriundas de pesquisas nacionais e internacionais, ampliando os benefícios para o paciente. Produzimos com foco na sustentabilidade e na preservação do meio ambiente.

Por essas características, o Gross se tornou uma das portas de entrada mais atraentes para empresas estrangeiras interessadas em parcerias no mercado farmacêutico brasileiro.

O Gross é o representante oficial no Brasil dos laboratórios Innothera e IPRAD (ambos franceses), além de deter os direitos da linha de Oral Care da Lacer, de capital espanhol.

Esta monografia busca detalhar a natureza farmacológica e a utilidade clínica dos nucleotídeos - UTP e CMP - associados à vitamina B₁₂.

Tendo sido investigados para aplicação farmacológica inicialmente na Europa, os

nucleotídeos pirimidínicos são hoje prescritos e comercializados nos principais mercados do mundo, como EUA, Japão, Alemanha, França, Itália, Espanha, México e no Brasil, principalmente na terapêutica das neuropatias periféricas.

No Brasil, o Laboratório Gross detém uma fórmula exclusiva que associa os nucleotídeos uridina trifosfato e citidina monofosfato à hidroxocobalamina (a vitamina B₁₂ com melhor taxa de absorção e mais rapidez de ação), sob o nome comercial Etna®. Acreditamos tratar-se de uma importante contribuição ao arsenal terapêutico para o manejo dos distúrbios que acometem a integridade dos nervos periféricos.

Etna® está presente no mercado brasileiro desde 2009, já tratou centenas de milhares de brasileiros, é líder de prescrição em sua classe terapêutica e é o único medicamento do mercado a apresentar estudos clínicos comprovando eficácia, segurança e indicação em bula para o tratamento dos distúrbios traumato-compressivos neurais periféricos.

Os processos regenerativos do tecido neural têm sido objeto de pesquisa intensiva em ciências neurológicas desde Augustus Waller*, investigador que no final do século XIX estudou pela primeira vez as respostas neurais às lesões compressivas em nervos periféricos. A evolução nesse campo se estende, desde então, com a ampliação do conhecimento acerca da biologia molecular do desenvolvimento dos neurônios e das células da glia. Tal esforço é impulsionado pela significativa demanda clínica por moléculas e procedimentos médicos que proporcionem alívio e/ou reabilitem pacientes portadores dos processos comprometedores da estrutura e função do tecido nervoso periférico.

Desejamos uma boa leitura.

Laboratório Gross

Abreviaturas

ADP: Adenosina Difosfato

AMP: Adenosina Monofosfato

ATP: Adenosina Trifosfato

AVE: Acidente Vascular Encefálico

cAMP: AMP Cíclico

CMP: Citidina Monofosfato

CTP: Citidina Trifosfato

DAG: DiAcilGlicerol

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

EA: Eventos Adversos

EVA: Escala Visual Analógica

IP: Inositolfosfato

IV: IntraVenoso

Km: constante de Michaelis-Menten

(corresponde à metade da capacidade de saturação de uma enzima para um substrato)

miRNA: Micro RNA

mRNA: RNA mensageiro

NGF: Fator de Crescimento Neuronal

PC: Feocromocitoma

PKC: Proteína C quinase

QFP: Questionário de Funcionalidade do Paciente

RNA: Ácido Ribonucleico

rRNA: RNA ribossômico

SIDA: Síndrome da Imuno Deficiência Adquirida

SLC: Transportador de Solute

SNC: Sistema Nervoso Central

SNP: Sistema Nervoso Periférico

UDP: Uridina Difosfato

UTP: Uridina Trifosfato

Apresentação

Os nucleotídeos se tornaram uma das linhas de pesquisa em neuroregeneração mais interessantes na comunidade científica. O Laboratório Gross, em colaboração com investigadores brasileiros pioneiros, tem desenvolvido, nos últimos 20 anos, estudos em neuroregeneração periférica com esta classe, em nível experimental e clínico, com resultados favoráveis.

Em escala global, centros de pesquisa importantes têm pesquisado, paralelamente, nucleotídeos em nível básico e experimental em neuroregeneração central, com resultados igualmente consistentes.¹⁻¹³

O começo deste século foi decisivo para o crescimento do conhecimento acerca dos nucleotídeos em regeneração neural periférica. A década que se iniciou, por sua vez, deverá ser marcada pela expansão da pesquisa e do uso clínico de UTP e CMP, com o estabelecimento de novos horizontes na farmacologia neuroregenerativa.

Natureza molecular dos nucleotídeos de Etna® e Etna® Injetável

Os nucleotídeos são uma das quatro classes principais de moléculas biológicas. Sua estrutura molecular básica é composta por três radicais, como ilustrado na Fig. 1:

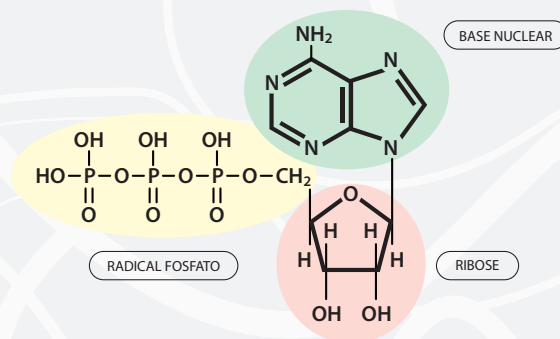


Fig. 1: Fórmula estrutural de um exemplo de nucleotídeo.

- um anel de ribose ou desoxirribose;
- uma base nuclear purínica (adenina ou guanina) ou pirimidínica (citocina, timina ou uracila);
- uma, duas ou três moléculas de fosfato inorgânico.

Os nucleotídeos são uma classe ubíqua de moléculas no metabolismo celular, que desempenha as seguintes funções:

- transferência de energia de ligação química (ATP);
- composição do DNA;
- transcrição e tradução genômicas (mRNA);
- sinalização intracelular (cAMP);
- sinalização extracelular;
- neurotransmissão (adenosina);
- transferência de radicais bioquímicos do metabolismo intermediário (CMP, UTP).

Origem e metabolismo fisiológico dos nucleotídeos pirimidínicos

Tecidos de mamíferos podem satisfazer suas necessidades de nucleotídeos pirimidínicos de duas formas: ^{5, 14-18}

1. Síntese *de novo* ¹⁹⁻²²

Os nucleotídeos pirimidínicos são primariamente sintetizados a partir de precursores originais-glutamina, aspartato, NH₃ e CO₂ - pela maior parte das células do organismo. Trata-se de um processo metabolicamente dispendioso, e que pode ser complementado por suprimento exógeno dietético, pelo menos por alguns tipos de células.

2. Aporte exógeno ^{17, 20-31}

O fígado é o principal órgão fornecedor de nucleosídeos às células do organismo que não são auto-suficientes em sintetizá-los de novo, através da corrente sanguínea. O controle dos níveis sanguíneos de nucleosídeos é exercido através do equilíbrio entre três diferentes vias metabólicas:

- Síntese *de novo* hepática

A síntese *de novo* hepática é direcionada tanto ao uso pelo próprio órgão, como para exportação.

- Via de resgate (*salvage pathway*)

A maior parte de nucleosídeos pirimidínicos resgatados provém da dieta e da flora bacteriana intestinal. Os nucleotídeos pirimidínicos correspondentes são degradados por enzimas digestivas, sendo a maior parte absorvida como nucleosídeos (uridina e citidina), ou suas bases (uracila e citosina). O fígado ressintetiza os nucleosídeos necessários ao metabolismo humano a partir destes nucleosídeos e bases absorvidos, e os exporta. A medula óssea parece também ser um reservatório de uridina, disponível para a via de resgate.

Apesar de ser extensivamente utilizada pelo metabolismo das células às quais se destina, alguma uridina circulante é efetivamente resgatada pelo fígado e re-incorporada ao seu *pool* de nucleosídeos.

- Degradação

O fígado é o principal sítio de degradação de uridina, tanto aquela proveniente da dieta quanto a da circulação (90% da uridina originalmente sintetizada no próprio órgão, após passagem única, em CO₂ e água, achados experimentais).

Em um estudo que objetivou determinar o padrão de resgate de nucleosídeos pirimidínicos circulantes, Moyer *et al.* 1985 citam que a entrada fisiológica diária de nucleosídeos na circulação é de 140 µM (animais de 300 g). Outros dados na literatura relativos às taxas de resgate e de metabolização a nucleotídeos, tanto de uridina quanto de citidina, não são uniformes. ^{17, 30}

As células destinatárias irão captar os nucleosídeos circulantes no sangue através de mecanismos de transporte, refosforilando-os através de nucleotídeo-quinases nos nucleotídeos necessários ao seu metabolismo. São alguns exemplos destes tipos de célula: células do epitélio intestinal, células

hepáticas, células imunológicas e neurônios.

A uridina é o nucleosídeo circulante predominante em humanos, e parece ser transportado por hemácias. Seus níveis plasmáticos são mantidos numa faixa estreita e em níveis baixos (níveis mínimos de 0,4 μM , máximos de 7 μM , ou em torno de 1 μM , de acordo com a fonte consultada), usualmente inferiores em relação aos do meio intracelular. Seu grau de controle se assemelha aquele exercido para a tiroxina. Já os níveis de citidina variam de 0,1 a 1,3 μM .^{7, 8, 16, 23, 31, 32}

Os níveis de uridina no sangue dependem do equilíbrio dinâmico entre os seguintes fatores:^{18, 20}

- disponibilidade de uridina para a via de resgate hepática, principalmente aquela oriunda da dieta;
- taxa de degradação hepática da uridina da dieta;
- taxa de síntese *de novo* celular de uridina no organismo;
- equilíbrio entre a taxa de exportação hepática de pirimidinas e a taxa de transporte/utilização pelos tecidos que utilizam a via de resgate;
- taxa de captação por hemácias.

Ritmo circadiano e refeições também influenciam estes níveis. Todavia, outros autores descrevem que seus níveis séricos não são significativamente afetados após o jejum, o que sugere a existência de um segundo mecanismo regulatório desconhecido.^{16, 18, 28, 29, 32}

A taxa de formação de nucleotídeos - tanto referente à síntese *de novo* quanto a de resgate (uridina e citidina sanguíneos) - varia de órgão para órgão, de acordo com os seguintes fatores:¹⁷

- fluxo sanguíneo local;
- taxa de transporte através da membrana celular;
- taxa de fosforilação pelas nucleotídeo-quinases;
- taxa de atividade enzimática (desaminasse e fosforilase).

A taxa de utilização de uridina e citidina oriundas da via de resgate é mais elevada do que a de outros precursores pirimidínicos, pelos seguintes motivos:¹⁷

- suas concentrações sanguíneas em *steady state* são mais elevadas;
- seu *clearance* plasmático é mais rápido;
- uma proporção maior da uridina e da citidina circulantes é utilizada pelas células do organismo.

Com o objetivo de determinar a taxa do metabolismo de primeira passagem hepático de uridina, com uridina e orotato (um precursor intermediário da uridina) radiomarcados, Gasser *et al.* 1981 constataram:

- quase nenhuma uridina que entrou no fígado através da veia porta-hepática deixou o fígado pela veia hepática;
- a uridina presente na veia hepática derivou da síntese *de novo* hepática;
- as concentrações plasmáticas portal, venosa hepática, e arterial de uridina, foram semelhantes.

Concluíram:

- o fígado tem a capacidade de degradar essencialmente toda a uridina presente no sangue venoso portal, derivada da absorção intestinal fisiológica;
- nucleotídeos hepáticos, sintetizados quase que completamente por síntese *de novo*, são responsáveis pelas concentrações de uridina no sangue venoso hepático;

- tal padrão tornaria o fígado o principal responsável pelo controle da concentração sanguínea de uridina, que seria independente da uridina da dieta.

Com o objetivo de estabelecer o destino metabólico e utilização tissular de ácidos nucleicos pirimidínicos, Sonoda *et al.* 1978 alimentaram camundongos com RNA marcado com citosina e uracila radiomarcados (^{14}C), em quantidade proporcional àquela usualmente presente na dieta humana.

Concluíram:²²

- a utilização das pirimidinas ingeridas resgatadas para serem precursores de nucleotídeos e ácidos nucleicos foi limitada em tecidos diferentes do trato gastrointestinal e fígado;
- a síntese *de novo* em tecidos diferentes do trato gastrointestinal e fígado, não foi afetada pelo aporte exógeno;
- há uma capacidade limitada do trato gastrointestinal e do fígado em remover precursores de ácidos nucleicos exógenos, e que isto indica que, quando uma dose elevada de pirimidinas é ingerida, sua contribuição para a síntese de nucleotídeos e ácidos nucleicos tissular é significativa.

Metabolismo nucleotídico no sistema nervoso

Durante a fase de desenvolvimento embrionário e crescimento, assume-se que neurônios são auto-suficientes na produção de nucleosídeos e nucleotídeos necessários ao seu metabolismo. Todavia, pelo menos em modelos experimentais, neurônios já desenvolvidos apresentam uma capacidade limitada de sintetizar de novo seus próprios nucleotídeos pirimidínicos a partir de precursores mais básicos, mesmo em condições basais. Isso provavelmente se deve ao fato de que neurônios não se replicam após o desenvolvimento completo do sistema nervoso, não direcionando, portanto, seu metabolismo à síntese de nucleotídeos. Tal proposição pode ser corroborada pelo fato de que o cérebro apresenta uma baixa concentração de enzimas intermediárias da síntese de nucleotídeos pirimidínicos.³³ Durante situações de anabolismo aumentado, esta demanda por nucleotídeos parece se intensificar.^{5,15,23,34-42}

Para suprir sua demanda de ribonucleosídeos e desoxirribonucleosídeos, o sistema nervoso deverá depender do suprimento exógeno de precursores, e de sua capacidade em manter ativamente seus níveis no líquido. Estes nucleosídeos serão refosforilados nos seus nucleotídeos correspondentes por quinases específicas, nos seguintes sítios: barreira hematoencefálica, plexo coroide, células da glia, e neurônios.^{16,33,39,43-46}

São funções dos nucleosídeos no sistema nervoso: ^{1,4,5,14,33,35,47}

1. incorporação fisiológica ao DNA e RNA celular.
2. como precursores de fosfolípidios para síntese de membrana celular e de bainha de mielina, sob a forma de moléculas de transferência.
3. como precursores de UTP e UDP, no estímulo a receptores P2Y.

Uridina e citidina penetram no sistema nervoso a partir do plexo coroide e da barreira hematoencefálica, através de sistemas de transporte nucleosídicos presentes também na superfície de células neuronais.²⁸ Estes sistemas se dividem em dois tipos:^{10,48}

1. sistema de transporte de equilíbrio (família SLC29).
2. sistema de transporte de concentração (família SLC28)^{10,48} Uridina e citidina serão captados a partir do líquido extracelular para o intracelular, tanto através do sistema de transporte de equilíbrio como do de concentração.

