

Revisão**O processo de degeneração walleriana e os eventos moleculares nele envolvidos - uma revisão com enfoque no sistema nervoso periférico*****Wallerian degeneration and the molecular events involved in it - a review focused in the peripheral nervous system***

Solange Canavarro Ferreira^a, Ana Maria Blanco Martinez^b

.....

^aHospital de Força Aérea do Galeão, ^bLaboratório de Neurohistologia e Ultraestrutura - Departamento de Histologia e Embriologia do Instituto de Ciências Biomédicas da UFRJ.

Resumo

A descoberta do fenômeno de degeneração Walleriana por Augustus Waller em 1850 foi de tal forma determinante para os conceitos da neurociência então vigentes que tornou-se a base de muitas outras descobertas no campo da neurobiologia. O conhecimento dos eventos moleculares envolvidos no processo de degeneração walleriana pode ajudar na compreensão do fenômeno em si, do prognóstico das mais diversas lesões do sistema nervoso periférico e por fim, pode dar pistas para a interrupção do processo propriamente dito. Esta revisão tem o objetivo de discorrer sobre a seqüência de eventos envolvidos neste processo, a fim de dar auxílio ao fisioterapeuta que se vê diante de uma lesão do sistema nervoso periférico para que saiba o que esperar em termos prognósticos.

Palavras-chave:

degeneração Walleriana, sistema nervoso periférico, neuropatias periféricas.

Abstract

When Augustus Waller described the Wallerian degeneration phenomenon in 1850, this was such a remarkable discovery that it changed dramatically neuroscience concepts then. This way, it became the basis for several other discoveries in the neurobiology field. The knowledge about molecular events that underlie Wallerian degeneration can help understanding the phenomenon itself, the prognosis of different peripheral nervous system diseases and finally, can give cues to the interruption of the process. This review aims to describe the sequence of events involved in the process in order to help physical therapists dealing with peripheral neuropathies to know what to wait in prognostic terms.

Key-words:

Wallerian degeneration, peripheral nervous system, peripheral neuropathies.

Endereço para correspondência: Solange Cavarro Ferreira, Universidade Estácio de Sá, Av. Pres Vargas 642, 22º andar, Tel 206-9750, E-mail: csolange@uninet.com.br

Quando Augustus Waller observou pela primeira vez em 1850 a degeneração do segmento distal de um nervo periférico seccionado acompanhado da sobrevivência do seu segmento proximal (degeneração walleriana), não imaginava o quanto esta descoberta transformaria os conceitos de neurobiologia então vigentes.

A degeneração walleriana é o evento celular com o qual culminam grande parte das patologias do sistema nervoso. O estudo dos estágios iniciais desta degeneração tem sido realizado de forma exaustiva por diversos pesquisadores a fim de determinar os eventos moleculares críticos neste processo e por conseguinte tentar interrompê-lo.

Cabe ao fisioterapeuta ter a real compreensão dos eventos que determinam esta entidade patológica a fim de analisar de maneira consistente seu verdadeiro papel no processo terapêutico.

Para a melhor compreensão deste processo, este artigo iniciará por discorrer sobre a fibra nervosa normal e em seguida sobre os eventos moleculares subseqüentes a uma lesão.

O axônio normal

Os nervos espinhais são formados por conjuntos de axônios que emergem do corno anterior da medula espinhal (motores) e do gânglio da raiz dorsal (sensitivos), onde estão seus corpos celulares. O axônio é a região do neurônio responsável pela condução do estímulo nervoso tanto no sentido centrípeto (inputs sensoriais) quanto no sentido centrífugo (outputs motores). Os conjuntos de axônios são envoltos por membranas conjuntivas que circundam todo o nervo (epineuro), feixes de fibras (perineuro) e cada fibra individualmente (endoneuro). As bainhas conjuntivas são essenciais para a proteção da fibra nervosa e estão orientadas de forma a limitar o estiramento mecânico do nervo tanto por movimentos do corpo, como por forças externas aplicadas [1]. Sua integridade é importante também nos processos de regeneração nervosa.

