

## Efeito de fatores neurotróficos sobre o reparo de nervo periférico

### *Effect of neurotrophic factors on peripheral nerve repair*

Alessandra Deise Sebben<sup>1</sup>, Fernanda Cocolichio<sup>2</sup>, Ana Paula Victor Schmitt<sup>2</sup>, Mariana Dias Curra<sup>2</sup>, Paloma Viegas da Silva<sup>3</sup>, Guilherme Leví Tres<sup>2</sup>, Jefferson Braga Silva<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Bióloga, Mestre em Ciências da Saúde. Doutoranda em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

<sup>2</sup> Acadêmicos da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

<sup>3</sup> Acadêmica do Curso de Biomedicina da Universidade Feevale, Novo Hamburgo, RS.

<sup>4</sup> Médico, Livre-Docente pela Universidade Federal de São Paulo. Professor do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Chefe do Serviço Cirurgia da Mão e Microcirurgia Reconstrutiva do Hospital São Lucas da PUCRS.

---

#### RESUMO

**Objetivos:** esta revisão teve como objetivo analisar e discutir estudos sobre os principais fatores de crescimento testados *in vitro* e *in vivo* na regeneração de nervos periféricos.

**Fonte de dados:** os artigos foram selecionados nas bases de dados LILACS, Medline e SciELO, utilizando os seguintes descritores: regeneração nervosa, fatores de crescimento, fator de crescimento neural, fator neurotrófico derivado do cérebro, neurotrofina 3, neurotrofina 4/5, fator neurotrófico ciliar, fator neurotrófico derivado de linhagem de célula glial, fator de crescimento do endotélio vascular, fator de crescimento similar à insulina, sistema nervoso periférico, lesões, neurônios sensoriais, neurônios motores, enxerto autólogo e ratos.

**Síntese dos dados:** diversos fatores tróficos, também conhecidos como fatores de crescimento, são utilizados e testados *in vitro* e *in vivo* na regeneração de nervos periféricos. Essas proteínas atuam diretamente na proliferação e diferenciação de diferentes tipos celulares, sendo capazes de promover reparo tecidual e recuperação funcional. Geralmente o modelo ideal para a aplicação dessas substâncias é um sistema de entrega contínua através de condutos biodegradáveis.

**Conclusões:** é possível concluir que a combinação de dois ou mais fatores de crescimento provavelmente exerça um efeito sinérgico na regeneração do nervo, principalmente quando associada a biomateriais absorvíveis com liberação controlada. Apesar do conhecimento obtido sobre essas proteínas apontar para uma melhora da regeneração nervosa, ainda são necessários mais estudos experimentais antes de transpô-los para a aplicação clínica.

**DESCRIPTORIOS:** BIOMATERIAIS; REGENERAÇÃO NERVOSA; FATORES DE CRESCIMENTO.

#### ABSTRACT

**Aims:** This review aimed to analyze and discuss studies about the main growth factors tested *in vitro* and *in vivo* on peripheral nerves regeneration.

**Source of data:** Articles were selected from the databases LILACS, Medline, and SciELO, using the following key words: nerve regeneration, nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor, neurotrophin 3, neurotrophin 4/5, ciliary neurotrophic factor, *glial cell line-derived neurotrophic factor*, vascular endothelial growth factor, *insulin-like growth factor*, peripheral nervous system, injury, sensory neurons, motor neurons, autologous graft, and rats.

**Summary of findings:** Several trophic factors, also known as growth factors, are used and tested *in vitro* and *in vivo* regeneration of peripheral nerves. These proteins act directly on the proliferation and differentiation of different cell types, being able to promote tissue repair and functional recovery. Usually the ideal model for the application of these substances is a continuous delivery system via biodegradable conduits.

**Conclusions:** It is possible to conclude that the combination of two or more growth factors probably exercise a synergistic effect on nerve regeneration, especially when associated with absorbable biomaterials with controlled release. Although the knowledge obtained about these proteins indicate an improvement in nerve regeneration, further experimental studies are needed before transpose them into clinical application.

**KEY WORDS:** BIOMATERIALS; NERVE REGENERATION; GROWTH FACTORS.

---

#### Endereço para correspondência/Corresponding Author:

ALESSANDRA DEISE SEBEN  
Hospital São Lucas da PUCRS  
Av. Ipiranga, 6690  
CEP 90610-000, Porto Alegre, RS  
Telefone: 55(51) 3320-3500 ramal 4816  
E-mail: adsebben@gmail.com

## INTRODUÇÃO

Lesões dos nervos periféricos são frequentes na prática clínica, sendo responsáveis por problemas graves, como dor e sequelas muitas vezes permanentes. Dentre os danos que diminuem a qualidade de vida das pessoas acometidas, estão incluídas a incapacitação física e a perda total ou parcial de suas atividades produtivas, o que origina importantes consequências econômicas.<sup>1</sup> Além do altíssimo custo social gerado pelo aumento nas despesas da saúde pública e previdenciária, é importante ressaltar o impacto que as lesões desta dimensão são capazes de provocar sobre o indivíduo, seus familiares e sociedade como um todo.

As lesões completas, com perda de substância, raramente apresentam recuperação sem intervenção cirúrgica, e as técnicas atuais de reparação oferecem resultados aleatórios e frequentemente insatisfatórios. O enxerto autólogo de nervo proporciona os melhores resultados no reparo quando há transecção de nervo periférico. Este, porém, apresenta limitações, como uma maior morbidade no local de retirada do enxerto, escassez de sítios doadores de nervo, diferenças estruturais entre o nervo doador e receptor, além do déficit sensitivo resultante na área da qual foi retirado.<sup>2,3</sup> Nesse contexto, muitos pesquisadores buscam terapias alternativas, como transplante de células-tronco autólogas,<sup>4</sup> técnicas de tubulização com o uso de diferentes materiais e aplicação de fatores tróficos, com o propósito de otimizar o reparo de nervos periféricos danificados.<sup>2</sup>