Uridina

A uridina chega a partir do sangue, podendo penetrar no sistema nervoso através da barreira hematoencefálica, ou através de carreamento por sistema de transporte de concentração para o plexo coroide^{1, 4, 9, 35, 36, 44, 45, 47, 49-51}. Uma vez no espaço intersticial cerebral, a uridina é captada pelos neurônios através das proteínas dos sistemas de transporte de concentração e de equilíbrio. Cada etapa da incorporação de uridina nos fosfatídeos cerebrais é catalisada por uma enzima de baixa afinidade.¹³

Após ser captada pelos neurônios, a uridina deverá ter dois destinos metabólicos:^{2, 4, 5}

1. fosforilação ao nucleotídeo correspondente, que será incorporado ao RNA pela uridinoquinase.
2. fosforilação em UTP, e conversão em CTP e CDP-colina para integração às vias de síntese de fosfolípidios de membrana celular.

Os níveis plasmáticos de uridina podem se elevar nas seguintes circunstâncias:⁵²

1. em vigência de demanda aumentada por CDP-colina neuronal, como, por exemplo, durante processos regenerativos de membrana celular neuronal em seres humanos.
2. aumento do consumo de UMP cerebral, com elevação paralela nos níveis de uridina cerebral (achado experimental).

Citidina

Em animais, mais de 30% da citidina circulante penetra no cérebro na primeira passagem do sangue pelo órgão³. Já Richardson *et al.* 2003 afirmam que a citidina pode cruzar a barreira hematoencefálica, e de forma rápida³. Em contraste à uridina, pouca citidina é encontrada no sangue humano, sendo que qualquer citidina exógena é rapidamente convertida a uridina no fígado. Portanto, uridina deverá ser o precursor para a CTP utilizada em humanos na síntese de fosfatídeos cerebrais.¹⁰

Considerações adicionais acerca da importância do aporte exógeno de nucleosídeos ao sistema nervoso

Pudemos notar que os sistemas de transporte de concentração e de equilíbrio de nucleosídeos, presentes na barreira hematoencefálica e membrana celular neuronal, além das enzimas neuronais metabolizadoras, possuem uma Km elevada para estes metabólitos, em relação aos seus níveis sanguíneos. Propomos que esta Km relativamente alta - especialmente no que concerne ao sistema de transporte de equilíbrio - represente uma reserva para captação e metabolização de nucleosídeos sanguíneos em uma taxa mais elevada, em condições de stress tecidual. Esta captação aumentada efetivamente ocorre durante lesão neural, como detalhado no capítulo Resposta Nucleotídica Neuronal à Lesão em Nervo Periférico.

Nucleotídeos Pirimidínicos e receptores P2Y

Quase todo tipo de célula de mamífero expressa purinoceptores P2, que são divididos em receptores P2X e P2Y. Receptores P2Y também se acoplam a canais iônicos, como canais de K^+ e canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem, principalmente no cérebro e neurônios autônomos.⁵³ Evidências recentes têm emergido a respeito dos Ca^{2+} e K^+ dependentes de diferença de potencial elétrico como essenciais nos mecanismos de transmissão fisiológica da dor e nos mecanismos da dor neuropática, sendo considerados como relevantes novos alvos no desenvolvimento de alternativas terapêuticas.⁵⁴

A dor neuropática é um tipo de dor patológica crônica que é caracterizada por hiperpatia (sensibilidade excessiva à dor), e hiperestesia (aumento na sensibilidade da pele) progressivas.⁵³

Nucleotídeos com função sinalizadora podem funcionar como mediadores parácrinos ou autócrinos. A UTP captada pelo receptor respectivo seria sequencialmente desfosforilada em UDP, UMP e uridina, à medida em que influenciasse a biologia da célula-alvo. Crescimento e proliferação celular são algumas de suas ações biológicas reconhecidas.^{15, 42}

Um dos alvos de nucleotídeos sinalizadores corresponde aos receptores da família P2, que se dividem em dois grupos:^{16, 41, 42, 55}

- P2X
- P2Y

São receptores metabotrópicos, ligados à proteína G. Há 7 tipos de receptores P2Y conhecidos, que diferem em sua preferência por adenina - purinoceptores - ou nucleotídeos de uracila - pirimidinoceptores (P2Y2, P2Y4 e P2Y6).

Receptores P2Y são receptores acoplados à proteína G, presentes na superfície de todas as células nucleadas do organismo. São classificados como receptores metabotrópicos, agindo através da ativação ou inibição de enzimas e proteínas sinalizadoras intracelulares. Seus ligantes são nucleotídeos purínicos ou pirimidínicos, di- ou trifosfato. Um modelo estrutural geral representando os receptores P2Y está detalhado na Fig. 2:

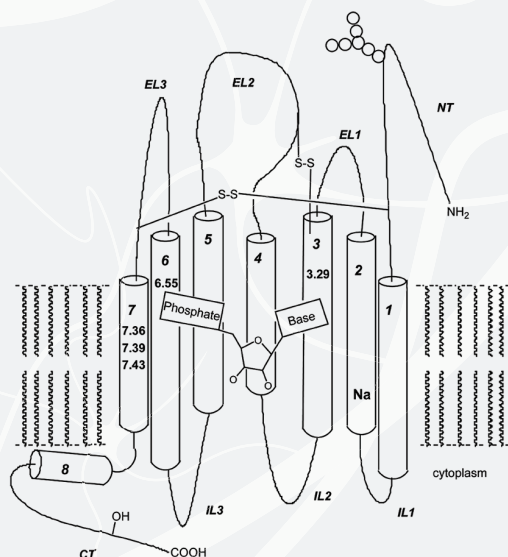


Fig. 2: Um modelo geral da estrutura molecular aberta de receptores P2Y está representado. Pode-se notar um ligante nucleotídico purínico em seu interior [adaptado de Jacobson KA, Costanzi S, Ohno M, Joshi BV, Besada P, Xu B, Tchilibon S. Molecular recognition at purine and pyrimidine nucleotide (P2) receptors. *Curr Top Med Chem*. 2004; 4(8): 805-19].

Os receptores P2Y apresentam funções comuns a todas as células (inclusive neurônios e células da glia), representadas por ações relacionadas a desenvolvimento, crescimento e regeneração:

1. mitogênese.
2. síntese de fatores de crescimento.
3. brotamento neurítico.
4. sobre regulação gênica de neurotrofinas.

No que concerne às células do sistema nervoso propriamente ditas, os receptores P2Y têm sido associados aos seguintes fenômenos:

1. modulação de canais iônicos de Ca^{2+} tipo N e de K^+ tipo M.
2. diminuição da liberação de noradrenalina em neurônios simpáticos pós-ganglionares.
3. ativação de neurônios sensitivos e da micrógliia.

Nucleotídeos pirimidínicos ligantes de receptores pirimidínicos P2Y são representados pelas formas di- e trifosfato da uridina (UDP e UTP), como ilustrado na Fig. 3:

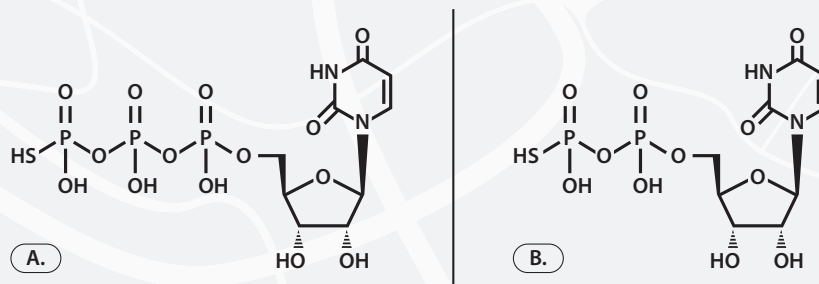


Fig. 3: UTP (A) e UDP (B).

Os papéis da sinalização de nucleotídeos extracelulares em muitos tecidos foram bem estudados (Yegutkin, 2008) desde que Burnstock descobriu pela primeira vez que os receptores purinérgicos participavam da transmissão neural.⁵³

A figura 4 representa a dor neuropática periférica sendo causada por lesão do Sistema Nervoso Periférico (SNP) ou outra doença. No gânglio da raiz dorsal, há uma comunicação entre as células gliais satélite (SGCs) e neurônios. Sob a condição de lesão do nervo, os receptores P2Y são ativados e expressos em alto nível em SGCs e neurônios via ADP / UDP / difusível UTP. SGCs e neurônios ativados liberam citocinas e quimiocinas para estimular umas às outras e modular a dor neuropática, o que causa a amplificação periférica. A amplificação periférica passa pela medula espinal e, em seguida, o impulso nervoso é transmitido para o cérebro e gera dor neuropática.

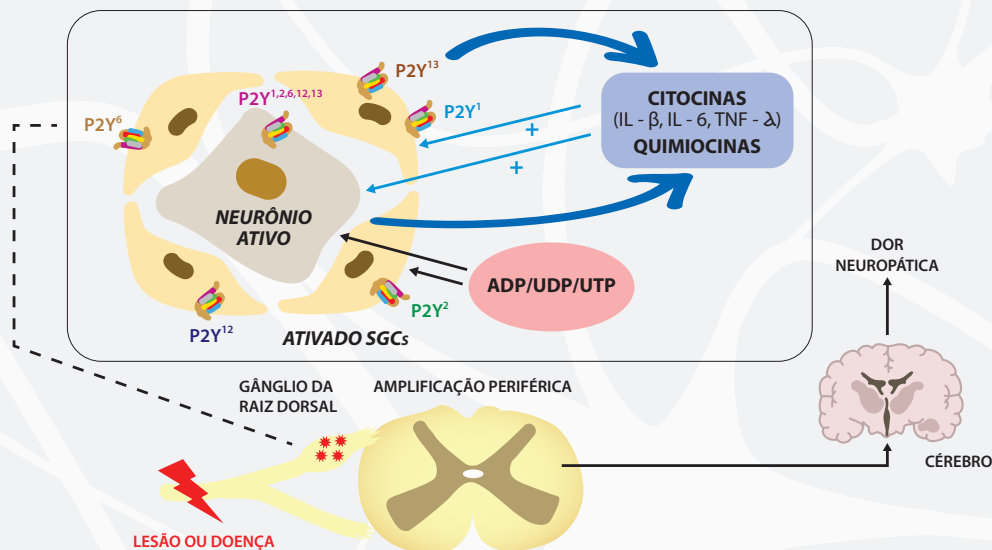


Fig. 4: Representação da dor neuropática e receptores P2Y. *Pharmacol Biochem Behav.* 2019.⁵³

Em termos de prevenção e tratamento da dor neuropática, estudos recentes de receptores P2Y fornecem algumas ideias novas. Os subtipos de receptores P2Y aumentam após a lesão do nervo, mas antes do início da dor neuropática, e o nível de expressão dos subtipos de receptores P2Y é um indicador de dor neuropática.⁵³

Os nucleotídeos pirimidínicos exercem um papel interessante com relação aos receptores P2Y, pois possuem afinidade por eles e por sua vez, podem contribuir na diminuição da liberação de fatores inflamatórios como citocinas e quimiocinas, que estimulam umas às outras e modulam a dor neuropática apresentando, portanto, papel fundamental no mecanismo de controle da dor neuropática.

Em relação ao sistema nervoso humano, há três subtipos principais de receptores P2Y ativados por nucleotídeos de uridina e de adenosina, assim classificados:

- receptores P2Y2

Seu mRNA correspondente foi localizado em gânglios da base, cerebelo e hipocampo humanos, e em neurônios de fibras A δ (relacionadas à transmissão fisiológica do impulso nociceptivo rápido) e C (relacionadas à transmissão fisiológica do impulso nociceptivo lento) do gânglio posterior e medula vertebral murinos.

- receptores P2Y4

Seu mRNA correspondente foi localizado em gânglios da base, cerebelo, hipotálamo e tálamo humanos. A proteína do P2Y4 foi localizada em gânglio posterior murino, co-expressa com o marcador NF200, característico de fibras A.

- receptores P2Y6

Seu mRNA correspondente foi localizado em neurônios sensitivos do SNP e medulares humanos. A proteína do P2Y6 foi localizada em neurônios de gânglio cervical posterior murino.

Okada *et al.* 2002⁵⁵ desenvolveram modelos nociceptivos neuropáticos murinos, com o objetivo de medir os efeitos analgésicos associados à administração intratecal de ligantes nucleotídicos de receptores P2Y (UTP e UDP), contra um veículo. Estes investigadores relataram os seguintes achados, resumidamente:

- A. Ratos sem neuropatia induzida:

1. elevação do limiar nociceptivo mecânico ($p < 0,001$).
2. prolongamento do tempo de latência nociceptiva termal ($p < 0,01$ para UTP, e $p < 0,05$ para UDP).

- B. Ratos com ligadura do nervo ciático: efeito anti-alodínico ($p < 0,01$).

Os autores concluíram que a ativação de receptores P2Y2 e P2Y4 UTP-sensíveis e de receptores P2Y6 UDP-sensíveis, produziram efeitos inibitórios sobre a transmissão algica espinal.

Resposta nucleotídica neuronal à lesão em nervo periférico

Estudos experimentais sobre padrões de alteração ganglionar pós-vagotomia do núcleo do nervo hipoglosso pós-seccionamento axonal e do gânglio da raiz dorsal do nervo ciático, utilizando nucleosídeos e fosfato marcados^{18, 40, 52, 57-65}, descreveram um padrão cronológico de resposta nucleotídica, que poderia ser resumido da seguinte forma:

D1 a D2:

- aumento da captação neuronal de uridina e citidina;
- aumento da incorporação dos precursores do rRNA (uridina e citidina);
- picos de concentração do rRNA;
- alterações na distribuição celular do mRNA (precursor do mRNA);
- aumento sustentado da síntese do RNA até o D3;
- aumento da síntese do DNA;
- aumento máximo da incorporação de fosfato a UTP, CTP e ADP, que persiste até o D8;
- aumento da síntese da ribose nucleotídica;
- aumento da taxa de transferência do RNA do núcleo para o citoplasma (esse fenômeno coincide com a ocorrência do edema do corpo neuronal, descrito na fase cromatolítica da degeneração walleriana).

D3:

- aumento da incorporação de citidina e de uridina ao RNA;
- taxas de incorporação máxima de uridina e de citidina ao rRNA.

D4:

- início do aumento do RNA celular.

D7:

- normalização da taxa de incorporação de precursores do rRNA.

D14:

- aumento da hetero-dispersão (dispersão com partículas de diâmetro diferentes) do mRNA;
- diminuição da concentração do rRNA;
- retorno aos níveis basais do mRNA.

D20:

- atividade de síntese máxima do RNA celular.

D70:

- taxa reduzida da síntese ribossômica.