Acompanhando os axônios do sistema nervoso periférico, estão as células de Schwann, que ao longo do desenvolvimento, elegem axônios de maior calibre e se enrolam ao seu

redor formando a bainha de mielina. À reunião de um axônio com uma célula de Schwann formadora de mielina dá-se o nome de fibra mielínica. Grupos de axônios de menor calibre são envolvidos por células de Schwann que, neste caso não irão formar mielina, constituindo as chamadas fibras amielínicas. As relações espaciais estabelecidas entre a mielina e a membrana do axônio ao longo do seu eixo dividem o axônio em três regiões básicas, a saber:

- 1 nodo – região do axônio desprovida de mielina.
- 1 paranodo – região onde ocorre o contato entre as alças terminais de mielina e a membrana do axônio
- 1 internodo – região mielinizada do axônio.

Cabe ressaltar que o axônio nunca está totalmente descoberto, pois mesmo na região nodal onde não há presença de mielina, processos citoplasmáticos da célula de Schwann separam a membrana nodal do meio externo. A mielina é um componente morfo-funcional importante pois está diretamente relacionada à velocidade de condução do nervo [2-4]; axônios mais calibrosos conduzem mais rápido e, por sua vez, o calibre do axônio é diretamente proporcional à espessura da bainha de mielina.

Hipoteticamente, um axônio de 10 mm teria uma bainha de mielina de aproximadamente 140 lamelas de 18 nm de espessura cada. Desenrolada, esta mielina mediria cerca de 5500 mm [5].

Os axônios são inteiramente dependentes dos seus corpos celulares para sobreviver; pois não possuem uma maquinaria própria para síntese de proteínas. Eles são constituídos de axolema e axoplasma. Quando envolvidos individualmente por células de Schwann formadoras de mielina, são chamados de fibras mielínicas e quando envolvidos em grupos, ou mesmo individualmente por células de Schwann não formadoras de mielina, são conhecidos como fibras amielínicas.

Axolema: É a membrana celular do neurônio. As possíveis interações entre o axônio e sua célula de Schwann tais como controle da produção de mielina e agrupamento de canais iônicos em certas regiões da membrana do axônio (Ex: canais de sódio no

axolema nodal) ocorrem via axolema [6]. Este é constituído de várias proteínas integrais e periféricas tais como proteínas de canais, enzimas e moléculas de adesão além de fosfolipídios. Estas proteínas de membrana estão distribuídas ao longo de todo axolema mas concentram-se nas regiões nodal e paranodal.

Axoplasma: É o citoplasma do axônio, sendo constituído por citosol, organelas e inclusões axoplasmáticas. Apresenta organelas citoplasmáticas comuns a todos os tipos celulares à exceção de retículo endoplasmático granular, ribosomas livres e complexo de Golgi que estão presentes apenas no corpo celular, nos dendritos e no cone de implantação do neurônio. A ausência do retículo endoplasmático granular, torna o axônio incompetente para a síntese de proteínas indispensável à sua sobrevivência. As proteínas e organelas produzidas no corpo celular se locomovem ao longo do eixo do axônio através de um complexo sistema de transporte mediado por componentes do citoesqueleto.

Das estruturas axoplasmáticas, a mais conspícua é o citoesqueleto, afinal ele determina o calibre, o padrão de crescimento, estabiliza o axolema e promove a maquinaria básica necessária ao transporte axoplasmático tanto anterógrado (do corpo celular para a periferia) quanto retrógrado (da periferia para o corpo celular). Ele é formado de microtúbulos (25 nm de espessura), neurofilamentos (10 nm de espessura) e microfilamentos de actina (4 a 6 nm de espessura).

A célula de Schwann: As células de Schwann acompanham todas as fibras nervosas periféricas formando mielina nas mais calibrosas. Por esta razão, são divididas em: mielinizantes e não mielinizantes. Juntamente com as células satélites dos gânglios nervosos, são conhecidas como glia periférica. O axônio, uma vez em contato com a célula de Schwann é chamado de fibra. As células de Schwann não formadoras de mielina se estendem ao longo de grupos de axônios (em média de 5 a 20, podendo porém, ser na proporção de 1:1) de tal forma que cada axônio é separado do outro por um sulco longitudinal desta célula embainhadora. Estas fibras são conhecidas como amielínicas.