Diversos fatores tróficos, também conhecidos como fatores de crescimento, são utilizados e testados *in vitro* e *in vivo* na regeneração de nervos periféricos. Essas proteínas atuam diretamente na proliferação e diferenciação de diferentes tipos celulares, sendo capazes de promover reparo tecidual e recuperação funcional. Fatores neurotróficos são polipeptídios que auxiliam no processo regenerativo do sistema nervoso periférico. Os nervos degenerados são uma fonte importante desses fatores. Os fatores neurotróficos são basicamente um conjunto de três famílias de moléculas e seus receptores, responsáveis por manter o crescimento e sobrevivência dos axônios e neurônios motores e sensitivos, após danos teciduais.<sup>5</sup> Além destas famílias, outros fatores também são aplicados no reparo de nervo periférico em função de seus efeitos neurotróficos; dentre eles destacam-se o fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF)<sup>6</sup> e o fator de crescimento similar à insulina IGF.<sup>7</sup> Estas proteínas apresentam-se em níveis elevados após transecção ou esmagamento de

nervos, e sua expressão temporal e espacial, assim como sua meia vida biológica (que pode durar de alguns minutos até algumas horas) têm sido amplamente pesquisadas ao longo das últimas décadas<sup>8-24</sup> (Tabela 1).

Diante dos inúmeros trabalhos realizados nos últimos anos, esta revisão propõe-se a fazer uma busca bibliográfica dos principais fatores neurotróficos testados e discorrer sobre os resultados alcançados. O levantamento foi realizado através de pesquisa nas bases de dados LILACS, Medline e SciELO, utilizando os seguintes descritores: regeneração nervosa, fator de crescimento neural, fator neurotrófico derivado do cérebro, neurotrofina 3, neurotrofina 4/5, fator neurotrófico ciliar, fator neurotrófico derivado de linhagem de célula glial, fator de crescimento do endotélio vascular, fator de crescimento similar à insulina, sistema nervoso periférico, lesões, neurônios sensoriais, neurônios motores, enxerto autólogo e ratos, assim como seus correspondentes termos em inglês: nerve regeneration, nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor, neurotrophin 3, neurotrophin 4/5, ciliary neurotrophic factor, *glial cell line-derived neurotrophic factor*, vascular endothelial growth factor, *insulin-like growth factor*, peripheral nervous system, injury, sensory neurons, motor neurons, autologous graft, and rats.

## FATOR DE CRESCIMENTO NEURAL

O fator de crescimento neural (NGF) é a neurotrofina mais pesquisada, descoberta há mais de 50 anos. Essa neurotrofina tem como receptor o TrKA e é caracterizada como uma molécula que desempenha um papel fundamental na regeneração de nervos periféricos.<sup>25</sup> Os níveis de NGF aumentam em nervos danificados e a elevação da expressão dessa proteína está relacionada à presença de interleucinas, principalmente a IL-1, liberada por macrófagos que são atraídos para o sítio da lesão. Receptores TrKA de alta afinidade para NGF estão presentes em 50% de todos os neurônios não mielinizados (principalmente em fibras do tipo C), e em uma subpopulação de axônios sensitivos mielinizados, porém são ausentes em neurônios motores. Entretanto, há estudos que demonstraram que o NGF é capaz de promover a regeneração tanto de neurônios sensitivos, quanto de neurônios motores após lesão de nervo ciático. Apesar da ausência de receptores TrKA em neurônios motores, há uma elevação nos níveis de expressão de receptor p75 de baixa afinidade para NGF após axotomia, o que poderia explicar a presença da proteína nesse tipo de neurônio.<sup>5,26,27</sup>

**Tabela 1.** Meia vida biológica de fatores neurotróficos no sistema nervoso e sua expressão espacial e temporal após lesão nervosa.

Fator de Crescimento	Meia-vida biológica	Expressão Espacial	Expressão Temporal
NGF	2-3 horas (via IV) <sup>8</sup> 30 minutos (em células de Schwann) <sup>11</sup>	Coto distal de nervo sensitivo injuriado. <sup>5,9,10</sup> NGF não está expresso em neurônios motores. <sup>14</sup>	Padrão bifásico: 1ª fase 12 a 48 h após lesão – ocorre um aumento da concentração até 10 vezes acima do nível basal, seguido por uma queda; 2ª fase 36 h a 3 semanas – a concentração atinge níveis 5 vezes maiores. <sup>5,9,10</sup>
NT-3	50 minutos (em neurônios cerebelares) <sup>12</sup>	Neurônios motores de nervo ciático <sup>5,14</sup>  Coto distal de nervo ciático <sup>5,14</sup>	Resposta bifásica após injúria: declínio de 2 vezes em 12 h. Retorno aos níveis normais após 3 dias. Novo declínio 2 vezes abaixo após algumas semanas. <sup>5,14</sup>  Queda de 9 vezes em 6 a 12 h. Retorno aos níveis basais em 2 semanas. <sup>5,14</sup>
NT-4/5	Informação não encontrada na literatura revisada	Neurônios motores de nervo ciático <sup>5,14</sup>  Coto distal de nervo ciático <sup>5,14</sup>	Queda rápida em 6 h, retornando aos níveis normais em 12 h. <sup>14</sup>  Os níveis de expressão caem em 6 a 12 h; 2 semanas após a injúria, ocorre um aumento de 8 vezes. <sup>5,14</sup>
BDNF	0,5 a 2,5 horas <sup>13</sup>	Neurônios motores faciais <sup>5,14</sup>  Neurônios motores femorais <sup>15</sup>  Coto distal do nervo <sup>10,16</sup>	Aumento da concentração 2 vezes após 8 h, atingindo 4 vezes em 12 h; queda da concentração, com níveis 2 vezes acima após 24 h. Retorno aos níveis basais de 7 a 14 dias. Pico da proteína: 7 dias <sup>5,14</sup>  A proteína apresenta um pico 6 vezes acima dos níveis basais 48 h após lesão. <sup>15</sup>  Aumento da concentração de 7 a 28 dias. <sup>10,16</sup>
GDNF	3 a 4 dias (injetado no cérebro)	Nervo facial e nervo ciático (detectado apenas através de seus receptores – GFR- $\alpha$ 1 e RET) <sup>5</sup>	Aumento da concentração de RET 2 vezes 3 dias após transecção do nervo. Pico de 4,5 vezes mais em 21 dias. Retorno aos níveis basais em 42 dias. Ou: aumento dos níveis de GFR 2 vezes 1 dia após transecção, com pico de 6 vezes entre 7 e 14 dias. Retorno aos níveis basais em 42 dias. <sup>5,17</sup>
CNTF	3 minutos <sup>18</sup>	Nervo ciático <sup>19</sup>	Apresenta uma queda nas primeiras 24 h após lesão de nervo, e em uma semana os níveis estão 5 vezes abaixo. Em 4 semanas ocorre um aumento, porém os níveis continuam baixos <sup>19</sup>
IGF	20 horas <sup>20</sup>	Coto distal (detectado através da expressão de GAP43) <sup>21</sup>  Nervo ciático distal <sup>23</sup>	Pico: 2 semanas após lesão <sup>22</sup>  IGF-1 – aumento intenso da expressão em 4 dias após esmagamento do nervo. Pico dos níveis 10 dias após lesão, com retorno aos níveis basais em 20 dias. <sup>23</sup>
VEGF	30 a 40 minutos. Após hipóxia induzida: 6 a 8 horas <sup>24</sup>	Gânglios da raiz dorsal <sup>24</sup>	Pico: 72 h, em nervos tratados com substância vasoativa e anti-VEGF <sup>24</sup>

