

DEGENERAÇÃO NEURONAL SECUNDÁRIA E EXCITOTOXICIDADE

SECONDARY NEURODEGENERATION AND EXCITOTOXICITY

Rafael Rodrigues LIMA², Ana Maria Rabelo COSTA³, Renata Duarte DE SOUZA⁴ e Wallace GOMES-LEAL⁵

RESUMO

Objetivo: caracterizar os principais eventos correlatos entre degeneração neuronal secundária e excitotoxicidade em doenças neurodegenerativas. **Método:** revisão de literatura através de pesquisa bibliográfica na base de dados PUBMED/MEDLINE. **Considerações Finais:** o dano tecidual proveniente de lesões isquêmicas ou traumáticas no sistema nervoso central não se restringe somente à lesão primária propriamente dita, mas também, e em grande intensidade do processo de degeneração neuronal secundária desencadeada, seja pela resposta inflamatória ou através de cascatas destrutivas ativadas durante a excitotoxicidade mediada por glutamato. O melhor entendimento molecular desse processo torna-se necessário para um bloqueio seletivo desses eventos patológicos, minimizando os efeitos colaterais, o que permitirá a elaboração de abordagens terapêuticas neuroprotetoras eficazes.

DESCRITORES: neurodegeneração, excitotoxicidade, glutamato, morte celular.

INTRODUÇÃO

Na Europa e América do Norte, distúrbios neurodegenerativos agudos, incluindo acidentes vasculares e lesões traumáticas no cérebro e medula espinhal, constituem umas das causas mais comuns de morte, só perdendo para o câncer e doenças cardiovasculares¹. A mortalidade desses indivíduos, após o primeiro acidente vascular, é maior em cerca de 20%, e com grande parte dos indivíduos afetados permanecendo com algum tipo de seqüela e dependente de alguma espécie de assistência

social, o que implica em altos custos econômicos. Os traumas cranioencefálicos correspondem a mais de 85% de todos os casos fatais de lesão da cabeça com lesão isquêmica do encéfalo como consequência².

Nos Estados Unidos, cerca de 2.000.000 de pessoas procuram o sistema de saúde anualmente com algum tipo de lesão na cabeça, 75.000 das quais se configuram em casos fatais com um número semelhante de pessoas com déficit funcional permanente¹. Ainda nos EUA, acidentes com veículos automotores são a principal

Recebido em 16.10.2006 - Aprovado em 31.01.2007

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

2 - Mestre em Neurociências e Biologia Celular (UFPA)
Discente do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da UFPA
Doutorando em Neurociências e Biologia Celular (UFPA)

3 - Farmacêutica-Bioquímica
Mestre em Neurociências e Biologia Celular (UFPA)

4 - Fisioterapeuta e Cirurgiã-Dentista.
Mestre em Neurociências e Biologia Celular (UFPA)

5 - Biomédico. Mestre e Doutor em Neurociências (Neuropatologia Experimental - Doutorado sanduiche Universidade de Southampton, UK).
Professor Adjunto e Chefe do Laboratório de Neuroproteção e Neuroregeneração Experimental do Departamento de Morfologia, CCB-UFPA.

causa de morte entre pessoas com idades abaixo de 35 anos, 70% das quais estão relacionados a traumatismos cerebrais^{3,4}.

As lesões traumáticas do encéfalo, entretanto, são comuns em uma variedade de outras situações que não envolvem apenas os acidentes com veículos automotores (57% dos casos), como: quedas (21%), acidentes com armas de fogo (14%), assaltos (12%) e acidentes associados com esportes e recreação (10%). No Reino Unido, de cada 300.000 famílias, uma possui um membro com déficit funcional permanente devido a traumatismo craniano¹.

