

DEGENERAÇÃO E REGENERAÇÃO NER- VOSA: UMA VISÃO GERAL E ASPECTOS LIGADOS À HANSENÍASE

Bernardo Pascarelli¹

Leandro Medrado²

Sérgio Luiz Gomes Antunes³

Resumo

A hanseníase é uma doença infecciosa presente com alta endemicidade em países em desenvolvimento como o Brasil e a Índia. Os pacientes acometidos da patologia sofrem lesões na pele e também em nervos periféricos. As lesões nos nervos ocorrem porque o agente etiológico, *Mycobacterium leprae*, tem um tropismo preferencial pelas células de Schwann presentes no nervo. As lesões nervosas podem ser bem graves provocando um extenso grau de fibrose e levando o nervo acometido à perda de função. Na literatura, existem muitos estudos de modelos de degeneração e regeneração nervosa por esmagamento ou secção do nervo. Nesses trabalhos, há uma abordagem onde encontramos biomoléculas importantes no processo tais como as citocinas; os fatores de transcrição como Krox-20, c-jun e Pax-3; os componentes da matriz extracelular; e alterações dos níveis de expressão gênica de várias moléculas, como, P0, MBP e PMP-22, que são as principais

¹ Ex-aluno do Curso Técnico de Histologia da Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio (EPSJV/FIOCRUZ). Mestrando em Ciências Morfológicas pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) e Tecnologista Junior do Laboratório de Patologia do Departamento de Patologia (IOC/FIOCRUZ). <bepascarelli2@yahoo.com.br>

² Professor da Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio (EPSJV/FIOCRUZ). Especialista em Educação Profissional. <lele@fiocruz.br>

³ Pesquisador associado do Dept^o Micobacterioses – Medicina Tropical / Lab. de Hanseníase (IOC/FIOCRUZ). Doutor em Patologia pela Universidade Federal Fluminense (UFF). <santunes@fiocruz.br>

proteínas que compõem a mielina. Dentro desse panorama, nosso trabalho, através da análise crítica dos dados obtidos durante uma extensa revisão bibliográfica, procura integrar aspectos clássicos do processo de degeneração walleriana e regeneração nervosa, com os processos patológicos da hanseníase. Desta forma, propomos linhas de pesquisa para estudos que visem um maior entendimento sobre os mecanismos de lesão neural na hanseníase, que poderão contribuir para o surgimento de novas estratégias para o combate à doença.

Palavras-chave: hanseníase; degeneração nervosa; regeneração nervosa.

Introdução

O Morbus Hansen, nome dado à hanseníase, é uma doença infecciosa que ainda se encontra presente em nações em desenvolvimento, como o Brasil e a Índia, os dois primeiros países do mundo em termos de endemicidade (Talhari e Neves, 1997).

Além da clássica visão popular da hanseníase, como doença apenas de pele, há a outra face da doença: o *Mycobacterium leprae* se aloja preferencialmente nas células de Schwann, encontradas nos nervos periféricos, causando o que conhecemos como neuropatia hanseniana. Esta provoca uma série de alterações inflamatórias que acabam por alterar estruturalmente o nervo, culminando numa extensa fibrose que restringe a capacidade funcional do mesmo.

As lesões nervosas são capazes de criar uma seqüência de fatos que podem suscitar a regeneração nervosa, restabelecendo-se a ligação entre o Sistema Nervoso Central e os alvos da inervação, possibilitando a propagação do impulso nervoso.

A proposta de nosso estudo é abordar de forma profunda os mecanismos da degeneração e regeneração nervosa, fazendo



uma correlação com as lesões nervosas na neuropatia hanseniana. Com esse objetivo, iremos, antes, explorar a base de conhecimento necessária para entendermos os assuntos em questão, com uma revisão sobre a estrutura e função normal do nervo periférico.

O método utilizado no trabalho consistiu em levantamento bibliográfico, com uma extensa compilação de dados de artigos científicos atuais e livros que abordassem nossos focos de pesquisa.

Não há na literatura nenhuma revisão que integre o tema degeneração e regeneração nervosa com a neuropatia hanseniana. Desta forma, acreditamos ser de extrema utilidade a revisão bibliográfica que aqui se encontra para o estudo da hanseníase e também as questões e as linhas de pesquisa que são propostas, em uma discussão com base não em experimentos, mas como resultado de uma visão crítica sobre os dados obtidos.

Começamos, assim, nosso trabalho, com algumas perguntas em mente: será que os aspectos clássicos da degeneração e regeneração nervosa são semelhantes aos mecanismos das lesões que são provocadas pela hanseníase? Como podemos relacionar os dois, para levantarmos questões pertinentes para estudos que possam levar a uma aplicação clínica, de forma a melhorar a situação de pacientes que possuem a hanseníase?

A estrutura normal do nervo periférico

O Sistema Nervoso pode ser dividido em Sistema Nervoso Periférico (SNP) e Sistema Nervoso Central (SNC). O SNP é constituído principalmente por neurônios e células de Schwann que formam os nervos periféricos em uma estrutura organizada. O SNC também é formado por neurônios, mas possui outras células de sustentação, que



não as células de Schwann, como os oligodendrócitos, os astrócitos e a micróglia (Junqueira e Carneiro, 1995).

Os neurônios estão presentes tanto no SNP quanto no SNC e são as células que constituem o parênquima do Sistema Nervoso. Elas são as responsáveis pela condução do impulso nervoso (Junqueira e Carneiro, 1995).

Nesse tipo celular, podemos distinguir três componentes principais: os dendritos, prolongamentos do corpo celular, especializados em receber estímulos; o corpo celular, também chamado pericário, centro trófico da célula, acumulando também a função de receber estímulos; e o axônio, prolongamento único do pericário, especializado na condução do impulso que vai do neurônio para outras células (Junqueira e Carneiro, 1995).

No corpo celular dos neurônios, encontramos algumas especificidades. O núcleo é grande, esferoidal e eucromático, com um nucléolo bem proeminente (Henrikson, Kaye e Mazurkiewicz, 1999).

O retículo endoplasmático rugoso é bem desenvolvido, o que é de se esperar em uma célula que, para exercer a sua função, precisa manter seu metabolismo em elevados índices. Esse retículo possui cisternas com muitos polirribossomas associados, o que, com coloração específica, confere a essas estruturas o aspecto de manchas basófilas que ficam espalhadas no citoplasma. Essas partículas basófilas recebem o nome de Corpúsculos de Nissl (Junqueira e Carneiro, 1995).