NGF = fator de crescimento neural (*nerve growth factor*); NT-3 = neurotrofina 3; NT-4/5 = neurotrofina 4 (ou neurotrofina 5); BDNF = fator neurotrófico derivado do cérebro (*brain-derived neurotrophic factor*); GDNF = fator neurotrófico derivado de linhagem de célula glial (*glial cell line-derived neurotrophic factor*); CNTF = fator neurotrófico ciliar (*ciliary neurotrophic factor*); IGF = fator de crescimento similar à insulina (*insulin-like growth factor*); VEGF = fator de crescimento endotelial vascular (*vascular endothelial growth factor*); GFR- $\alpha$ 1 = receptor  $\alpha$ 1 do GDNF; RET = receptor do GDNF.

O NGF atua na proliferação e diferenciação de neurônios,<sup>28</sup> promovendo o reparo e a recuperação funcional de nervos injuriados.<sup>29</sup> Porém, ainda existe uma deficiência nos métodos de entrega deste fator, limitando sua aplicação clínica. Quando combinado com biomateriais e com liberação controlada, seu efeito se torna potencializado.<sup>30-32</sup> Em modelo de lesão em nervo ciático de ratos comprovou-se a capacidade do NGF junto ao colágeno para promover a regeneração nervosa, com melhora funcional após lesão.<sup>25</sup> A utilização de NGF em conjunto com um sistema de liberação controlada constituído por uma matriz de fibrina com heparina para imobilizar o NGF, dentro de um tubo de silicone, demonstrou que esta incorporação melhora a regeneração do nervo.<sup>31</sup>

### NEUROTROFINA 3

Neurotrofina 3 (NT-3) é um fator neurotrófico que estimula o crescimento e diferenciação de novos neurônios e sinapses, atuando também na diferenciação de neurônios já existentes.<sup>33</sup> Estudos em camundongos sugerem que a NT-3 atua sobre uma subpopulação de neurônios de grande porte, responsáveis principalmente pela propriocepção.<sup>34</sup>

A NT-3 é encontrada, principalmente, em neurônios no sistema nervoso central, mas é expressa também em músculos, sendo sub-regulada após denervação muscular. Alguns domínios protéicos da NT-3 são idênticos aos do NGF e do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), com homologia de aproximadamente 50%.<sup>33</sup>

Um estudo em ratos com lesão de nervo ciático sugeriu que o NGF e a NT-3 são fatores de sobrevivência de neurônios sensoriais adultos. Isso aponta a uma possível terapêutica para lesões nervosas periféricas.<sup>35</sup> A NT-3 estimula o crescimento de neuritos nos gânglios da raiz dorsal de ratos adultos *in vitro* após transecção cirúrgica<sup>36</sup> e a combinação de BDNF e NT-3 promove regeneração axonal da medula espinhal torácica *in vivo* em ratos adultos,<sup>37</sup> o que sugere que a NT-3 pode desempenhar um papel importante na regeneração nervosa.<sup>38</sup>

Ratos que nascem sem a capacidade de produzir NT-3 (*knock-out*) têm perda de neurônios proprioceptivos e subpopulações de neurônios mecanorreceptivos. As consequências biológicas da deleção do gene NT-3 têm sido extensamente estudadas. Observou-se que camundongos transgênicos homocigotos para uma deleção do gene NT-3 mostram graves déficits nas populações neuronais periféricas sensoriais e simpáticas. Esses mutantes apresentam falta de fusos musculares e posições anormais dos membros. A maioria dos animais morre logo após o nascimento.

Os neurônios motores, o sistema nervoso entérico e as principais regiões anatômicas do sistema nervoso central parecem desenvolver-se normalmente.<sup>39</sup>

Até o momento há pouca informação sobre as ações do NT-3 na regeneração de nervo periférico em adultos. Uma melhor compreensão dos mecanismos de regeneração nervosa poderia melhorar o resultado cirúrgico obtido até o presente.

### NEUROTROFINA 4

A neurotrofina 4 (NT-4), também conhecida como neurotrofina 5 (NT-5), é uma proteína recentemente identificada com potenciais efeitos neurotróficos em algumas subpopulações de neurônios. Este fator promove a sobrevivência de neurônios motores e sensoriais.<sup>40-42</sup> Possui atividade similar à da NT-3, apresentando-se como um fator neurotrófico derivado para os neurônios do gânglio trigeminal.<sup>43</sup> A NT-4 liga-se ao receptor de baixa afinidade p-75 e ao receptor trkB com alta especificidade.<sup>44</sup> Apresenta 50-60% de homologia a NT-3, NGF e BDNF.<sup>45</sup> Embora a NT-4 seja menos pesquisada que a NT-3, este fator de crescimento também tem sido utilizado para estimular a regeneração de nervos periféricos injuriados. Pesquisadores injetaram cola de fibrina contendo NT-4 no sítio da lesão em nervo ciático de ratos. Os resultados demonstraram um aumento significativo no diâmetro axonal, na espessura da bainha de mielina e no número de axônios regenerados, bem como uma melhora no índice de função ciática.<sup>46</sup>

Para comparar as atividades biológicas da NT-4 e BDNF *in vivo*, Fan et al.<sup>47</sup> substituíram a sequência de codificação BDNF com a sequência de NT-4 em camundongos transgênicos. Estes são viáveis, em contraste com os mutantes BDNF *knock-out*, que morrem logo após o nascimento. Os níveis de NT-4 desses camundongos são comparáveis aos do tipo selvagem, mas a NT-4 suporta mais neurônios sensoriais do que o BDNF e promove a formação de sinapses funcionais em cultura de neurônios hipocâmpais.