No Brasil, os dados epidemiológicos sobre este assunto ainda são bastante limitados. No entanto, sabe-se que as doenças cérebro-vasculares constituem uma das causas maiores de morte no país. Na cidade de Joinville, estudos de estatística multivariada, relataram que a incidência anual de acidentes vasculares nesta região é em torno de 156/100.000 habitantes, enquanto que a mortalidade anual é de aproximadamente 25/100.000 habitantes e a taxa de mortalidade para um período de 30 dias destes pacientes foi de 26%. De acordo com os parâmetros analisados neste estudo, os maiores fatores de risco associados a esses índices de morbidade e mortalidade estiveram ligados à hipertensão, à acidentes vasculares anteriores e diabetes⁵.

OBJETIVO

Revisar as principais evidências experimentais que sugerem que mecanismos excitotóxicos são componentes importantes da fisiopatologia da degeneração neuronal secundária que ocorre durante doenças neurodegenerativas.

MÉTODO

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

REVISÃO DA LITERATURA

Considerando-se a alta incidência de condições neuropatológicas agudas em diversos países do mundo, incluindo o Brasil, pesquisas sobre os mecanismos patológicos subjacentes a essas doenças são de extrema importância para a perspectiva de novas abordagens terapêuticas. Atualmente, inúmeros modelos experimentais de doenças neurodegenerativas agudas foram desenvolvidos e a fisiopatologia dessas doenças está sendo

investigada^{1,6}. No entanto, considerando-se a diversidade dos possíveis mecanismos patológicos envolvidos após trauma cerebral e/ou acidentes vasculares, há muito ainda por ser feito. Entre os possíveis fatores responsáveis pela morte neuronal em condições patológicas agudas, mecanismos excitotóxicos e inflamatórios continuam sendo conceitos centrais na fisiopatologia desses distúrbios patológicos e alvos em potencial para intervenção terapêutica^{1,6,7,8}.

Mecanismos de degeneração neuronal secundária

Sob a denominação de degeneração neuronal secundária reúne-se um grupo de eventos destrutivos que podem afetar células que não foram ou que foram apenas marginalmente afetadas pela lesão inicial^{9,10}. No SNC, os neurônios e seus axônios que não foram ou que foram apenas parcialmente afetados pela lesão primária, podem degenerar, tardiamente, se não forem salvos por intervenção terapêutica. Em doenças neurodegenerativas agudas do SNC, uma lesão primária na SC pode se alastrar e comprometer a SB, ou vice-versa, induzindo lesão axonal e deste modo aumentando de forma significativa o déficit funcional.

Os mecanismos de degeneração neuronal secundária não estão totalmente estabelecidos, mas acredita-se que inúmeros fatores podem estar envolvidos, como a inflamação e neurotoxicidade mediada por glutamato⁹.

Os fenômenos de degeneração secundária, além dos mecanismos inflamatórios e da neurotoxicidade mediada por glutamato, podem estar, também, associados a outros mecanismos como isquemia pós-traumática, desequilíbrio iônico, metabólitos, radicais livres e outros neurotransmissores (ácido gama amino butírico – GABA, opióides, serotonina) que parecem, em determinadas situações experimentais, contribuir para a morte neuronal.

Algumas evidências sugerem que a isquemia pode ser uma consequência de lesões vasculares precoces após trauma da medula espinhal^{9,11,12,13} principalmente através da diminuição do fluxo sanguíneo com perfusão insuficiente de oxigênio (hipóxia) para o tecido e subsequente comprometimento metabólico, os quais são achados comuns em casos de trauma cerebral e medular¹¹.

Esses eventos patológicos podem levar à degeneração neuronal, estresse oxidativo, excitotoxicidade ou desequilíbrio iônico¹⁴. Tratamentos que são eficazes para diminuir a área de lesão isquêmica em animais de experimentação, também, reduzem a área de lesão induzida por trauma^{15,16,17,18,19}. Por outro lado, existe uma

possibilidade de que a isquemia pós-traumática seja apenas um fator pouco importante para a gênese de degeneração neuronal secundária, de modo que axônios de pequeno calibre são freqüentemente preservados e axônios de grosso calibre mais afetados²⁰.

