

## FISIOPATOLOGIA DO TRAUMA DE MEDULA ESPINAL

Mário Sérgio Lima de Lavor<sup>1</sup>, Karen Maciel de Oliveira<sup>2</sup>, Carla Maria Osório Silva<sup>1</sup>,  
Isabel Rodrigues Rosado<sup>2</sup>, Eliane Gonçalves de Melo<sup>3</sup>

1 Doutor, Docente, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, Brasil.

2 Doutorando, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, Brasil.

3 Doutor, Docente, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, Brasil.

Autor correspondente: [mariolavor@gmail.com](mailto:mariolavor@gmail.com)

Recebido em: 30/09/2013 – Aprovado em: 08/11/2013 – Publicado em: 01/12/2013

### RESUMO

A fisiopatologia do trauma medular compreende mecanismos de injúrias primárias e secundárias. O evento primário é o dano mecânico direto às membranas celulares e aos vasos sanguíneos constituintes da medula espinal, o qual desencadeia os mecanismos secundários, que são responsáveis por expandir e exacerbar a lesão. Os principais eventos secundários são isquemia, excitotoxicidade, inflamação, estresse oxidativo, peroxidação lipídica e necrose e apoptose. As lesões de medula espinal, devido a sua gravidade e irreversibilidade, geram transtorno emocional pela baixa qualidade de vida e transtorno sócio-econômico pelo fato de requererem custos médicos, programas de reabilitação prolongada ou invalidez. O conhecimento da fisiopatologia do trauma da medula espinal é importante para que se possa estabelecer manejo adequado na clínica médica e minimizar complicações decorrentes da lesão inicial.

**Palavras-chave:** trauma medular, excitotoxicidade, estresse oxidativo, cálcio, morte neuronal

### THE PATHOPHYSIOLOGY OF SPINAL CORD INJURY

#### ABSTRACT

The pathophysiology of spinal cord injury includes primary and secondary events. The primary event, consisting of mechanical damage to the cell membranes and blood vessels of the spinal cord, triggers secondary events that are responsible for expanding and exacerbating the lesion. Among the significant secondary events are ischemia, excitotoxicity, inflammation, necrosis and apoptosis, oxidative stress, and lipid peroxidation. Spinal cord lesions, due to its severity and irreversibility, generate emotional disorder by the low quality of life and social economic disorder once they require medical costs, rehabilitation programs or prolonged disability. The knowledge of the pathophysiology of spinal cord trauma is important to establish proper management in clinical medicine and minimize complications from the initial injury.

**KEYWORDS:** spinal cord injury, excitotoxicity, oxidative stress, calcium, neuronal death

## INTRODUÇÃO

As lesões medulares compõem desordens neurológicas que comprometem as funções motoras, sensitivas e autonômicas, implicando perda parcial ou total dos movimentos voluntários ou da sensibilidade em membros superiores e/ou inferiores e alterações no funcionamento dos sistemas urinário, intestinal, respiratório, circulatório e reprodutivo. Essas lesões são cada vez mais frequentes, principalmente, devido ao aumento da violência urbana, sendo os acidentes automobilísticos e ferimentos por armas de fogo, as causas mais comuns (HALL & SPRINGER, 2004; LEE et al., 2013; MCLACHLAN et al., 2013).

Na medicina veterinária, as lesões medulares de origem exógena ocorrem comumente associadas a atropelamentos, agressão por outro animal e quedas (MENDES & ARIAS, 2012), além daquelas de origem endógena como alterações degenerativas do disco intervertebral com extrusão e protrusão, fraturas patológicas e anormalidades congênitas. A real incidência do trauma medular não é bem documentada pela escassez de dados e, provavelmente porque muitos dos pacientes acometidos são submetidos à eutanásia (SEVERO et al., 2007; WEBB et al., 2010).

A lesão medular traumática resulta em depleção de compostos altamente energéticos por mecanismos metabólicos dependentes de energia, em neurônios e células gliais, já que o transporte alterado de glicose disponibiliza substratos energéticos inadequados. Em virtude disso, os insultos isquêmicos resultantes dos eventos secundários do trauma medular mecânico provocam interrupção da síntese de ácido desoxirribonucléico (DNA), assim como na síntese e transporte de proteínas e lipídeos, com conseqüente apoptose/necrose neuronal, além de prejuízos na mielinização e sinaptogênese. Tais fenômenos não são exclusivos da fase aguda do processo hipóxico, mas também abrangem o processo de reperfusão (OYINBO, 2011).

Neste contexto, as lesões de medula espinal, devido a sua gravidade e irreversibilidade, geram transtorno emocional, pela baixa qualidade de vida, e socioeconômico pelo fato de requerer custos médicos, programas de reabilitação prolongada ou invalidez (DUMONT et al., 2001; ROSSIGNOL et al., 2008). Na medicina veterinária, a lesão medular gera, na maioria das vezes, eutanásia dos animais acometidos, afetando emocionalmente a vida dos seus proprietários (BERGMAN et al., 2000; DUMONT et al., 2001). Assim, o desenvolvimento de estratégias terapêuticas efetivas para reduzir a morbidade neurológica e o sofrimento pessoal e da sociedade passa pelo entendimento dos mecanismos envolvidos na morte neuronal.

Os estudos envolvendo a fisiopatologia das lesões medulares têm se tornado cada vez mais frequentes na tentativa de se estabelecer manejo adequado na clínica médica para minimizar complicações decorrentes do trauma primário. Dessa forma, o objetivo desse trabalho é fazer uma revisão sobre a fisiopatologia do trauma a medula espinal abordando a excitotoxicidade glutamatérgica, estresse oxidativo e a importância do cálcio nos mecanismos celulares da lesão neuronal.

## ASPECTOS GERAIS DO TRAUMA MEDULAR

A fisiopatologia do trauma medular é caracterizada como resultado de um processo contínuo de destruição tecidual, reparação e cicatrização da lesão ao redor do sítio da injúria. O impacto inicial no momento do trauma acarreta dano mecânico imediato da medula espinal e tecido adjacente, com ruptura de vasos sanguíneos, corpos neuronais, axônios e células da glia, resultando na interrupção fisiológica e/ou morfológica dos impulsos nervosos e na cascata de eventos destrutivos (GRILL, 2005; SEVERO et al., 2007; POPA et al., 2010).

As lesões secundárias iniciam-se minutos após o trauma mecânico. Há a quebra da barreira hematoespinal, o que gera aumento da permeabilidade celular com formação de edema, início da resposta inflamatória, perda de cargas aniônicas e extravasamento de proteínas plasmáticas (HAUSMANN, 2003; ROWLAND et al., 2008). Concomitantemente, a ruptura da microvasculatura gera hemorragia que, associada ao edema, leva a isquemia medular, estendendo-a rostral e caudalmente (HULSEBOSCH, 2002; HAGG & OUDEGA, 2006; ROWLAND et al., 2008). As células gliais e endoteliais liberam substâncias vasoativas que se concentram próximas à lesão e resultam em isquemia neuronal (HAUSMANN, 2003; GRILL, 2005; KWON et al., 2005). O aporte sanguíneo da substância branca diminui drasticamente em cinco minutos e pode retornar ao normal em 24 horas. Já na substância cinzenta, a presença de focos hemorrágicos pode ser observada nos primeiros minutos e a perfusão se mantém ausente por uma hora (KWON et al., 2005).