### FATOR NEUROTROFICO DERIVADO DO CÉREBRO

Os neurônios motores expressam receptores TrKB, portanto o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) apresenta-se como uma das principais proteínas capazes de fornecer suporte à sobrevivência desses neurônios. O BDNF liga-se ao receptor de alta afinidade TrKB, e em menor extensão ao receptor p75.<sup>48</sup>

O BDNF endógeno demonstra um importante papel na indução da resposta do corpo celular em

neurônios injuriados de ratos, com uma intrínseca habilidade de extensão de neuritos, porém a presença do BDNF não demonstra ser necessária para manter a resposta uma vez que é induzido.<sup>49</sup> Quando expostas a mitógenos como BDNF, células tronco se diferenciam em linhagens neuronais *in vitro*.<sup>50</sup> Estudos sugerem que o BDNF presente em células de Schwann e neurônios sensitivos apresenta uma importante atuação na regeneração de nervos periféricos injuriados,<sup>51</sup> e a concentração de 10<sup>6</sup>mg/mL de BDNF potencializa a formação de redes neurais entéricas em murinos.<sup>52</sup>

Pesquisadores relataram a importância do BDNF endógeno para a regeneração e remielinização de nervo periférico após lesão nervosa.<sup>53</sup> Semelhante ao que ocorre com o NGF, tem sido demonstrado em estudos experimentais que o modelo ideal para a aplicação do BDNF é um sistema de entrega contínua em condutos para nervo biodegradáveis, no qual a proteína é adicionada ao mesmo, resultando na aceleração da neurogênese periférica e na redução de dor neuropática.<sup>54</sup>

## FATOR NEUROTRÓFICO DERIVADO DE LINHAGEM DE CÉLULA GLIAL

Os fatores neurotróficos derivados de linhagem de célula glial (GDNF) são considerados os fatores mais protetores para neurônios motores, sendo fundamentais na formação destes, assim como de neurônios sensitivos durante o processo de regeneração.<sup>55</sup> Na presença de transecção de um nervo, a expressão de mRNA do GDNF aumenta drasticamente, o que evidencia seu forte envolvimento no processo de regeneração dos nervos periféricos. O GDNF também tem sua expressão elevada em modelos experimentais de neuropatias motoras em ratos, várias neuropatias humanas e em nervos humanos traumatizados.<sup>56</sup>

Foram investigados os efeitos do GDNF através de um polímero sintético em nervo ciático transecionado com *gap* de 15mm. Os resultados demonstram que o NGF e GDNF liberados ininterruptamente durante um período de pelo menos 6 semanas estimulam a regeneração de axônios em aproximadamente 90% dos casos.<sup>57</sup>

O GDNF é capaz de promover o crescimento e alongamento axonal em culturas de células neuronais, assim como a neutralização dos efeitos da lesão do nervo, promovendo a regeneração axonal. A expressão elevada de GDNF e seu receptor foi encontrada em nervos humanos, tanto após traumatismo como em neuropatias periféricas. O estudo realizado com colágeno e GDNF demonstrou um aumento no número de axônios e melhor recuperação funcional na reparação

do nervo.<sup>58</sup> Em um experimento com o objetivo de avaliar a regeneração do nervo motor utilizando um sistema de entrega de GDNF baseado em fibrina, o grupo que recebeu GDNF e fibrina apresentou maior quantidade de tecido neural que os demais grupos. Pesquisas demonstraram o potencial do GDNF no tratamento de lesões do nervo motor.<sup>59</sup>

Chen et al.<sup>60</sup> investigaram os efeitos sinérgicos de NGF, fator neurotrófico ciliar (CNTF) e GDNF na sobrevivência e crescimento de neurônios sensoriais e motores, bem como seus efeitos sobre a recuperação funcional nervosa após lesão do nervo ciático em ratos. Os resultados demonstraram que o grupo NGF/GDNF agiu positivamente na sobrevivência de neurônios sensitivos e motores; CNTF foi um fator fundamental na promoção do desenvolvimento do corpo celular, e GDNF teve o maior efeito sobre o crescimento de neuritos e alongamento dos neurônios sensoriais e motores. A administração combinada dos três fatores resultou na melhor recuperação funcional após lesão do nervo ciático em ratos.<sup>60</sup>

## FATOR NEUROTRÓFICO CILIAR

O CNTF é uma proteína de 200 aminoácidos expressa no sistema nervoso periférico, no sistema nervoso central e no tecido muscular esquelético. Auxilia na diferenciação e na sobrevivência de uma variedade de neurônios durante o desenvolvimento embrionário e demonstra possuir ação regenerativa local em nervos periféricos lesados de indivíduos adultos, o que torna o seu estudo interessante pela possibilidade de aplicação em terapias regenerativas.<sup>18, 61, 62</sup>