Esses autores também sugeriram haver uma tendência para que essas alterações genômicas perdurem proporcionalmente ao tempo da regeneração neuronal. De forma similar, Watson sugere que durante o período de crescimento axonal, a taxa de transferência do RNA diminui gradualmente até um nadir, e assim permanece. Em contraste, Kline *et al.* 1985 afirmam que o aumento da síntese de RNA neuronal deverá persistir até a regeneração completa da célula.^{52, 65}

Gunning *et al.* 1977 constataram que a vagotomia cervical foi capaz de causar um aumento da síntese *de novo* de nucleotídeos pirimidínicos em gânglio de ratos, aumentando a síntese de RNA neuronal⁵⁸. Os mesmos autores, em outro estudo, notaram interessantemente alterações genômicas semelhantes no gânglio contralateral ao gânglio do nervo lesado.⁵⁹

Resposta nucleotídica glial à lesão em nervo periférico

Um estudo sobre a resposta de ácidos nucleicos em células de Schwann pós-lesão neural, estabeleceu a seguinte evolução cronológica para esse tipo de célula⁶⁶:

D1:

- aumento do DNA e do RNA em ambas as metades do nervo seccionado, com duplicação de seus níveis (aumento mais intenso em secções próximas ao sítio da lesão).

D2:

- divisão nuclear de célula de Schwann.

Esses autores sugeriram que o aumento observado de RNA seria provavelmente de origem axonal, e o de DNA de origem glial.

Resposta citológica *in vitro* com nucleotídeos

Pooler *et al.* 2005 realizaram estudo no qual incubaram células PC-12 diferenciadas com NGF e uridina em várias concentrações, contra um grupo de células-controle, constatando as seguintes alterações:^{1,6}

- crescimento dose-dependente do número de neuritos por célula após 4 dias ($p < 0,01$ com $50 \mu\text{M}$), acompanhado de aumento nos níveis neuríticos de neurofilamento-M ($p < 0,001$) e neurofilamento-70 proteicos ($p < 0,01$);
- aumento dos níveis de CTP intracelular.

Sugeriram que este aumento de CTP justificaria o crescimento neurítico, através de dois mecanismos:

- aumento pela uridina dos níveis de CDP-colina e da síntese de fosfatidilcolina;
- estímulo direto de UTP sobre receptores P2Y.

Por fim, concluíram que:

- uridina elevou significativamente o crescimento e ramificação de neuritos em células PC-12;
- possíveis mecanismos seriam o aumento da síntese de fosfatidilcolina e a ativação de receptores P2Y.

Silei *et al.* 2000⁶⁸ exploraram os efeitos da uridina exógena em células de neuroblastoma humano LAN-5 (um modelo de célula neuronal). Constataram um decréscimo da taxa de proliferação celular, simultâneo a um aumento da diferenciação celular demonstrado pelo significativo crescimento neurítico ($p < 0,05$) e pela expressão neurofilamentosa (Fig. 5). Atribuiu-se este efeito à isoenzima PKC ϵ , ligada à diferenciação de células de neuroblastoma, cujos níveis intracelulares se elevaram após tratamento com uridina.

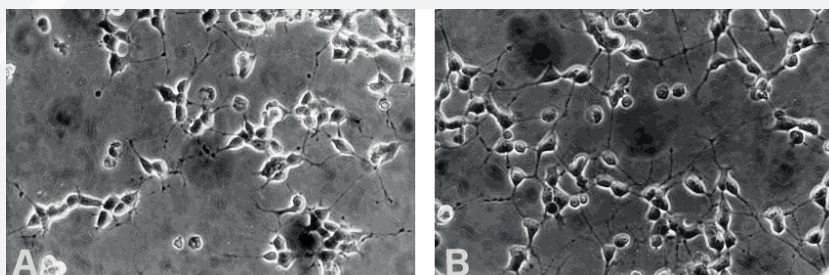


Fig. 5: Células LAN-5 controle (A) e incubadas com $10 \mu\text{g/ml}$ de uridina por 4 dias (B).

Concluiu-se que a PKC ϵ está envolvida na diferenciação celular uridina-induzida, em células de neuroblastoma humano.⁶⁸

Savci *et al.* 1995 em um estudo com citidina em cortes de corpo estriado de cérebro de rato, constaram as seguintes respostas (todas estatisticamente significativas), respectivamente:²

- citidina isolada
Aumento dose-dependente de citidina e CTP intracelulares, com elevação da taxa de incorporação de colina - por conseguinte de fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina - em membranas celulares.
- citidina + colina
Aumento adicional nos níveis de fosfatidilcolina de membrana, em relação à citidina isolada.
- citidina + etanolamina
Aumento adicional nos níveis de fosfatidiletanolamina, em relação à citidina isolada.

Concluíram que a citidina, atuando provavelmente através de sua forma nucleotídica - CTP - aumentou a síntese e os níveis de fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina de membrana celular neuronal cerebral.

Richardson *et al.* 2003³ em um estudo no qual foi medido o grau de estímulo da síntese de CDP-colina por uridina e citidina em células PC-12, constataram que a adição de uridina causou elevação intracelular significativa ($p < 0,05$) dos níveis de UTP e CDP-colina, sugerindo que aquele nucleosídeo pode elevar a síntese de fosfatidilcolina no cérebro.³

G. *et al.* 1992⁸² em um estudo de mensuração da resposta de síntese de fosfolípidos de membrana de células PC-12 à adição de citidina ao meio, constataram uma elevação significativa ($p < 0,05$) no conteúdo de colina, fosfatidilcolina, fosfatidilserina, e fosfatidiletanolamina de membrana, com citidina + colina, em relação à colina isoladamente. Concluíram que pirimidinas exógenas (citidina), agindo via CTP, afetam a síntese de fosfolípidos de membrana celular.⁸²

Mecanismo de ação e base racional para a indicação de nucleotídeos em neuropatias periféricas

Aumento da síntese protéica neuronal

Um processo degenerativo-regenerativo classicamente descrito, denominado degeneração Walleriana, se seguirá à desintegração mecânica do binômio axônio-glia. Durante este fenômeno, a velocidade das vias anabólicas mielínicas e axolemais estará acelerada. Espera-se, portanto, que os nucleotídeos sejam utilizados em uma quantidade superior à basal, juntamente a outros metabólitos importantes.

Elementos sugestivos da participação dos nucleotídeos pirimidínicos neste processo são:

- Wang *et al.* 2005 avaliaram o efeito de uma suplementação dietética com UMP sobre os níveis das proteínas neurofilamento-70 e neurofilamento-M neuronais durante 6 meses, contra um grupo controle. Constataram que os níveis destes biomarcadores de crescimento neurítico elevaram-se significativamente ($p < 0,05$, e $p < 0,01$, respectivamente). Concluíram que UMP é capaz de modular o crescimento neurítico *in vivo*;⁶
- as taxas de transcrição e tradução genômicas estarão aceleradas durante processos degenerativos-regenerativos, com consequente elevação do uso de nucleotídeos necessários à composição dos ácidos nucleicos;^{8,28}
- Pooler *et al.* 1995^{1,6} realizaram estudo no qual incubaram células PC-12 diferenciadas com NGF

e uridina em várias concentrações constatando, dentre outros achados, um aumento nos níveis neuríticos de neurofilamento-M e neurofilamento-70 proteicos;^{1,6}

- Em um estudo que correlacionou atividade motora, captação de uridina trítio-marcada ([³H] uridina) e síntese proteica em cérebro de ratos, os autores propuseram ser o mRNA a principal forma de RNA incorporadora deste isótopo;⁶⁹
- Fog 1992 defende que a captação de uridina por neurônios está relacionada à síntese de RNA por estas células.⁴⁷

Aumento da síntese da bainha de mielina

Nas etapas posteriores do processo de degeneração Walleriana, a passagem do cone axonal através dos feixes de Bungner no coto neural distal irá deflagrar o enrolamento da membrana celular das células de Schwann em torno do axônio em progressão, formando uma bainha de mielina (Figs. 6 a 8). Naturalmente, sob essas condições, a demanda por precursores lipídicos mielínicos e outros elementos necessários em suas vias anabólicas (inclusive intermediários metabólicos nucleotídicos) deverá estar aumentada.⁷⁰

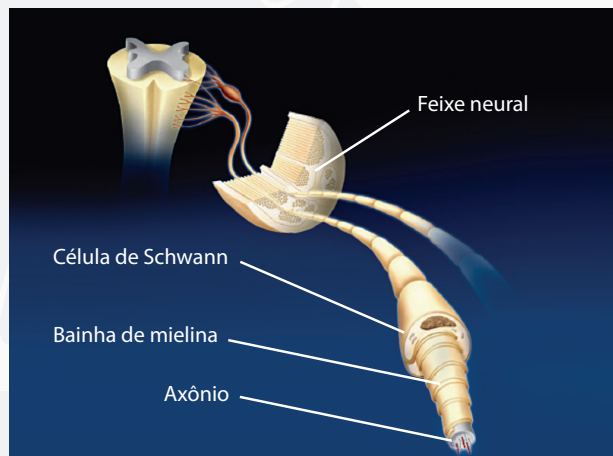


Fig. 6: Diagrama representando a origem dos componentes estruturais neurogliais.

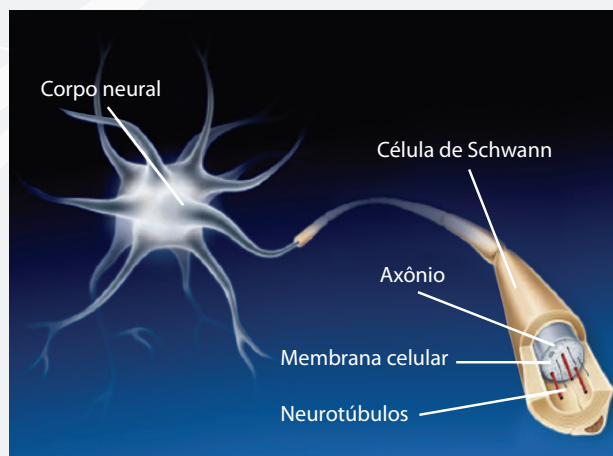


Fig. 7: Detalhe da relação estrutural entre o axônio e a célula de Schwann, no nervo periférico.

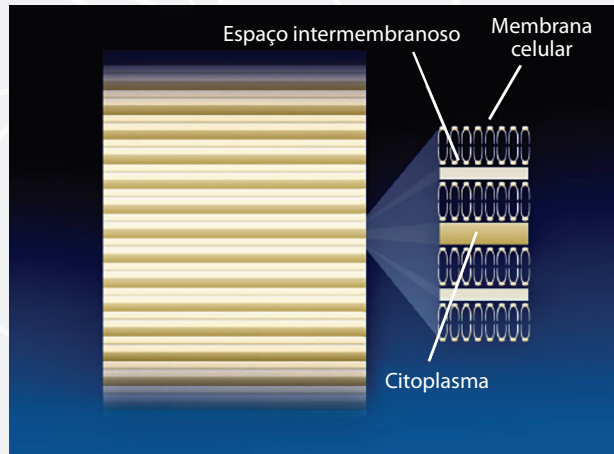


Fig. 8: Diagrama estrutural da bainha de mielina. Observa-se que a mielina consiste em camadas superpostas de membrana celular da célula de Schwann, com suas respectivas faces extracelular e intracelular.

Aumento da síntese de membrana celular neuronal

De forma semelhante ao mecanismo de aumento da síntese da bainha de mielina, será necessário um aumento da síntese de elementos estruturais do axolema, paralelamente ao avanço do cone axonal. Também nesta situação, a participação de intermediários metabólicos nucleotídicos será importante.^{5, 28, 37, 43}

Elementos sugestivos da participação dos nucleotídeos pirimidínicos neste processo são:

- precursores de fosfolipídios de membrana celular neuronal - uridina e citidina - são capazes de aumentar a sua síntese, devido ao grau elevado de saturabilidade das enzimas envolvidas; este fato gera a expectativa de que seus níveis elevados, através de administração exógena de uridina e citidina, elevem a taxa de refosforilação de uridina e citidina, com consequente aumento dos níveis intracelulares de UTP e CTP, e da síntese de fosfolipídeos de membrana, tanto *in vitro* como *in vivo*;^{4, 5, 10}
- durante o crescimento neuronal acelerado, a disponibilidade de precursores fosfolipídicos, tais como CTP e o seu precursor uridina, torna-se um fator limitante na síntese de fosfatidilcolina, um dos fosfolipídeos componentes da membrana de células de linhagem PC-12;⁶⁷
- os níveis plasmáticos basais de citidina em seres humanos são considerados baixos (1 a 2 μM); não seria surpreendente se, em vigência de deterioração da membrana celular neuronal, esta concentração fosse um fator limitante à síntese *de novo* dos fosfolipídeos de membrana;³
- a uridina circulante é considerada um precursor essencial para a síntese de fosfatidilcolina, o fosfatídeo de membrana celular neuronal mais abundante (uridina seria a principal pirimidina circulante em seres humanos, e a citidina em ratos).¹³

Com base nestes dados, pode-se propor que o fornecimento de nucleotídeos em condições de anabolismo acelerado, quer seja fisiológico ou exógeno sob a forma de suplemento farmacológico, possa ser vantajoso.

As vias metabólicas glioneurais influenciáveis pelos nucleotídeos pirimidínicos UTP e CMP se encontram no mapa metabólico detalhado na figura 9.

Modulação de receptores P2Y

UTP formada de uridina, e liberada a partir do neurônio, parece possuir as seguintes propriedades agonistas.^{6, 8, 10, 16}

- excitabilidade dos pirimidinoceptores P2Y4 e P2Y6 no SNP, e P2Y2, P2Y4 e P2Y6 no Sistema Nervoso Central (SNC), com elevação da síntese de fosfatidilcolina;
- influência sobre o crescimento neuronal através de receptores P2Y, com formação sucessiva dos sinalizadores intracelulares IP3, DAG, Ca^{2+} , e PKC.

Pooler *et al.* 2005^{1, 6} descrevem um crescimento neurítico em células PC-12, possivelmente sinalizado a partir da estimulação de receptores P2Y deflagrada pela conversão de uridina exógena em UTP50.^{1, 6}

Wang *et al.* 2007 descrevem que UMP afeta a produção fosfatídica de membrana através da elevação de UTP cerebral, e ativação de receptores P2Y.⁹

Anderson *et al.* 1997 em uma revisão sobre um potencial papel de UTP e UDP como moléculas sinalizadoras, sugerem que esta propriedade poderia ser manipulada objetivando efeito farmacológico.⁴²

Silei *et al.* 2000⁶⁸ em seu estudo sobre diferenciação de células de neuroblastoma induzida pela uridina, sugerem que a captação celular de uridina seguida pela sua conversão enzimática a nucleotídeos de uracila, decorre da ativação de pirimidinoceptores. Acrescentam que o mecanismo de diferenciação celular pode ser induzido pela presença destes receptores na superfície de células de neuroblastoma, ativados por nucleotídeos de uracila.⁶⁸

As vias metabólicas glioneurais influenciáveis pelos nucleotídeos pirimidínicos UTP e CMP se encontram sumarizadas no mapa metabólico da Figura 9.