Compreendendo esse principal tipo celular do Sistema Nervoso, o neurônio, abordaremos, a partir daqui, exclusivamente a estrutura do nervo periférico, sem cairmos em uma extensa digressão com explicações sobre o SNC.

Os troncos nervosos e seus ramos periféricos são compostos por fibras nervosas paralelas contendo axônios eferentes e aferentes. Em algumas fibras, as células de Schwann formam a bainha de mielina,



que é envolvida por bainhas de tecido conjuntivo em diferentes níveis de organização, como veremos adiante (Shetty, 1997).

As fibras estão agrupadas em feixes formando os fascículos nervosos. Cada um desses fascículos contém algumas ou muitas centenas de fibras, variando de acordo com a espessura do nervo. O tecido conjuntivo que envolve todo o tronco nervoso é chamado de epineuro. Este ocupa cerca de metade da área de uma seção transversal do tronco nervoso (Shetty, 1997).

O epineuro é constituído por feixes de colágeno que estão orientados no sentido longitudinal ao longo do nervo e estão empacotados no espaço imediatamente adjacente ao perineuro de cada fascículo. No epineuro, o colágeno do tipo I predomina (Midroni e Bilbao, 1995b). Este tipo de colágeno é o mais abundante no corpo e está presente também na pele, ossos, tendões, córnea etc. Ele é fibrilar e suas fibrilas apresentam de 60 a 110nm (Alberts et al., 1997).

Relativo, também, à constituição do epineuro, podemos citar as fibras elásticas que se encontram em orientação longitudinal e a existência de vasos capilares, sistema de drenagem linfática e também de arteríolas e de vênulas que são responsáveis pela circulação no nervo (Midroni e Bilbao, 1995b).

A respeito dos componentes celulares do epineuro, sabemos que um agregado de linfócitos pode ocorrer em torno de pequenos vasos epineurais em um nervo normal ou em neuropatias não inflamatórias. Além dos linfócitos, encontramos fibroblastos e mastócitos entre outros (Midroni e Bilbao, 1995b).

Passando para outro nível de organização da estrutura do nervo, encontramos a camada denominada de perineuro.

O perineuro é visto em seções transversais como uma estrutura lamelar, composta por células planares e alongadas, que circunda todos os fascículos nervosos (Midroni e Bilbao, 1995b).

As células perineurais são achatadas e compõem o perineuro como ladrilhos que formam um mosaico. O número das lamelas



perineurais varia em proporcionalidade direta com o tamanho do fascículo. Por exemplo, fascículos distais em nervos intramusculares apresentam apenas uma camada de células, enquanto que troncos nervosos maiores apresentam cerca de quinze camadas. As camadas mais externas do perineuro se fundem com os fibroblastos e o colágeno do epineuro (Midroni e Bilbao, 1995b).

Todas as células do perineuro são envoltas por membrana basal, tipicamente mais grossa do que a vista em células de Schwann ou em vasos. Cada camada perineural possui a largura de uma célula, a não ser no ponto onde células adjacentes se sobrepõem ou se interdigitam. Entre estas camadas existe um espaço contendo colágeno (Midroni e Bilbao, 1995b).

As camadas de colágeno que se alternam com as camadas de células perineurais são formadas por fibrilas de colágeno com orientações longitudinal, circunferencial e oblíqua. Com 40 a 64nm de diâmetro, estas fibrilas são bem mais finas que as encontradas no colágeno epineural, caracterizando um colágeno do tipo III e não o do tipo I, como ocorre no epineuro. Também são encontrados filamentos não ramificados de 10 a 12nm de diâmetros; provavelmente fibras oxitalânicas, um precursor fibrilar das fibras elásticas (Midroni e Bilbao, 1995b).

O último nível de organização de estrutura nervosa é o endoneuro, que compreende a região interna à camada do perineuro que está mais distante do epineuro, ou seja, inclui o fascículo todo (componentes celulares e extracelulares), excluindo as divisões perineurais (Midroni e Bilbao, 1995b).

Existe uma tendência dos componentes endoneurais saírem pelo perineuro. Isso indica que o compartimento endoneural está submetido a uma pressão relativa ao epineuro, que está na faixa de 0,4 a 2,7mmHg. Esta tendência expansiva e as propriedades elásticas do perineuro criam uma forma circular uniforme de cada fascículo (Midroni e Bilbao, 1995b).



No endoneuro, há apenas capilares e vênulas, não há vasos linfáticos (Shetty, 1997).

As células nucleadas do endoneuro são as células de Schwann, os fibroblastos, as células endoteliais, os pericitos, as células musculares lisas, os macrófagos, os linfócitos e os mastócitos. Ensaaios quantitativos demonstraram que no nervo sural humano, 80 a 90 por cento das células são células de Schwann e 10 por cento são fibroblastos, sendo que os outros tipos celulares se apresentam em quantidades não muito significativas (Midroni e Bilbao, 1995b).

A matriz extracelular do endoneuro constitui-se basicamente de fibras de colágeno mais delgadas do que as do epineuro, sendo colágeno do tipo III. Há ainda, a presença de colágeno IV, lamina, ácido hialurônico, condroitin-sulfato e fibronectina (Midroni e Bilbao, 1995b).

No endoneuro, são encontradas as fibras nervosas mielínicas e amielínicas (Henrikson, Kaye e Mazurkiewicz, 1999).

As fibras mielínicas consistem em um axônio e um conjunto de células de Schwann arrumadas longitudinalmente ao longo do axônio, dentro de um tubo contínuo de membrana basal, ao qual damos o nome de Tubo de Schwann (Midroni e Bilbao, 1995c).

Nesse tipo de fibra nervosa, uma célula de Schwann fica associada a apenas um axônio, mielinizando-o apenas em um determinado trecho. Essa extensão mielinizada por apenas uma célula de Schwann é denominada região internodal. A sucessão das regiões internodais forma a bainha de mielina na fibra nervosa (Henrikson, Kaye e Mazurkiewicz, 1999).

Identificamos neste tipo de fibra, uma região específica, denominada nódulo de Ranvier, que é definida pela junção entre as bainhas de mielina de duas células de Schwann adjacentes, onde aproximadamente $1\mu\text{m}$ do axônio não é coberto por mielina (Midroni e Bilbao, 1995c).



Essa estrutura possibilita uma propagação muito rápida do impulso nervoso, já que este é conduzido de forma saltatória de um nódulo de Ranvier para outro (Henrikson, Kaye e Mazurkiewicz, 1999).