O CNTF tem demonstrado ser responsável por auxiliar na sobrevivência de neurônios motores tanto *in vitro* quanto *in vivo*, resgatando-os da morte natural programada e prevenindo a degeneração desses neurônios em casos de trauma axonal.<sup>18</sup> O papel do CNTF como um fator neurotrófico está relacionado à liberação trauma-dependente dessa proteína por células de Schwann, à imunolocalização do peptídeo bioativo a ovóides de mielina, ao aumento do transporte axonal retrógrado de CNTF após a lesão do nervo e à super-regulação de seus receptores no nervo, induzidas por lesões. A recente descrição da estrutura axonal anormal em ratos com gene CNTF inativado corrobora o papel do CNTF no estabelecimento e/ou na manutenção do fenótipo neuronal.<sup>62</sup> A administração sistêmica do CNTF induz efeitos colaterais semelhantes aos das citocinas, e a sua meia vida sérica é muito curta (três minutos). No entanto, há evidências de que a entrega regular de CNTF diretamente ao corpo celular pode

ajudar a reduzir esses efeitos, além de superar o problema da rápida metabolização. Em camundongos adultos normais, a injeção subcutânea da proteína é capaz de estimular o brotamento terminal de neurônios motores. Quando aplicado diretamente através de bomba osmótica no corpo celular de neurônio motor de ovelhas, aumentou a área e a amplitude do potencial de ação do músculo.<sup>18</sup> Além disso, o CNTF é reduzido nos nervos periféricos de ratos hiperglicêmicos, e a sua administração exógena demonstrou eficácia em melhorar distúrbios funcionais e estruturais de nervo periférico encontrados em modelos experimentais de neuropatia diabética.<sup>62</sup> Os níveis de expressão de mRNA de CNTF decrescem significativamente e continuam baixos por longo período após transecção de nervo periférico.<sup>19</sup>

É bem provável que a sobrevivência de neurônios motores e sensitivos primários dependa de múltiplos fatores de crescimento agindo em sinergia ou numa sequência bem definida<sup>18,60</sup> e, até o presente momento, efeitos positivos do CNTF no que diz respeito à regeneração de nervos periféricos foram apenas demonstrados *in vitro* ou em experimentos com animais de pequeno porte; e os experimentos com humanos e modelos animais de grande porte não se mostraram estatisticamente vantajosos. Ainda assim, as observações apontam para a utilidade potencial de CNTF (principalmente em associação terapêutica) no tratamento de traumas de nervos periféricos e na disfunção de nervo periférico no diabetes experimental.<sup>18,60,62</sup>

## FATOR DE CRESCIMENTO SIMILAR À INSULINA

O fator de crescimento similar à insulina (IGF) desempenha um papel crucial na regulação da proliferação e na diferenciação celular. Tem efeitos mitogênicos e antiapoptóticos, tanto sobre células normais quanto transformadas, e é sintetizado por diversos tecidos, atuando de modo endócrino, autócrino e parácrino.<sup>20</sup>

A regeneração nervosa periférica é dependente de IGFs solúveis,<sup>7,63,64</sup> e a expressão do gene IGF, que pode prover suporte generalizado para a alongação axonal, é aumentada nos nervos durante a regeneração. Estas características são evidenciadas através do significativo aumento de mRNAs de IGF-1 e IGF-2 em nervos lesionados.<sup>65</sup> Pu et al.<sup>23</sup> examinaram a expressão temporal e espacial dos genes de IGF-1 e IGF-2 em nervo ciático de rato após lesão, e mostraram que esses genes são regulados por sinais independentes, provavelmente executando diferentes

papéis durante a regeneração nervosa, reforçando a hipótese de que o IGF-1 contribui para o brotamento inicial e a subsequente alongação dos axônios nos nervos. Contudo, o IGF-2, especialmente no nervo distal, melhora a regeneração de certos axônios em ramos neuromusculares de nervos, dando suporte à regeneração de axônios em neurônios motores. O aumento moderado no mRNA de IGF-1 foi associado à proliferação de células de Schwann.<sup>7,63,66</sup>

O IGF é capaz de promover a sobrevivência de neurônios motores<sup>67</sup> em nervos periféricos,<sup>7</sup> crescimento<sup>68</sup> e ramificação axonal,<sup>23</sup> mas diminui com o aumento da idade. Segundo Apel et al.,<sup>21</sup> o IGF-1 é capaz de melhorar o número, o diâmetro e a densidade de axônios na regeneração nervosa na recuperação neuromuscular em ratos mais velhos, comprovando sua ação sobre o aumento da mielinização e sobre a atividade das células de Schwann.

Estudos sobre o efeito da administração sistêmica de IGF-1 durante a recuperação neuromuscular em ratos neonatos indicaram que o IGF-1 promove recuperação neuronal após lesão por esmagamento e melhora a reinervação muscular.<sup>69</sup> A liberação local de IGF-1 após lesão por esmagamento em ratos juvenis induz melhora da função sensorial<sup>63</sup> e IGF-1 liberado localmente na lesão otimiza a função muscular em ratos.<sup>70</sup> Caroni et al.<sup>71</sup> concluíram que a exposição do músculo glúteo *in vivo* de ratos adultos ou camundongos a IGF2 ou IGF1 exógeno aumenta o brotamento nervoso intramuscular, sugerindo que níveis elevados de IGFs em músculos denervados ou paralisados possam desencadear reações regenerativas coordenadas. Near et al.<sup>64</sup> constataram que IGF-2 infundido continuamente próximo ao local de esmagamento no nervo ciático pode reforçar a regeneração de axônios motores. Em contrapartida, descobriram que a regeneração espontânea é inibida quando um anticorpo anti-IGF-2 é infundido através de uma abertura no epinervo. Esses achados são complementados por outro estudo que observou que IGF-2 infundido aumenta e anti-IGF-2 inibe a taxa de regeneração de neurônios sensoriais por pelo uma semana após lesão por esmagamento em nervo ciático.<sup>71</sup>

## FATOR DE CRESCIMENTO ENDOTELIAL VASCULAR

O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) é membro de uma família de citocinas que exerce importantes funções nas angiogêneses fisiológica e patológica.<sup>72</sup> Várias moléculas estimuladoras da angiogênese já foram identificadas, entre elas o VEGF, caracterizado por ser potente mitogênico.