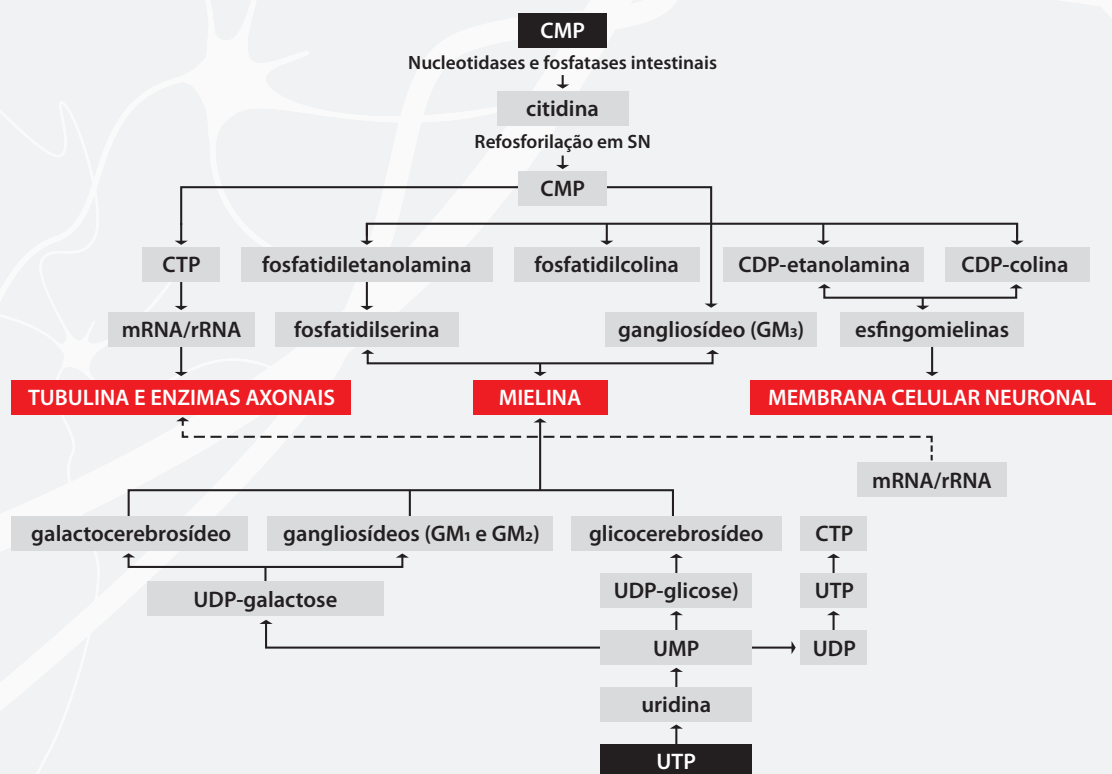


Fig. 9: Visão geral do mecanismo de ação de nucleotídeos CMP e UTP na regeneração neural periférica.

Hidroxocobalamina

Metabolismo e funções da hidroxocobalamina⁷¹⁻⁷³

A hidroxocobalamina é uma forma de vitamina B₁₂ cujo átomo central de cobalto é ligado a um radical hidroxila (Fig. 10). A vitamina B₁₂ é uma vitamina pertencente às vitaminas do complexo B, uma família de vitaminas hidrossolúveis essenciais ao funcionamento coenzimático de células de tecidos tais como o trato gastrointestinal, medula óssea, e sistema nervoso.

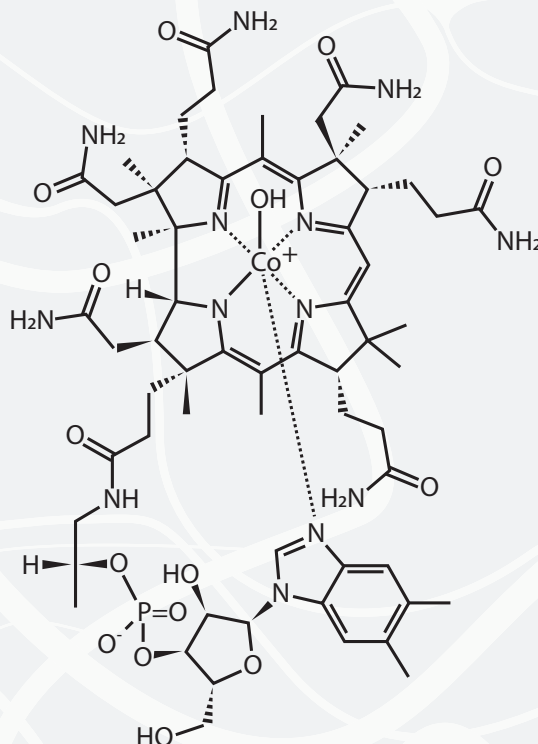


Fig. 10: Estrutura molecular da hidroxocobalamina.

As reações enzimáticas fisiológicas das quais a vitamina participa podem ser divididas em dois tipos, de acordo com a forma com que se apresenta no metabolismo humano:

- dependentes de metilcobalamina e de cobalamina.

Metilcobalamina e cobalamina são cofatores necessários ao funcionamento da metionina sintase. Esta enzima utiliza o metiltetrahidrofolato e a homocisteína como substratos para a síntese de tetrahidrofolato e de metionina, respectivamente. O primeiro é necessário à formação de SAM, destinada à síntese de MBP, e a segunda à síntese de metionina que, em neurônios, será utilizada na formação de tubulinas axonais.

- dependentes da 5'-desoxiadenosilcobalamina.

A 5'-desoxiadenosilcobalamina é um cofator necessário à conversão enzimática de metilmalonil CoA (derivada da propionil CoA) em succinil CoA. Esta última participa da síntese dos ácidos graxos de cadeia uniforme, inclusive aqueles da bainha de mielina na célula de Schwann.

Suporte à regeneração glial e neuronal pela hidroxocobalamina^{71,74}

Há dois mecanismos defendidos para explicar a participação da vitamina B₁₂ na recuperação estrutural glial em distúrbios neurais periféricos:

- elevação da concentração de SAM nas células da glia.

A SAM é um metabólito fundamental na transmetilação de aminoácidos, ligada à síntese da MBP, uma das proteínas responsáveis pela compactação das superfícies citoplasmáticas da bainha de mielina. Como visto acima, a SAM é produto de uma reação dependente da vitamina B₁₂. Pode-se assumir que a suplementação com vitamina B₁₂ em situações de regeneração estrutural neural possa, portanto, elevar sua disponibilização em células de Schwann.

- elevação da concentração glial de succinil CoA.

A maior disponibilidade de 5'-desoxiadenosilcobalamina pode promover um aumento da conversão de metilmalonil CoA em succinil CoA, e com isto uma maior taxa de síntese de ácidos graxos de cadeia uniforme mielínicos. Sabe-se também que a propionil CoA, eventualmente acumulada pela não-conversão de metilmalonil CoA em succinil CoA, é capaz de inibir a ação desta última. Isto levaria, por sua vez, à inserção anômala de ácidos graxos de cadeia não-uniforme à membrana da face citoplasmática da bainha de mielina, com formação defectiva desta estrutura. A oferta de vitamina B₁₂ e, portanto, de 5'-desoxiadenosilcobalamina, poderia evitar este fenômeno.

Como detalhado acima, a vitamina B₁₂ participa na conversão da homocisteína em metionina, um dos aminoácidos que compõe as tubulinas axonais. Em princípio, o suporte terapêutico vitamínico à ressíntese protéica do sistema de transporte axonal poderia, portanto, influenciar a qualidade regenerativa neuronal.

Resposta com o uso experimental de nucleotídeos

Wattig *et al.* 1991,1992 realizaram uma série de estudos controlados terapêuticos envolvendo lesão por esmagamento de nervo periférico, comparando UMP e CMP parenterais com solução salina ou não-cirurgia, objetivando determinar padrões evolutivos histopatológicos, neurofuncionais e musculares. Constataram no subgrupo terapêutico, comparativamente aos outros subgrupos, resumidamente (todas as variáveis de eficácia com significância estatística): ^{61, 62, 64, 75}

- aumento da velocidade de condução da fibra aferente única do tipo II, aos 40 dias;
- aumento do diâmetro de fibras musculares do tipo II, aos 40 dias;
- maior aumento do diâmetro de fibras musculares do tipo II, aos 60 dias;
- aumento seccional da área da superfície mielínica axonal, da fibra nervosa e da fibra muscular tipos I e II, aos 60 dias;
- aumento da espessura da bainha de mielina e da superfície axonal, milímetros abaixo do sítio de lesão.

Farmacocinética dos nucleotídeos pirimidínicos

Farmacocinética sistêmica experimental

Uridina oral ⁷⁶

- sítio principal de catabolismo: fígado;
- metabólito: uracila;
- enzimas degradadoras: uridina-fosforilase; diidrotimina-desidrogenase;
- níveis plasmáticos de uracila:
 - constantes e prolongados, provavelmente pela saturabilidade das enzimas degradadoras hepáticas, e do sistema de transporte de mucosa intestinal para a uridina;
 - superiores aos da uridina;
- níveis plasmáticos de uridina:
 - constantes e prolongados, provavelmente pela saturabilidade das enzimas degradadoras hepáticas;
 - acúmulo tissular de nucleotídeos de uridina: provavelmente seria expandido.

UMP oral ⁹

- velocidade de absorção de UMP: rápida;
- elevação dos níveis plasmáticos: de 6 a 21,9 μM ;
- tempo para elevação dos níveis plasmáticos: 5 a 6h;
- metabólito da UMP na circulação: uridina.

Uridina IV ³⁰

- *clearance* plasmático: rápido (e mais rápido do que o da citidina);
- taxa de metabolização sistêmica: >70%;
- taxa de resgate: menor do que a taxa de metabolização sistêmica;
- concentrações de nucleosídeos disponíveis para resgate a partir do plasma:
 - uridina: baixa;
 - citidina: baixa.

RNA oral marcado com citosina e uracila radiomarcados (14C) ²²

- taxa de absorção: >80%;
- taxa de metabolização tissular (quatro horas após ingestão): 2 a 5% (principalmente em tecido gastrointestinal);
- sítio de utilização e degradação de ácidos nucleicos, nucleotídeos e nucleosídeos (de uracila e citosina) em dose aumentada: tecido gastrointestinal, antes de sua entrada na circulação sistêmica;
- principais componentes dos produtos digeridos na luz intestinal (uma hora após a ingestão): uridina e citidina (constatação compatível com o dado de que ácidos nucleicos pirimidínicos são absorvidos principalmente sob a forma de nucleosídeos);
- tempo desde absorção até a excreção: 8h.

Farmacocinética sistêmica humana

Espera-se que nucleotídeos administrados oralmente sejam degradados em nucleosídeos e bases nitrogenadas no tubo digestivo, antes de serem captados pelo epitélio intestinal²⁷. A administração oral de citidina e uridina, eleva suas concentrações respectivas no plasma de seres humanos. Os níveis cerebrais destas pirimidinas (particularmente de uridina), são alterados quando as concentrações plasmáticas variam após sua administração oral e sistêmica.⁵

A curva concentração x tempo para uma dose oral de uridina (indicada como anti-lipodistrófico na SIDA) foi definida por Venhoff *et al.* (Fig. 11):⁶⁷

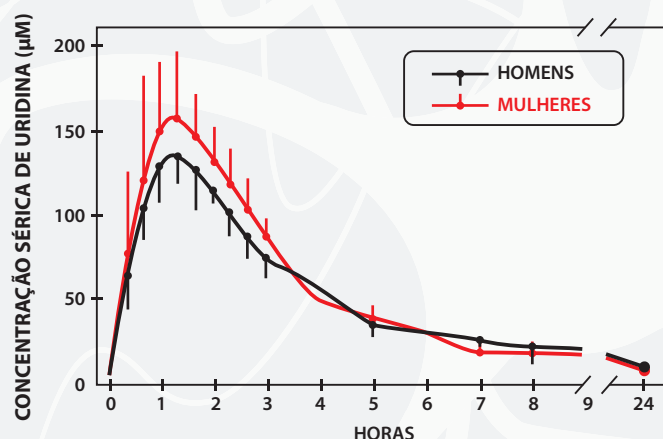


Fig. 11: Curva-concentração x tempo para uridina oral.

Estudos clínicos em neuropatias compressivas

Avaliar a eficácia e segurança de Etna® cápsulas nas alterações ortopédicas degenerativas na coluna vertebral e quadril complicadas com compressão neural e dor neuropática

Em um ensaio clínico randomizado e duplo-cego, Goldberg *et al.* 2009⁷⁵ avaliaram a eficácia e a tolerância da administração oral da associação dos nucleotídeos UTP e CMP com hidroxocobalamina, em pacientes apresentando alterações ortopédicas degenerativas em coluna vertebral e quadril complicadas com compressão neural e dor neuropática. Uma amostra foi dividida em dois braços com 40 pacientes cada, esquemas de 30 dias de duração, respectivamente: grupo A - 2 cápsulas de UTP 1,5 mg, CMP 2,5 mg e hidroxocobalamina 1000 mcg três vezes ao dia, e grupo B - 2 cápsulas de hidroxocobalamina 1000 mcg três vezes ao dia.

Os resultados finais ao D30 de estudo são resumidos por variável de eficácia estudada, como se segue:

1. Escala Visual Analógica (EVA), favorável ao grupo A ($p < 0,0001$).
2. Questionário de funcionalidade do paciente, favorável ao grupo A ($p = 0,0007$).
3. Avaliação do paciente, favorável ao grupo A ($p < 0,0001$).
4. Avaliação da condição global pelo médico, favorável ao grupo A ($p < 0,0001$).
5. Avaliação final de eficácia geral pelo médico, favorável ao grupo A ($p < 0,0001$).
6. Avaliação final de tolerabilidade pelo médico, favorável ao grupo B ($p = 0,0009$).

Etna® apresentou os melhores resultados em todas as 4 medidas de eficácia. Ao final de 30 dias, os pacientes no grupo B com hidroxocobalamina, permaneceram com escala de dor considerada como moderada.

Os autores concluíram que Etna® (associação de nucleotídeos UTP e CMP com hidroxocobalamina) foi eficaz e segura no tratamento de neuralgias decorrendo de alterações traumato-compressivas de origem ortopédica.

Etna® foi eficaz na dor e na melhora da funcionalidade no tratamento de alterações degenerativas ortopédicas com compressão neural.