Excitotoxicidade em doenças neurodegenerativas agudas

O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do SNC de vertebrados²¹. Este fato é conhecido desde a década de 70, quando se descobriu que esse aminoácido excitatório agia em três tipos principais de receptores ionotrópicos pós-sinápticos nas membranas das células: N-metil-D-aspartato (NMDA), Kainato e α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propionato (AMPA). Além disso, foi posteriormente estabelecido que o glutamato, também, se ligava a receptores metabotrópicos – um tipo de receptor acoplado a um sistema envolvendo a participação de proteínas G, que funciona através da liberação de segundos mensageiros, os quais ativam canais iônicos presentes na membrana²².

Neurônios glutamatérgicos perfazem cerca de 80% da população total de neurônios do córtex cerebral²³, de modo que o referido aminoácido deve possuir um papel importante na fisiologia do SNC. As concentrações de glutamato, tanto no meio extracelular como na fenda sináptica, são estritamente controladas por mecanismos envolvendo enzimas e transportadores de glutamato em neurônios e células gliais²⁴. Em algumas condições patológicas, tais como estado de mal epiléptico, isquemia, e lesão traumática do cérebro e medula espinhal, esses mecanismos são ineficazes em manter as concentrações fisiológicas de glutamato no tecido neural e o nível deste neurotransmissor pode elevar-se várias vezes àqueles de condições de homeostase tecidual, levando à morte celular por excitotoxicidade, principalmente, durante o processo de degeneração secundária^{25,26,27,28}.

Excitotoxicidade foi o termo originalmente usado por Olney²⁹ (1990) para se referir à habilidade do glutamato ou outros aminoácidos excitatórios em mediar a morte de neurônios do SNC. Entretanto, os diferentes subtipos de receptores para o glutamato não participam igualmente na excitotoxicidade, com os receptores NMDA sendo ativados mais rapidamente durante a morte neuronal do que os receptores AMPA e Kainato²⁵.

Experimentos realizados com antagonistas mostraram que a morte neuronal associada com a exposição intensa ao glutamato requer a ativação de receptores do tipo NMDA^{25,26}. A lesão neuronal mediada

por receptores de glutamato ocorre em dois padrões: excitotoxicidade rápida, induzida pela intensa estimulação de um amplo número de receptores do tipo NMDA e lentamente, induzida pela prolongada estimulação de receptores AMPA e Kainato²⁶.

Quando os níveis de glutamato atingem valores elevados, neurônios respondem a esse neurotransmissor em duas etapas: primeiramente, após alguns minutos de exposição, eles despolarizam-se, na dependência da presença de Na^+ e Cl^- , refletindo o influxo de Na^+ , acompanhado passivamente pelo influxo de Cl^- e água, resultando no aumento do volume celular, porém não sendo um evento letal, pois a maioria das células recupera seu volume homeostático e sobrevive; secundariamente, após algumas horas de exposição, a neurotoxicidade do glutamato leva a desintegração neuronal tardia, mediada pelo influxo excessivo de Ca^{2+} ²⁶. A dependência de Ca^{2+} extracelular e ativação de receptores NMDA apóiam a hipótese que a excitotoxicidade tardia é mediada pelo influxo de Ca^{2+} ²⁶.

A hipótese da neurotoxicidade glutamatérgica mediada por Ca^{2+} pode ser sistematizada em 3 estágios: indução, amplificação e expressão²⁶. Neste esquema proposto por Choi (1992)²⁶, este cátion atua como mediador da injúria neuronal tanto na excitotoxicidade imediata quanto tardia, pela sua movimentação anormal no ambiente citoplasmático, proveniente tanto do meio extracelular como de estoques intracelulares. Como resultado dessa movimentação, a concentração de Ca^{2+} torna-se elevada, levando à degeneração e morte neuronal.