O VEGF, além de atuar essencialmente no tecido vascular, de modo semelhante aos fatores neurotróficos anteriormente citados, também auxilia na regeneração de nervos, devido à estreita relação existente entre as fibras nervosas e os vasos sanguíneos durante esse processo. A adição de VEGF aumenta significativamente a infiltração de vasos sanguíneos em câmaras de condução nervosa, sendo relacionada com o aumento da regeneração axonal e migração de células de Schwann<sup>6,26</sup> e atua como neuroprotetor em neurônios *in vivo*<sup>73</sup> e *in vitro* após lesão isquêmica.<sup>74</sup>

Há evidência abundante de que o VEGF tem efeito neuroprotetor e neurotrófico em células neuronais e gliais em cultura e *in vivo*, e pode estimular a proliferação e a sobrevivência de células-tronco.<sup>75</sup> O VEGF é um mediador chave da angiogênese em resposta à isquemia cerebral e periférica, sendo capaz de promover a reparação do nervo após lesão medular traumática. Em muitos casos, a neuroproteção parece resultar de uma combinação de consequências indiretas do aumento da angiogênese e da estimulação direta da função neuronal.<sup>76</sup>

Em estudo publicado por Wongtraku et al.<sup>73</sup> avaliou-se o efeito do VEGF na angiogênese e neovascularização de enxerto de nervo convencional em coelhos. Um segmento de 2,5 cm do nervo ciático foi removido e ortotopicamente reparado. No terceiro dia, 42% dos nervos controle e 100% dos nervos tratados com VEGF demonstraram neovascularização longitudinal parcial.

Estudos investigaram os efeitos do VEGF na regeneração do nervo ciático de ratos *in vivo*. Os enxertos foram pré-tratados com VEGF, NGF ou laminina antes do implante. Enxertos pré-tratados com VEGF estimularam o crescimento das células de Schwann e dos vasos sanguíneos, mas não de axônios. Os resultados mostram que a aplicação local de VEGF promove pelo menos dois eventos: a invasão das células de Schwann e neovascularização, que são importantes durante a regeneração do nervo.<sup>77</sup>

A compreensão das vias moleculares que envolvem os mecanismos de indução da angiogênese por fatores de crescimento, como o VEGF, aumenta a possibilidade de novas terapêuticas a serem utilizadas em diversas patologias.

## CONCLUSÕES

Com base nos diversos estudos pesquisados sobre regeneração nervosa é possível constatar que o conceito de um tratamento ideal para auxiliar o reparo de nervos baseia-se no uso de tubos sintéticos, preferencialmente bioabsorvíveis, com o revestimento de componentes da

matriz extracelular e que sejam capazes de liberar de maneira controlada um ou mais fatores neurotróficos. A combinação de dois ou mais fatores de crescimento provavelmente exerça um efeito sinérgico na regeneração do nervo, especialmente quando os fatores de crescimento pertencem a famílias diferentes e agem através de mecanismos distintos. Entretanto, apesar do grande conhecimento já adquirido a respeito dessas proteínas na melhora da regeneração nervosa, ainda são necessários mais estudos experimentais antes de transpô-los para a aplicação clínica. Tais evidências corroboram o conceito no qual a engenharia de tecidos está fundamentada: é necessária uma combinação de elementos biológicos e sintéticos para que a regeneração seja acelerada e apresente melhores resultados.

## REFERÊNCIAS

1. Noble J, Munro CA, Prasad VS, et al. Analysis of upper and lower extremity peripheral nerve injuries in a population of patients with multiple injuries. *J Trauma*. 1998;45: 116-22.
2. Oliveira A, Pierucci A, Pereira K. Peripheral nerve regeneration through the nerve tubulization technique. *Brazilian Journal of Morphological Sciences*. 2004;21: 225-31.
3. Ichihara S, Inada Y, Nakamura T. Artificial nerve tubes and their application for repair of peripheral nerve injury: an update of current concepts. *Injury*. 2008;39 [Suppl 4]: 29-39.
4. Braga-Silva J, Gehlen D, Padoin AV, et al. Can local supply of bone marrow mononuclear cells improve the outcome from late tubular repair of human median and ulnar nerves? *J Hand Surg Eur*. 2008;33:488-93.
5. Boyd JG, Gordon T. Neurotrophic factors and their receptors in axonal regeneration and functional recovery after peripheral nerve injury. *Mol Neurobiol*. 2003;27:277-324.
6. Hobson MI, Green CJ, Terenghi G. VEGF enhances intraneural angiogenesis and improves nerve regeneration after axotomy. *J Anat*. 2000;197 Pt 4:591-605.
7. Glazner GW, Lupien S, Miller JA, et al. Insulin-like growth factor II increases the rate of sciatic nerve regeneration in rats. *Neuroscience*. 1993;54:791-7.
8. Tria MA, Fusco M, Vantini G, et al. Pharmacokinetics of nerve growth factor (NGF) following different routes of administration to adult rats. *Exp Neurol*. 1994;127:178-83.
9. Heumann R, Lindholm D, Bandtlow C, et al. Differential regulation of mRNA encoding nerve growth factor and its receptor in rat sciatic nerve during development, degeneration, and regeneration: role of macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987;84:8735-9.
10. Meyer M, Matsuoka I, Wetmore C, et al. Enhanced synthesis of brain-derived neurotrophic factor in the lesioned peripheral nerve: different mechanisms are responsible for the regulation of BDNF and NGF mRNA. *J Cell Biol*. 1992;119:45-54.
11. Matsuoka I, Meyer M, Thoenen H. Cell-type-specific regulation of nerve growth factor (NGF) synthesis in non-neuronal cells: comparison of Schwann cells with other cell types. *J Neurosci*. 1991;11:3165-77.