Nas fibras mielínicas, um único axônio é envolvido a cada internodo por uma célula de Schwann que enrola-se ao seu redor formando lamelas concêntricas. A mielinização começa uma vez que o axônio (destinado a ser de grande calibre), tenha atingido um diâmetro de 1 a 2 mm [3]. A célula de Schwann envolve o axônio e seus processos se enrolam em torno dele aproximando as duas faces da membrana plasmática de forma que pouco ou nenhum citoplasma permaneça entre elas; a isto chama-se compactação do citoplasma. A cada volta que estes processos dão em torno do axônio (podem ser até 140 nos mais calibrosos), forma-se uma lamela concêntrica. Na realidade, as lamelas nada mais são que vários pares de membranas plasmáticas enroladas em espiral. O processo de mielinização se completa após o nascimento até cerca de dois anos de idade em humanos e qualquer subsequente aumento no comprimento do axônio após o término da mielinização, ocorre às custas de aumento no comprimento dos internodos já existentes e não à adição de novos internodos [3]. Os axônios de maior diâmetro são os primeiros a receber mielina, conseqüentemente, terão internodos mais longos que os de menor diâmetro.

O processo de mielinização se completa após o nascimento até cerca de dois anos de idade em humanos e qualquer subsequente aumento no comprimento do axônio após o término da mielinização, ocorre às custas de aumento no comprimento dos internodos já existentes e não à adição de novos internodos [3]. Os axônios de maior diâmetro são os primeiros a receber mielina, conseqüentemente, terão internodos mais longos que os de menor diâmetro.

O processo de degeneração walleriana

Em 1850, foi observada pela primeira vez a degeneração do segmento distal de um nervo seccionado com a simultânea sobrevivência do segmento proximal. Este experimento foi realizado por Augustus Waller, um pesquisador inglês que com esta descoberta propiciou o suporte para diversas teorias como, por exemplo, a da síntese de proteínas no corpo celular e a do transporte axonal. A degeneração do coto distal do nervo seccionado dá-se então o nome