A fase de indução, nesta hipótese, é representada pela ativação de receptores neuronais por glutamato, aumentando os níveis citoplasmáticos de Ca^{2+} , Na^+ , Cl^- , água, IP3 e diacilglicerol, atuantes em eventos posteriores. A amplificação por sua vez, caracteriza-se por acentuar as alterações iônicas, em especial os níveis de Ca^{2+} , incluindo agora os armazenados intracelularmente, além da ativação de certas famílias de enzimas como cinase-C, enzimas reguladas por calmodulinas, calpaínas e fosfolipases. E por último, a fase de expressão se iniciaria a partir do momento que os níveis elevados de Ca^{2+} disparam uma gama de cascatas destrutivas, atuantes tanto na excitotoxicidade imediata quanto tardia, onde os níveis elevados de Ca^{2+} podem ativar a protease neutra calpaína, resultando na degradação de proteínas neuronais estruturais; ativar fosfolipases capazes de promover a lise da membrana celular e liberar ácido araquidônico e endonucleases; e a liberação de radicais livres do oxigênio, as quais promovem a peroxidação de lipídios.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em lesões do sistema nervoso central, sejam elas isquêmicas ou traumáticas, o dano tecidual é proveniente não somente da lesão propriamente dita, mas, também, e em grande intensidade, do processo de degeneração

neuronal secundária desencadeada, seja pela resposta inflamatória ou através de cascatas destrutivas ativadas durante a excitotoxicidade mediada por glutamato. O melhor entendimento molecular desse processo torna-se necessário e urgente para a elaboração de abordagens terapêuticas neuroprotetoras e neuroregeneradoras eficazes.

SUMMARY

SECONDARY NEURODEGENERATION AND EXCITOTOXICITY - LITERATURE REVIEW

Rafael Rodrigues LIMA, Ana Maria Rabelo COSTA, Renata Duarte DE SOUZA e Wallace GOMES-LEAL

Objective: Review the main experimental evidences for a role of excitotoxic events on the pathophysiology of neurodegenerative diseases. **Methods:** Literature review through bibliographical search in the databases PUBMED/MEDLINE. **Final considerations:** The tissue damage occurring following ischemic and/or traumatic injuries in the central system nervous is not due the primary pathological events, but also, and more importantly, to the secondary neurodegeneration involving excitotoxicity, inflammation, oxidative stress, apoptosis. The understanding of the molecular mechanisms of these events is necessary for the more effective development of neuroprotective and neuroregenerative therapies for CNS diseases.

KEY WORDS: neurodegeneration, excitotoxicity, glutamate, cell death.

REFERÊNCIAS

1. 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.
2. GRAHAM, D.I.; ADAMS, J.H.; NICOLL, J.A.; MAXWELL, W.L. and GENNARELLI, T.A. The Nature, Distribution and Causes of Traumatic Brain Injury. *Brain Pathology* 1995; 5:397-406.
3. DIAMOND, P.T. Brain Injury in the Commonwealth of Virginia: An Analysis of Central Registry Data, 1988-1993. *Brain Injury* 1996; 10:413-419.
4. KONG, L.B.; LEKAWA, M.; NAVARRO, R.A.; MCGRATH, J.; COHEN, M.; MARGULIES, D.R. and HIATT, J.R. Pedestrian-Motor Vehicle Trauma: An Analysis of Injury Profiles by Age. *Journal of the American College of Surgeons* 1996; 182:17-23.
5. CABRAL, N.L., LONGO, A.L., MORO, C.H., AMARAL, C.H. and KISS, H.C. Epidemiology of Cerebrovascular Disease in Joinville, Brazil. An Institutional Study. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria* 1997; 55:357-363.
6. LO, W.D.; CHEN, R.; BOUE, D.R. and STOKES, B.T. Effect of Neutrophil Depletion in Acute Cerebritis. *Brain Research* 1998, 802:175-183.
7. CHOI, D. Antagonizing Excitotoxicity: A Therapeutic Strategy for Stroke? *Mount Sinai Journal of Medicine* 1998; 65:133-138.
8. STYS, P.K. General Mechanisms of Axonal Damage and Its Prevention. *Journal of Neurological Sciences* (in press) 2006.
9. TATOR, C.H. and FEHLINGS, M.G. Review of the Secondary Injury Theory of Acute Spinal Cord Trauma with Emphasis on Vascular Mechanisms. *Journal of Neurosurgery* 1991; 75:15-26.
10. YAMAURA, I.; YONE, K.; NAKAHARA, S.; NAGAMINE, T.; BABA, H.; UCHIDA, K. and KOMIYA, S. Mechanism of Destructive Pathologic Changes in the Spinal Cord under Chronic Mechanical Compression. *Spine* 2002; 27:21-26.
11. SCHWAB, M.E. and BARTHOLDI, D. Degeneration and Regeneration of Axons in the Lesioned Spinal Cord. *Physiology Review* 1996; 76:319-370.
12. TATOR, C.H. and KOYANAGI, I. Vascular Mechanisms in the Pathophysiology of Human Spinal Cord Injury. *Journal of Neurosurgery* 1997; 86:483-492.
13. LANG-LAZDUNSKI, L.; MATSUSHITA, K.; HIRT, L.; WAEBER, C.; VONSATTEL, J.P.; MOSKOWITZ, M.A. and DIETRICH, W.D. Spinal Cord Ischemia. Development of a Model in the Mouse. *Stroke* 2000; 31:208-213.
14. ALLIX, J.J. Recent Biochemical Advances In White Matter Ischaemia. *European Neurology* 2006; 56:74-7.
15. FADEN, A.I.; TAKEMORI, A.E. and PORTOGHESE, P.S. Kappa-Selective Opiate Antagonist nor-Binaltorphimine Improves Outcome after Traumatic Spinal Cord Injury in Rats. *Central Nervous System Trauma : Journal of the American Paralysis Association* 1987;4:227-237.