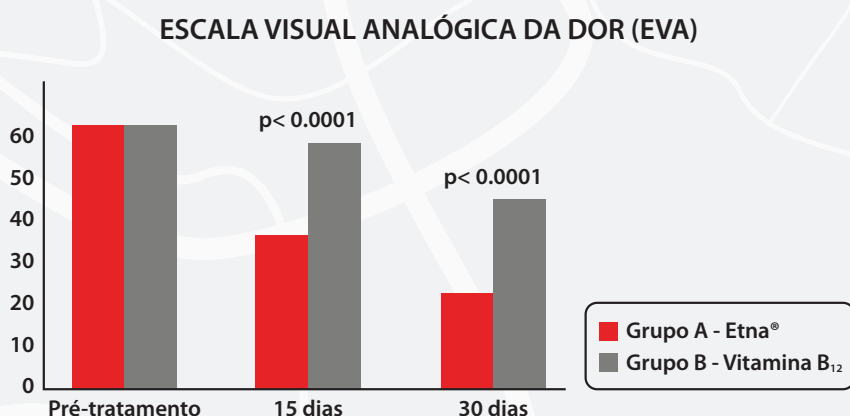


Fig. 12: Avaliação da Dor em 15 e em 30 dias de tratamento com Etna® vs Vitamina B₁₂ em monoterapia. Adaptado de Goldberg et al; 2009.

Quando comparado à vitamina B₁₂ em monoterapia, Etna® apresentou:

- Na melhora da dor: redução maior e estatisticamente significativa em 15 e 30 dias.
- Na melhora da funcionalidade: uma resposta 2 vezes maior no restabelecimento da autonomia já em 15 dias de tratamento.

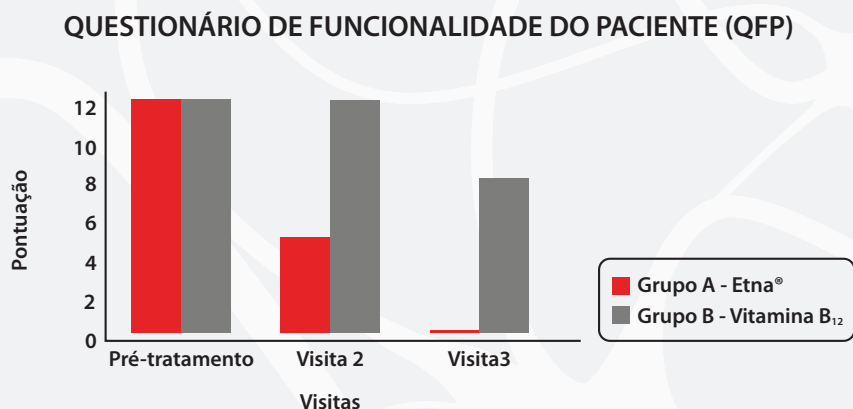


Fig. 13 . Avaliação da Funcionalidade do paciente, através do QFP, com 12 itens. Uma grande redução foi observada no grupo com Etna® e esta redução foi estatisticamente significativa ($p=0.0007$).

Avaliação da eficácia através da investigação do médico ao final do tratamento – 63,2% dos pacientes receberam avaliações “muito boa” e “boa” no grupo com Etna®, comparado com 10% no grupo B com vitamina B₁₂ (p<0,0001).

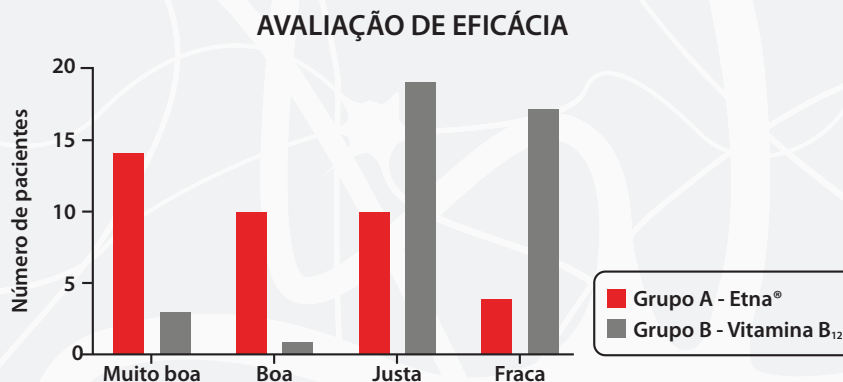


Fig. 14. Avaliação da eficácia através da investigação do médico ao final do tratamento.

O tratamento com Etna® é significativamente eficaz na redução da dor, devido à exclusiva ação dos nucleotídeos (UTP + CMP). Etna® apresenta efeito mais positivo nos parâmetros de dor e funcionalidade no tratamento de alterações ortopédicas degenerativas com compressão neural em relação à hidroxocobalamina isolada.

A pontuação da avaliação global do médico melhorou de forma significativa apenas no grupo tratado com Etna®.

Avaliar a eficácia e a segurança de Etna® cápsulas em associação com AINE nas alterações ortopédicas degenerativas na coluna vertebral e quadril, complicadas com compressão neural e dor neuropática

Em um ensaio clínico randomizado, controlado, duplo-cego, grupo paralelo, Mibielli *et al.* 2010⁷⁶ avaliaram a eficácia e a segurança da administração oral da associação dos nucleotídeos UTP e CMP com hidroxocobalamina, em associação com um AINE, em pacientes apresentando dor aguda não traumática.

Uma amostra foi dividida em dois braços com 40 pacientes no grupo de Etna® em associação com AINE e 41 pacientes no grupo controle com Etna®. O estudo teve duração de 10 dias.

O desfecho primário do estudo foi o número de indivíduos com redução de EVA > 30 mm após 10 dias de tratamento. Os desfechos secundários incluíram o número de pacientes com melhora > 5 pontos no QFP após 10 dias de tratamento e o número de indivíduos que apresentaram eventos adversos.

87,5% dos pacientes no grupo de Etna® em associação com AINE atingiram uma redução na pontuação da EVA > 30 mm em 10 dias de tratamento vs 51,23% com Etna® em monoterapia p>0,0006.

80% dos pacientes no grupo Etna® + AINE tiveram uma redução na pontuação de > 5 pontos no QFP vs 29,3% no Etna® em monoterapia p<0.001.

A combinação de Etna® com AINE reduziu a dor e melhorou a funcionalidade em pacientes apresentando dor aguda, não traumática lombar, dos quadris e pescoço, já em 5 dias de tratamento.

ALTERAÇÃO NA PONTUAÇÃO DE EVA NA VISITA 3 (10 DIAS DE TRATAMENTO)

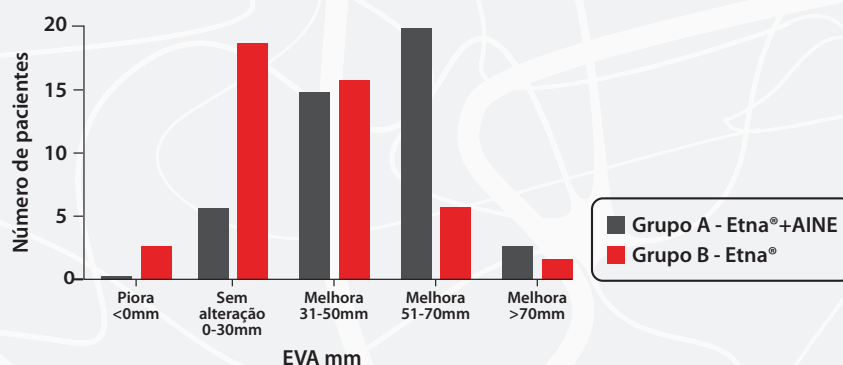


Figura 15 - A combinação de AINE + Etna® resultou em um maior número de indivíduos com reduções na pontuação EVA > 30 mm após o tratamento.

DISTRIBUIÇÃO DAS PONTUAÇÕES DE QFP NO PRÉ TRATAMENTO E NA VISITA 3

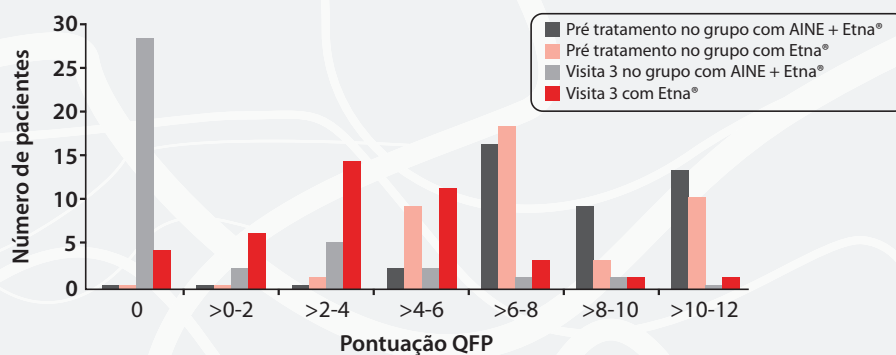


Fig.16 - 80% dos indivíduos tiveram uma redução de pontuação > 5 pontos no QFP na Visita 3 no grupo em associação de Etna® com AINE ($p < 0,0001$).

Pode-se concluir que na Visita 3 a funcionalidade dos pacientes do grupo com Etna® em associação a um AINE apresentou melhor resposta do que no grupo com Etna® em monoterapia.

A associação de um AINE ao Etna® na fase inicial do tratamento, potencializa o alívio dos sintomas, enquanto Etna® restabelece a condução nervosa e trata a causa.

Análise post hoc do estudo de Mibielli et al 2010

Na análise *post hoc* do estudo de Mibielli *et al.* 2014⁷⁷ analisou-se a evolução do braço terapêutico com Etna® em monoterapia na lombalgia aguda não-traumática. Os autores constataram que houve melhora na EVA, com redução da dor já em 5 dias de tratamento e estatisticamente significativa no 10º dia de tratamento ($p < 0,0001$).

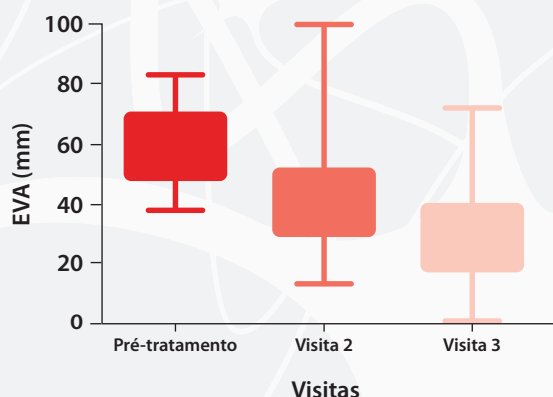


Fig.17 – Avaliação do escore de dor na visita 2 (5 dias de tratamento) e visita 3 (10 dias de tratamento).

Além de eficaz na regeneração neural, Etna® também é eficaz no alívio da dor não traumática na coluna, pescoço e quadril e melhora a funcionalidade dos pacientes.

Estudo em larga escala para avaliar a eficácia e segurança de Etna® cápsulas em pacientes com neuralgia decorrente de compressão neural associada às alterações ortopédicas degenerativas e trauma, e comparar esses efeitos com administração isolada de vitamina B₁₂

Goldberg *et al.* 2017⁷⁸ realizou um ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado, que consistiu em um tratamento de 30 dias. Grupo A (n = 200) recebendo nucleotídeos + vitamina B₁₂ (Etna®), e grupo B (n = 200) recebendo vitamina B₁₂ em monoterapia. O *endpoint* primário do estudo foi a porcentagem de indivíduos apresentando > pontuações de dor ≤ 20 na escala EVA no final do período de tratamento do estudo. *Endpoints* do estudo secundário incluíram a porcentagem de indivíduos que apresentaram melhora ≥ 5 pontos na funcionalidade do paciente, através do QFP; porcentagem de indivíduos apresentando redução da dor (redução nas pontuações EVA no final do estudo em relação ao pré-tratamento); e número de indivíduos que apresentam eventos adversos.

Os resultados deste estudo mostraram uma melhora mais expressiva nas avaliações de eficácia entre os indivíduos tratados com a combinação de nucleotídeos + vitamina B₁₂, com uma superioridade estatisticamente significativa da combinação na redução da dor (evidenciada pelo escore EVA).

Todos os pacientes do grupo tratado com hidroxocobalamina em monoterapia, permaneceram ao final de 30 dias com dor moderada. Os eventos adversos em ambos os grupos de tratamento foram transitórios e nenhum evento adverso grave foi relatado.

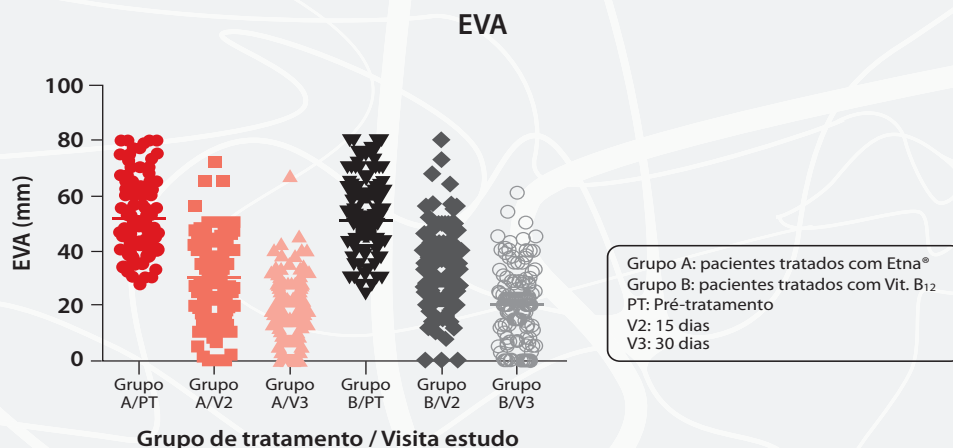


Figura 18: Avaliação do escore de EVA de dor nos pacientes tratados com Etna® vs tratados com vitamina B₁₂ em monoterapia – A % de pacientes apresentando escore EVA ≤ 20 mm na V3 foi significativamente maior no grupo A que no grupo B (p=0,0425).

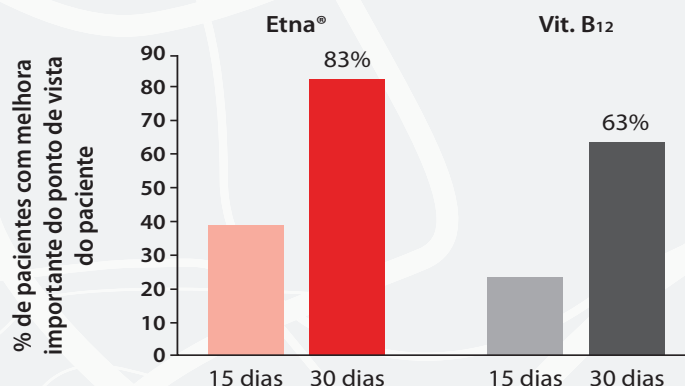


Figura 19: Avaliação da eficácia, sob o ponto de vista do paciente. 83% dos pacientes tiveram melhora no grupo com Etna®, comparado à 63% no grupo com vitamina B₁₂.