Já nas fibras amielínicas, uma célula de Schwann envolve um ou mais axônios e não há presença de bainha de mielina. Isso se dá porque a célula de Schwann circunda o axônio sem enrolar-se em torno dele. O impulso é propagado de forma mais lenta, pois não há a condução saltatória, uma vez que não existem os nódulos de Ranvier (Shetty, 1997).

Na figura 1, encontramos uma ilustração da estrutura do nervo periférico, que nos possibilita um maior entendimento da mesma.

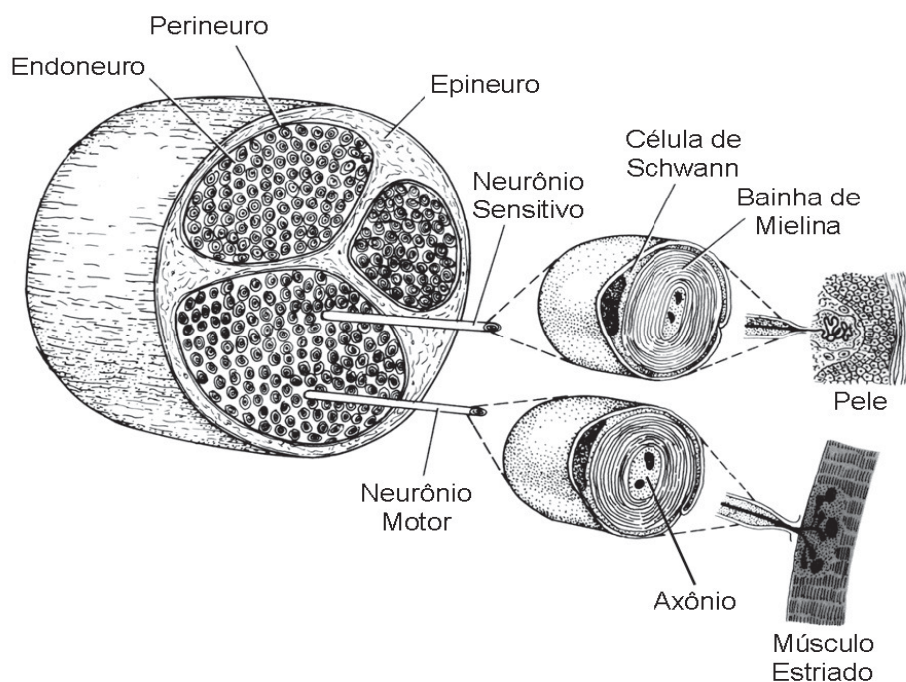


Figura 1: Ilustração de um nervo misto com fibras motoras e sensitivas (sensoriais). Devemos observar a organização das fibras dentro do nervo, junto com suas bainhas de tecido conjuntivo: o epineuro, o perineuro e o endoneuro. No esquema, podemos entender melhor também a estrutura da fibra mielinica em um corte transversal de uma região internodal, onde um axônio é envolvido por uma célula de Schwann. Observamos ainda os órgãos alvos da diferentes fibras, a sensitiva (sensorial) inervando a pele e a motora inervando o músculo estriado. Adaptado de Ross (1993, p. 254).

A neuropatia hanseniana

A hanseníase é a única doença provocada por uma micobactéria – *Mycobacterium leprae* –, que afeta o nervo periférico, tendo a célula de Schwann como principal alvo e o ser humano como hospedeiro natural. No entanto, há relatos na literatura de que uma infecção similar pode ocorrer em tatus e em macacos Mangabey (Midroni e Bilbao, 1995a)

Fite (1943, apud Shetty e Anita, 1997) assumiu categoricamente que “para os patologistas, toda hanseníase é hanseníase neural”, em sua clássica revisão de patologia sobre a doença.

A infecção pelo *M. leprae* no nervo periférico compromete principalmente as fibras amielínicas. Estas fibras são, principalmente, do sistema nervoso periférico sensitivo e autônomo nas lesões de pele, sendo que também há a infecção em fibras mielínicas motoras que podem provocar atrofia muscular e paralisia (Talhari, Neves e Oliveira, 1997).

As lesões nervosas podem provocar distúrbios sensitivos (hiperes-tesias e anestésias) e distúrbios motores (paralisias e amiotrofias), além de deformidades secundárias: calosidades, fissuras, ulcera-ções, panarício analgésico, reabsorções ósseas, anquiloses, queda dos pêlos corporais, ceratite, conjutivite e outras manifestações. As lesões nervosas são causadas principalmente pela invasão bacilar no nervo, infiltração por células inflamatórias e destruição das fibras neurais. Podemos denominar a hanseníase que apresenta apenas lesões nervosas, sem lesões cutâneas, como casos de formas neurí-ticas puras (Talhari, Neves e Oliveira, 1997).

Em uma análise das lesões nervosas da hanseníase, podemos identificar dois fatores importantes: o comportamento imunológico do paciente, que é a capacidade do sistema imune reagir à presen-ça do bacilo, e que está ligado diretamente ao tipo da doença que o paciente possui; o segundo estaria relacionado com a distância



perpendicular entre o nervo e a superfície do corpo, que está envolvido com a temperatura da região onde ocorre a infecção, pois alguns autores, observando o envolvimento preferencial de nervos superficiais, consideraram como relevante a influência da temperatura na proliferação da bactéria. Assim, esses nervos que possuem uma temperatura mais baixa que a do interior do organismo estariam mais propícios para a proliferação da bactéria (Talhari, Neves e Oliveira, 1997).

Os nervos mais freqüentemente envolvidos na hanseníase são: o cubital, o ciático poplíteo externo, o tibial posterior, o auricular, o ramo cutâneo do radial, o mediano, o radial e alguns ramos do facial (Talhari, Neves e Oliveira, 1997).

Como já vimos, a lesão nervosa depende do tipo de doença que o paciente possui. Segundo a classificação de Ridley e Jopling, a hanseníase pode ser subdividida em um espectro que vai desde a forma onde o organismo mostra uma resposta à doença, com granuloma epitelióide, que é a hanseníase tuberculóide (TT), até a forma, onde não há esse tipo de resposta e onde encontramos a maior carga de bactérias, que é a hanseníase lepromatosa (LL). Entre essas duas formas limítrofes do espectro, encontramos os casos borderline, que são formas dimorfas da doença. Estes casos estão divididos em BL (borderline-lepromatosa), BB (borderline-borderline) e BT (borderline-tuberculóide), de acordo com a proximidade aos dois extremos (Talhari e Neves, 1997). Este espectro está demonstrado na figura 2.



