

## LESÃO DA SUBSTÂNCIA BRANCA E DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS<sup>1</sup>

### WHITE MATTER INJURY AND NEURODEGENERATIVE DISEASES

Rafael Rodrigues LIMA<sup>2</sup>, Ana Maria Rabelo COSTA<sup>3</sup>, Renata Duarte de SOUZA<sup>4</sup>, Claudia Dourado dos SANTOS<sup>5</sup>, Joanielson GUIMARÃES-SILVA<sup>6</sup> e Wallace Gomes LEAL<sup>7</sup>.

#### RESUMO

**Objetivo:** revisar a literatura científica sobre degeneração da substância branca, incluindo lesão do cilindro axonal, da bainha de mielina e oligodendrócitos, enfatizando o papel deste evento patológico na perda tecidual e deficiências funcionais subjacentes às doenças neurodegenerativas agudas e crônicas. **Método:** revisão de literatura através de pesquisa bibliográfica na base de dados PUBMED/MEDLINE. **Considerações Finais:** o comprometimento patológico da substância branca é um mecanismo importante da fisiopatologia de doenças neurodegenerativas agudas e crônicas. Pesquisas translacionais nesta área devem ser realizadas para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas para essas desordens neurais. Um objetivo importante destes estudos deve ser a proteção dos tratos de substância branca do sistema nervoso central humano, os quais podem degenerar durante doenças, incluindo trauma cerebral e medular, acidente vascular encefálico e esclerose múltipla.

**DESCRITORES:** substância branca; lesão axonal; degeneração de oligodendrócitos; desmielinização.

#### INTRODUÇÃO

O sistema nervoso central (SNC) é composto pelas substâncias branca e cinzenta. Microscopicamente, a substância cinzenta corresponde à região de maior densidade de corpos neuronais, enquanto que a substância branca possui alguns tipos neuronais, como as células diaforase positivas e uma grande quantidade de axônios mielinizados, estrutura condicionante do aspecto esbranquiçado. Ambas as regiões, além dos neurônios, possuem grande quantidade de células gliais, tanto da macróglia (astrócitos e oligodendrócitos), como da micróglia (macrófagos residentes). Os oligodendrócitos são mais frequentes na substância branca, onde formam

a bainha de mielina (o que fazem as células de Schwann no sistema nervoso periférico).

Os estudos neuropatológicos clássicos foram mais centrados nas alterações patológicas que acometem a substância cinzenta e negligenciado os eventos patológicos da substância branca<sup>1</sup>. Esse cenário está mudando, pois considera-se atualmente que a lesão da substância branca possui um papel fundamental na gênese dos déficits funcionais durante desordens neurais agudas e crônicas<sup>2</sup>.

#### OBJETIVO

Revisar a literatura científica sobre degeneração da substância branca, incluindo lesão do cilindro axonal,

Recebido em 16.10.2006 – Aprovado em 29.11.2006

<sup>1</sup> Trabalho realizado no Laboratório de Neuroproteção e Neuroregeneração Experimental do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará (CCB-UFPA)

<sup>2</sup> Cirurgião-Dentista, Mestre em Neurociências e Biologia Celular, Discente do Programa de Pós-Graduação em Odontologia (UFPA) e Doutorando em Neurociências e Biologia Celular (UFPA)

<sup>3</sup> Farmacêutica-Bioquímica, Mestre em Neurociências e Biologia Celular (UFPA)

<sup>4</sup> Fisioterapeuta e Cirurgiã-Dentista. Mestre em Neurociências e Biologia Celular (UFPA)

<sup>5</sup> Cirurgiã-Dentista, Mestre em Odontologia (UFPA)

<sup>6</sup> Biomédico. Mestrando em Neurociências e Biologia Celular (UFPA)

<sup>7</sup> Biomédico. Doutor em Neurociências (Neuropatologia Experimental), Professor Adjunto e Chefe do Laboratório de Neuroproteção e Neuroregeneração Experimental do Departamento de Morfologia, CCB-UFPA.

mielina e oligodendrócitos, enfatizando o papel deste evento patológico na perda tecidual e nos déficits funcionais subjacentes às doenças neurodegenerativas agudas e crônicas.

## MÉTODOS

Pesquisa bibliográfica na base de dados PUBMED (US National Library of Medicine e Institute of Health)/ MEDLINE.

## REVISÃO DA LITERATURA

Os tratos de substância branca do SNC possuem a importante função de transportar sinais neurais de regiões subcorticais para o córtex e do córtex para as regiões subcorticais. No SNC, lesões isquêmica e traumática, freqüentemente, resultam em déficit funcional significativo, maior parte do qual pode ser atribuído à disfunção da substância branca ao invés de disfunção da substância cinzenta<sup>1-4</sup>.

