

M. V. Castro¹, R. Barbizan¹, A. F. Longhini², A. M. Goes³, B. Barraviera⁴,
R. S. F. Junior⁴, *A. L. Oliveira¹;

¹Dep. de Biologia Estrutural e Funcional, Univ. de Campinas - Lab. de Regeneração Nervosa, Campinas, Brasil; ²Centro de Hematologia e Hemoterapia, Univ. de Campinas, Campinas, Brasil; ³UFMG, Belo Horizonte, Brasil; ⁴Cevap - Unesp, Botucatu, Brasil.

Contato: mateusvidigal@hotmail.com

Apoio Financeiro: FAPESP Palavras-chave: Nervo Isquiático; Avulsão; Reimplante; Selante de Fibrina; Célula-Tronco Mononuclear

INTRODUÇÃO

Lesões axonais na interface do sistema nervoso central (SNC) e periférico (SNP), tais como a avulsão de raiz ventral (ARV), podem induzir a processos degenerativos graves nos neurônios lesados. Neste tipo de lesão ocorre a separação de raízes nervosas com a medula espinhal, interrompendo o contato entre um motoneurônio e as fibras musculares que ele inerva. Porém, pouco se sabe sobre a resposta desta lesão no SNP, sua reconexão com o órgão-alvo e retorno funcional. Neste estudo, um novo selante de fibrina nacional derivado de veneno de serpente *Crotalus durissus terrificus* foi utilizado para restabelecer a ligação da raiz ao ponto exato da lesão, sendo associado com o transplante de células-tronco mononucleares de medula óssea (CTMMO), a fim de promover a sobrevivência neuronal e auxiliar o retorno funcional.

MATERIAL E MÉTODOS

Ratos Lewis fêmeas foram divididos nos seguintes grupos experimentais: G1- Avulsão de raízes motoras; G2- Avulsão e reimplante das raízes na superfície medular. G3- Avulsão com reimplante e CTMMO homogeneizadas ao selante. G4- Avulsão com reimplante e CTMMO injetadas na medula. Ratos EGFP-Lewis foram usados como doadores de CTMMO e citometria de fluxo foi utilizada para caracterizar as CTMMO. A avaliação da marcha foi realizada semanalmente para avaliar a eficácia dos tratamentos através do Sistema Catwalk. Os ratos foram sacrificados após 12 semanas pós-operatórias e os nervos isquiáticos foram processados para contagem de axônios.

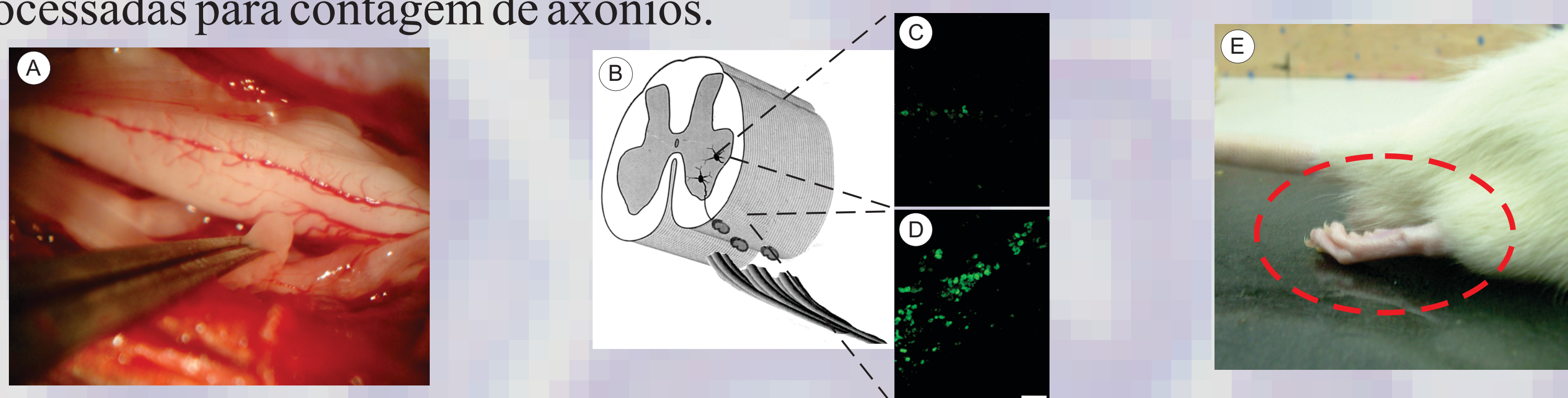


Fig. 1- A- Avulsão de raiz ventral medular (L4-L6). B- Esquema da medula espinhal submetida à avulsão motora e diferentes localidades das células. C- As células estão no local da injeção, enquanto em D- enxertos de células são agrupados na superfície ventrolateral da medula espinhal. Células-tronco são E-GFP positivas e podem ser observadas em microscopia de fluorescência. Barra de escala=50 µm. E- Rato Lewis avulsionado exibindo os sinais típicos da lesão.