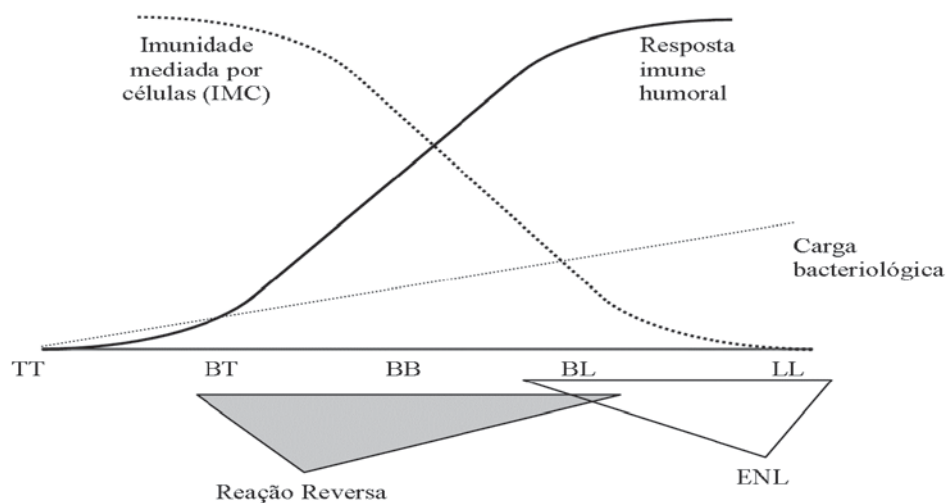


Figura 2: Representação esquemática do espectro clínico e imunológico da hanseníase. ENL, eritema nodosum leprosum; TT, hanseníase tuberculóide; BT, hanseníase borderline tuberculóide; BB, hanseníase mid-borderline; BL, hanseníase borderline lepromatosa; LL, hanseníase lepromatosa. (Fonte: Spierings et al., 2000, p. 350).

Dentro dessa classificação, as lesões nervosas podem variar desde moderadas até severas, sendo estas últimas mais comuns em caso de reações; sendo então, o estudo destas muito úteis para o entendimento das lesões (Spierings et al., 2000).

Os dois tipos de reações são: o eritema nodosum leprosum (ENL), ou reações do tipo II, que ocorrem em pacientes que estão preferencialmente no lado lepromatoso do espectro; o outro tipo de reação é a reação reversa, também designada como reação do tipo I, que ocorre principalmente em pacientes com hanseníase borderline, especialmente durante o tratamento com poliquimioterapia (PQT) (Spierings et al., 2000).

As reações do tipo I ou reações reversas representam episódios onde a resposta imune celular contra o *M. leprae* é muito aumentada, resultando numa resposta inflamatória nas áreas da pele e do nervo atingidas pela doença. Do ponto de vista da eliminação das bactérias, isto é bom, pois a reação promove mecanismos que promovem essa ação. No entanto, a resposta inflamatória que sempre acompanha a



resposta imune causa severos danos ao nervo periférico do paciente, aumentando a sua incapacidade física (Spierings et al., 2000).

Quanto à carga bacteriana, o envolvimento neural que é detectado clinicamente está em aproximadamente 10% dos pacientes paucibacilares (baciloscopia negativa) e 40% dos multibacilares (baciloscopia positiva). A manifestação clínica da lesão nervosa só ocorre depois que 30% das fibras nervosas estão destruídas (Spierings et al., 2000).

Explicando um pouco dos mecanismos de lesão nervosa, podemos dizer que no nervo, o *M. leprae* infecta principalmente macrófagos e células de Schwann e que, portanto, muitos mecanismos mediados por receptores similares aos explorados na invasão de macrófagos, atuam na invasão das células de Schwann humanas pelos bacilos. Entre eles podemos citar os receptores da porção Fc das imunoglobulinas, os receptores de complemento, a proteína ligante à fibronectina e os receptores de manose (Spierings et al., 2000).

Esses mecanismos, porém, não são específicos das células de Schwann e não explicam a especificidade que existe entre elas e o *M. leprae*. Um dos responsáveis por esse neurotropismo é a afinidade do bacilo pelo domínio G da laminina $\alpha 2$, que é uma proteína da matriz extracelular que está presente na lâmina basal das células de Schwann. Posteriormente, o complexo *M. leprae*/laminina $\alpha 2$ se ligaria aos complexos α/β distroglicanas expressos na superfície das células de Schwann. Em 1999, Pessolani et al. identificaram, no *M. leprae*, um receptor de 21 kDa que se liga à laminina como sendo uma proteína semelhante à histona, HLP, na sigla em inglês. Esse receptor é provavelmente o responsável pela ligação do *M. leprae* ao domínio G da laminina $\alpha 2$. Vale ressaltar que esse é apenas um dos possíveis mecanismos envolvidos na ligação entre a célula de Schwann e o *M. leprae*, pois quando esse processo é inibido, o bacilo não deixa de infectar a célula, o que demonstra a existência de outras vias de ligação (Spierings et al., 2000).



Na hanseníase alguns mecanismos patogênicos presumíveis, porém ainda não comprovados, são responsáveis pelas lesões nervosas; entre eles, citamos: interferência bioquímica do *M. leprae* no metabolismo da célula hospedeira, lesões provocadas pelo grande influxo de células e fluidos, ou ainda lesões causadas pela resposta imuno-inflamatória. Nos casos da reação reversa, reação do tipo I, uma resposta mediada por células é aumentada, o que nos leva a crer que, neste caso, a lesão nervosa se dá principalmente por esta via imunológica (Spierings et al., 2000).

Em relação à resposta imune, os linfócitos T citotóxicos que possuem um perfil semelhante ao dos linfócitos Th1 contribuem não apenas para a proteção imune, como também para a imunopatogenia da neurite hanseniana, onde as células de Schwann se transformam em seus alvos. Na hanseníase, as células de Schwann expressam MHC II, o que pode acontecer, ou por causa da infecção do *M. leprae*, ou por causa da resposta imune. Assim, essas células podem estar envolvidas na imunopatologia da neurite hanseniana devido à apresentação de antígenos do *M. leprae* para as células T CD4 positivas (Spierings et al., 2000).