12. Leingartner A, Heisenberg CP, Kolbeck R, et al. Brain-derived neurotrophic factor increases neurotrophin-3 expression in cerebellar granule neurons. *J Biol Chem.* 1994;269:828-30.
13. Lauterborn JC, Truong GS, Baudry M, et al. Chronic elevation of brain-derived neurotrophic factor by ampakines. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003;307:297-305.
14. Kobayashi NR, Bedard AM, Hincke MT, et al. Increased expression of BDNF and trkB mRNA in rat facial motoneurons after axotomy. *Eur J Neurosci.* 1996;8:1018-29.
15. Al-Majed AA, Brushart TM, Gordon T. Electrical stimulation accelerates and increases expression of BDNF and trkB mRNA in regenerating rat femoral motoneurons. *Eur J Neurosci.* 2000;12:4381-90.
16. Funakoshi H, Frisen J, Barbany G, et al. Differential expression of mRNAs for neurotrophins and their receptors after axotomy of the sciatic nerve. *J Cell Biol.* 1993;123:455-65.
17. Hammarberg H, Piehl F, Risling M, et al. Differential regulation of trophic factor receptor mRNAs in spinal motoneurons after sciatic nerve transection and ventral root avulsion in the rat. *J Comp Neurol.* 2000;426:587-601.
18. Kelleher MO, Myles LM, Al-Abri RK, et al. The use of ciliary neurotrophic factor to promote recovery after peripheral nerve injury by delivering it at the site of the cell body. *Acta Neurochir (Wien).* 2006;148:55-60; discussion -1.
19. Ito Y, Yamamoto M, Li M, et al. Differential temporal expression of mRNAs for ciliary neurotrophic factor (CNTF), leukemia inhibitory factor (LIF), interleukin-6 (IL-6), and their receptors (CNTFR alpha, LIFR beta, IL-6R alpha and gp130) in injured peripheral nerves. *Brain Res.* 1998;793:321-7.
20. Yakar S, Wu Y, Setser J, et al. The role of circulating IGF-I: lessons from human and animal models. *Endocrine.* 2002;19:239-48.
21. Apel PJ, Ma J, Callahan M, et al. Effect of locally delivered IGF-1 on nerve regeneration during aging: an experimental study in rats. *Muscle Nerve.* 2010;41:335-41.
22. Hansson HA, Dahlin LB, Danielsen N, et al. Evidence indicating trophic importance of IGF-I in regenerating peripheral nerves. *Acta Physiol Scand.* 1986;126:609-14.
23. Pu SF, Zhuang HX, Ishii DN. Differential spatio-temporal expression of the insulin-like growth factor genes in regenerating sciatic nerve. *Brain Res Mol Brain Res.* 1995;34:18-28.
24. Tang J, Hua Y, Su J, et al. Expression of VEGF and neural repair after alprostadiol treatment in a rat model of sciatic nerve crush injury. *Neurol India.* 2009;57:387-94.
25. Sun W, Sun C, Lin H, et al. The effect of collagen-binding NGF-beta on the promotion of sciatic nerve regeneration in a rat sciatic nerve crush injury model. *Biomaterials.* 2009;30:4649-56.
26. Terenghi G. Peripheral nerve injury and regeneration. *Histol Histopathol.* 1995;10:709-18.
27. Madduri S, Papaloizos M, Gander B. Synergistic effect of GDNF and NGF on axonal branching and elongation in vitro. *Neurosci Res.* 2009;65:88-97.
28. Petruska JC, Mendell LM. The many functions of nerve growth factor: multiple actions on nociceptors. *Neurosci Lett.* 2004;361:168-71.
29. Apfel SC, Kessler JA, Adornato BT, et al. Recombinant human nerve growth factor in the treatment of diabetic polyneuropathy. NGF Study Group. *Neurology.* 1998;51:695-702.
30. Xu XY, Yu H, Gao SJ, et al. Polyphosphoester microspheres for sustained release of biologically active nerve growth factor. *Biomaterials.* 2002;23:3765-72.
31. Lee AC, Yu VM, Lowe JB, et al. Controlled release of nerve growth factor enhances sciatic nerve regeneration. *Exp Neurol.* 2003;184:295-303.
32. Yu XJ, Bellamkonda RV. Tissue-engineered scaffolds are effective alternatives to autografts for bridging peripheral nerve gaps. *Tissue Eng.* 2003;9:421-30.
33. Barde YA. The nerve growth factor family. *Prog Growth Factor Res.* 1990;2:237-48.
34. Maness LM, Kastin AJ, Weber JT, et al. The neurotrophins and their receptors: structure, function, and neuropathology. *Neurosci Biobehav Rev.* 1994 Spring;18:143-59.
35. Ljungberg C, Novikov L, Kellerth JO, et al. The neurotrophins NGF and NT-3 reduce sensory neuronal loss in adult rat after peripheral nerve lesion. *Neurosci Lett.* 1999;262:29-32.
36. Edstrom A, Ekstrom PA, Tonge D. Axonal outgrowth and neuronal apoptosis in cultured adult mouse dorsal root ganglion preparations: effects of neurotrophins, of inhibition of neurotrophin actions and of prior axotomy. *Neuroscience.* 1996;75:1165-74.
37. Xu XM, Guenard V, Kleitman N, et al. A combination of BDNF and NT-3 promotes supraspinal axonal regeneration into Schwann cell grafts in adult rat thoracic spinal cord. *Exp Neurol.* 1995;134:261-72.
38. Sterne GD, Coulton GR, Brown RA, et al. Neurotrophin-3-enhanced nerve regeneration selectively improves recovery of muscle fibers expressing myosin heavy chains 2b. *J Cell Biol.* 1997 Nov 3;139:709-15.
39. Ernfors P, Lee KF, Kucera J, et al. Lack of neurotrophin-3 leads to deficiencies in the peripheral nervous system and loss of limb proprioceptive afferents. *Cell.* 1994;77:503-12.
40. Henderson CE, Camu W, Mettling C, et al. Neurotrophins promote motor neuron survival and are present in embryonic limb bud. *Nature.* 1993;363:266-70.
41. Schmalbruch H, Rosenthal A. Neurotrophin-4/5 postpones the death of injured spinal motoneurons in newborn rats. *Brain Res.* 1995;700:254-60.
42. Stucky CL, Shin JB, Lewin GR. Neurotrophin-4: a survival factor for adult sensory neurons. *Curr Biol.* 2002;12:1401-4.
43. Ibanez CF. Emerging themes in structural biology of neurotrophic factors. *Trends Neurosci.* 1998;21:438-44.
44. Klein R, Lamballe F, Bryant S, et al. The trkB tyrosine protein kinase is a receptor for neurotrophin-4. *Neuron.* 1992;8:947-56.
45. Hallbook F, Ibanez CF, Persson H. Evolutionary studies of the nerve growth factor family reveal a novel member abundantly expressed in *Xenopus* ovary. *Neuron.* 1991; 6:845-58.
46. Yin Q, Kemp GJ, Yu LG, et al. Neurotrophin-4 delivered by fibrin glue promotes peripheral nerve regeneration. *Muscle Nerve.* 2001;24:345-51.
47. Fan G, Egles C, Sun Y, et al. Knocking the NT4 gene into the BDNF locus rescues BDNF deficient mice and reveals distinct NT4 and BDNF activities. *Nat Neurosci.* 2000;3:350-7.
48. Barbacid M. The Trk family of neurotrophin receptors. *J Neurobiol.* 1994;25:1386-403.
49. Geremia NM, Pettersson LM, Hasmatali JC, et al. Endogenous BDNF regulates induction of intrinsic neuronal