As avaliações realizadas pelos pacientes e pelo médico investigador demonstraram a eficácia de Etna® na redução significativa da dor.

Etna®, portanto, é seguro e eficaz no tratamento de neuralgias decorrentes de compressão neural associada às alterações ortopédicas e trauma degenerativo.

Os nucleotídeos são imprescindíveis para eficácia do tratamento, com alívio efetivo dos sintomas.

Estudo com Etna® injetável seguido da administração de Etna® cápsulas na avaliação da ação clínica dos nucleotídeos na lesão nervosa

Estudo clínico realizado por Nunes CP *et al.* 2013⁷⁹ prospectivo, envolvendo 120 pacientes com idade entre 18-65 anos. O objetivo do estudo foi avaliar a ação clínica dos nucleotídeos na lesão nervosa, administrando Etna® Injetável por 6 dias, seguido de Etna® cápsulas por 30 dias. As avaliações de eficácia incluíram avaliação da escala EVA de dor de 100 mm, teste de parestesia, avaliação da coordenação motora, teste de percepção de vibração e condição geral de 1-10 pontos. As avaliações de segurança incluíram sinais vitais e monitoramento de eventos adversos durante todo o estudo.

Os resultados observados foram:

Redução significativa do número de pacientes apresentando:

- EVA de dor ($p=0,0009$);
- Parestesia ($p<0,0001$);
- Alteração da percepção de vibração ($p=0,0004$);
- Alteração da coordenação motora ($p=0,002$).

Os autores concluíram que o tratamento com Etna® injetável, seguido de tratamento com Etna® cápsulas, foi seguro e eficaz e reduziu a dor em relação aos valores de pré-tratamento. Além disso, aumentou os níveis de vitamina B₁₂ e melhorou a coordenação motora entre os pacientes tratados.

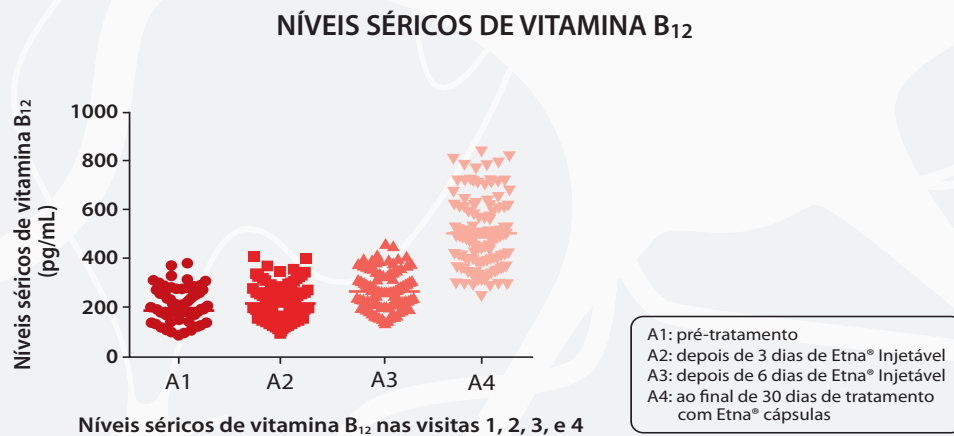


Fig. 20: Os níveis séricos de vitamina B₁₂ aumentaram ao longo do tratamento ($p<0,0001$).

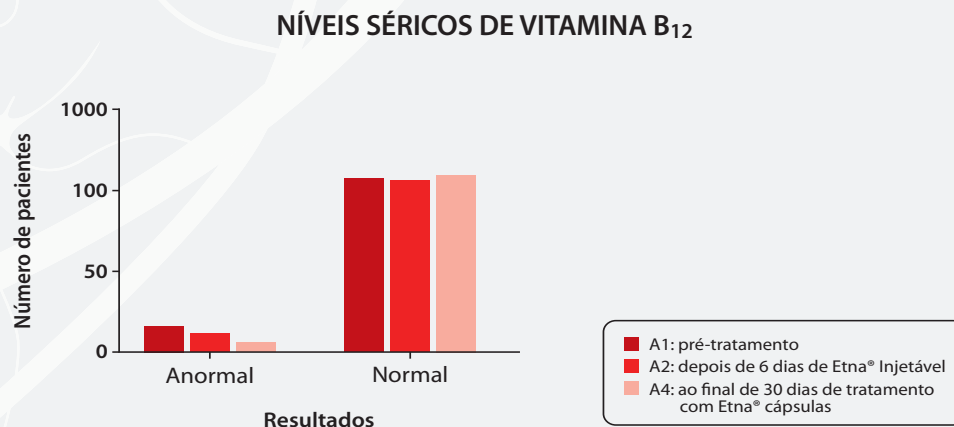


Fig. 21: Teste de coordenação motora - Etna® reduziu significativamente o número de pacientes apresentando alteração da coordenação motora ($p=0,002$).

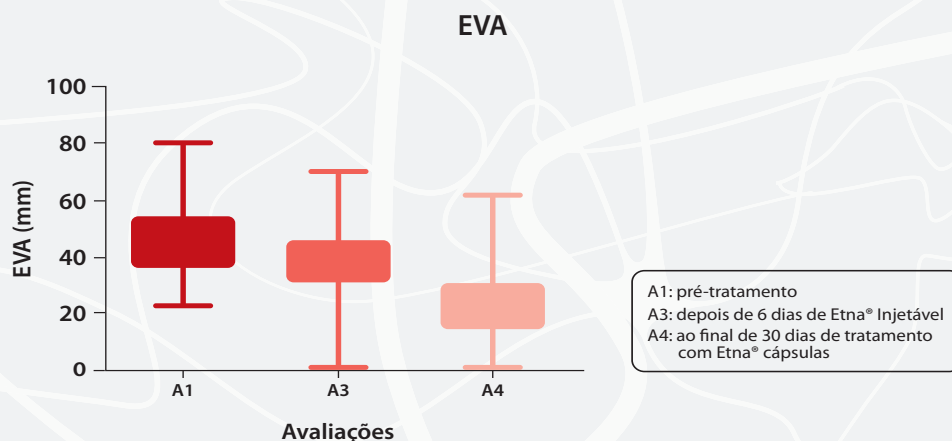


Fig. 22. Escore EVA de dor nas avaliações 1,3 e 4: Demonstrou redução significativa na EVA de do do pré-tratamento à avaliação 4 ($p < 0,0001$).

Estudo que comparou a eficácia e a tolerabilidade clínica do Etna® vs vitaminas B₁, B₆ e B₁₂, em pacientes com dor lombar, ao longo de um período de tratamento de 60 dias – Estudo NUBES

Estudo clínico realizado por Mibielli *et al.* 2020⁸⁰ randomizado, controlado, duplo cego que envolveu 634 pacientes ≥ 18 anos com dor lombar aguda com duração ≥ 3 dias com e sem alteração funcional, com gravidade média, definida como uma pontuação na EVA de 20-80 mm.

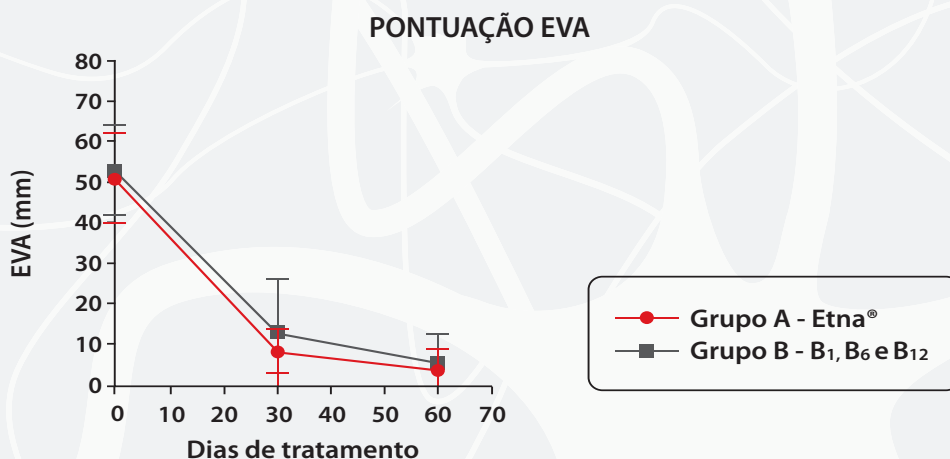
O objetivo do estudo foi comparar a eficácia e a tolerabilidade clínica do Etna® vs vitaminas B₁, B₆ e B₁₂, em pacientes com dor lombar, ao longo de um período de tratamento de 60 dias.

374 Eventos Adversos (EAs) foram relatados: 133 (35.6%) no grupo com Etna® e 241 (65.4%) no grupo com vitaminas B₁, B₆ e B₁₂.

Nenhum EA no grupo com Etna® levou à descontinuidade do tratamento. No grupo com vitaminas B₁, B₆ e B₁₂, 24 pacientes tiveram pelo menos 1 EA que levou a descontinuação do tratamento ($p < 0.0001$). Esses EAs foram: hipocalcemia, náusea, câibras musculares, dor de cabeça, hiperuricemia, perda de apetite generalizada, prurido, vertigem, dormência nas mãos, alterações táteis nas mãos, cólicas, desconforto abdominal, desconforto gástrico, dormência no rosto, dormência nas mãos, espasmos musculares, sensação de formigamento nos membros superiores, sensação de formigamento facial, fraqueza muscular, gota, hipertensão, insônia, palpitações, poliúria, parestesia nas mãos.

A redução da pontuação EVA após 30 e 60 dias de tratamento foi estatisticamente significativa ($p < 0,0001$) em ambos os grupos, com Etna® mostrando maior redução na Visita 2 ($p < 0,0001$).

Melhora da pontuação RMQ ≥ 5 pontos ocorreram em 99% dos indivíduos de cada grupo, e melhora FFD ≥ 3 cm ocorreu em todos os assuntos.



A redução da dor lombar foi mais acentuada no grupo com Etna® ao longo dos 60 dias de tratamento. Sendo significativa, já em 30 dias - 1ª avaliação ($p < 0,0001$).

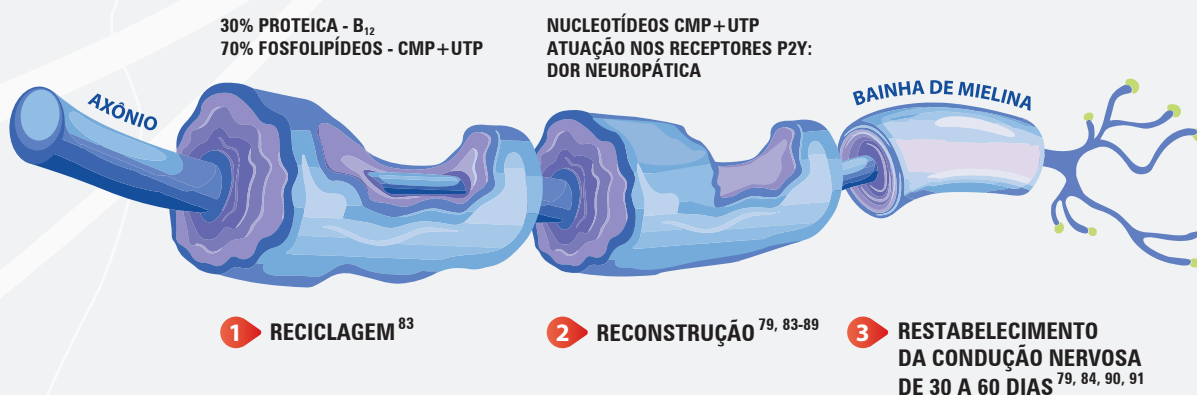
36% de diferença na intensidade da dor em 30 dias no grupo com Etna®.

Fig. 23. Escore EVA de dor ao longo do tratamento de 60 dias com Etna® vs associação das vitaminas B₁, B₆ e B₁₂.

Etna® apresentou eficácia superior na redução da dor lombar em relação ao grupo tratado com vitaminas B₁, B₆ e B₁₂. Apresentou alta tolerabilidade, sem nenhum efeito adverso grave relatado e conclusão do tratamento por 100% dos pacientes.

A DUPLA AÇÃO DO ETNA® TEM EFICÁCIA COMPROVADA NA MELHORA DA DOR

REGENERAÇÃO NEURAL COMPLETA EM 3 ETAPAS



Conclusão

Conforme foi exposto ao longo dessa monografia, Etna® atua diretamente na causa da degeneração nervosa, e não somente nos sintomas das neuropatias traumato-compressivas.

Apresenta uma ampla gama de evidências científicas, constantemente estudado, com ensaios clínicos de alta robustez científica e resultados de eficácia e segurança significativos nos desfechos acima apresentados. Comprovando sua eficácia em patologias neurais periféricas, como:

- Lombociatalgia causada por protusão discal, hérnia de disco, estenose de canal vertebral, por exemplo;
- Distúrbios traumato-compressivos neurais periféricos: compressão extrínseca (fraturas, síndromes vertebrais);
- Lesões por estiramento neural (entorses);
- Lesão do nervo ulnar;
- Síndrome do túnel do carpo;
- Lesão do nervo plantar;
- Meralgia parestésica;
- Lesões por laceração (seccionamento por fragmento ósseo, lesão por objeto perfurocortante);
- Lesões por vibração [uso de máquinas (LER/DORT)];
- Procedimentos cirúrgicos neurais ou em estruturas contíguas.

Etna® é o único produto disponível no mercado brasileiro com estudos clínicos em neuropatias traumato-compressivas.

Etna® está disponível nas apresentações cápsulas e injetável. A forma injetável sendo utilizada nos primeiros 3-6 dias, permite uma atuação mais rápida dos nucleotídeos na fase mais aguda da dor do paciente. Para garantir tratamento completo e efetivo, o tratamento deve ser continuado com Etna® cápsulas, por 30 a 60 dias.

Sumário do Produto Etna® e Etna® Injetável⁸¹

APRESENTAÇÕES

Cápsulas: fosfato dissódico de citidina 2,5 mg, trifosfato trissódico de uridina 1,5 mg e acetato de hidroxocobalamina 1,0 mg.

Embalagens com 20, 50 e 180 cápsulas.

Injetável: pó liofilizado para solução injetável: fosfato dissódico de citidina 5,0 mg, trifosfato trissódico de uridina 3,0 mg e acetato de hidroxocobalamina 2,0 mg e solução diluente com 2 mL. O diluente apresenta 20 mg de lidocaína em sua composição.

Caixa com 3 frascos-ampola + 3 ampolas de diluente.
Via Intramuscular.

INDICAÇÕES

Este medicamento é destinado ao tratamento de distúrbios traumato-compressivos neurais periféricos: compressão extrínseca (fraturas, síndromes vertebrais), lesões por estiramento neural (entorses), lesões por laceração (seccionamento por fragmento ósseo, lesão por objeto perfurocortante), lesões por vibração [uso de máquinas (LER/DORT)] e procedimentos cirúrgicos neurais ou em estruturas contíguas.