Com a falta de suprimento sanguíneo decorrente das rupturas traumáticas de vênulas ou arteríolas no trauma agudo de medula resulta em hipóxia tecidual e hipoglicemia local, as quais reduzem o aporte de adenosina-5'-trifosfato (ATP), e geram disfunção dos processos dependentes de energia, como bomba de sódio e potássio, responsáveis pela preservação da homeostasia celular. Concomitantemente, nesse processo, ocorrem alterações nas concentrações de eletrólitos como sódio, cálcio e potássio, no meio intracitoplasmático, interferindo na excitabilidade e transmissão simpática, podendo induzir ativação excessiva do sistema glutamatérgico, cuja consequência pode causar degeneração ou até mesmo morte neuronal (GAVIRIA et al., 2000; MEHTA et al., 2007; ).

O desequilíbrio de sódio implica em danos dos componentes glial e axonal na substância branca. Um influxo intracelular de sódio pode resultar na ativação de receptores glutamatérgicos bem como na ativação de canais de sódio voltagem dependente (CSVD) e do transportador cálcio-sódio, o qual troca três íons sódio por um íon cálcio (ROSE et al., 1998). Considerando a propagação do potencial de ação, a despolarização maciça e a perda da capacidade da bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase em remover o sódio de volta para o compartimento extracelular promovem um acúmulo tóxico de sódio, e portanto, de água, no interior do axônio (ROSE et al., 1998; KWON et al., 2005). A quebra da homeostasia celular implica na liberação massiva dos neurotransmissores excitatórios, aumento do cálcio intracelular e liberação de radicais livres, e com isso culmina com a morte neuronal e glial (BAINS & HALL, 2012).

## EXCITOTOXICIDADE

A excitotoxicidade glutamatérgica, caracterizada pela exacerbada liberação do glutamato, está envolvida em alterações neurológicas agudas do trauma medular (KUNIHARA et al., 2004; BROUNS et al., 2009; GENSEL et al., 2012). A liberação e o acúmulo de neurotransmissores excitatórios como glutamato e aspartato ocorrem imediatamente após a injúria medular em resposta a isquemia e despolarização da membrana, alcançando níveis tóxicos rapidamente. A contínua liberação de glutamato estimula receptores glutamatérgicos promovendo influxo de cálcio e ativação de cascatas enzimáticas cálcio-dependentes (SZYDLOWSKA & TYMIANSKI, 2010; OYINBO, 2011).

O mecanismo primário da morte celular induzida por glutamato envolve o desequilíbrio iônico promovido pela entrada excessiva de cálcio e sódio, inicialmente por atuar pela via de receptores ionotrópicos de kainato (KA), N-metil-D-aspartato (NMDA), alfa-amino-3-hidróxi-metilisoxazolepropionato (AMPA) e, posteriormente, também de receptores metabotrópicos (MICHAELIS, 1998). Enquanto o influxo de  $\text{Na}^+$  parece estar relacionado com o edema celular, a entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  leva à ativação de enzimas como proteases, fosfolipases, óxido nítrico sintase e endonucleases que contribuem para a toxicidade celular através de diversos mecanismos (HAZELL, 2007).

Paralelamente à captação citosólica de  $\text{Ca}^{2+}$ , a mitocôndria é a principal organela responsável pelo sequestro de  $\text{Ca}^{2+}$  (NICHOLLS & BUDD, 2000; SANTO-DOMINGO & DEMAUREX, 2010), e esse aumento de cálcio pode induzir o estresse oxidativo (PATEL et al., 2010). Nas isquemias medular e cerebral, a redução da síntese de ATP leva a disfunção de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase, que promove uma despolarização da membrana plasmática, ocasionando a ativação de canais para cálcio voltagem dependente (CCVD). Com isso, essa despolarização impede o bloqueio de receptores por íons de  $\text{Mg}^{2+}$ , deixando os receptores NMDA hipersensíveis ao glutamato (GREENE et al., 1996). O excesso de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) induz a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO), colapso no potencial de membrana e déficit na produção de ATP, o que pode aumentar a morte neuronal (LEE et al., 2009; VAISHNAV et al. 2010; LIU et al., 2013).

## ESTRESSE OXIDATIVO E PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

As reações metabólicas normais das células que utilizam oxigênio produzem radicais livres, os quais são removidos por moléculas antioxidantes endógenas. Quando ocorre um desequilíbrio na proporção de agentes pró e antioxidantes ocasionando dano a macromoléculas importantes para homeostase celular, esse processo é chamado de estresse oxidativo. Os danos oxidativos são, em sua maior parte, induzidos por espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN) e abrangem coletivamente os radicais de oxigênio, tais como superóxido, hidroxil, peroxil, alcoxil e os derivados não-radicais potencialmente oxidantes, como exemplo, o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) (BASTANI et al., 2012; JIA et al., 2012; VISAVADIYA et al., 2012).

Diversos estudos demonstraram que o processo oxidativo e a disfunção mitocondrial são fatores que contribuem para danos os secundários do trauma medular uma vez que a injúria neuronal traumática promove uma disfunção dos complexos I e II na cadeia de transporte de elétrons mitocondrial contribuindo para

aumento da produção de radicais livres e decréscimo da síntese de ATP (HALL & SPRINGER, 2004; PATEL et al., 2009; MCEWEN et al., 2011; BAINS & HALL, 2012). Além disso, a excitotoxicidade glutamatérgica contribui para o aumento de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, ativa várias vias de produção de radicais livres, como a conversão de xantina desidrogenase (XDH) em xantina oxidase (XO), ativação da NOS, ativação da via da fosfolipase  $\text{A}_2$  ( $\text{PLA}_2$ ) e NAPH oxidase (NOX) (CARRIEDO et al., 2000; LÉWEN et al., 2000).

As enzimas pró-oxidantes como a XO,  $\text{PLA}_2$  e NOX e a cadeia respiratória mitocondrial geram o radical superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ). Estudos relataram que, após o trauma medular ocorre aumento do radical  $\text{O}_2^{\cdot-}$ , o qual se mantém elevado por mais de dez horas após o trauma medular. O superóxido pode reagir com NO, proveniente da óxido nítrico sintetase, formando o íon peroxinitrito, pela reação:  $\text{NO} + \text{O}_2^{\cdot-} \rightarrow \text{ONOO}^-$ . O íon peroxinitrito é um potente radical livre que causa nitração de proteínas e disfunção celular (BAINS & HALL, 2012). Ainda, os radicais  $\text{O}_2^{\cdot-}$  produzem outras espécies reativas, como o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), através da dismutação catalizada pela superóxido dismutase (SOD) (VISAVADIYA et al., 2012).