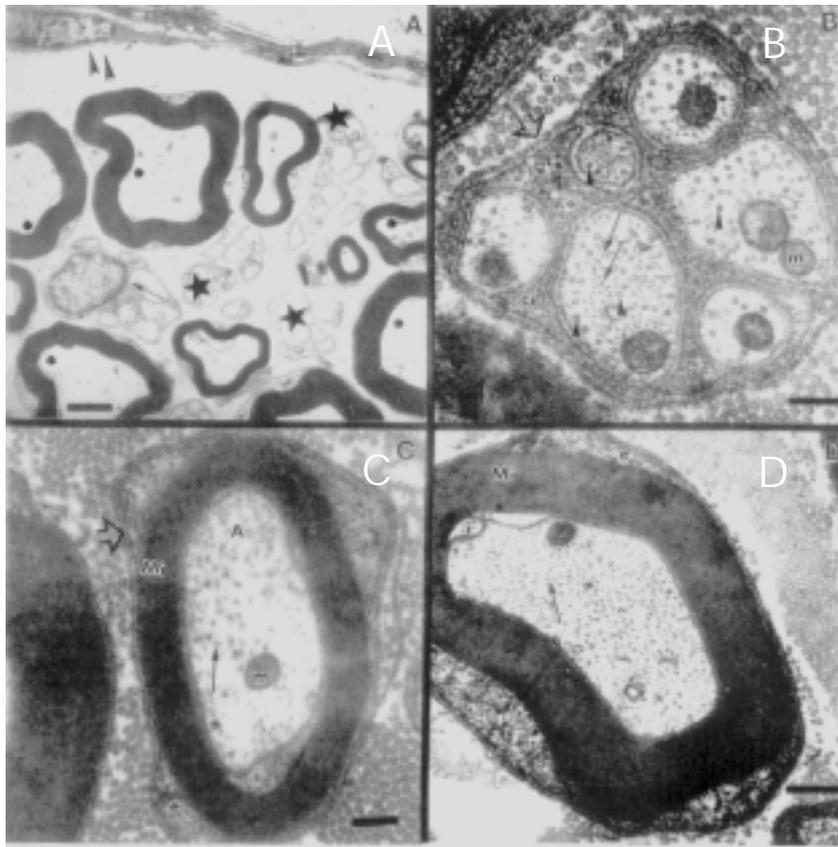


Fig. 1 - Microscopia eletrônica de transmissão convencional n. sural normal

Em (A) observamos um aspecto geral do fascículo nervoso em corte transversal delimitado pelo perineuro. Pode ser observada uma célula perineural (cabeças de seta). Notar as fibras amielínicas (estrela) e mielínicas (asterisco). A seta indica um núcleo de célula de Schwann não mielinizante. Barra: 1,7 mm. Em (B) pode ser visto um corte transversal de um feixe de fibras amielínicas com microtúbulos do citoesqueleto axonal (cabeças de setas). As setas indicam os neurofilamentos; m- perfil mitocondrial; ci- citoplasma da célula de Schwann; Co- fibrilas de colágeno do endoneuro. Barra: 0,25 mm. Em (C) e (D) fibras mielínicas cortadas transversalmente exibindo o aspecto uniforme de seu citoesqueleto axonal (setas). Nestas fibras podem ser vistos o mesaxônio interno (i) e o mesaxônio externo (e). As setas vazadas em (B) e (C) indicam a lâmina basal da célula de Schwann. A- axoplasma; Mi- mielina; m- perfil mitocondrial. Fig. C - Barra: 0,25 mm.; Fig. D - Barra: 0,6 mm.

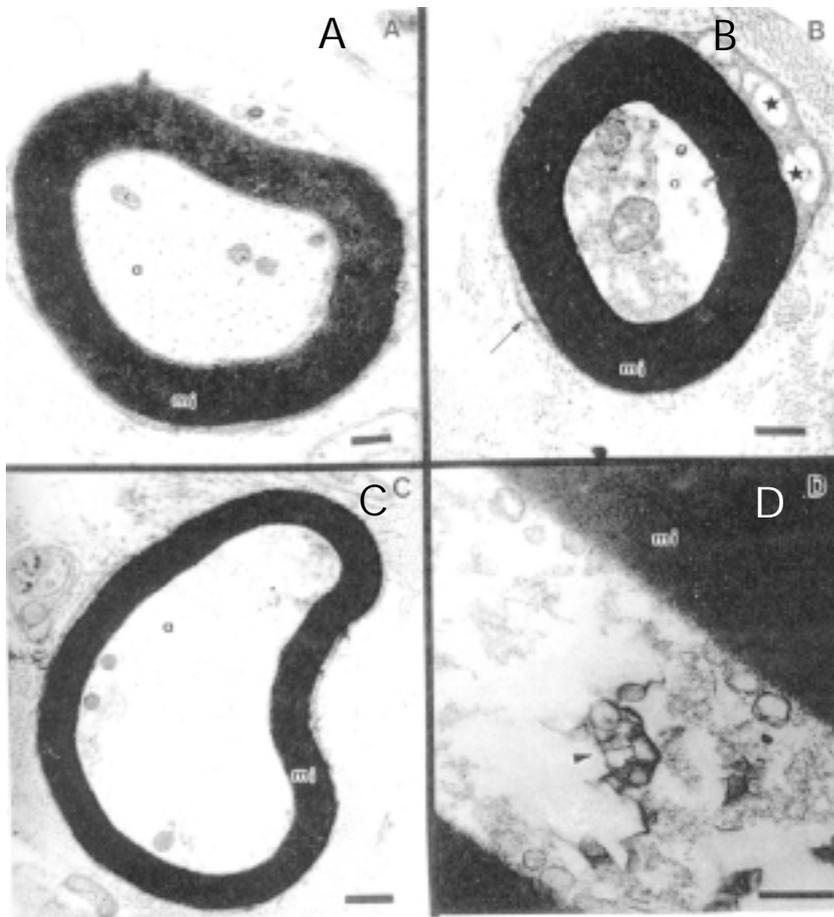


Fig. 2 - Microscopia eletrônica de transmissão convencional n. sural degenerado.