CONTRAINDICAÇÕES

1. Fase aguda de Acidente Vascular Encefálico (AVE) isquêmico: sob condições de anóxia cerebral experimental aguda, a CMP pode, através da reversão da via de síntese da fosfatidilcolina de membrana celular neuronal, promover a degradação deste lipídio em 1,2-diacylglicerol e ácidos graxos livres, agravando a decomposição tissular aguda, própria deste distúrbio (este fenômeno não se estenderia à fase crônica do AVE isquêmico);
2. Distúrbios proliferativos: células hiperproliferativas apresentam uma taxa anabólica acelerada, o que gera um grau de demanda elevado por todos os elementos metabólicos celulares, inclusive nucleotídeos;
3. Diagnóstico de doenças genéticas específicas do metabolismo dos nucleotídeos pirimidínicos (deficiência de diidropirimidino desidrogenase, deficiência de ornitina carbamoiltransferase e deficiência de diidropirimidinase);
4. História de hipersensibilidade a qualquer um dos componentes da fórmula.

Este medicamento é contraindicado para pacientes com alergia a um ou mais componentes da fórmula.

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

Cápsulas: a administração de Etna® a pacientes portadores de anemia megaloblástica por carência de vitamina B12, concomitante à neuropatia periférica, pode causar hipopotassemia, devido ao efeito terapêutico da hidroxocobalamina sobre a hematopoiese. Pode surgir anticorpo inibidor do complexo hidroxocobalamina-transcobalamina II em pacientes tratados com hidroxocobalamina.

CATEGORIA DE RISCO ÀS MULHERES GRÁVIDAS: C.

Este medicamento não deve ser utilizado por mulheres grávidas sem orientação médica ou do cirurgião-dentista.

Injetável: a administração de Etna® a pacientes portadores de anemia megaloblástica por carência de vitamina B12, concomitante à neuropatia periférica, pode causar hipopotassemia, devido ao efeito terapêutico da hidroxocobalamina sobre a hematopoiese. Pode surgir anticorpo inibidor do complexo hidroxocobalamina-transcobalamina II em pacientes tratados com hidroxocobalamina.

Devido à presença do cloridrato de lidocaína no diluente do liofilizado, quando da aplicação de Etna® Injetável, deve-se levar em conta as seguintes situações: (1) cuidar para que a agulha hipodérmica não penetre em nenhum vaso sanguíneo, aspirando antes de injetar; (2) pacientes geriátricos podem ser mais sensíveis ao uso do produto; (3) a relação risco/benefício deve ser avaliada em situações clínicas como: insuficiência cardíaca, comprometimento renal ou hepático, redução do fluxo sanguíneo hepático, hipovolemia e choque, síndrome de Wolff-Parkinson-White, síndrome de Adams-Stokes e síndromes de bloqueio sinoatrial e AV; e (4) recomenda-se a monitoração periódica da pressão arterial, eletrocardiograma, concentrações plasmáticas de eletrólitos e de lidocaína (concentração sanguínea associada à toxicidade: > 4 mcg/mL).

CATEGORIA DE RISCO ÀS MULHERES GRÁVIDAS: C.

Este medicamento não deve ser utilizado por mulheres grávidas sem orientação médica ou do cirurgião-dentista.

INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS

Interação medicamento-medicamento

- Antivirais análogos dos nucleosídeos pirimidínicos (por ex. estavudina, lamivudina, ribavirina, zalcitabina e zidovudina): Etna® pode interagir por mecanismo de competição, devido à semelhança estrutural, provocando diminuição da eficácia dos antivirais e de Etna®.
- Citicolina: Etna® pode diminuir a eficácia da citicolina em condições de hipóxia cerebral, devido ao fato de a CMP reverter a via de síntese da fosfatidilcolina da membrana celular neuronal nestas circunstâncias.
- Alopurinol: Alopurinol pode reduzir a eficácia de Etna®. Alopurinol diminui os níveis plasmáticos de uridina através de depleção de PRPP (PhosphoRibosyl PyroPhosphate) da via de síntese "de novo" de nucleotídeos pirimidínicos, e de inibição enzimática da OMPd (Orotidine 5'-MonoPhosphate decarboxylase) e da OPT (Orotate Phosphoribosyltransferase) pertencentes à mesma via de síntese.

- Pentobarbital: tem seu efeito diminuído devido ao mecanismo de competição com a uridina presente na formulação de Etna®.

Interação medicamento-substância química

Álcool interfere na quantidade no sangue de UTP, um dos componentes de Etna®, devido ao aumento do consumo celular de ATP. Este fenômeno está associado à diminuição da disponibilidade desta última aos processos de resgate da uridina sanguínea.

Interação medicamento-exame laboratorial

Etna® pode interferir nas dosagens sanguínea e urinária de alguns exames laboratoriais: elevação do VHS, diminuição do hematócrito, aumento de creatinina, aumento de ácido úrico e aumento de CPK.

Medicamentos que podem apresentar interação com a lidocaína presente na formulação de Etna® Injetável:

Associações desaconselhadas:

- Diidroergotamina: a administração concomitante de diidroergotamina com Etna® Injetável pode ocasionar elevação extrema da pressão sanguínea;
- Saquinavir: aumento da exposição da lidocaína e aumento do risco de arritmia ventricular;
- Dronedarona: pode resultar no aumento do risco de torsades de pointes.

Precauções de uso:

- Propranolol, metoprolol, nadolol, delavirdina, cimetidina: aumento da toxicidade da lidocaína;
- Arbutamina: aumenta o risco de arritmia cardíaca;
- Cobicistate, darunavir, indinavir: aumento da concentração de lidocaína;
- Hialuronidase: aumento da incidência da reação sistêmica a anestésicos;
- Etravirina, telaprevir, nevirapina: resulta em diminuição das concentrações de lidocaína no plasma;
- Penbutolol: pode resultar em aumento no volume de distribuição e prolongamento da meia-vida de lidocaína;
- Tocainida: pode resultar em toxicidade do sistema nervoso central;
- Amprenavir, lopinavir, atazanavir, fosamprenavir, ritonavir: podem aumentar os níveis sanguíneos da lidocaína presente na formulação de Etna® Injetável e, assim, aumentar sua toxicidade;
- Cisatracúrio: potencialização do efeito bloqueador neuromuscular deflagrado pela lidocaína.
- Succinilcolina: pode resultar em toxicidade da succinilcolina (depressão respiratória, apneia);
- Eritromicina: pode potencializar os efeitos tóxicos da lidocaína que são mediados pela monoetilglicínexilidida;
- Fenitoína: a administração concomitante de fenitoína e Etna® Injetável pode resultar em efeitos aditivos depressivos cardíacos e diminuição dos níveis de lidocaína no sangue;
- Óxido nitroso: a administração concomitante de óxido nitroso e Etna® Injetável pode resultar em aumento da toxicidade do óxido nitroso (asfixia);
- Agentes antiarrítmicos classe I (por ex.: propafenona) e agentes antiarrítmicos classe III (por ex., amiodarona): a administração concomitante com Etna® Injetável pode aumentar o risco de cardiotoxicidade;
- Propofol: potencialização dos efeitos hipnóticos do propofol pela lidocaína;
- Erva-de-São-João: pode resultar em aumento do risco de colapso cardiovascular e/ou atraso do efeito anestésico.

POSOLOGIA E MODO DE USAR

Cápsulas:

Posologia recomendada

Uso adulto: 2 cápsulas de Etna® por via oral, três vezes ao dia.

Duração do tratamento: 30 a 60 dias.

O limite máximo diário de administração de Etna® é de 6 cápsulas ao dia.

Este medicamento não deve ser partido, aberto ou mastigado.

Injetável:

Modo de preparo

Para reconstituição, utilizar somente o diluente que compõe o produto Etna® Injetável.

Após a reconstituição, reaspirar todo o conteúdo do frasco-ampola e administrar imediatamente, por via intramuscular, utilizando técnica de injeção apropriada.

A concentração dos componentes de Etna® Injetável depois de diluído é: CMP 5,0 mg, UTP 3,0 mg, acetato de hidroxocobalamina 2,0 mg e cloridrato de lidocaína 20 mg / frasco-ampola.

Posologia 81,79

A posologia recomendada de Etna® Injetável é:

Uso adulto: 1 ampola de Etna® Injetável, por via via intramuscular, uma vez ao dia, de 3 a 6 dias.

O limite máximo diário de administração de Etna® Injetável é de uma ampola ao dia.

Caso Etna® Injetável seja administrado inadvertidamente por via endovenosa, espera-se efeitos medicamentosos e reações adversas da lidocaína (depressão da função miocárdica e alterações neurológicas), próprias desta via de administração e da quantidade injetada.

REAÇÕES ADVERSAS**Cápsulas:**

Os principais eventos adversos/reações adversas ao Etna® estão relacionados como se segue:

Reação comum ($> 1/100$ e $\leq 1/10$): náuseas, constipação, vômitos, dor de cabeça.

Podem ocorrer fenômenos de alergia associados aos componentes de Etna®.

Injetável:

Os principais eventos adversos relacionados a Etna® Injetável estão relacionados por ordem de frequência:

Reação comum ($> 1/100$ e $< 1/10$): náusea moderada, náusea leve, dor e eritema no sítio da injeção, insônia, perda de apetite, vômitos, dor de cabeça, pirose e epigastria.

Reação incomum ($> 1/1000$ e $< 1/100$): distensão abdominal, agitação, ansiedade, dor em mamas, constipação, tosse, diarreia, flatulência, hemorroidas e câibras musculares.

Podem ocorrer fenômenos de alergia associados aos componentes de Etna®.

Outras possíveis reações adversas são: prurido, rinite, urticárias, arritmias, parestesias e convulsões (reações mais comuns em pessoas que já tenham histórico de hipersensibilidade ao produto, de distúrbios cardíacos e/ou neurológicos); diminuição do inotropismo, metemoglobinemia, hipotensão, letargia, distúrbios visuais.

SUPERDOSE**Cápsulas:**

Não são conhecidas as complicações de superdose com o uso de Etna®.

Injetável:

Não são conhecidas as complicações de superdose com o uso de Etna® Injetável. Devido à via de administração, é improvável a ocorrência de superdose com Etna® Injetável.

Bibliografia disponível de Etna® e Etna® Injetável

1. Pooler AM, Guez DH, Benedictus R, Wurtman RJ. Uridine enhances neurite outgrowth in nerve growth factor-differentiated pheochromocytoma cells. *Neuroscience*, 2005; 134: 207-14.
2. Savci V, Wurtman RJ. Effect on cytidine on membrane phospholipid synthesis in rat striatal slices. *J Neurochem*, 1995; 64: 378-84.
3. Richardson UI, Watkins CJ, Pierre C, Ulus IH, Wurtman RJ. Stimulation of CDP-choline synthesis by uridine or cytidine in PC12 rat pheochromocytoma cells. *Brain Research*, 2003; 971: 161-7.
4. Wurtman RJ, Ulus IH, Cansev Mehmet, Watkins CJ, Wang L, Marzloff G. Synaptic proteins and phospholipids are increased in gerbil brain by administering uridine plus docosahexaenoic acid orally. *Brain Research*, 2006; 1088: 83-92.
5. Cansev M. Uridine and cytidine in the brain: their transport and utilization. *Br Res Rev*, 2006; 52: 389-97.
6. Wang L, Pooler AM, Albrecht MA, Wurtman RJ. Dietary uridine-5'-monophosphate supplementation increases potassium-evoked dopamine release and promotes neurite outgrowth in aged rats. *J Mol Neurosci*, 2005; vol. 27: 137-45.
7. Wurtman RJ, Regan M, Ulus I, Yu L. Effect of oral CDP-choline on plasma choline and uridine levels in humans. *Biochem Pharmacol*, 2000, 60; 7: 989-92.
8. Cansev M, Watkins CJ, van der Beck EM, Wurtman RJ. Oral uridine-5'-monophosphate (UMP) increase CDP-choline levels in gerbils. *Brain Res*, 2005; 1058: 101-8.
9. Wang L, Albrecht MA, Wurtman RJ. Dietary supplementation with uridine-5'-monophosphate (UMP), a membrane phosphatide precursor, increases acetylcholine level and release in striatum of aged rat. *Brain Res*, 16 Feb 2007; 1133(1): 42-8.
10. Wurtman RJ, Cansev M, Ulus IH. Choline and its products acetylcholine and phosphatidylcholine. *Handbook of Neurochemistry*, vol. 3; chapter 3.2. 2006.
11. Knapp S, Wurtman RJ. Enhancement of free fatty acid incorporation into phospholipids by choline plus cytidine. *Brain Research*, 1999; 822: 52-9.
12. Sakamoto T, Cansev M, Wurtman RJ. Oral supplementation with docosahexaenoic and uridine-5'-monophosphate increases dendritic spine density in adult gerbil hippocampus. *Brain Research*, 2007; 1182: 50-9.
13. Cansev M, Wurtman RJ. Chronic administration of docosahexaenoic acid or eicosapentaenoic acid, but not arachidonic acid, alone or in combination with uridine, increases brain phosphatide and synaptic protein levels in gerbils. *Neuroscience*, 2007; 148: 421-31.
14. Robins RK. Nucleosides and nucleotides: past, present, and future. *Ann N Y Acad Sci*, Aug 8 1975; 255: 597-610.
15. Communi D, Janssens R, Suarez-Huerta N, Robaye B, Boeynaems. Advances in signalling by extracellular nucleotides: the role and transduction mechanisms of P2Y receptors. *Cellular Signalling*, 2000; 12: 351-60.
16. Connolly GP, Duley JA. Uridine and its nucleotides: biological actions, therapeutic potentials. *Trends Pharmacol Sciences*, May 1999; vol. 20: 218-25.
17. Moyer JD, Malinowski N, Ayers O. Salvage of circulating pyrimidine nucleosides by tissues of the mouse. *J Biol Chem*, Mar 1985, vol. 260; n. 5: 2812-8.
18. Monks A, Cysyk RL. Uridine regulation by the isolated rat liver: perfusion with a natural oxygen carrier. *Am J Physiol*, 1982 May; 242(5):R465-70.
19. Voet D, Voet JG, Pratt CW. *Fundamentos de Bioquímica*. Artmed Editora. 2002.
20. Van Buren CT, Rudolph F. Dietary nucleotides: a conditional requirement. *Nutrition*, 1997; 13: 470-2.
21. Lopez-Navarro AT, Ortega MA, Peragon J, Bueno JD, Gil A, Sanchez-Pozo A. Deprivation of dietary nucleotides decreases protein synthesis in the liver and small intestine in rats. *Gastroenterology*, 1996; 110: 1760-9.
22. Sonoda T, Tatibana. Metabolic fate of pyrimidines and purines in dietary nucleic acids ingested by mice. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1978; 521: 55-6.
23. Hogans AF, Guroff G, Udenfriend S. Studies on the origin of pyrimidines for biosynthesis of neural RNA in the rat. *Journal of Neurochemistry*, 1971; vol. 18: 1699-1710.