Uma vez formado o  $\text{H}_2\text{O}_2$ , este se difunde pela membrana ou se acumula na mitocôndria, onde pode ser transformado em água pela ação da catalase ou pelo sistema glutatona peroxidase. Por outro lado, se o sistema antioxidante não for eficaz,  $\text{H}_2\text{O}_2$  pode reagir com o  $\text{Fe}^{2+}$  e através da reação de Fenton, gerar radical hidroxila ( $\text{OH}^{\cdot}$ ). Outra via de formação do ânion  $\text{OH}^-$  pode ser pela reação de Haber-Weiss ( $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2^{\cdot-} \rightarrow \text{OH}^- + \text{O}_2 + \cdot\text{OH}$ ) ou pelo  $\text{ONOO}^-$  através de decomposição espontânea (CHAN, 2001).

A produção de  $\text{H}_2\text{O}_2$  em excesso é um indicador de estresse oxidativo mitocondrial. Para compensar a formação de ERO através da cadeia de transporte de elétrons, a mitocôndria apresenta um sistema antioxidante composto por SOD, catalase (CAT), glutatona peroxidase (GPx), glutatona redutase, nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) e vitaminas C e E (CHAN, 2001).

No trauma medular em ratos, os níveis de radicais  $\text{OH}^{\cdot}$  se elevam cinco minutos após a lesão e se estendem por mais de três horas (BAINS & HALL, 2012). Uma das principais consequências da geração do radical  $\text{OH}^{\cdot}$  é a peroxidação lipídica, que ocorre em ácidos graxos (LIU et al., 1998). Como a medula espinal possui grande proporção de ácidos graxos polinsaturados, este evento secundário exerce papel importante na fisiopatologia do trauma medular (CRACK & TAYLOR, 2005). A lipoperoxidação ocorre em neurônios e vasos sanguíneos, atuando de forma direta na integridade e função da membrana axonal, bem como promovendo dano microvascular. A alteração no endotélio vascular promove isquemia secundária, a qual indiretamente contribui para as lesões neuronais (HALL & SPRINGER, 2004; XIONG et al., 2009). Existem dois picos de peroxidação lipídica após o trauma medular, o primeiro depois de uma a seis horas, e o segundo de 24 (SONG et al., 2013) a 120 horas (CHRISTIE et al., 2008; BAINS & HALL, 2012).

A peroxidação lipídica, decorrente da falha do sistema de defesa antioxidante ou quando a produção de radicais livres sobrepõe a capacidade de escaneamento endógeno pelos antioxidantes, ativa vias diferentes de morte celular, uma vez que compromete a integridade das membranas plasmática e mitocondrial, e oxidam proteínas que medeiam o transporte de elétrons, interferindo na produção de ATP (LIU et al., 1998; EVANS et al., 2004).

## O PAPEL DO CÁLCIO NO TRAUMA MEDULAR

O cálcio é um sinalizador celular importante que regula diversos processos neuronais, como a liberação de neurotransmissores, transcrição gênica, proliferação celular, entre outros. O seu nível intracelular é determinado pelo equilíbrio de sinais que determinam sua entrada (TRIGGLE, 2003; TERLAU & OLIVERA, 2004). O influxo do cálcio, por sua vez, ocorre por canais CCVD ativados pela despolarização, canais para cálcio abertos por receptores glutamatérgicos, canais capacitativos operados por estoque e também pela mobilização das reservas intracelulares (BERRIDGE, 2002; RUIZ et al., 2009).

Uma importante via de entrada do cálcio se dá principalmente pelos CCVD e representa um passo chave na regulação dos processos celulares, na excitabilidade celular, participando ativamente em processos neurodegenerativos agudos (AGRAWAL et al., 2000).

Frente aos danos neurológicos, sejam eles degenerativos, isquêmicos ou traumáticos, uma das vias importantes que levam a morte celular é causada pelo aumento exacerbado do cálcio intracelular, que ocorre minutos após a injúria e perdura por até sete dias. A lesão neuronal libera grande quantidade de neurotransmissores excitatórios na fenda sináptica, em especial, o glutamato, elevando patologicamente o influxo de cálcio intracelular através dos CCVD do tipo N e P/Q, frente à despolarização da membrana, desencadeando uma cascata de eventos deletérios (KOBAYASHI & MORI, 1998; SCOTT et al., 1998). Esses receptores, particularmente importantes no TM, são abundantemente expressos pelos neurônios da medula espinal, ressaltando-se que em maior quantidade os do tipo N em astrócitos e oligodendrócitos na substância branca (AGRAWAL et al., 2000).

Quando as concentrações de cálcio intracelular ( $[Ca^{2+}]_i$ ) atingem níveis não fisiológicos, vários mecanismos são acionados para remover o  $Ca^{2+}$ . A expulsão de  $Ca^{2+}$  para o espaço extracelular é limitada a duas famílias de proteínas: o trocador  $Na^+/Ca^{2+}$  e o  $Ca^{2+}$ -ATPase da membrana plasmática. Além disso, o  $Ca^{2+}$  intracelular pode ser removido do citoplasma através de uma variedade de bombas. A recaptação do  $Ca^{2+}$  para o retículo endoplasmático (RE) é regulada por uma família de  $Ca^{2+}$ -ATPases do SERCA. Na mitocôndria, a recaptação de  $Ca^{2+}$  é feita pelo *uniporter* mitocondrial (COLLINS et al., 2001), enquanto a recaptação pelo complexo de Golgi é mediada pelo transportador  $Ca^{2+}$ -ATPase do tipo P (PMR1/ATP2C1). Além de captar  $Ca^{2+}$ , a mitocôndria pode também liberá-lo através do trocador  $Na^+-H^+/Ca^{2+}$  e, em algumas circunstâncias, pelo poro de permeabilidade transitória (NOWYCKY & THOMAS, 2002). No entanto, tais sistemas falham ou são insuficientes na isquemia ou excitotoxicidade. Com isso, o aumento da  $[Ca^{2+}]_i$  resulta em prejuízo de estruturas celulares, induzindo disfunção mitocondrial (SULLIVAN et al., 2007; MEHDIZEDEH et al., 2010), formação de ERO (WU et al., 2009), redução da síntese de ATP mitocondrial, produção de radicais livres e peroxidação de lipídeos, culminando em morte celular (WALTER & HAJNÓCZKY, 2005).

Nos insultos isquêmicos, o acúmulo de  $Ca^{2+}$  nos compartimentos intracelulares durante a isquemia e liberação maciça de  $Ca^{2+}$  dos estoques, após isquemia/reoxigenação, estão associados a danos celulares (PARK et al., 2004; CHEN et al., 2008). O trocador  $Na^+/Ca^{2+}$  está envolvido na desregulação do RE promovendo uma sobrecarga de  $Ca^{2+}$  durante a privação de oxigênio e glicose,

enquanto que, no início da reperfusão, o  $\text{Ca}^{2+}$  liberado pelo RE é amplamente mediado por  $\text{IP}_3\text{Rs}$  (CHEN et al., 2008).