Após o reconhecimento de células de Schwann infectadas pelas interações MHC/receptor de célula T, as células Th1, CD4 positivas, podem secretar grânulos líticos contendo granulinas, granzimas e perforinas. A perforina permeabiliza a membrana eucariótica para que a granzima entre na célula, afetando subsequentemente as micobactérias intracelulares, pois devido a distúrbios osmóticos, a célula infectada morrerá e com ela, também, as micobactérias. No entanto, no caso da hanseníase, há hipóteses de existirem outras formas de diminuição da carga bacteriana, pois ratos que eram knock out para perforina, ou seja, possuíam a expressão gênica desta suprimida, não tinham qualquer alteração na capacidade de controlar o crescimento de *M. tuberculosis*, que é uma bactéria que possui semelhanças com o *M. leprae* (Spierings et al., 2000).



Uma outra via possível de morte das células que são alvo da imunopatologia, é a via dos receptores de Fas ou relacionados à Fas. A interação entre Fas e Fas-L no alvo e no efector, respectivamente, iniciam uma cascata intracelular que finalmente resulta na apoptose da célula alvo (Spierings et al., 2000).

Uma terceira via também é cogitada: há a possibilidade da célula efectora induzir a apoptose via ATP extracelular. O ATP pode afetar a célula via receptores P2Y ou P2Z, e também comprometer a viabilidade de bactérias intracelulares. Essa via de sinalização para apoptose apresenta variações de indivíduo para indivíduo, pois há pessoas que não respondem à apoptose mediada por ATP (Spierings et al., 2000).

Contudo, a via mais importante do ataque dos linfócitos T às células de Schwann é, provavelmente, a da lise, que foi a primeira via a qual nos referimos (Spierings et al., 2000).

Além da interação entre as células T e as células de Schwann, existem outros fatores, durante a inflamação, que estão envolvidos na patogenia da lesão nervosa haseniana. Possíveis mediadores são TNF- α (tumor necrosis factor α), proteases e uroquinases. O TNF- α isoladamente parece não possuir um efeito muito tóxico sobre as células de Schwann, porém pode causar a lise destas, quando em combinação com o TGF- β (transforming growth factor- β) (Spierings et al., 2000).

Há também a possibilidade de algumas lesões nervosas serem causadas ou aumentadas por células T autorreativas. Estas células ocorrem devido à reação cruzada de antígenos da micobactéria (mímica molecular). Um dos principais candidatos a auto-antígeno é a HSP-60 (heat shock protein-60). Assim, essa reação autoimune pode contribuir também para a neuropatia hanseniana (Spierings et al., 2000).

Enfim, as células de Schwann são células protagonistas da lesão nervosa na hanseníase. A destruição destas e dos nervos em que se



encontram não é apenas resultado de uma lesão colateral, é também causada diretamente pelo efeito de células T citolíticas, CD4 positivas, que estão envolvidas no controle do crescimento do *M. leprae*, na morte dos macrófagos infectados e também na morte de células de Schwann infectadas, o que pode provocar lesões irreversíveis no nervo (Spierings et al., 2000).

Degeneração e regeneração nervosa

Existem dois alvos principais na lesão nervosa: o axônio e as células de Schwann com suas bainhas de mielina. Ataques à bainha de mielina são vistas geralmente em neuropatias inflamatórias e provocam desmielinização focal com relativa preservação axonal. Mecanismos de reparo restauram rapidamente a condução nervosa através da remielinização (Stoll e Müller, 1999).

Outra forma de acometimento do nervo é a lesão axonal, provocada por esmagamento, axotomia, isquemia ou inflamação, que leva a interrupção da integridade axonal, com conseqüente degradação das fibras nervosas distais ao local da lesão. Esta degradação das fibras nervosas recebe o nome de degeneração walleriana, que começa com a degradação do axoplasma e do axolema induzida pela ativação de proteases através do influxo de cálcio (Stoll e Müller, 1999).

Existe, porém, uma facilidade muito maior de uma regeneração com êxito no caso de esmagamento do nervo, do que no caso de axotomia, uma vez que as tiras de Büngner, que são formadas pela lâmina basal das fibras degeneradas e que envolvem apenas colunas de células de Schwann, não são rompidas pelo esmagamento, enquanto o mesmo não acontece no caso de secção completa do nervo (Jacobs, 1997).



A degeneração walleriana é o estopim de uma série de alterações moleculares no pericário e também no coto distal de neurônios motores e sensitivos. Muito rapidamente, as fibras nervosas do coto proximal se alongam através de cones de crescimento pelo segmento distal e, eventualmente, logram a reinervação dos tecidos alvo (Ross, Reith e Romrell, 1993).

De uma forma geral, quando uma fibra nervosa é lesada, as etapas que sucedem o evento são: o núcleo do neurônio move-se para a periferia da célula e ocorre cromatólise; diminuição da quantidade dos corpúsculos de Nissl; degeneração da fibra distal à lesão, juntamente com sua bainha de mielina; proliferação das células de Schwann, que formam um cordão compacto, penetrado pelo axônio em crescimento (Ross, Reith e Romrell, 1993).

Com esse aspecto clássico do processo de degeneração e regeneração nervosa em mente, passamos agora a analisar mecanismos moleculares que ocorrem neste.

A tabela 1 exhibe um resumo geral de biomoléculas que têm sua expressão gênica regulada durante a degeneração e durante a regeneração e remielinização.

Tabela 1: Resumo da regulação da expressão gênica de biomoléculas, durante o processo de Degeneração Nervosa e durante o processo de Regeneração Nervosa e Remielinização.

	Aumento de Expressão	Diminuição da Expressão
Degeneração	Neurotrofinas (NGF, NT-3, 4 e 5) e seus receptores (P75), IGF-I GFAP, fator β de maturação glial, N-CAM, L1, Pax3, c-jun, CGF, FGF-5, IL1, IL6 e IL10, TNF- α e TGF- β 1	MBP, MAG, P ₀ , PMP-22 e Krox-20
Regeneração e Remielinização	Neurotrofinas (NGF, NT-3, 4 e 5) e seus receptores (p75), MBP, MAG, P ₀ , PMP-22 e Krox-20	Pax3, c-jun, L1, N-CAM, GFAP e p75*

*Ocorre somente na Remielinização.

Após a transecção ou esmagamento do nervo há a formação de um micro-ambiente que sustentará a regeneração no SNP. Quando as células de Schwann perdem contato com o axônio, existe uma queda acentuada nos níveis de RNAm dos componentes de mielina, como a proteína básica de mielina (MBP), a glicoproteína associada à mielina (MAG), a proteína zero (P0), e a proteína periférica de mielina 22 (PMP-22) em aproximadamente dois dias após à lesão (Stoll e Müller, 1999).