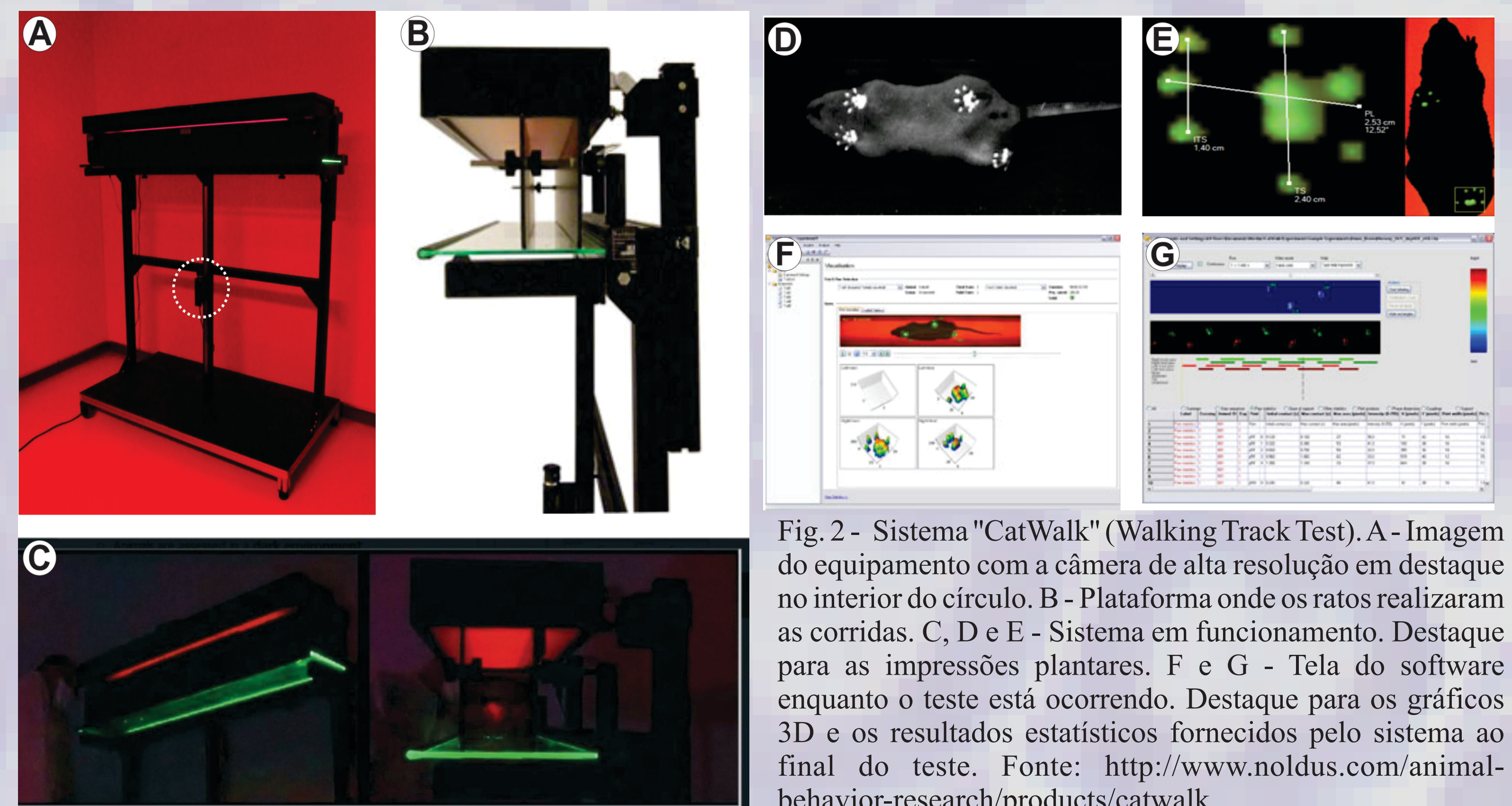


Fig. 2 - Sistema "CatWalk" (Walking Track Test). A - Imagem do equipamento com a câmera de alta resolução em destaque no interior do círculo. B - Plataforma onde os ratos realizaram as corridas. C, D e E - Sistema em funcionamento. Destaque para as impressões plantares. F e G - Tela do software enquanto o teste está ocorrendo. Destaque para os gráficos 3D e os resultados estatísticos fornecidos pelo sistema ao final do teste. Fonte: <http://www.noldus.com/animal-behavior-research/products/catwalk>