No trauma medular, alguns estudos evidenciaram que o bloqueio de CCVD tipo N e L tem papel fundamental em reduzir lesões secundárias, como o insulto isquêmico, resultando em neuroproteção com melhora das funções neurológica e eletrofisiológica no pós-trauma (IMAIZUMI et al., 1999; AGRAWAL et al., 2000). Apesar desses efeitos, a expressão dos CCVD nos axônios não tem sido demonstrada, embora esses canais sejam expressos em astrócitos na substância branca. Com base nestes resultados, sugere-se que a sinalização do  $\text{Ca}^{2+}$  entre os axônios e astrócitos é necessária para a sobrevivência da célula e função axonal (AGRAWAL et al., 2000; VERKHRATSKY & STEINHAUSER, 2000).

Com a homeostase do  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular prejudicada, diversas vias de sinalização podem ser ativadas, dentre elas, as vias das proteases de cisteína citoplasmática, como as caspases e calpaínas, e dessa forma, resultar em ativação das cascatas de apoptose (SHIBATA et al., 2002; HIGUCHI et al., 2005).

## INFLAMAÇÃO

O trauma mecânico à barreira hematoespinal provoca aumento de sua permeabilidade e extravasamento de proteínas plasmáticas para o interior do parênquima medular, o que atrai células inflamatórias para o local da lesão (MAUTES, et al., 2000). Além disso, a injúria às células endoteliais e aos astrócitos que constituem a barreira hematoespinal, estimula a liberação de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose  $\text{TNF-}\alpha$ , que recrutam mais células inflamatórias para o local da lesão (WANG et al., 2004).

Os neutrófilos, macrófagos e células da micróglia ao chegarem ao local da injúria se distribuem ao redor das áreas de necrose provocadas pela hemorragia e excitotoxicidade (GOMES-LEAL et al., 2005). Estas células inflamatórias fagocitam debris celulares, e liberam proteases e radicais livres derivados de oxigênio que danificam mais o tecido, e levam a expansão da área inicial de necrose (GOMES-LEAL et al., 2005; LOANE & BYRNE, 2010). Adicionalmente, essas células inflamatórias interagem com os axônios que foram seccionados provocando retração de sua porção cranial, o que diminui a regeneração axonal (GOMES-LEAL et al., 2005; WEAVER et al., 2005; HORN et al., 2008; LOANE & BYRNES, 2010;). Além disso, os macrófagos e as células da micróglia ativadas secretam mais citocinas próinflamatórias, como por exemplo o  $\text{TNF-}\alpha$  (CARLSON et al., 1998; GOMES-LEAL et al., 2005).

Diversos efeitos responsáveis pela expansão da lesão após trauma medular foram associados ao aumento dos níveis do  $\text{TNF-}\alpha$ . Acredita-se que esta citocina aumenta a sensibilidade dos neurônios à excitotoxicidade (HAN & WHELAN, 2010), a expressão de receptores para glicocorticóides endógenos, ativa alguns genes próinflamatórios (YAN et al., 1999), e estimula a proliferação de astrócitos formando uma cicatriz glial, que compromete a regeneração axonal por constituir uma barreira física e química (HAUSMANN, 2003; TAKUMA et al., 2004). Portanto, a utilização de agentes que diminuem a infiltração do tecido lesado por células inflamatórias pode reduzir a lesão tecidual (WEAVER et al., 2005).

Neste contexto, o tratamento do trauma medular com o objetivo de diminuir os eventos secundários, como o processo inflamatório, pode impedir ou modular a expansão da lesão (HAUSMANN, 2003). Como diversos fatores e mecanismos

estão envolvidos na injúria secundária, é improvável que o tratamento com um único agente seja eficaz. Logo, a associação de agentes terapêuticos que atuem em diferentes vias envolvidas na injúria secundária pode ser um tratamento mais efetivo (NASH et al., 2002; WEAVER et al., 2005; SHAN et al., 2010).

## **PROCESSO DE REPARAÇÃO TECIDUAL**

A cascata de eventos secundários continua a ocorrer nas semanas que seguem a lesão medular, levando a formação de cistos e cavidades no centro da lesão que exacerbam a disfunção neurológica levando a perda de funções motora e/ou sensoriais (GRIL, 2005). O epicentro então se torna necrótico, macrófagos são recrutados para remover debris celulares e restos de mielina e, fibroblastos da meninge migram para a ferida. As alterações patológicas que acompanham esses acontecimentos são caracterizadas por hemorragias, extravasamento de plasma, edema intracelular, necrose, cavitações, gliose e perda da arquitetura histológica (KUNDI et al., 2013).

O processo de reparação após a lesão medular é acompanhado de angiogênese (XIN-MIN et al., 2005; MAHONEY et al., 2009; NG et al., 2011), que auxilia na redução do dano secundário levando oxigênio e nutrientes para o sítio de regeneração e removendo os restos metabólitos. Dessa forma, a necrose que acompanha a lesão medular pode ser minimizada por esses novos vasos, que protegem o tecido nervoso da isquemia e melhoram a recuperação pós-lesão. Essa angiogênese é regulada por proteínas produzidas em resposta à privação de oxigênio, como o fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), o fator de crescimento do fibroblasto e matriz metaloproteinases (KUNDI et al., 2013).

O VEGF é um dos fatores angiogênicos mais importantes que atuam após a lesão medular. Ele tem funções múltiplas que incluem estímulo à mitose de células endoteliais e aumento de sua sobrevivência por vias antiapoptóticas, vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular (PATEL et al., 2009), estímulo a morfogênese do vaso sanguíneo, regulação da função das células endoteliais (KUNDI et al., 2013). Além disso, ele ainda tem ação neuroprotetora direta em neurônios da medula espinhal de ratos, provavelmente mediada por seu receptor kinase (XIN-MIN et al., 2005), promovendo maior crescimento dos axônios após lesão medular (JIN et al., 2011).

Considerando as implicações da isquemia na fisiopatologia do trauma medular, entender o mecanismo pelo qual a revascularização ocorre e manipulá-lo pode ser uma ferramenta interessante para limitar o avanço dos danos secundários e obter neuroproteção (NG et al., 2011; MCCREEDY & SAKIYAMA-ELBERT, 2012). Dessa forma, estratégias terapêuticas que promovem a angiogênese costumam ser efetivas em reduzir o dano secundário, promover brotamento axonal e melhorar a recuperação funcional (XIN-MIN et al., 2005; MAHONEY et al., 2009; PATEL et al., 2009; JIN et al. 2011; HAN et al., 2012; KUNDI et al., 2013).