Sabe-se que os efeitos lesivos de uma alteração patológica primária no SNC, por exemplo, isquemia ou trauma, são exacerbados durante o chamado processo de degeneração secundária, ou seja, o aumento progressivo da área de lesão primária para regiões circunjacentes ou mesmo distantes do sítio inicial da lesão<sup>3,5</sup>. Os principais mecanismos envolvidos nesse evento, incluem alterações iônicas, excitotoxicidade, estresse oxidativo, apoptose e resposta inflamatória<sup>3,5-8</sup>.

Os mecanismos de morte celular em condições neuropatológicas agudas e crônicas envolvem, pelo menos parcialmente, a ativação de receptores glutamatérgicos do tipo AMPA/Kainato e NMDA<sup>8</sup>. Durante esses distúrbios patológicos, acredita-se que o acúmulo excessivo de glutamato no meio extracelular, devido às alterações metabólicas, induz ativação de receptores glutamatérgicos nas membranas celulares de neurônios e células gliais, com subsequente influxo de cloreto (Cl<sup>-</sup>), íons sódio (Na<sup>+</sup>) e cálcio (Ca<sup>2+</sup>) para o meio intracelular<sup>8-9</sup>.

O influxo excessivo de Na<sup>+</sup> induz tumefação intracelular e alteração do equilíbrio osmótico<sup>8-9</sup>. A entrada excessiva de Ca<sup>2+</sup> na célula ativa diversas proteases (por exemplo, calpaínas, fosfolipases e endonucleases) as quais podem degradar a maior parte dos componentes estruturais dos neurônios<sup>8-9</sup>. A ativação de certos tipos de fosfolipases durante excitotoxicidade pode degradar lipídios da membrana celular, enquanto que endonucleases podem degradar o genoma da célula<sup>8-9</sup>.

Além de seus efeitos deletérios diretos, a ativação destas enzimas pode contribuir para a formação de radicais livres, tais como o peroxinitrito e hidroxilas -

que são substâncias extremamente lesivas<sup>10</sup>. Por exemplo, fosfolipases ativadas pelo Ca<sup>2+</sup> podem induzir liberação de ácido araquidônico da membrana plasmática com formação subsequente de radicais livres<sup>8-10</sup>.

Inúmeros estudos experimentais confirmaram - *in vitro* e *in vivo*- que concentrações elevadas de agonistas glutamatérgicos, tais como o NMDA, induzem eventos lesivos que incluem tumefação dendrítica e de corpos celulares, edema, degeneração de organelas intracelulares, picnose, necrose, além de resposta inflamatória<sup>8,9,11-12</sup>. Essas características histopatológicas são encontradas em condições clínicas, como trauma cerebral e da medula espinhal e acidente vascular encefálico<sup>9</sup>. Além disso, concentrações elevadas de aminoácidos excitatórios são encontradas no líquido céfalo-raquidiano de pacientes que sofreram essas condições patológicas<sup>8,9</sup>.

Demonstrou-se experimentalmente que antagonistas de receptores glutamatérgicos, diminuem a área de lesão excitotóxica após trauma e isquemia induzida por oclusão da artéria cerebral média em ratos<sup>13</sup>. MK801, um antagonista de receptores do tipo NMDA, foi utilizado com sucesso, demonstrando efeito neuroprotetor em modelos experimentais<sup>13</sup>. No entanto, o uso terapêutico de tal antagonista não se mostrou muito promissor, principalmente, pelos efeitos colaterais causados e pelo fato de que o MK801 parece proteger a substância cinzenta, mas não a substância branca<sup>14-15</sup>.

Os eventos patológicos que acometem a substância branca foram negligenciados no passado<sup>1-2</sup>, mas atualmente acredita-se que os déficits funcionais gerados após lesão traumática do cérebro e medula espinhal, acidentes vasculares e outras condições patológicas agudas e crônicas podem ser originados após lesão axonal<sup>1,2,14-23</sup>. O conhecimento dos mecanismos envolvidos nesse processo é de fundamental importância para o desenvolvimento de futuras abordagens terapêuticas para doenças neurológicas humanas<sup>1,2,4,14-28</sup>.