Primeiramente, as células de Schwann se desdiferenciam e adquirem um fenótipo de células de Schwann pré- ou não-mielinizantes. A caracterização desse fenótipo se dá pela expressão do receptor de baixa afinidade para o NGF, que é o p75; da proteína fibrilar glial (GFAP – glial fibrillary acidic protein); do fator β de maturação glial; da molécula de adesão celular L1 e também de N-CAM (Molécula de Adesão Celular Neural) (Stoll e Müller, 1999).

Durante a degeneração, além do aumento dos receptores para neurotrofinas, como é o caso do p75 e dos receptores da família Trk (receptores das tirosina-quinases), há também o aumento da expressão das respectivas neurotrofinas (NT) – NGF (Fator de Crescimento



de Nervo) – TrkA e p75; BDNF (Fator de Crescimento de Nervo Derivado do Cérebro) – TrkB e p75; NT3 (Neurotrofina 3) – TrkC e p75; e NT4/5 (Neurotrofina 4/5) – TrkB e p75. Essa coincidência espacial e temporal sustenta a idéia de que as neurotrofinas promovem e guiam a regeneração por intermédio de seus receptores Trk. Além desse aumento de neurotrofinas no local da lesão, deve haver também influências tróficas de substâncias secretadas pelas células-alvo que são capazes de atrair os axônios mesmo à distância (Lee, Zhuo e Helke, 2001).

Outras neurotrofinas, além de simplesmente o NGF, aumentam sua expressão nas células de Schwann, como é o caso do fator de crescimento semelhante à insulina IGF-1, expresso por macrófagos em períodos tardios da degeneração walleriana; o que sugere que células inflamatórias também estão envolvidas no suporte neurotrófico (Stoll e Müller, 1999).

O IGF-1 tem uma grande importância durante a degeneração nervosa, pois é capaz de prevenir a apoptose da célula de Schwann mediada por caspase, através da via de sinalização PI 3-K, fosfatidilinositol 3-quinase (Delaney et al., 2001).

Alguns dos fatores de transcrição que estão envolvidos na regulação da desdiferenciação e rediferenciação que ocorre na degeneração e na regeneração nervosa, respectivamente, são: Pax3, c-jun e Krox-20. Células de Schwann denervadas reexpressam Pax3 e c-jun, mas diminuem a expressão de Krox-20 (Stoll e Müller, 1999).

O Pax3 é um fator de transcrição com domínio par, isto é, apresenta um domínio de ligação ao DNA de 128 aminoácidos, composto de duas estruturas distintas de subdomínios hélice-volta-hélice, que, ligados por uma pequena região, são capazes de interagir de maneira específica com determinadas regiões do DNA (Vogan e Gros, 1997). Ele é expresso em células de Schwann embrionárias, persiste sendo expresso em células de Schwann não-mielinizantes nos adultos, porém diminui sua expressão em células de Schwann



que formam mielina. Funcionalmente, o Pax3 reprime a transcrição de genes da mielina (Stoll e Müller, 1999).

O Krox-20 é um gene que possui sua ativação precocemente e que faz parte de uma classe de fatores de transcrição com seqüências de zinc fingers em suas moléculas, isto é, são fatores que possuem um domínio, com partes ligadas entre si por um átomo de zinco, em estruturas que lembram dedos (daí se origina o nome que lhe é atribuído). Em nervos periféricos adultos, ele é exclusivo de células de Schwann que formam a bainha de mielina (Guennoun et al., 2001).

O fator c-jun é expresso somente em células de Schwann não-mielinizantes nos nervos periféricos normais, porém após axotomia, as células de Schwann desnervadas, que antes da desnervação eram mielinizantes, voltam a expressá-lo. Após a regeneração, a expressão de c-jun volta a cair quando se dá a remielinização. Funcionalmente, c-jun parece não afetar diretamente a expressão gênica relacionada especificamente com a mielina nas células de Schwann (Stoll e Müller, 1999).

Durante o processo de degeneração, dois importantes fatores de crescimento são liberados e induzem a proliferação de fibroblastos: o GCF – Fator de Crescimento Glial (Zanazzi et al., 2001) e de FGF-5 – Fator de Crescimento de Fibroblasto do tipo 5 (Mcgeachie et al., 2001).

Na degeneração walleriana, a transcrição e os níveis de citocinas, tanto pro-, quanto antiinflamatórias, são elevados. São elas: as interleucinas 1, 6 e 10 (IL1, IL6 e IL10); o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e o fator de crescimento transformante do tipo beta 1 (TGF- β 1) (Stoll e Müller, 1999).

Já nos processos de regeneração e remielinização, encontramos a volta da expressão das moléculas que compõem a mielina como MBP, MAG, PO, PMP-22 e também do fator Krox-20 que como já vimos é exclusivo de células de Schwann mielinizantes (Stoll e Müller, 1999).

Nessa etapa, ocorre também a manutenção de níveis altos de neurotrofinas (NGF, NT-3, 4 e 5) e seus receptores como o p75. No entanto, à medida que as células de Schwann restabelecem contato com o axônio, elas começam a perder a expressão de p75 e começam a fase de remielinização (Stoll e Müller, 1999).

No lado das moléculas que têm sua expressão diminuída, estão os fatores de transcrição Pax3 e c-jun, que como vimos, são característicos de células de Schwann não mielinizantes. Também temos a diminuição de marcadores de desdiferenciação, como as moléculas de adesão L1 e N-CAM, além da GFAP (Stoll e Müller, 1999).

Não podemos esquecer que estamos fazendo uma análise separando os processos de degeneração e regeneração só para fins didáticos, já que toda essa regulação de expressão gênica é finamente orquestrada e segue um padrão espacial e temporal, que faz com que não haja uma separação estanque entre a degeneração e a regeneração.

Assim, entendemos as etapas de degeneração e regeneração como uma ação contínua de resposta do organismo à lesão sofrida.

Discussão final

A proposta de nosso trabalho tem seu ápice e seu mais importante aspecto nesta seção, onde serão desenvolvidas perspectivas de pesquisa e questões serão levantadas através da correlação entre os aspectos já levantados durante o decorrer da dissertação.