## **MORTE CELULAR POR APOPTOSE E NECROSE**

A morte neuronal pode ser motivada por mecanismos passivos ou ativos, necrose ou apoptose, respectivamente (DANIAL & KORSMEYER, 2004). Na última década, alguns estudos têm apontado o papel da apoptose no SNC (SASTRY &

RAO, 2000; KAWAGUCHI et al., 2004) e a possibilidade deste processo ser relevante em doenças neurodegenerativas (MATTSON, 2000).

A morte por necrose é um evento que envolve desbalanço na homeostasia da célula, levando ao edema de compartimentos celulares como a mitocôndria e outras organelas, a qual resulta em depleção de ATP a nível incompatível com a sobrevivência celular. Ela é caracterizada por vacuolização citoplasmática, ruptura da membrana citoplasmática e extravasamento do conteúdo intracelular, dano mitocondrial intenso e indução de inflamação ao redor da célula em destruição, atribuída pela liberação de conteúdos celulares e moléculas pró-inflamatórias (SASTRY & RAO, 2000; EDINGERN & THOMPSON, 2004).

Na morte celular por apoptose, não são observadas alterações de permeabilidade celular. As organelas permanecem geralmente intactas e a carga energética da célula é mantida. A apoptose requer a síntese de novas moléculas e a cromatina torna-se condensada formando grânulos nucleares e o DNA é fragmentado em frações internucleossomais. Geralmente, envolve a ativação de caspases, proteases dependentes de cisteína que reconhecem sítios específicos ricos em aspartato em suas proteínas alvo (SASTRY & RAO, 2000).

A apoptose pode ocorrer através da ativação de uma via que envolve a participação da mitocôndria (via intrínseca). Nesta via, pode-se observar a translocação de proteínas pró-apoptóticas da família bcl-2 (Bax e Bad) do citosol para a mitocôndria com a consequente formação de poros na membrana mitocondrial e liberação do citocromo c para o citosol. O citocromo c presente no citosol liga-se a apaf-1 (proteína reguladora da apoptose) e, em seguida, a pró-caspase-9, este complexo é chamado de apoptossoma, e promove a ativação da pró-caspase-9 através de reação que requer hidrólise do ATP. Subsequentemente, a caspase-9 leva à ativação de caspases efetoras, como a caspase-3 (OLSON & KORNBLUTH, 2001). A ativação de uma cascata de caspases pode, então, ativar DNases que são responsáveis pela clivagem do DNA em fragmentos internucleossomais (NAGATA, 2000).

A apoptose pode também ocorrer através da ativação de via extrínseca, a qual se desenvolve de maneira independente da formação do apoptossoma. A ligação de moléculas como Fas e fator de necrose tumoral (TNF) aos seus receptores de superfície pode ativar a via extrínseca, com o recrutamento de moléculas adaptadoras e a ativação direta da caspase-8. Uma vez ativada, a caspase-8 pode processar e ativar outras caspases, como caspase-3, levando à destruição celular (OLSON & KORNBLUTH, 2001; DANIAL & KORSMEYER, 2004).

O mecanismo para o disparo e o processamento de apoptose, como as caspases, citocromo c, apaf-1, dentre outras proteínas, geralmente está presente em todas as células na forma inativada, de modo que a transcrição gênica, geralmente, não é necessária para apoptose. Entretanto, em algumas células, como as neuronais, as vias pró-apoptóticas estão tão ativas que a transcrição gênica é essencial para a produção de proteínas anti-apoptóticas, como aquelas da família bcl-2 (Bcl-2 e Bcl-xL) ou das proteínas inibidoras de apoptose (IAPs) (RAVAGNAN et al., 2002; DANIAL & KORSMEYER, 2004).

Nas células neuronais, os fatores de crescimento e as neurotrofinas, muitas vezes, são chamados de agentes citoprotetores, já que protegem as células da morte celular por apoptose. Tal efeito anti-apoptótico pode ser explicado pela ligação desses fatores de crescimento aos seus receptores de membrana pela ativação de vias de transdução de sinal que modulam a transcrição gênica, aumentando a

presença de proteínas anti-apoptóticas como aquelas da família bcl-2 (Bcl-2 e Bcl-xL) e das IAP, e diminuindo a transcrição de genes para proteínas pró-apoptóticas como Bax (LOCKSHIN & ZAKERI, 2001).

A morte celular excitotóxica pode ser tanto necrótica quanto apoptótica. Em culturas de neurônios corticais, foi demonstrado que a exposição ao glutamato pode causar necrose e apoptose, dependendo da função mitocondrial (OYINBO, 2011). Em outro estudo, onde foram utilizados modelos de isquemia in vivo, foi demonstrada a ocorrência de necrose na zona isquêmica (local onde o acúmulo de glutamato causa dano celular), enquanto que na região de penumbra as células inicialmente sobreviveram para posteriormente morrerem por apoptose (IRVING et al., 2000).

Alguns trabalhos utilizando diferentes modelos demonstram o envolvimento da ativação de receptores glutamatérgicos e a indução de morte celular por apoptose com liberação de citocromo c, ativação de caspases e fragmentação de DNA (THOMAS & MAYLE, 2001; HIRAI et al., 2002; SZYDLOWSKA & TYMIANSKI, 2010).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

As alterações moleculares e estruturais que ocorrem após o trauma inicial à medula espinhal geram danos irreversíveis ao tecido neuronal e, constituem o maior desafio ao sucesso da reparação neural. Atualmente, ainda não há um tratamento efetivo que contenha essas lesões secundárias. Portanto, o conhecimento dessa cascata de eventos é essencial para o desenvolvimento de terapias e condutas eficazes com objetivo de regeneração ou reparação da lesão medular, minimizando as complicações decorrentes do trauma inicial.

## REFERÊNCIAS:

AGRAWAL, S. K.; NASHMI, R.; FEHLINGS, M. G. **Role of L- and N-type calcium channels in the pathophysiology of traumatic spinal cord White matter injury.** *Neuroscience*, v. 99, p. 179–188, 2000.

BAINS M.; HALL E.D. **Antioxidant therapies in traumatic brain and spinal cord injury.** *Biochimica et Biophysica Acta*,v.1822, p. 675–684, 2012.

BASTANI, N. E.; KOSTOVSKI, E.; SAKHI, A. K. et al. **Reduced antioxidant defense and increased oxidative stress in spinal cord injured patients.** *Archive of Physical Medicine and Rehabilitation*, v. 93, p. 2223-2228, 2012.

BERGMAN, R.; LANZ, O.; SHELL, L. **Acute spinal cord trauma: Mechanisms and clinical syndromes.** *Veterinary Medicine*, p. 846-850, 2000.

BERRIDGE, M. J. **The endoplasmic reticulum: a multifunctional signaling organelle.** *Cell Calcium*, v. 32, n. 5-6, p. 235-249, 2002.

BROUNS, R.; DEYN, P. P. **The complexity of neurobiological processes in acute ischemic stroke.** *Clinical Neurology and Neurosurgery*, v. 11, p. 483-495, 2009.

CARLSON, S. L.; PARRISH, M. E.; SPRINGER, J. E. et al. **Acute inflammatory response in spinal cord injury following impact injury.** *Experimental Neurology*, v. 151, p. 77-88, 1998.