Após lesão excitotóxica experimental da medula espinhal de roedores demonstrou-se que uma lesão primária no corno ventral pode induzir eventos patológicos secundários nos tratos de substância branca, incluindo lesão axonal e alterações na bainha de mielina da substância branca dorsal distante do sítio de lesão primária<sup>12</sup>. Neste estudo, sugeriu-se uma correlação entre resposta inflamatória e lesão axonal. Após lesão excitotóxica estriatal, demonstrou-se, experimentalmente, que a lesão axonal é um fenômeno tardio, que pode ocorrer 7 dias após a injeção de NMDA no caudado-putâmen<sup>25</sup>.

Lesão axonal e alterações da bainha de mielina são fenômenos patológicos importantes após isquemia

experimental em roedores<sup>23-24</sup>. Tanto no córtex motor<sup>24</sup>, como no estriado<sup>23</sup>, alterações progressivas na substância branca são encontradas após indução de isquemia focal. Eventos patológicos similares foram descritos em seres humanos<sup>14-15,20</sup>.

Os mecanismos responsáveis pela lesão da substância branca durante doenças neurodegenerativas começaram a ser revelados<sup>4</sup>. Os mesmos foram mais investigados no nervo óptico e na medula espinhal, onde os efeitos lesivos na substância branca podem ser melhor interpretados<sup>4,16-21</sup>. No nervo óptico, 60 minutos de anóxia são suficientes para induzir perda de microtúbulos e neurofilamentos, componentes importantes do citoesqueleto axonal<sup>4</sup>. Resultados similares foram obtidos após 2-4h de isquemia cerebral focal<sup>4</sup>. Na medula espinhal, alterações do citoesqueleto e lesão de oligodendrócitos foram descritas em modelos experimentais *in vivo* e *in vitro*<sup>26-28</sup>. Nessas condições experimentais, existem fortes evidências que alterações metabólicas com subsequentes eventos excitotóxicos e/ou inflamatórios são responsáveis pela lesão da substância branca<sup>4, 26-28</sup>.

Uma consequência importante dos mecanismos descritos acima é que axônios da substância branca, incluindo as fibras de passagem, podem ser lesados, gerando déficits funcionais significativos<sup>1,2,4,14-22</sup>. Lesão de axônios, mielina e oligodendrócitos são comuns em certas condições neurodegenerativas agudas e crônicas em seres humanos<sup>2</sup>, particularmente trauma, acidente vascular encefálico, esclerose múltipla e na esclerose lateral amiotrófica<sup>19, 29-33</sup>.

No caso da esclerose múltipla, acredita-se haver participação de componentes da resposta inflamatória nos mecanismos subjacentes ao processo de desmielinização característico desta doença<sup>19, 29-33</sup>. Substâncias sintetizadas

e liberadas por macrófagos, linfócitos ou outro componente da resposta inflamatória, tais como o fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ , do inglês *tumor necrosis factor  $\alpha$* ), podem lesar diretamente a mielina e mesmo o cilindro axonal<sup>19,29-33</sup>.

Um mecanismo envolvendo excitotoxicidade mediada por ativação excessiva de receptores AMPA/Kainato, após reversão de bombas metabólicas foi proposto para explicar a lesão da substância branca após lesão da medula espinhal<sup>26</sup>, mas este mesmo mecanismo pode estar envolvido em algumas doenças desmielinizantes como a esclerose múltipla<sup>4,19</sup>.

Classicamente, a desmielinização foi considerada o principal evento histopatológico da esclerose múltipla, mas demonstrou-se que lesão do cilindro axonal é um evento importante nesta doença neurodegenerativa<sup>29</sup>. O número de axônios lesados, como demonstrado pela histoquímica para o precursor  $\beta$  amilóide – um marcador sensível de lesão axonal<sup>34</sup> – pôde ser correlacionado com o número de macrófagos na área de placas ativas em pacientes com esclerose múltipla<sup>29-30</sup>.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como aqui enfatizado, o comprometimento patológico da substância branca é um mecanismo importante da fisiopatologia de doenças neurodegenerativas agudas e crônicas. Pesquisas translacionais nessa área devem ser realizadas para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas. Um importante objetivo destes estudos deve ser a proteção dos tratos de substância branca do SNC humano que podem degenerar durante doenças, incluindo trauma cerebral e medular e acidente vascular encefálico.