Células em diversos estágios de desintegração do citoesqueleto axonal em presença de uma mielina aparentemente íntegra (mi). Em (A), desintegração incipiente do citoesqueleto axonal, em (B) esvaziamento parcial do conteúdo axoplasmático com aparente acúmulo de organelas; a lâmina basal no entanto, mantém sua integridade (seta). A figura (C) nos mostra um esvaziamento quase completo do conteúdo axoplasmático e em (D) pode ser visto ao corte longitudinal, presença de material floccular no citoplasma axonal. Os asteriscos mostram perfis mitocondriais intumescidos e as estrelas mostram cisternas do retículo endoplasmático granular dilatadas no citoplasma da célula de Schwann. (A), (B) e (C) = corte transversal; (D) = corte longitudinal. Barras de calibração: (A) e (D) - 0,4 mm; (B) e (C) - 0,6 mm.

de degeneração walleriana. O modelo de Waller foi a secção transversal, o que é relativamente pouco comum na prática clínica. No entanto, desordens de evolução lenta, inflamatórias, isquêmicas, compressivas, tóxicas ou metabólicas compartilham algumas características com a degeneração walleriana clássica e são por isso chamadas *Walleriana-símile*.

A degeneração walleriana compreende uma série de eventos que se dividem basicamente em:

- Alterações no citoesqueleto;
- Alterações nas células de Schwann e na bainha de mielina;
- Alterações nas barreiras hemato-nervosas;
- Respostas dos macrófagos.

Diversos pesquisadores estudaram a possibilidade de haver um padrão espaço-temporal para a degeneração walleriana, ou seja, se as alterações começam de forma centrípeta ou centrífuga em relação ao local da lesão. No entanto, muitos autores chegaram a resultados indicativos de que a degeneração ocorre de forma simultânea ao longo do axônio [7, 8]. Fibras mielínicas maiores degeneram-se ao mesmo tempo em que as menores [9]. Axônios do sistema nervoso central sobrevivem por mais tempo que os do sistema nervoso periférico [10].

Poucas horas após a lesão, a maior parte do coto distal aparenta estar normal exceto pela região imediatamente distal à lesão (zona de trauma), a qual apresenta acúmulo de organelas. Este acúmulo se deve ao material transportado retrógradamente. Outra alteração precoce na zona de trauma é o edema endoneural refletindo quebra na barreira hemato-nervosa. No restante do coto distal, as alterações são sutis com uma tendência a acúmulo de organelas sob os nodos de Ranvier e incisuras de Schmidt-Lanterman [11]. A condução do estímulo elétrico pode ainda ser elicitada no coto distal nesta fase. A duração deste estágio inicial varia entre as espécies (nos invertebrados a degeneração walleriana é mais lenta que nos mamíferos), depende do comprimento do coto distal (quanto maior, mais longa a sobrevida) e da temperatura (a sobrevida é maior em tecidos mais frios). A transmissão sináptica é interrompida precocemente, mesmo antes das primeiras alterações morfológicas detectáveis, devido à dege-

neração do terminal sináptico. O momento exato em que há esta falha, no entanto, é difícil precisar, já que depende de onde o nervo foi lesado, uma vez que quanto mais próxima do terminal for a lesão, mais rapidamente a transmissão sináptica será interrompida [12].

Após estas alterações preliminares, segue-se a desintegração granular do citoesqueleto axoplasmático, que segundo Malbouisson, Ghabriel e Allt [8] inicia-se em torno de 24 horas após a lesão, quando se observa uma minoria de fibras com desintegração do citoesqueleto axonal; 30 horas pós-lesão, é possível detectar comprometimento de aproximadamente 25% das fibras, sendo que as 75% restantes apresentam-se metade normais e a outra metade em processo inicial de desintegração. Quarenta e oito horas pós-lesão, foram evidenciadas raras fibras normais. A desintegração do citoesqueleto axonal constitui um processo ativo de destruição por proteólise enzimática possivelmente mediada por calpaínas, que são proteases ativadas por cálcio [13]. A entrada de cálcio no axoplasma parece ter um papel dramático na deflagração do processo de degeneração walleriana como foi demonstrado por diversos autores [14-16]. Em condições normais, a concentração intra-axonal de íons cálcio é muito baixa; em fibras amielínicas, sua distribuição é homogênea, mas nas mielínicas o cálcio parece confinado a domínios específicos (maior concentração no axoplasma nodal, menor sob as incisuras de Schmidt-Lanterman e nenhum cálcio associado ao axolema). Recentemente, foi demonstrado que em fases precoces de degeneração walleriana (30 horas após lesão) a precipitação de cálcio perde sua característica domínio-específica e este aparece associado a áreas de desintegração do citoesqueleto [17] o que definitivamente coloca o cálcio como protagonista deste processo. Após a instalação do processo de desintegração granular do citoesqueleto iniciam-se as respostas de células não neuronais à lesão, tendo como uma das primeiras, a quebra na barreira hemato-nervosa, que ocorre imediatamente após a desintegração do citoesqueleto, de 24 a 48 horas pós-lesão. A desintegração de um pequeno número de axônios já parece ser suficiente para a deflagração deste evento.