Primeiramente, a discussão se volta em torno da dificuldade de se estabelecer um paralelo entre a lesão experimental, que ocorre pelo esmagamento ou pela secção do nervo, com a lesão do nervo, na neuropatia hanseniana, onde a presença de um infiltrado inflamatório causado pela presença do *M. leprae*, que deve influenciar



na expressão gênica das células de Schwann, é um dos fatores que acentuam a diferença entre as duas lesões.

Percebemos, porém, que alguns componentes envolvidos nos dois tipos de lesões são os mesmos e, por isso, podemos chegar a um denominador comum ao relacionarmos as duas. Existem fatores que exercem funções na degeneração walleriana, como, por exemplo, as citocinas, que podem se assemelhar, e muito, à função que estas possuem na neuropatia hanseniana. Nestes tipos de semelhanças, podemos nos focar e buscar perguntas que possam aumentar nosso conhecimento sobre a lesão do nervo em geral, mas, principalmente, na hanseníase, para que esta que é hoje, como já vimos, uma das principais causas de neuropatias em países em desenvolvimento, seja menos danosa a pacientes com a doença.

A Fibrose na hanseníase

Na hanseníase, tivemos a oportunidade de perceber que o nervo é acometido por uma extensa fibrose que dificulta muito a regeneração nervosa (Singh et al., 1997).

Então chegamos à conclusão que estudar a modulação que o *M. leprae* exerce sobre a produção de matriz extracelular quando infecta a célula de Schwann é uma necessidade para se entender a fibrose na neuropatia hanseniana e, conseqüentemente, como é possível revertê-la, para que seja possível a regeneração após a lesão. Para isso, deve-se empregar um método que possibilite a amostragem da expressão de vários genes diferentes, como o método de amostra diferencial (differential display).

Nossas sugestões passam pelo uso de corticóides, que, por serem conhecidamente anti-inflamatórios, poderiam inibir a fibrogênese no nervo na neuropatia hanseniana, porém há de se ressaltar todas as



contra-indicações que os corticóides provocam, principalmente nos pacientes diabéticos. Também há a possibilidade de estudos mais apurados sobre o papel das metaloproteases e seus inibidores, para que concomitantemente à produção de matriz extracelular, haja uma degradação da mesma, para a formação de um percurso por onde passem os brotamentos axonais regenerativos.

A regulação imune da hanseníase

Não menos importante, é o aprofundamento no estudo das relações entre as células de Schwann, *M. Leprae*, macrófagos e demais células do sistema imune. As citocinas são responsáveis, como vimos, por uma grande influência sobre a regeneração e também sobre a degeneração nervosa.

Por que não, se pensar em administração de IL-10, ou de fatores que estimulem a sua produção, já que esta é uma interleucina reguladora do processo inflamatório? Para isso, seria necessário um extenso estudo sobre a dose necessária, via de administração e suas possíveis contra-indicações, sendo esta uma estratégia possível para inibir ou reprimir, por exemplo, uma reação do tipo I na hanseníase, que, como vimos, é muito devastadora para o nervo.

Existe também a morte das células de Schwann mediadas pela autoimunidade dos Linfócitos T, que é uma causa grave de lesão nervosa na hanseníase. Vimos que na degeneração, as células de Schwann são resguardadas pelo IGF-1. Podemos então testá-lo ou testar outros fatores de crescimento que possam interferir na ação da apoptose provocada pelas células T autoimunes.

Estudar também os antígenos do *M. leprae* e como eles interagem com as células do sistema imune, é um desafio pertinente, ao qual deve ser dada referida atenção.

Muitas dessas idéias já são implementadas na pesquisa atual e na prática, como é o caso da corticoterapia em formas neurais da hanseníase, que já é adotada no serviço do Laboratório de Hanseníase, junto ao Ambulatório Souza Araújo, do Departamento de Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz, da Fundação Oswaldo Cruz (IOC/FIOCRUZ).

Os genes envolvidos na resistência do nervo

Estudar de forma aprofundada o gene da degeneração walleriana lenta, *Wlds*, que ocorre como uma mutação espontânea em camundongos, é um objetivo concreto para a biologia molecular, que vem se tornando cada vez mais evidente nas pesquisas. Esse gene mutante torna os camundongos resistentes à neuropatia tóxica causada por vincristina (Wang et al., 2000). E para a hanseníase, qual será o seu papel? Será que esse gene possibilitaria uma resistência maior do nervo às lesões provocadas pela doença?

Ainda há muito a ser conhecido com relação a esse processo, pois ainda nem se sabe especificamente qual a mutação do gene de que estamos falando, mas com a tecnologia que dispomos hoje e com a que está sendo produzida, o tempo da ciência vem se tornando cada vez menor e, por isso, é provável que, em breve, haja a identificação exata da mutação do gene e seu papel na hanseníase.

Outros genes que possivelmente estariam envolvidos na resistência do nervo ao ataque da hanseníase necessitam de futuras elucidações. Como exemplo, tem-se genes que codificam a laminina-2 da membrana basal da célula de Schwann que está ligada ao processo de infecção. Talvez, formas diferentes de laminina possam inibir essa entrada do *M. leprae*, dificultando, assim, a lesão da hanseníase do nervo.



Outro fator importante é a quebra da barreira hematoneural permitindo a entrada das células do infiltrado inflamatório no nervo. Por que a partir de um determinado momento elas invadem o nervo, se antes a barreira hematoneural as impedia de entrar? Deve haver uma forma pela qual o *M. leprae* chega ao nervo e, aí sim, há a modulação de componentes da barreira hematoneural, até mesmo por citocinas liberadas pelas células infectadas, que se modificam de forma a permitir a entrada de tipos celulares antes escassos ou estranhos aos nervos, como é o caso dos linfócitos. Assim, se a barreira hematoneural for melhor compreendida, mais fácil será se estabelecer uma maneira de aumentar a resistência desta à entrada de células que formariam o infiltrado.

A velocidade de regeneração em nervos acometidos por neuropatias

Ainda não se sabe ao certo se as alterações provocadas por neuropatias alteram a velocidade com que as fibras se regeneram. Para estudarmos isso na hanseníase, poderíamos estabelecer culturas mistas de células de Schwann e neurônios infectadas com *M. leprae* e observar o comportamento das células de Schwann e dos axônios. A cocultura infectada com *M. leprae* é uma grande arma que podemos usar neste estudo de degeneração e regeneração na hanseníase.