RESULTADOS

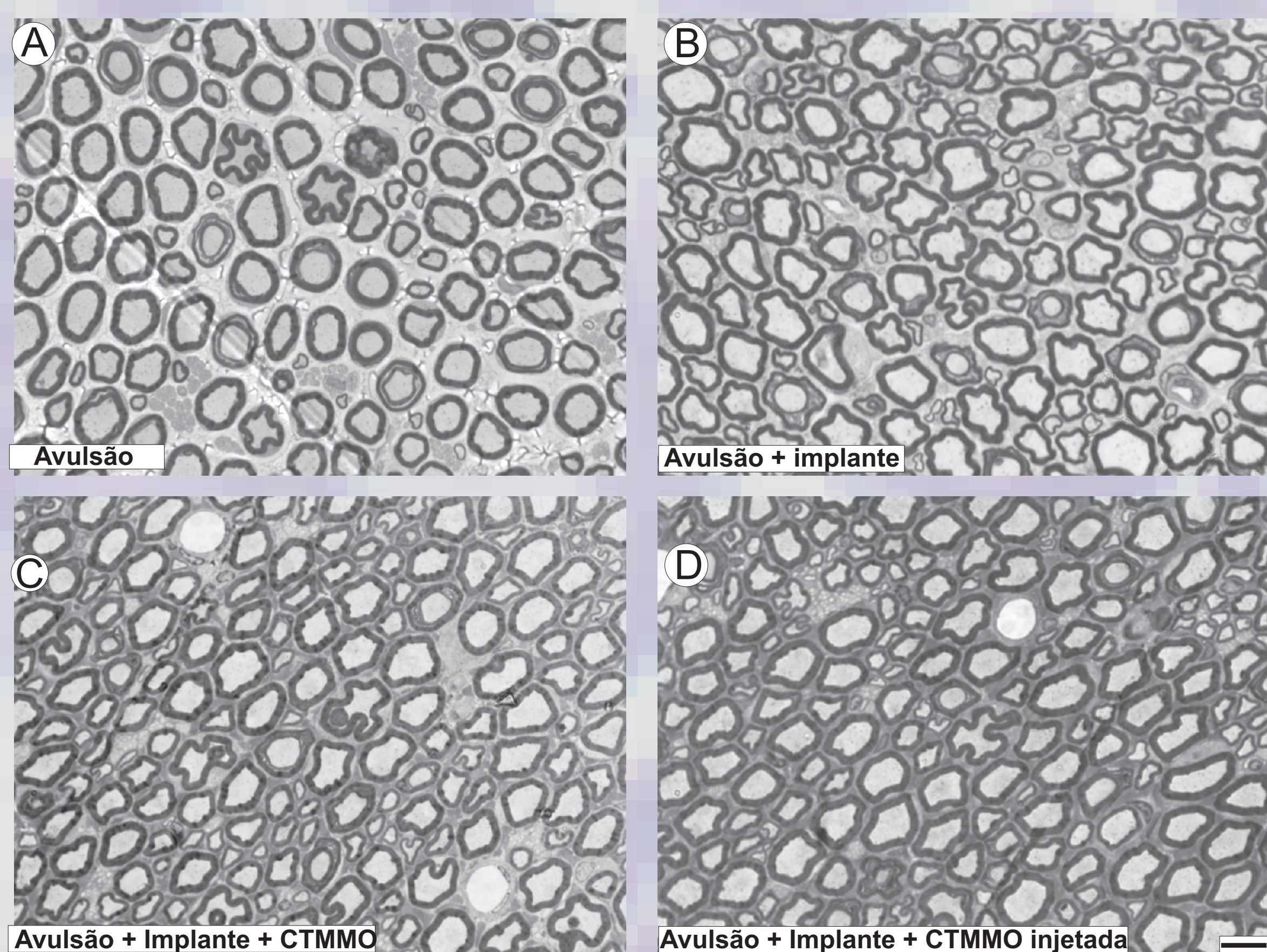


Fig. 3 - Fotomicrografia de cortes transversais do nervo isquiático nos diferentes grupos experimentais. Coloração: Azul de Toluidina. Barra de escala = 10 µm.