As células de Schwann respondem de forma intensa à lesão axonal. Paulatinamente, há uma ampliação dos nodos de Ranvier em virtude da retração da mielina paranodal [18]. As alças terminais de mielina se separam do axolema, se separam entre si e se vacuolizam. O citoplasma da célula de Schwann aumenta de volume próximo aos nodos e emite processos que se insinuam entre as alças terminais de mielina e o axolema e também entre as lamelas, levando a uma retração ainda maior da mielina [11]. As alterações axonais precedem as da mielina porém, algumas fibras já as apresentam 24 horas pós-lesão. Cerca de 18 horas após o início da desintegração do citoesqueleto (3º dia pós-lesão), as células de Schwann entram em divisão celular (fase proliferativa) e atingem o máximo em 4 dias. As células de Schwann resultantes das divisões celulares formam cadeias de células que se interdigitam formando as bandas de Büngner. Nas fibras amielínicas degeneradas, também ocorre mitose nas células de Schwann. O estímulo necessário à mitogênese das células de Schwann, no entanto, permanece obscuro, mas ocorre sincronicamente com a replicação das células endoneurais como por exemplo: fibroblastos, mastócitos e células endoteliais. A divisão celular das células de Schwann corresponde a importantes modificações na síntese protéica destas células, que incluem sub-regulação da maior parte das proteínas de mielina e associadas à mielina. Esta sub-regulação é dependente da perda axonal [19]. A síntese de fatores neurotróficos, como o *Nerve Growth Factor* - fator de crescimento neural (NGF) e do receptor de NGF entretanto, está aumentada. Cabe lembrar que estes receptores de NGF estão presentes durante fases precoces do desenvolvimento mas não estão presentes em fibras mielínicas adultas.

Os eventos celulares e moleculares envolvidos no processo de degeneração walleriana aparentemente visam proporcionar caminhos para que ocorra a regeneração. No sistema nervoso periférico, diferentemente do sistema nervoso central, isto muitas vezes é possível e acredita-se que o sucesso da regeneração após lesão do sistema nervoso periférico, se deva ao meio ambiente propício, especialmente à

presença das células de Schwann. A capacidade que as células de Schwann têm de induzir a regeneração axonal tem sido demonstrada experimentalmente por diversos pesquisadores. Vidal-Sanz *et al.* [20] fizeram um enxerto (de meio ambiente) de nervos periféricos num meio de sistema nervoso central e observaram que os enxertos induziram o crescimento de axônios adultos seccionados do sistema nervoso central, porém Berry *et al.* [21] demonstraram que a eficácia destes enxertos depende fundamentalmente da presença de células de Schwann vivas. Os enxertos de células de Schwann e seus efeitos são amplamente abordados em Raisman [22]. A capacidade do sistema nervoso periférico de se regenerar, em contraposição à incompetência do sistema nervoso central de realizar o mesmo nos fornece numerosas questões para pesquisa. O quê exatamente impede o alongamento dos axônios centrais na direção do seu alvo? Que mecanismos deflagram a seqüência de eventos da degeneração walleriana? Existe alguma forma de interromper este processo, uma vez deflagrado?

Os eventos moleculares envolvidos, juntamente com a análise do verdadeiro papel da célula de Schwann neste processo, podem nos fornecer pistas para responder a estas questões. Entretanto, é importante saber que este processo morfo-patológico é inexorável e que do ponto de vista fisioterapêutico até o momento não existe nada que vá interferir nesse processo. No entanto, uma vez mantidas as bainhas conjuntivas de forma a propiciar a regeneração, a fisioterapia agirá no sentido de manter as condições gerais dos tecidos para que a função possa se restabelecer no devido tempo, o que muitas vezes pode demorar meses ou anos.