16. FADEN, A.I.; LEMKE, M.; SIMON, R.P. and NOBLE, L.J. N-Methyl-D-Aspartate Antagonist Mk801 Improves Outcome Following Traumatic Spinal Cord Injury in Rats: Behavioral, Anatomic, and Neurochemical Studies. *Journal of Neurotrauma* 1988; 5:33-45.
17. 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.
18. FADEN, A.I. Experimental Neurobiology of Central Nervous System Trauma. *Critical Reviews in Neurobiology* 1993; 7:175-186.
19. FADEN, A.I. Pharmacological Treatment of Central Nervous System Trauma. *Pharmacology & Toxicology* 1996; 78:12-17.
20. 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.
21. MELDRUM, B.S. Glutamate as a Neurotransmitter in the Brain: Review of Physiology and Pathology. *Journal of Nutrition* 2000; 130:1007S-1015S.
22. CONN, P.J. and PIN, J.P. Pharmacology and Functions of Metabotropic Glutamate Receptors. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 1997; 37:205-237.
23. SOMOGYI, P.; TAMAS, G.; LUJAN, R. and BUHL, E.H. Salient Features of Synaptic Organisation in the Cerebral Cortex. *Brain Research Reviews* 1998; 26:113-135.
24. DANBOLT, N.C. Glutamate Uptake. *Progress in Neurobiology* 2001; 65:1-105.
25. CHOI, D.W. Glutamate Neurotoxicity and Diseases of the Nervous System. *Neuron* 1988; 1:623-634.
26. CHOI, D.W. Excitotoxic Cell Death. *Journal of Neurobiology* 1992; 23:1261-1276.
27. CHOI, D.W. Glutamate Receptors and the Induction of Excitotoxic Neuronal Death. *Progress in Brain Research* 1994; 100: 47-51.
28. FERRAGUTI, F. and SHIGEMOTO, R. Metabotropic Glutamate Receptors. *Cell Tissue Research* 2006; 326:483-504.
- OLNEY, J.W. Excitotoxicity: An Overview. *Canada Diseases Weekly Report* 1990, 16 Suppl 1E:47-57; discussion 57-48.

Endereço para correspondência

Rafael Lima

Conjunto Panorama XXI Quadra 31 Casa 17

Nova Marambaia CEP 66625-010 Belém – Pará – Brasil

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