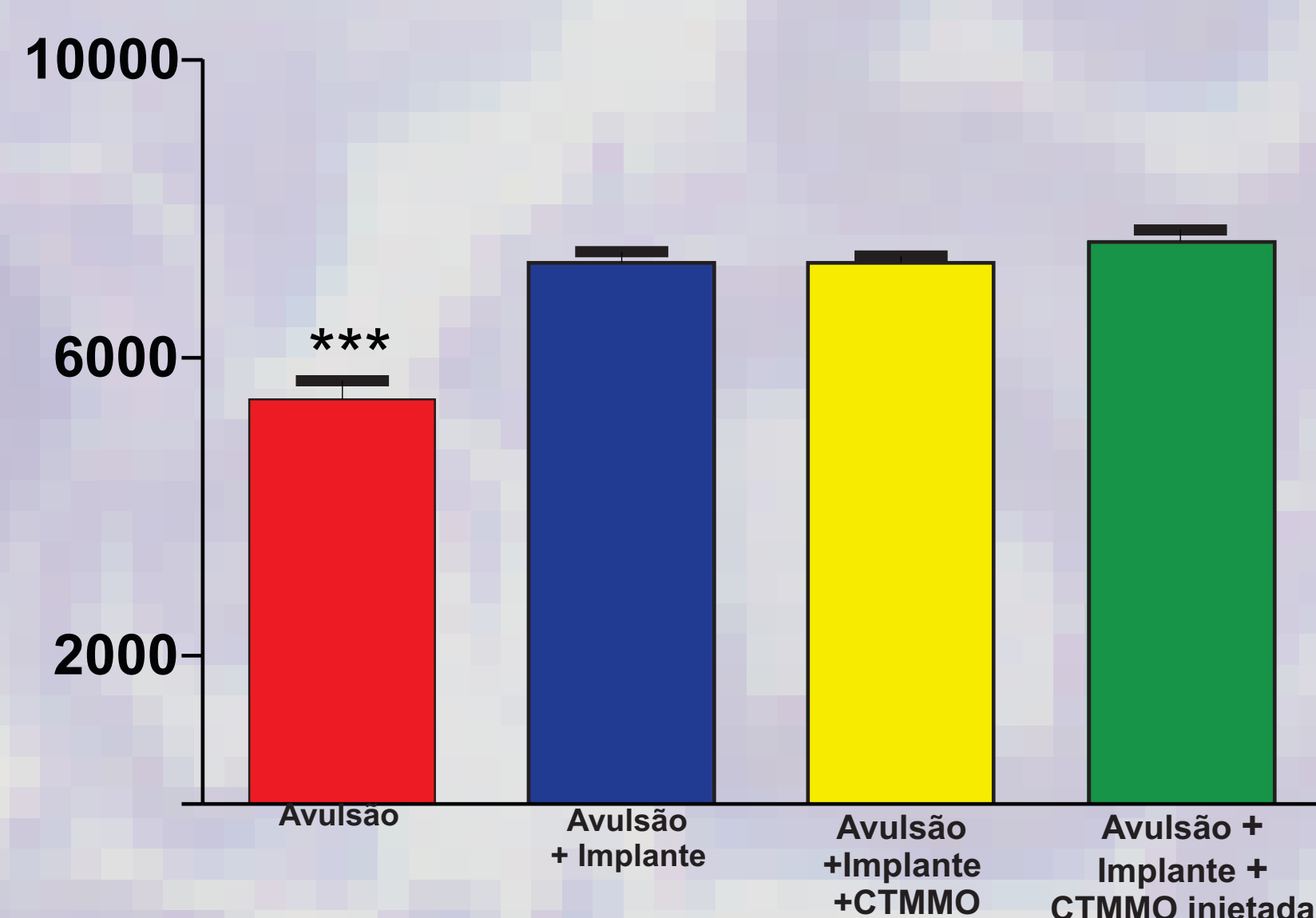


Fig. 4 - Gráfico da média do número de axônios presentes no nervo isquiático, 12 semanas após avulsão de raízes ventrais. (***) $p < 0.001$ - $n = 5$.