Há estudos que demonstram alguns fármacos na tentativa de se otimizar a capacidade e a velocidade da regeneração. Estes fármacos são imunossupressores, como o FK506, que aumenta a regeneração das fibras sensitivas de ratos em aproximadamente 16%. Outros fatores que aumentam o número de fibras nervosas em regeneração, *in vivo*, são a prosaposina e a citocina LIF (Stoll e Müller, 1999). Há



ainda a administração de fator de crescimento endotelial vascular VEGF (vascular endothelial growth factor), que provoca um aumento na angiogênese e melhora a regeneração nervosa depois de axotomia (Hobson, Green e Terenghi, 2000). Estes são alguns dos muitos fatores que podem ser testados para uma possível melhora na regeneração na hanseníase e também em outras neuropatias.

Enfim, embora cientes das dificuldades para responder às perguntas, principalmente porque a hanseníase carece de um modelo experimental *in vivo* que seja capaz de mimetizar o que ocorre no homem, com exceção do modelo em primatas, cujo custo de manutenção é muito alto, acreditamos numa interação multidisciplinar que integre a bioquímica, a biologia molecular e a morfologia, para que haja uma abordagem investigativa enriquecida que diminua a distância existente entre a tecnologia avançada e os conhecimentos clássicos sobre a hanseníase.

Não podemos deixar, só porque a descrição morfológica da doença é mais antiga, que esta caia em desuso e que somente ensaios *in vitro* sejam importantes, pois o distanciamento que haverá da doença e da pesquisa será cada vez maior e isso nos fará pagar o custo de trabalhar em um nível de profundidade que comprometa a visão total da doença.

Nosso trabalho tentou fazer essa correspondência, à qual nos referimos neste momento, e pensamos que logramos nosso objetivo de fazer um trabalho dissertativo que englobasse, tanto questões bioquímicas e moleculares atuais, quanto a descrição clássica da doença e da degeneração e regeneração nervosa, além de nossas sugestões que ficam para um futuro, que esperamos ser próximo.

Referências bibliográficas

- ALBERTS, Bruce et al. Junções celulares, adesão celular e a matriz extracelular. In: _____. *Biologia Molecular da Célula*. 3a ed. Porto Alegre: Editora Artes Médicas, 1997
- DELANEY, Catherine L. et al. Insulin-like growth factor-I and over expression of Bcl-xL prevent glucose-mediated apoptosis in Schwann cells. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*. v. 60, n. 2, 2001, p. 147-160.
- GUENNOUN, Rachida et al. Progesterone stimulates Krox-20 gene expression in Schwann cells. *Molecular Brain Research*. v. 90, 2001, p. 75-82.
- HENRIKSON, Ray C.; KAYE, Gordon I.; MAZURKIEWICZ, Joseph E. Nervo. In: _____. *Histologia - National Medical Series para Estudo Independente*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1999, p. 65-84.
- HOBSON, Mark I.; GREEN, Colin J.; TERENGHI, Giorgio. VEGF enhances intraneural angiogenesis and improves nerve regeneration after axotomy. *Journal of Anatomy*. v. 197, 2000, p. 591-605.
- JACOBS, Jean M. Pathology of Nerve Damage. In: _____. *The peripheral nerve in leprosy and other neuropathies*. Delhi: Oxford University Press, 1997, p. 57-78.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, José. Tecido Nervoso. In: _____. *Histologia Básica*. 8a ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1995, p. 127-158.
- LEE, Paek-Gyu; ZHUO, Huang; HELKE, J. Cinda. Axotomy alters neurotrophin and neurotrophin receptor mRNAs in the vagus nerve

and nodose ganglion of the rat. *Molecular Brain Research*. v. 87, 2001, p. 31-41.

- MASAKI, Toshihiro et al. Expression of dystroglycan and laminin-2 in peripheral nerve under axonal degeneration and regeneration. *Neuropathology*. v. 99, 2000, p. 289-295.
- MCGEACHIE, A. B. et al. Fibroblast growth factor-5 is expressed in Schwann cells and is not essential for motoneurone survival. *Neuroscience*. v. 104, n. 3, 2001, p. 891-899.
- MIDRONI, Gyl; BILBAO, Juan M. Leprous neuropathy. In: _____. *Biopsy Diagnosis of Peripheral Neuropathy*. Boston: Butterworth-Heinemann, 1995a, p. 223-240.
- MIDRONI, Gyl; BILBAO, Juan M. Normal anatomy of peripheral (sural) nerve. In: _____. *Biopsy Diagnosis of Peripheral Neuropathy*. Boston: Butterworth-Heinemann, 1995b, p. 13-33.
- MIDRONI, Gyl; BILBAO, Juan M. Schwann cells and myelin in the peripheral nervous system. In: _____. *Biopsy Diagnosis of Peripheral Neuropathy*. Boston: Butterworth-Heinemann, 1995c, p. 75-103.
- ROSS, Michael H.; REITH, Edward J.; ROMRELL, Lynn J. Tecido Nervoso. In: _____. *Histologia - Texto e Atlas*. 2a edição. São Paulo: Editora Panamericana, 1993, p. 241- 281.
- SHETTY, Vanaja P.; ANTIA, Noshir H. Pathology of nerve damage in leprosy. In: _____. *The Peripheral Nerve in Leprosy and Other Neuropathies*. Delhi: Oxford University Press, 1997, p. 79-137.
- SHETTY, Vanaja P. Structure of the normal peripheral nerve. In: SHETTY, Vanaja P.; ANTIA, Noshir H. *The peripheral nerve in leprosy and other neuropathies*. Delhi: Oxford University Press, 1997, p. 45-56.



- SINGH, Neeta et al. Schwann cell extracellular matrix protein production is modulated by *Mycobacterium leprae* and macrophage secretory products. *Journal of Neurological Sciences*. v. 151, 1997, p. 13-22.
- SPIERINGS, Eric et al. Novel mechanisms in the immunopathogenesis of leprosy nerve damage: the role of Schwann cells, T cells and *Mycobacterium leprae*. *Immunology and Cell Biology*. v. 78, 2000, p. 349-355.
- STOLL, Guido; MÜLLER, Hans Werner. Nerve injury, axonal degeneration and neural regeneration: basic insights. *Brain Pathology*. v. 9, 1999, p. 313-325.
- TALHARI, Sinésio; NEVES, René Garrido. Introdução, agente etiológico, transmissão, cultura, inoculação, aspectos laboratoriais, patogenia e classificação. In: _____. *Hanseníase*. 3a ed. Manaus: Gráfica Tropical, 1997, p. 1-3.