- growth programs in injured sensory neurons. *Exp Neurol.* 2010;223:128-42.
50. Sanchez-Ramos J, Song S, Cardozo-Pelaez F, Hazzi C, Stedeford T, Willing A, et al. Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells in vitro. *Exp Neurol.* 2000;164(2):247-56.
  51. Zhou XF, Chie ET, Deng YS, et al. Injured primary sensory neurons switch phenotype for brain-derived neurotrophic factor in the rat. *Neuroscience.* 1999;92:841-53.
  52. Takaki M, Nakayama S, Misawa H, et al. In vitro formation of enteric neural network structure in a gut-like organ differentiated from mouse embryonic stem cells. *Stem Cells.* 2006;24:1414-22.
  53. Zhang JY, Luo XG, Xian CJ, et al. Endogenous BDNF is required for myelination and regeneration of injured sciatic nerve in rodents. *Eur J Neurosci.* 2000;12:4171-80.
  54. Vogelien E, Baker JM, Gates J, et al. Effects of local continuous release of brain derived neurotrophic factor (BDNF) on peripheral nerve regeneration in a rat model. *Exp Neurol.* 2006;199:348-53.
  55. Scherer SS, Salzer JL. Axon-Schwann cell interactions during peripheral nerve degeneration and regeneration. In: Jessen KR, Richardson WD, editors. *Glial cell development* 2<sup>nd</sup> ed. New York: Oxford: University Press; 2001. p. 299-330.
  56. Hoke A, Ho T, Crawford TO, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor alters axon schwann cell units and promotes myelination in unmyelinated nerve fibers. *J Neurosci.* 2003;23:561-7.
  57. Fine EG, Decosterd I, Papaloizos M, et al. GDNF and NGF released by synthetic guidance channels support sciatic nerve regeneration across a long gap. *Eur J Neurosci.* 2002; 15:589-601.
  58. Chen Z, Chai Y, Cao L, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor promotes survival and induces differentiation through the phosphatidylinositol 3-kinase and mitogen-activated protein kinase pathway respectively in PC12 cells. *Neuroscience.* 2001;104:593-8.
  59. Moore AM, Wood MD, Chenard K, et al. Controlled delivery of glial cell line-derived neurotrophic factor enhances motor nerve regeneration. *J Hand Surg Am.* 2010;35:2008-17.
  60. Chen J, Chu YF, Chen JM, et al. Synergistic effects of NGF, CNTF and GDNF on functional recovery following sciatic nerve injury in rats. *Adv Med Sci.* 2010;55:32-42.
  61. Sendtner M, Stockli KA, Thoenen H. Synthesis and localization of ciliary neurotrophic factor in the sciatic nerve of the adult rat after lesion and during regeneration. *J Cell Biol.* 1992;118:139-48.
  62. Mizisin AP, Vu Y, Shuff M, et al. Ciliary neurotrophic factor improves nerve conduction and ameliorates regeneration deficits in diabetic rats. *Diabetes.* 2004;53:1807-12.
  63. Kanje M, Skottner A, Sjoberg J, et al. Insulin-like growth factor I (IGF-I) stimulates regeneration of the rat sciatic nerve. *Brain Res.* 1989;486:396-8.
  64. Near SL, Whalen LR, Miller JA, et al. Insulin-like growth factor II stimulates motor nerve regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992;89:11716-20.
  65. Glazner GW, Morrison AE, Ishii DN. Elevated insulin-like growth factor (IGF) gene expression in sciatic nerves during IGF-supported nerve regeneration. *Brain Res Mol Brain Res.* 1994;25:265-72.
  66. Oaklander AL, Miller MS, Spencer PS. Rapid anterograde spread of premitotic activity along degenerating cat sciatic nerve. *J Neurochem.* 1987;48:111-4.
  67. Feldman EL, Sullivan KA, Kim B, et al. Insulin-like growth factors regulate neuronal differentiation and survival. *Neurobiol Dis.* 1997;4:201-14.
  68. Rind HB, von Bartheld CS. Target-derived cardiotrophin-1 and insulin-like growth factor-I promote neurite growth and survival of developing oculomotor neurons. *Mol Cell Neurosci.* 2002;19:58-71.
  69. Vergani L, Di Giulio AM, Losa M, et al. Systemic administration of insulin-like growth factor decreases motor neuron cell death and promotes muscle reinnervation. *J Neurosci Res.* 1998;54:840-7.
  70. Tiangco DA, Papakonstantinou KC, Mullinax KA, et al. IGF-I and end-to-side nerve repair: a dose-response study. *J Reconstr Microsurg.* 2001;17:247-56.
  71. Caroni P, Grandes P. Nerve sprouting in innervated adult skeletal muscle induced by exposure to elevated levels of insulin-like growth factors. *J Cell Biol.* 1990 Apr;110:1307-17.
  72. Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. *Am J Pathol.* 1995;146:1029-39.
  73. Wongtrakul S, Bishop AT, Friedrich PF. Vascular endothelial growth factor promotion of neoangiogenesis in conventional nerve grafts. *J Hand Surg Am.* 2002;27:277-85.
  74. Jin KL, Mao XO, Greenberg DA. Vascular endothelial growth factor: direct neuroprotective effect in in vitro ischemia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97:10242-7.
  75. Zachary I. Neuroprotective role of vascular endothelial growth factor: signalling mechanisms, biological function, and therapeutic potential. *Neurosignals.* 2005;14:207-21.
  76. Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, et al. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science.* 1989;246:1306-9.
  77. Sondell M, Lundborg G, Kanje M. Vascular endothelial growth factor has neurotrophic activity and stimulates axonal outgrowth, enhancing cell survival and Schwann cell proliferation in the peripheral nervous system. *J Neurosci.* 1999;19:5731-40.