## SUMMARY

### WHITE MATTER INJURY AND NEURODEGENERATIVE DISEASES

Rafael Rodrigues LIMA, Ana Maria Rabelo COSTA, Renata Duarte de SOUZA, Claudia Dourado dos SANTOS, Joanielson GUIMARÃES-SILVA e Wallace GOMES-LEAL

**Objective:** review the literature on the white matter pathology, including axonal damage, myelin impairment and oligodendrocyte degeneration, emphasizing the importance of this pathological event on the underlying functional deficits following neurodegenerative diseases. **Method:** bibliography search using PUBME/MEDLINE databases. **Final considerations:** the pathological impairment of white matter is an important mechanism underlying the pathophysiology of both acute and chronic neurodegenerative disorders. Translational researches should be accomplished for the development of new therapeutic approaches for human brain disorders. An important aim of these investigations must be the protection of the human white matter tracts, which are damaged following neural disorders, including brain and spinal cord trauma, stroke and multiple sclerosis.

**KEY WORDS:** white matter; axonal damage; oligodendrocyte degeneration; demyelination.

## REFERÊNCIAS

1. COLEMAN, M. and PERRY, V. Axon Pathology in Neurological Disease: A Neglected Therapeutic Target. *Trends in Neurosciences* 2002; 25:532.
2. MEDANA, I.M and ESIRI, M.M. Axonal damage: a key predictor of outcome in human CNS diseases. *Brain* 2003;126:515-530.
3. BLIGHT, A.R. and DECRESCITO, V. Morphometric Analysis of Experimental Spinal Cord Injury in the Cat: The Relation of Injury Intensity to Survival of Myelinated Axons. *Neuroscience* 1986; 19:321-341.
4. STYS, P.K. White matter injury mechanisms. *Current Molecular Medicine* 2004; 4:113-130.
5. FADEN, A.I. and SIMON, R.P. A Potential Role for Excitotoxins in the Pathophysiology of Spinal Cord Injury. *Annals of Neurology* 1988; 23:623-626.
6. BRACKEN, M.B and HOLFORD, T.R. Neurological and functional status 1 year after acute spinal cord injury: estimates of functional recovery in National Acute Spinal Cord Injury Study II from results modeled in National Acute Spinal Cord Injury Study III. *Journal of Neurosurgery* 2002; 96:259-266.
7. YOLES, E.;MULLER, S. and SCHWARTZ, M. Nmda-Receptor Antagonist Protects Neurons from Secondary Degeneration after Partial Optic Nerve Crush. *Journal of Neurotrauma* 1997; 14:665-675.
8. MELDRUM, B.S. Glutamate as a Neurotransmitter in the Brain: Review of Physiology and Pathology. *Journal of Nutrition* 2000; 130:1007S-1015S.
9. CHOI, D.W. Glutamate Neurotoxicity and Diseases of the Nervous System. *Neuron* 1988; 1:623-634.
10. LEWEN, A.; MATZ, P.; CHAN, P.H. Free radical pathways in CNS injury. *Journal of Neurotrauma* 2000; 17:871-890.
11. GOMES-LEAL W., CORKILL, D.J., FREIRE, M.A.M, PICANCO-DINIZ, C.W.P., PERRY, V.H. Astrocytosis, microglia activation, oligodendrocyte degeneration and pyknosis following acute spinal cord injury. *Experimental Neurology* 2004; 190: 456-467.
12. GOMES-LEAL W., CORKILL, D.J., PICANCO-DINIZ, C.W.P. Systematic analysis of axonal damage and its possible correlation with inflammatory response in different white matter tracts of acutely injured rat spinal cord. *Brain Research* 2005; 1066: 57-70.
13. MELDRUM, B.S. The Glutamate Synapse as a Therapeutical Target: Perspectives for the Future. *Progress in Brain Research* 1998; 116:441-458.
14. DEWAR, D.;YAM, P. and MCCULLOCH, J. Drug Development for Stroke: Importance of Protecting Cerebral White Matter. *European Journal of Pharmacology* 1999; 375:41-50.
15. DE KEYSER, J.;SULTER, G. and LUITEN, P.G. Clinical Trials with Neuroprotective Drugs in Acute Ischaemic Stroke: Are We Doing the Right Thing? *Trends in Neurosciences* 1999; 22:535-540.
16. AGRAWAL, S.K. and FEHLINGS, M.G. Mechanisms of Secondary Injury to Spinal Cord Axons in Vitro: Role of Na<sup>+</sup>, Na<sup>(+)</sup>-K<sup>(+)</sup>-Atpase, the Na<sup>(+)</sup>-H<sup>+</sup> Exchanger, and the Na<sup>(+)</sup>-Ca<sup>2+</sup> Exchanger. *Journal of Neuroscience* 1996; 16:545-552.
17. AGRAWAL, S.K. and FEHLINGS, M.G. Role of Nmda and Non-Nmda Ionotropic Glutamate Receptors in Traumatic Spinal Cord Axonal Injury. *Journal of Neuroscience* 1997; 17:1055-1063.
18. MATUTE, C. Characteristics of Acute and Chronic Kainate Excitotoxic Damage to the Optic Nerve. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1998; 95:10229-10234.
19. MATUTE, C.; ALBERDI, E.; DOMERCQ, M.; PEREZ CERDA, F.; PEREZ SAMARTIN, A. and SANCHEZ GOMEZ, M.V. The Link between Excitotoxic Oligodendroglial Death and Demyelinating Diseases. *Trends in Neurosciences* 2001; 24:224-230.
20. PETTY, M.A. and WETTSTEIN, J.G. White Matter Ischaemia. *Brain Research Reviews* 1999; 31:58-64.
21. KANELLOPOULOS, G.K.;XU, X.M.;HSU, C.Y.;LU, X.;SUNDT, T.M. and KOUCHOUKOS, N.T. White Matter Injury in Spinal Cord Ischemia: Protection by Ampa/Kainate Glutamate Receptor Antagonism. *Stroke* 2000; 31:1945-1952.
22. RAFF, M.C.;WHITMORE, A.V. and FINN, J.T. Axonal Self-Destruction and Neurodegeneration. *Science* 2002; 296:868-871.
23. DE SOUZA, R.D. Degradação da substância branca após isquemia focal no estriado de ratos adultos. Dissertação de Mestrado 2006. Universidade Federal do Pará, Departamento de Morfologia. CCB.
24. COSTA, A.M.R. Lesão axonal e Alterações Progressivas na Bainha de Mielina após Lesão Isquêmica Focal no Córtex Motor de Ratos Adultos. Dissertação de Mestrado 2006. Universidade Federal do Pará, Departamento de Morfologia, CCB.
25. LIMA, R.R. lesão axonal e Resposta Inflamatória Aguda após Lesão excitotóxica do Estriado. Dissertação de Mestrado 2006. Universidade Federal do Pará. Departamento de Morfologia, CCB.
26. LI, S.;MEALING, G.A.;MORLEY, P. and STYS, P.K. Novel Injury Mechanism in Anoxia and Trauma of Spinal Cord White Matter: Glutamate Release Via Reverse Na<sup>+</sup>-Dependent Glutamate Transport. *Journal of Neuroscience* 1999; 19:RC16.
27. LI, S. and STYS, P.K. Mechanisms of Ionotropic Glutamate Receptor-Mediated Excitotoxicity in Isolated Spinal Cord White Matter. *Journal of Neuroscience* 2000; 20:1190-1198.