Referências

1. Angevine JB. The Nervous Tissue in: A textbook of Histology. Bloom ER, Fawcett DW. cap.11:309-366. Ed Chapman e Hall 1994 20ª edição.
2. Schwartz JH. The cytology of neurons, In: Kandell ER, Schwartz JH, Jessel TM Principles of Neural Science, Elsevier ed, 1985, 2ª edição, p 27-35.
3. Peters A, Palay SL, Webster HF. The fine structure of the nervous system - Neurons and their supporting cells, Ed.Oxford, 3ª edição, 1991. p 212 -272.
4. Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. Molecular Biology of the Cell - Ed Garland Publishing 1994, 3ª edição.
5. Bertold C, Rydmark M. Morphology of normal peripheral axons. in "The Axon" Waxmann SG, Kocsis JD, Stys PK Oxford University Press, Oxford 1995, p15 - 48.
6. Waxman SG, Black JA. Macromolecular structure of the Schwann cell membrane: perinodal microvilli. J Neurol Sci 1987;77:23-34.
7. Donat JR, Wisniewsky HM. The spatio-temporal pattern of Wallerian degeneration in mammalian peripheral nerves. Brain Res 1973;53:41-53.
8. Malbouisson AMB, Ghabriel MN, Allt G. The non-directional pattern of axonal changes in Wallerian degeneration: a computer-aided morphometric analysis. J Anat 1984;139 (1):159-174.
9. Malbouisson AMB, Ghabriel MN, Allt G. Axonal degeneration in large and small nerve fibres - an electron microscopic and morphometric study. J Neurological Sci 1985;67:307-318.
10. Griffin JW, George EB, Hsieh S, Glass JD. Axonal degeneration and disorders of the axonal cytoskeleton in "The Axon"- Waxmann SG, Kocsis JD, Stys PK. New York Oxford, Oxford University Press 1995, p 375-390.
11. Ballin RHM, Thomas PK. Changes at the node of Ranvier during Wallerian degeneration: an electron microscope study. Acta Neuropathol (Berl) 1969;14: 237-249.
12. Jessel TM. Reactions of Neurons to Injury in "Principles of Neural Science" Kandell ER, Schwartz JH, Jessel TM. Elsevier Ed, 1985, 2ª edição, p 27-35.
13. Schlaepfer WW, Hasler MB. Characterization of the calcium-induced disruption of neurofilaments in rat peripheral nerve. Brain Res 1979;168:299-309.
14. Kamakura K, Ushiura S, Sugita S, Tokoyura Y. Identification of Ca²⁺ activated neutral protease in the peripheral nerves and its effects on neurofilament degeneration. J Neurochem, 1983;40:908-913.
15. Glass JD, Schryer B, Griffin JW. Calcium mediated degeneration of the axonal cytoskeleton in the Ola mouse. J Neurochem 1994;62:2472-2475.
16. George EB, Glass, J. D. And Griffin, J. W. 1995. Axotomy-induced axonal degeneration is mediated by calcium influx through ion-specific channels. J Neurosci 1995;15:6445-6452.
17. Martinez AMB, Ribeiro LCV. Ultrastructural localization of calcium in peripheral nerve fibres undergoing Wallerian degeneration: an oxalate-pyroantimoniate and X-ray microanalysis study. J Submicrosc Cytol Pathol 1998;30 (3):451-458.
18. Lubinska L, Jastreboff P. Early course of Wallerian degeneration in myelinated fibres of the phrenic nerve. Brain Res 1977;130:47-63.
19. Griffin JW, Hoffman PN. Degeneration and regeneration in the peripheral nervous system. In: Dick PJ, Thomas PK, Griffin JW, Low PA, Poduslo J. Peripheral neuropathy, Philadelphia, Ed W.B. Saunders, 1993, 3ª ed, p 361-376.
20. Vidal-Sanz M, Bray GM, Villegas-Pérez MP, Thanos S, Aguayo AJ. Axonal regeneration and synapse formation in the superior colliculus by retinal ganglion cells in the adult rat. J Neurosci, 1987;7:2894-2909.
21. Berry M, Rees L, Hall S, Yiu P, Sievers J. Optic axons regenerate into sciatic nerve isografts only in the presence of Schwann cells. Brain Res Bull 1988;20:223-231.
22. Raisman G.. Use of Schwann cells to induce repair of adult CNS tracts. Rev Neurol 1997;153:8-9,521-525.