CARRIEDO, S. G.; SENSI, S. L.; YIN, H. Z.; WEISS, J. H. **AMPA exposures induce mitochondrial  $Ca^{2+}$  overload and ROS generation in spinal motor neurons in vitro.** *Journal of Neuroscience*, v. 20, n. 1, p. 240-250, 2000.

CHAN P. H. **Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain.** *Journal of Cerebral Blood & Flow Metabolism*, v. 21, p. 2-14, 2001.

CHEN, X.; KINTNER, D. B.; LUO, J. et al. **Endoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$  dysregulation and endoplasmic reticulum stress following in vitro neuronal ischemia: role of  $Na^+-K^+-Cl^-$  cotransporter.** *Journal of Neurochemistry*, v. 106, p. 1563-1576, 2008.

CHRISTIE, S. D.; COMEAU, B.; MYERS, T. et al. **Duration of lipid peroxidation after acute spinal cord injury in rats and the effect of methylprednisolone.** *Neurosurgical Focus*, v. 25, n. 5, p. 543-54, 2008.

COLLINS, T. J.; LIPP, P.; BERRIDGE, M. J. et al. **Mitochondrial  $Ca^{2+}$  uptake depends on the spatial and temporal profile of cytosolic  $Ca^{2+}$  signals.** *Journal of Biology Chemistry*, v. 276, p. 26411-26420, 2001.

CRACK, P. J.; TAYLOR, J. M. **Reactive oxygen species and the modulation of stroke.** *Free Radical Biology & Medicine*, v. 38, p. 1433-1444, 2005.

DANIAL, N. N.; KORSMEYER, S. J. **Cell Death: Critical Control Points.** *Cell*, v. 116, n. 2, p. 205-19, 2004.

DUMONT, R. J.; OKONKWO, D. O.; VERMA, S. et al. **Acute spinal cord injury, part I: pathophysiologic mechanisms.** *Clinical Neuropharmacology*, v. 24, p. 254-264, 2001.

EDINGER, A. L.; THOMPSON, C. B. **Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy.** *Current Opinion in Cell Biology*, v. 16, p. 663-339, 2004.

EVANS M. D.; COOKE M. S. **Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids.** *Bioessays*, v. 26, n. 5, p. 533-42, 2004.

GAVIRIA M.; PRIVAT, A.; D'ARBIGNY, P. et al. **Neuroprotective effects of a novel NMDA antagonist, gacyclidine, after experimental contusive spinal cord injury in adult rats.** *Brain Research*, v. 874, p. 200-209, 2000.

GENSEL, J. C.; TOVAR, C. A.; BRESNAHAM, J. C. et al. **Topiramate treatment is neuroprotective and reduces oligodendrocytes loss after cervical spinal cord injury.** *PLOS One*, v. 7, n. 3, p. 1-6, 2012.

GOMES-LEAL, W.; CORKILL, D. J.; FREIRE, M. A. et al. **Astrocytosis, microglia activation, oligodendrocyte degeneration, and pyknosis following acute spinal cord injury.** *Experimental of Neurology*, v. 190, p. 456-467, 2004.

GREENE, J.G. et al. **Bionergetics and glutamate excitotoxicity.** *Progress in Neurobiology*, v. 48, p. 613-634, 1996.

GRILL, R. J. **User-defined variables that affect outcome in spinal cord contusion/compression models.** *Experimental Neurology*, v. 196, p. 1-5, 2005.

HAGG, T.; OUDEGA, M. **Degenerative and spontaneous regenerative processes after spinal cord injury.** *Journal of Neurotrauma*, v. 23, n. 3/4, p. 264-280, 2006.

HALL, E. D.; SPRINGER, J. E. **Neuroprotection and acute spinal cord injury: a reappraisal.** *NeuroRx: Journal of American Society for Experimental NeuroTherapeutic.*, v. 1, p. 80-100, 2004.

HAN, P.; WHELAN, P. J. **Tumor necrosis factor alpha enhances glutamatergic transmission onto spinal motoneurons.** *Journal of Neurotrauma*, v. 27, p. 287-292, 2010.

HAN, X.; YANG, N.; CUI, Y. et al. **Simvastatin mobilizes bone marrow stromal cells migrating to injured areas and promotes functional recovery after spinal cord injury in the rat.** *Neuroscience Letter*, v. 521, p. 136-141, 2012.

HAUSMANN, O. N. **Post-traumatic inflammation following spinal cord injury.** *Spinal Cord*, n. 41, p. 369-378, 2003.

HAZELL, A. S. **Excitotoxic mechanisms in stroke: an update of concepts and treatment strategies.** *Neurochemistry*, v. 50, p. 941-953, 2007.

HIGUCHI, M.; TOMIOKA, M.; TAKANO, J. et al. **Distinct mechanistic roles of calpain and caspase activation in neurodegeneration as revealed in mice overexpressing their specific inhibitors.** *Journal Biology Chemistry*, v. 280, p. 15229–15237, 2005.

HIRAI, K.; SUGAWARA, T.; CHAN, P. K. et al. **Cytochrome c associated apoptosis during ATP recovery after hypoxia in neonatal rat cerebrocortical slices.** *Journal Neurochemistry*, v. 83, p. 309-319, 2002.

HORN, K. P.; BUSCH, S. A.; HAWTHORNE, A. L. et al. **Another barrier to regeneration in the CNS: activated macrophages induce extensive retraction of dystrophic axons through direct physical interactions.** *Journal of Neuroscience*, v. 28, n. 38, p. 9330-9341, 2008.

HULSEBOSCH, C. E. **Recent advances in pathophysiology and treatment of spinal cord injury.** *Advances Physiology Education*, v. 26, n. 4, p. 238-255, 2002.

IMAIZUMI, T.; KOCSIS, J. D.; WAXMAN, S. G. **The role of voltage-gated Ca<sup>2+</sup> channels in anoxic injury of spinal cord White matter.** *Brain Research*, v. 817, p. 84–92, 1999.

IRVING, E. A.; BARONE, F. C.; REITH, A. D. et al. **Differential activation of MAPK/ERK and p38/SAPK in neurones and glia following focal cerebral ischemia in the rat.** *Molecular Brain Research*, v. 77, p. 65-75, 2000.

JIA, Z.; ZHU, H.; LI, J. et al. **Oxidative stress in spinal cord injury and antioxidant-based intervention.** *Spinal Cord*, v. 50, p. 264–274, 2012.

JIN, H. L.; PENNANT, W. A.; LEE, M. H. et al. **Neural stem cells modified by a hypoxia-inducible VEGF gene expression system improve cell viability under hypoxic conditions and spinal cord injury.** *Spine*, v. 36, p. 857–864, 2011.

KAWAGUCHI, M. et al. **Neuroprotective effects of anesthetic agents.** *Journal of Anesthesia*, v. 19, p. 150–6, 2005.