24. Chen T-H, Wang M-F, Liang Y-F, Komatsu T, Chan Y-C, Chung S-Y, Yamamoto S. A. Nucleoside-nucleotide mixture may reduce memory deterioration in old senescence-accelerated mice. *J Nutr*, 2000; 3085-9.
25. Yamamoto S, Wang M-F, Adjei AA, Ameho CK. Role of nucleosides and nucleotides in the immune system, gut reparation after injury, and brain function. *Nutrition*, 1997; 13: 372-4.
26. Chen T-H, Huang H-P, Matsumoto Y, Wu S-H, Wang M-F, Chung S-Y, Uezu K, Moriyama T, Uezu E, Korin T, Sato S, Yamamoto S. Effects of dietary nucleoside-nucleotide mixture on memory of aged and young memory deficient mice. *Life Sci*, 1996, vol. 59; n. 21: 325-30.
27. Rudolph FB, Van Buren CT. The metabolic effects of enterally administered ribonucleic acids. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, Nov 1998; vol. 1(6): 527-30.
28. Pizzorno G, Cao DC, Leffert JJ, Russell RL, Zhang D, Handschumacher RE. Homeostatic control of uridine and the role of uridine phosphorylase: a biological and clinical update. *Biochim Biophys Acta*, 2002; 1587: 133-44.
29. Karle JM, Anderson LW, Dietrick DD, Cysyk RL. Determination of serum and plasma uridine levels in mice, rats, and humans by high-pressure liquid chromatography. *Analytical Biochemistry*, 1980; 109: 41-6.
30. Moyer JD, Oliver JT, Handschumacher RE. Salvage of circulating pyrimidine nucleosides in the rat. *Cancer Res*, Aug 1981; 41: 3010-17.
31. Gasser T, Moyer JD, Handschumacher RE. Novel single-pass exchange of uridine in rat liver. *Science*, 14 Aug 1981; vol. 213: 777-8.
32. Traut TW. Physiological concentrations of purines and pyrimidines. *Mol Cell Biochem*, 1994; 140: 1-22.
- 48 (SIG 230)- Chan TCK, Markman M, Pfeiffer CE, Taetle R, Abramson I, Howell SB. Uridine pharmacokinetics in cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1988; 22: 83-6.
33. Eells JT, Spector JT. Determination of ribonucleosides, deoxyribonucleosides, and purine and pyrimidine bases in adult rabbit cerebrospinal fluid and plasma. *Neurochemical Research*, 1983, vol. 8; n. 10: 1307-20.
34. Tremblay GC, Jimenez U, Crandall DE. Pyrimidine biosynthesis and its regulation in the developing rat brain. *Journal of Neurochemistry*, 1976; vol. 26: 57-64.
35. Spector R. Uridine transport and metabolism in the central nervous system. *Journal of Neurochemistry*, 1985; 45: 1411-8.
36. Cornford EM, Oldenford WH. Independent blood-brain barrier transport systems for nucleic acid precursors. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1975; 394: 211-9.
37. Vecchini A, Binaglia L, Palmerini CA, Floridi A, Porcellati G. Cytidine uptake and utilization in primary culture from rat brain. *Ital J Biochem*, 1981, Sep-Oct; 30(5): 367-74.
38. Santos JN, Hempstead KW, Kopp LE, Miech RP. Nucleotide metabolism in rat brain. *Journal of Neurochemistry*, 1968; vol. 15: 367-76.
39. Sved S. The metabolism of exogenous ribonucleic acids injected into mice. *Canadian Journal of Biochemistry*, 1965; vol. 43: 949-58.
40. Haddad A, Lucif S, Cruz AR. Synthesis of RNA in neurons of the hypoglossal nerve nucleus, after section of the axon, in mice. *Journal of Neurochemistry*, 1969; vol. 16: 865-8.
41. Seifert R, Schultz G. Involvement of pyrimidinoreceptors in the regulation of cell functions by uridine and by uracil nucleotides. *Trends Pharmacol Sciences*, Sep 1989; vol. 10: 365-9.
42. Anderson CM, Parkinson FE. Potential signalling roles for UTP and UDP: sources, regulation and release of uracil nucleotides. *Trends Pharmacol Sciences*, Oct 1997; vol. 18: 387-92.
43. Trovarelli G, Palmerini CA, Floridi A, Piccinin GL, Porcellati G. The transport of cytidine into rat brain in vivo, and its conversion into cytidine metabolites. *Neurochemical Research*, 1982, vol. 7; n. 10: 1199-1207.
44. Spector R. Nucleoside transport in choroid plexus: mechanism and specificity. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, Jul 1982, vol. 216; n. 2: 693-703.
45. Richter-Landsberg C. Expert opinion on the biochemistry of the cytosine and uracil nucleotides and their neurophysiological significance. Commissioned by H. Tromsdorff GmbH & Co., Alsdorf. 1988.
46. Sommer RG. Polyneuropathien. Indikation für ein modernes, physiologisch aktives neurotropikum (tradução: Polineuropatias. Indicação para um neurotrófico moderno fisiologicamente ativo). *Neurologie Psychiatrie*, Aug 1988, 2, 3: 1-16.
47. Fog R. Neuronal uridine metabolism. *Acta Neurol Scand*, 1992; suppl. 137: 45-7.

48. De Bruin NMWJ, Kiliaan AJ, De Wilde MC, Broersen LM. Combined uridine and choline administration improves cognitive deficits in spontaneously hypertensive rats. *Neurobiol Learn Mem*, 2003; 80: 63-79.
49. Johnston ME, Geiger JD. Sodium-dependent uptake of nucleosides by dissociated brain cells from the rat. *Journal of Neurochemistry*, 1989; vol. 52; n. 1: 75-81.
50. Groeninger CJ, Peters GJ, Nadal JC, Laurensse E, Pinedo HM. Clinical and pharmacologic study of orally administered uridine. *J Natl Cancer Inst*, 1991; 83: 437-41.
51. Piccoli F, Camarda R, Bonavita V. The brain nucleotide pattern of the rat after injection of uracil, uridine and phosphate. *Acta Neurol (Napoli)*, 1971, Jan-Feb; 26(1): 109-17.
52. Watson WE. An autoradiographic study of the incorporation of nucleic-acid precursors by neurones and glia during nerve regeneration. *J Physiol*, 1965; 180: 741-53.
53. Zhang X, Li G. P2Y receptors in neuropathic pain. *Pharmacol Biochem Behav*. 2019 Nov;186:172788.
54. SCHMIDT, Andre Prato; SCHMIDT, Sergio Renato Guimaraes. O comportamento dos canais iônicos controlados por diferença de potencial elétrico e dos receptores do tipo Toll na fisiopatologia da dor neuropática. *Rev. dor, Sao Paulo*, v. 17, supl. 1, p. 43-45, 2016.
55. Okada M, Nakagawa T, Minami M, Satoh M. Analgesic effects of intrathecal administration of P2Y nucleotide receptors agonists UTP and UDP in normal and neuropathic pain model rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002 Oct; 303(1): 66-73.
56. Langford CJ, Scheffer JW, Jeffrey PL, Austin L. The in vitro synthesis of RNA within rat nodose ganglion following vagotomy. *Journal of Neurochemistry*, 1980; 34(3): 531-9.
57. Sjöberg J, Kanje M. Incorporation of [32P] phosphate into nucleotides of the dorsal root ganglia of regenerating rat sciatic nerve. *Brain Research*, 1987; 415: 270-4.
58. Gunning PW, Kaye PL, Austin L. In vivo synthesis of rapidly-labelled RNA within the rat nodose ganglia following vagotomy. *Journal of Neurochemistry*, Jun 1977; 28(6):1245-8. 34 35.
59. Kaye PL, Gunning PW, Austin L. In vivo synthesis of stable RNA within the rat nodose ganglia following vagotomy. *Journal of Neurochemistry*, 1977; vol. 28: 1241-3.
60. LeBlanc AC, Poduslo JF. Axonal modulation of myelin gene expression in the peripheral nerve. *J Neuroscience Res*, 1990; 26: 317-26.
61. Wattig B, Schalow G, Heydenreich F, Warzok R, Cervos-Navarro J. Enhancement of nerve fibre regeneration by nucleotides after peripheral nerve crush damage. Electrophysiologic and morphometric investigations. *Arzneim-Forsch/Drug Res*, 1992, 42(II); n. 9: 1075-8.
62. Wattig B, Schalow G, Heydenreich F, Schalow G, Radzewitz B, Warzok R, Cervos-Navarro J. Nucleotide beschleunigen die nervenregeneration (tradução: Nucleotídeos aceleram a regeneração neural). *Z Klin Med* 1991; 46: 1371-3.
63. Watson WE. Observations on the nucleolar and total cell body nucleic acid of injured nerve cells. *J Physiol*, 1968; 196: 655-76.
64. Wattig B, Schalow G, Madauss M, Heydenreich F, Warzok R, Cervos-Navarro J. Acceleration of nerve and muscle regeneration by administration of nucleotides - electrophysiological and morphometrical investigations. *Acta Histochemica*, 1992, Suppl.-Band XLII; S: 333-9.
65. Kline DG, Hudson AR. Selected recent advances in peripheral nerve injury research. *Surg Neurol*, 1985; 24: 371-6.
66. Oderfeld-Nowak B, Niemierko S. Synthesis of nucleic acids in the Schwann cells as the early cellular response to nerve injury. *Journal of Neurochemistry*, 1969; vol. 16: 235-48.
67. Venhoff N, Zilly M, Lebrecht D, Schirmer D, Klinker H, Thoden J, Langmann P, Walker UA. Uridine pharmacokinetics of Mitocnol, a sugar cane extract. 6th International Workshop on Adverse Drug Reactions and Lipodystrophy in HIV. Poster. Washington, USA. 2004.
68. Silei V, Politi V, Lauro GM. Uridine induces differentiation in human neuroblastoma cells via protein kinase C epsilon. *J Neurosci Res*, 2000; 61: 206-11.
69. Pakkenberg H, Fog R. The relation between motor activity and [3H]uridine uptake in the mouse brain. *Scand J Med Sci Sports*, 2006; 16: 399-402.

70. Muller D. Therapie des neuropathischen Schmerzsyndroms: Ergebnisse einer offenen Studie zur Wirksamkeit eines Pyrimidinnukleotid-Präparats (tradução: Terapia da síndrome da dor neuropática: resultados de um estudo aberto sobre a eficácia de uma apresentação de nucleotídeos de pirimidina). Fortschritte der Medizin, Originalien 120. Jg., Nr. IV/2002.
71. Wintrobe's Clinical Hematology. 9th edition. Lea & Febiger. 1993.
72. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 10th edition. McGraw-Hill. 2001
73. Micromedex. Drugdex. Cyanocobalamin. 2004.
74. Williams Hematology. Companion Handbook. 5th edition. McGraw-Hill. 1996
75. Goldberg H, Junior ABS, Cohen JC, Rzetelna H, Meztis SGE, Nunes FP, Ozeri D, Daher JPL, Nunes CP, Oliveira L, Geller M. Neural compression-induced neuralgias: clinical evaluation of the effect of nucleotides associated with vitamin B12. Rev Bras Med. Nov 2009; vol. 66(11): 380-385.
76. Mibielli MA et al. Treatment of acute, nontraumatic pain using a combination of diclofenac – cholestyramine, uridine triphosphate, cytidine monophosphate and hydroxycobalamin. Proc West Pharmacol Soc Seattle 2010; 53: 5-12;
77. Mibielli MA et al. Symptomatic improvement in an acute, non-traumatic spine pain model with a combination of uridine triphosphate, cytidine monophosphate, and hydroxycobalamin. Pain studies and treatment 2014; 2(1):6-10;
78. Goldberg H et al. A double-blind, randomized, comparative study of the use of a combination of uridine triphosphate trisodium, cytidine monophosphate disodium and hydroxycobalamin, versus isolated treatment with hydroxycobalamin, in patients presenting with compressive neuralgias. J Pain Res 2017; 10: 397-404;
79. NUNES, Carlos Pereira et al. Alcoholic polyneuropathy: clinical assessment of treatment outcomes following therapy with nucleotides and vitamin B12. Res Neurol Inter J, v. 2013, 2013;
80. Mibielli MA et al. Nucleotides Cytidine and Uridine Associated with Vitamin B12 vs B-Complex Vitamins in the Treatment of Low Back Pain: The NUBES Study. Journal of Pain Research 2020;13 2531–2541.
81. Bula do Produto ETNA®.
82. G-Coviella IL, Wurtman RJ. Enhancement by cytidine of membrane phospholipid synthesis. J Neurochem, 1992; 59: 338-43. 53 (SIG 183).
83. MANHÃES, Marina et al. The Role of Nucleotides in Glial Cells during Peripheral Nerve Trauma and Compressive Disorders In Peripheral Nerve Regeneration From Surgery to New Therapeutic Approaches Including Biomaterials and Cell Based Therapies Development. InTech, 2017.
84. LAMARCA DAMS, Aloa et al. Extracellular UTP signalling in Schwann cell migration: A novel role of the P2Y2 receptor. 2013. Tese de Doutorado. Universitat Internacional de Catalunya.
85. SUN, Hongzhi et al. Dexamethasone and vitamin B12 synergistically promote peripheral nerve regeneration in rats by upregulating the expression of brain-derived neurotrophic factor. Archives of medical science: AMS, v. 8, n. 5, p. 924, 2012.
86. ALTUN, Idris; KURUTAŞ, Ergül Belge. Vitamin B complex and vitamin B12 levels after peripheral nerve injury. Neural regeneration research, v. 11, n. 5, p. 842, 2016.
87. MARTIÁÑEZ, Tania et al. N-cadherin expression is regulated by UTP in schwannoma cells. Purinergic signalling, v. 9, n. 2, p. 259-270, 2013.
88. MARTIÁÑEZ, Tânia et al. UTP affects the Schwannoma cell line proteome through P2Y receptors leading to cytoskeletal reorganisation. Proteomics, v. 12, n. 1, p. 145-156, 2012.
89. BEAMER, Edward et al. Purinergic mechanisms in neuroinflammation: an update from molecules to behavior. Neuropharmacology, v. 104, p. 94-104, 2016.
90. VRBOVA, Gerta et al. Chemical communication between regenerating motor axons and Schwann cells in the growth pathway. European Journal of Neuroscience, v. 30, n. 3, p. 366-375, 2009.
91. AL-KHALISY, Maan H.; ALI, DR Saleh M. Morphometrical and histological evaluation of the effect of vitamins B1, B6 and B12 on rats sciatic nerve after crush injury. 2017.

#ETNACONECTA



SAC: 0800-7097770 | sac@gross.com.br