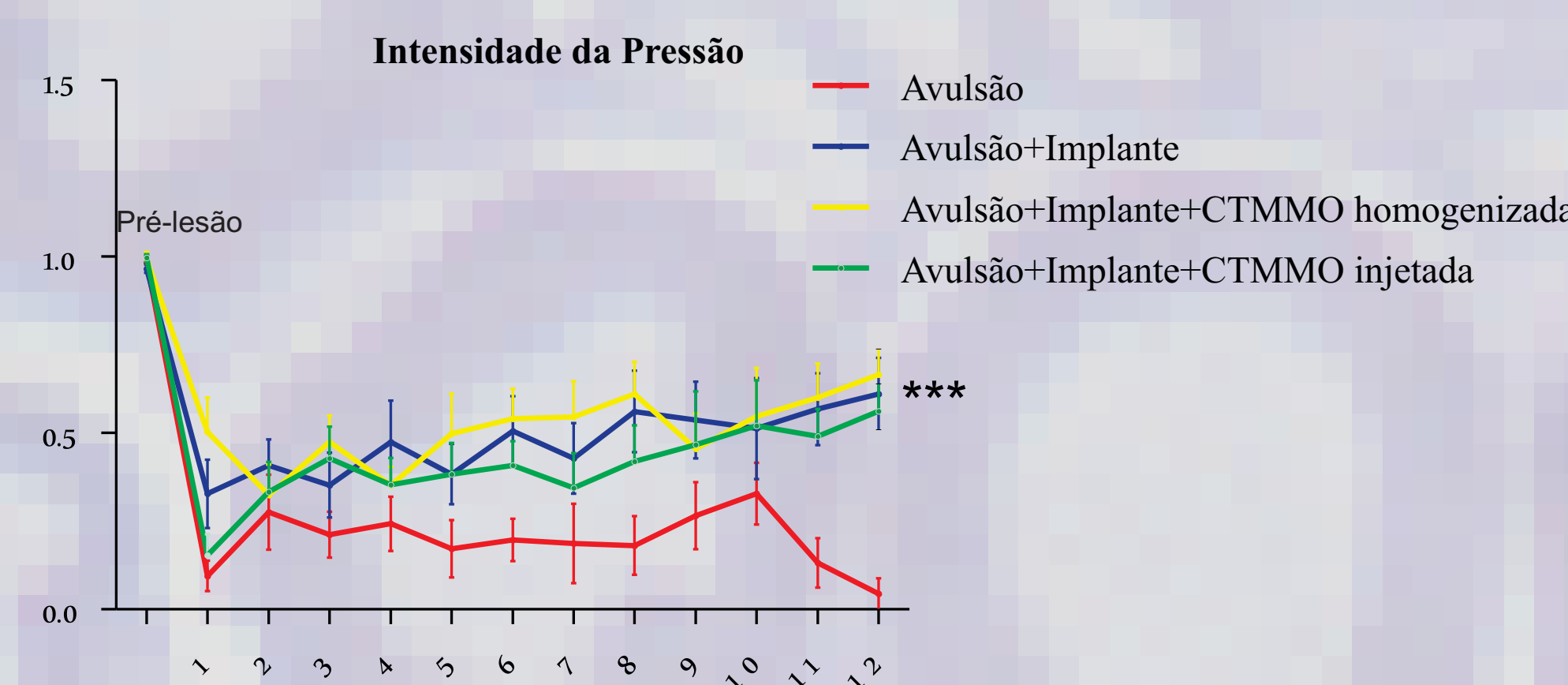


Fig. 5 - Gráfico- Recuperação da capacidade de suporte de peso pela pata onde as raízes nervosas (L4-L6) foram avulsionadas e reimplantadas com o selante de fibrina, com ou sem tratamento com CTMMO. Valores expressos pela razão ipsi/contralateral. (***) $p < 0.001$ - $n = 15$.