28. LI, S.;JIANG, Q. and STYS, P.K. Important Role of Reverse Na(+)-Ca(2+) Exchange in Spinal Cord White Matter Injury at Physiological Temperature. *Journal of Neurophysiology* 2000; 84:1116-1119,
29. FERGUSON, B.;MATYSZAK, M.K.;ESIRI, M.M. and PERRY, V.H. Axonal Damage in Acute Multiple Sclerosis Lesions. *Brain* 1997; 120:393-399.
30. TRAPP, B.D.;PETERSON, J.;RANSOHOFF, R.M.;RUDICK, R.;MORK, S. and BO, L. Axonal Transection in the Lesions of Multiple Sclerosis. *New England Journal of Medicine* 1998; 338:278-285.
31. TRAPP, B.D.;BO, L.;MORK, S. and CHANG, A. Pathogenesis of Tissue Injury in Ms Lesions. *Journal of Neuroimmunology* 1999; 98:49-56.
32. TRAPP, B.D.;RANSOHOFF, R. and RUDICK, R. Axonal Pathology in Multiple Sclerosis: Relationship to Neurologic Disability. *Current Opinion in Neurology* 1999; 12:295-302.
33. BITSCH, A.;SCHUCHARDT, J.;BUNKOWSKI, S.;KUHLMANN, T. and BRUCK, W. Acute Axonal Injury in Multiple Sclerosis. Correlation with Demyelination and Inflammation. *Brain* 2000; 123:1174-1183.
34. GENTLEMAN, S.M.;NASH, M.J.;SWEETING, C.J.;GRAHAM, D.I. and ROBERTS, G.W. Beta-Amyloid Precursor Protein (Beta App) as a Marker for Axonal Injury after Head Injury. *Neuroscience Letters* 1993; 160:139-144.

**Endereço para correspondência:**

Rafael Rodrigues Lima

Conjunto Panorama XXI Quadra 31 Casa 17

Nova Marambaia CEP66625-010 Belém – Pará – Brasil

Tel: (91) 8137-0833 e-mail: [rafalima@ufpa.br](mailto:rafalima@ufpa.br)