KOBAYASHI, T.; MORI, Y. **Ca<sup>2+</sup> channel antagonists and neuroprotection from cerebral ischemia.** *European Journal of Pharmacology*, v. 363, p. 1-15, 1998.

KUNDI, S.; BICKNELL, R.; AHMED, Z. **The role of angiogenic and wound-healing factors after spinal cord injury in mammals.** *Neuroscience Research*, v. 76, p. 1-9, 2013.

KUNIHARA, T.; MATSUZAKI, K.; SHIYA, N. et al. **Naloxone lowers cerebrospinal fluid levels of excitatory amino acids after thoracoabdominal aortic surgery.** *Journal of Vascular Surgery*, v. 40, n. 4, p. 681-690, 2004.

KWON, B. K.; FISHER, C. G.; DVORAK, M. F. et al. **Strategies to promote neural repair and regeneration after spinal cord injury.** *Spine*, v. 30, n. 17S, p. S3-S13, 2005.

LEE, B. B.; CRIPPS, R. A.; FITZHARRIS, M. et al. **The global map for traumatic spinal cord injury epidemiology: update 2011, global incidence rate.** *Spinal Cord*, p. 1-7, 2013. LEE, Y. L.; PARK, K. H.; PARK, H. H. et al. **Clinidipine mediates a neuroprotective effect by scavenging free radicals and activating the phosphatidylinositol 3-kinase pathway.** *Journal of Neurochemistry*, v. 111, p. 90-100, 2009.

LÉWEN A.; MATZ, P.; CHAN, P. H. **Free radical pathways in CNS injury.** *Journal of Neurotrauma*, v. 17, p. 871–890, 2000.

LIU D.; SYBERT T.; QIAN H. et al. **Superoxide production after spinal injury detected by Microperfusion of cytochrome c.** *Free Radical Biology & Medicine*, v. 25, n. 3, p. 298–304, 1998.

LIU, D.; SHAN, Y.; VALLURU, L. et al. **Mn (III) tetrakis (4-benzoic acid) porphyrin scavenges reactive species, reduces oxidative stress, and improves functional recovery after experimental spinal cord injury.** *Neuroscience*, v. 14, n. 23, p. 1-18, 2013.

LOANE, D. J.; BYRNES, K. R. **Role of microglia in neurotrauma.** Neurotherapeutics, v. 7, p. 366-377, 2010.

LOCKSHIN, R. A.; ZAKERI, Z. **Programmed cell death and apoptosis: origins of the theory.** Nature Reviews in Molecular Cell Biology, v. 2, p. 545-50, 2001.

MAHONEY, E. T.; BENTON, R. L.; MADDIE, M. A. et al. **ADAM8 is selectively upregulated in endothelial cells and is associated with angiogenesis after spinal cord injury in adult mice.** Journal of Comparative Neurology, v. 512, p. 243-255, 2009.

MATTSON, M. P. **Apoptosis in neurodegenerative.** Nature Reviews in Molecular Cell Biology, v. 1, p. 120-129, 2000.

MAUTES, A. E. M.; WEINZIERL, M. R.; DONOVAN, F. et al. **Vascular events after spinal cord injury: contribution to secondary pathogenesis.** Physical therapy, v. 80, n. 7, p. 673-687, 2000.

MCLACHLAN, A.J.; MCLEAN, A.N., et al. **Changes in pulmonary function measures following a passive abdominal functional electrical stimulation training program.** Journal of Spinal Cord Medicine, v. 36, n. 2, p.97-103, 2013.

MCCREEDYA, D. A.; SAKIYAMA-ELBERTA, S. E. **Combination therapies in the CNS: engineering the environment.** Neuroscience Letter, v. 519, p. 115-121, 2012.

MCEWEN, M. L.; SULLIVAN, P. G.; RABCHEVSKY, A. G. et al. **Targeting mitochondrial function for the treatment of acute spinal cord injury.** Neurotherapeutics: The Journal of the American Society for Experimental Neurotherapeutics, v. 8, p. 168-179, 2011.

MEHDIZEDEH, M.; KATEBI, M.; SOLEIMANI, M. et al. **The effect of diazoxide on ultrastructural changes following ischemia-reperfusion injury of rat brain.** Basical and Clinical Neuroscience, v. 1, n. 3, p. 17-20, 2010.

MEHTA, S. L.; MANHAS, N.; RAGHUBIR, R. **Molecular targets in cerebral ischemia for developing novel therapeutics.** Brain Research Reviews, S4, p. 34-66, 2007.

MENDES, D. S.; ARIAS, M. V. B. **Traumatismo da medula espinhal em cães e gatos: estudo prospectivo de 57 casos.** Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 32, n. 12, p. 1304-1312, 2012.

MICHAELIS, E. K. **Molecular biology of glutamate receptors in the central nervous system and their role in excitotoxicity, oxidative stress and aging.** Progress Neurobiology, v. 54, p. 369-415, 1998.

NAGATA, S. **Apoptotic DNA fragmentation.** Experimental Cell Research, v. 256, p. 12-18, 2000.

NASH, H. H.; BORKE, R. C.; ANDERS, J. J. **Ensheathing cells and methylprednisolone promote axonal regeneration and functional recovery in the lesioned adult rat pinal cord.** Journal of Neuroscience, v. 22, n. 16, p. 7111-7120, 2002.

NG, M. T.; STAMMERS, A. T.; KWON, B. K. **Vascular disruption and the role of angiogenic proteins after spinal cord injury.** Translational Stroke Research, v. 2, p. 474-491, 2011.

NICHOLLS, D. G.; BUDD, S. L. **Mitochondria and neuronal survival.** Physiological Reviews, v. 80, p. 315-60, 2000.

NOWYCKY, M. C.; THOMAS, A. P. **Intracellular calcium signaling.** Journal of Cell Science, v. 115, p. 3715-3716, 2002.

OLSON, M.; KORNBLUTH, S. **Mitochondria in apoptosis and human disease.** Current Molecular Medicine, v. 1, p. 91-122, 2001.

OYINBO, A. **Secondary injury mechanisms in traumatic spinal cord injury: a nugget of this multiply cascade.** Acta Neurobiologiae Experimentalis, v. 71, p. 281-299, 2011.

PARK, E. et al. **The role of excitotoxicity in secondary Mechanisms of spinal cord injury: a Review with an emphasis on the implications for White matter degeneration.** Journal of neurotrauma, v. 21, p. 754-774, 2004.

PATEL S. et al. **Temporal Characterization of Mitochondrial Bioenergetics after Spinal Cord Injury.** Journal of Neurotrauma, v. 24, n. 6, p. 991-99, 2007.

PATEL, C. B.; COHEN, D. M.; AHOBILA-VAJJULA, P. et al. **Effect of VEGF treatment on the blood-spinal cord barrier permeability in experimental spinal cord injury:dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging.** Journal of Neurotrauma, v. 26, p. 1005-1016, 2009.