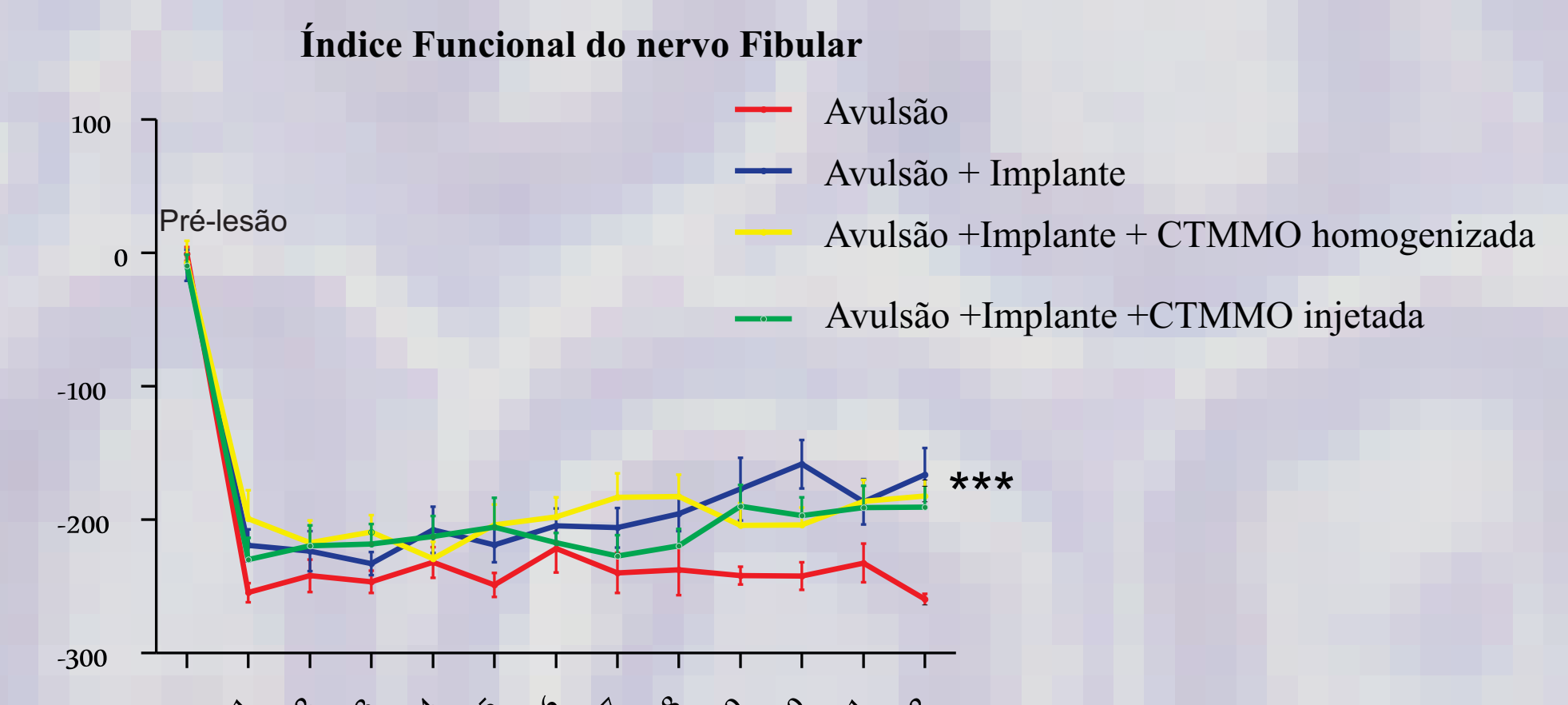


Fig. 6 - Gráfico do índice funcional do nervo Fibular, até 12 semanas após avulsão de raízes ventrais. Valores expressos pela razão: ipsi/contralateral. Observe-se a melhoria nos grupos reimplantados, com ou sem tratamento com células (***) $p < 0.001$ - $n = 10$.

DISCUSSÃO

A avulsão desencadeia graves processos degenerativos no corpo celular dos neurônios lesionados, gerando cerca de 80% de morte de motoneurônios alfa medulares (Koliatsos *et al.*, 1994). Esse elevado grau de perda neuronal está diretamente relacionado à interrupção do contato entre o motoneurônio e as fibras musculares alvo, resultando na perda da função motora. Devido ao tempo de coagulação personalizado do selante de fibrina foi possível reconectar as raízes no ponto exato onde foram avulsionadas. A melhora motora observada nos animais indica a restauração de unidades motoras, bem como de uma possível reintegração sensorio-motora. Além disso, mostra que a estratégia de reimplante foi bem sucedida, indicando uma potencial utilização clínica desta técnica.

CONCLUSÃO

A reparação de raízes avulsionadas com o selante de fibrina, sozinho ou associado a CTMMO, tem ação neuroprotetora e resulta em uma melhoria significativa do retorno da função motora.