PATEL, S. P.; SULLIVAN, P. G.; LYTTLE, T. S. et al. **Acetyl-L-carnitine ameliorates mitochondrial dysfunction following spinal cord injury.** Journal of Neurochemistry, v. 114, p. 291-201, 2010.

POPA, C.; POPA, F.; GRIGOREAN, V. T. et al. **Vascular dysfunctions following spinal cord injury.** Journal of Medicine and Life, v. 3, n. 3, p. 275-285, 2010.

RAVAGNAN, L.; ROUMIER, T.; KROEMER, G. **Mitochondria, the killer organells and their weapons.** Journal of Cell Physiology, v. 192, p. 131-7, 2002.

ROSE, C. R.; WAXMAN, S. G.; RANSON B. R. **Effects of glucose deprivation, chemical hypoxia, simulated ischemia on Na<sup>+</sup> homeostasis in rat spinal cord astrocytes.** The journal of neuroscience, v. 18, p. 3554-3562, 1998.

ROWLAND, J. W.; GREGORY, W. J.; HAWRYLUK, M. D. et al. **Current status of acute spinal cord injury pathophysiology and emerging therapies: promise on the horizon.** *Neurosurgical Focus*, v. 25, n. 5, suppl. E2, p. 1-17, 2008.

ROSSIGNOL, S. et al. Spinal cord injury: time to move? *Journal of Neuroscience*, v.27, n.44, p.11782-11792, 2008.

RUIZ, A.; MATUTE, C.; ALBERDI, E. **Endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> release through ryanodine and IP<sub>3</sub> receptors contributes to neuronal excitotoxicity.** *Cell Calcium*, v. 46, p. 273-281, 2009.

SANTO-DOMINGO, J.; DEMAUREX, N. **Calcium uptake mechanism of mitochondria.** *Biochimica et Biophysica Acta*, p. 907-912, 2010.

SASTRY, P. S.; RAO, K. S. **Apoptosis and the nervous system.** *Journal of Neurochemistry*, v. 74, p. 1-20, 2000.

SEVERO, M. S.; TUDURY, E. A.; ARIAS, M. V. B. **Fisiopatologia do trauma e da compressão à medula espinal de cães e gatos.** *Medicine Veterinary*, v. 1, n. 2, p. 78-85, 2007.

SHAN, L.; MA, S.; QIU, X. et al. **Hydroxysafflor Yellow A protects spinal cords from ischemia/reperfusion injury in rabbits.** *Neuroscience*, v. 11, n. 8, p.1-8, 2010.

SHIBATA, M.; HATTORI, H.; SASAKI, T. et al. **Subcellular localization of a promoter and an inhibitor of apoptosis (Smac/DIABLO and XIAP) during brain ischemia/reperfusion.** *Neuroreport*, v. 13, p. 1985–1998, 2002.

SONG, Y.; LIU, J.; ZHANG, F. et al. **Antioxidant effect of quercetin against acute spinal cord injury in rats and its correlation with the p38MAPK/iNOS signaling pathway.** *Life Sciences*, n. 92, p. 1215-1221, 2013.

SULLIVAN, P. G.; KRISHNAMURHTY, S.; PATEL, S. P. et al. **Temporal characterization of mitochondrial bioenergetics after spinal cord injury.** *Journal of Neurotrauma*, v. 24, n. 6, p. 991-999, 2007.

SZYDLOWSKA, K.; TYMIANSKI, M. **Calcium, ischemia and excitotoxicity.** *Cell Calcium*, v. 47, p. 122-129, 2010.

TAKUMA, K.; BABA, A.; MATSUDA, T. **Astrocyte apoptosis: implications for neuroprotection.** *Progress in Neurology*, v. 72, p. 111-127, 2004.

TERLAU, H.; OLIVERA, B. M. **Conus venoms: a rich source of novel ion channel-targeted peptides.** *Physiology Reviews*, v. 84, p. 41-68, 2004.

THOMAS, C. E.; MAYLE, D. A. **NMDA-sensitive neurons profoundly influence delayed staurosporine- induced apoptosis in rat mixed cortical neuronal cultures.** *Brain Research*, v. 889, p.163-173, 2001.

TRIGGLE, D. J. **Drug targets in the voltage-gated calcium channel family: why some are and some are not.** *ASSAY and Drug Development Technologies*, v. 1, n. 5, p. 719-733, 2003.

VAISHNAV, R. A.; SINGH, I. N.; MILLER, D. M. et al. **Lipid peroxidation-derived reactive aldehydes directly and differentially impair spinal cord and brain mitochondrial function.** *Journal of Neurotrauma*, v. 27, p. 1311–1320, 2012.

VERKHRATSKY, A.; STEINHAUSER, C. **Ion channels in glial cells.** *Brain Research Reviews*, v. 32, p. 380–412, 2000.

VISAVADIYA, N. P.; MCEWEN, M. L.; PANDYA, J. D. et al. **Antioxidant properties of Neu2000 on mitochondrial free radicals and oxidative damage.** *Toxicology in Vitro*, v. 2, p. 10110-16, 2012.

WALTER, L.; HAJNÓCZKY, G. **Mitochondria and endoplasmic reticulum: the lethal interorganelle cross-talk.** *Journal Bioenergetic Biomembranes*, v. 37, n. 3, p. 191-206, 2005.

WANG, K. K. W. **Calpain and Caspase: can you tell the difference?** *TINS*, v. 23, n. 1, p. 20-26, 2000.

WEAVER, L. C.; GRIS, D.; SAVILLE, L. R. et al. **Methylprednisolone causes minimal improvement after spinal cord injury in rats, contrasting with benefits of an anti-integrin treatment.** *Journal of Neurotrauma*, v. 22, n. 12, p. 1375-1387, 2005.

WEBB, A. A.; NGAN, S.; FOWLER, J. D. **Spinal cord injury I: A synopsis of the basic science.** *Canadian Veterinary Journal*, v. 51, p. 485-492, 2010.

WU, K. L. H.; HSU, C.; CHAN, J. Y. H. **Nitric Oxide and Superoxide Anion Differentially Activate Poly(ADP-ribose) Polymerase-1 and Bax to Induce Nuclear Translocation of Apoptosis-Inducing Factor and Mitochondrial Release of Cytochrome c after Spinal Cord Injury.** *Journal of Neurotrauma*, v. 26, p. 965-977, 2009.

XIN-MIN, D.; BO-YONG, M.; SHU, J. et al. **Neuroprotective effect of exogenous vascular endothelial growth factor on rat spinal cord neurons in vitro hypoxia.** *Chinese Medical Journal*, v. 118, p. 1644-1650, 2005.

XIONG, Y.; HALL, E. D. **Pharmacological evidence for a role of peroxynitrite in the pathophysiology of spinal cord injury.** *Experimental Neurology*, v. 216, p. 105–114, 2009.

YAN, P.; XU, J.; LI, Q.; et al. **Glucocorticoid receptor expression in the spinal cord after traumatic injury in adult rats.** *Journal Neuroscience*, v. 19, n. 21, p. 9355-9363, 1999.