

# Estudo experimental do Núcleo C.M.P. na regeneração nervosa

## *Experimental study of Núcleo C.M.P in nervous regeneration*

Thiago de Santana Santos<sup>I</sup>  
Aline de Lima Ludgero<sup>II</sup>  
Arquimedes Fernandes Monteiro de Melo<sup>III</sup>  
Emanuel Dias de Oliveira e Silva<sup>IV</sup>  
Ana Cláudia Amorim Gomes<sup>V</sup>

Recebido em 26/02/2009  
Aprovado em 30/03/2009

### RESUMO

Em virtude do número frequente de lesões nervosas que atingem a região maxilo-facial com repercussões dolorosas importantes e que comprometem a condição bio-psico-social, o uso de medicações neurotróficas no processo regenerativo apresenta-se como elemento essencial na atualidade da clínica odontológica. O objetivo deste estudo foi o de verificar o efeito funcional do uso do núcleo C.M.P em regeneração nervosa periférica após axonotmese, por meio de um estudo experimental em ratos. Foram utilizados 30 ratos, divididos em dois grupos de 15, submetidos ao procedimento cirúrgico por meio de incisão linear, exposição do nervo isquiático e apreensão do nervo com pinça hemostática, para causar neurotme. Vinte e quatro horas após a cirurgia, os animais do grupo experimental foram submetidos a injeções intramusculares de 0,3mg/ml Núcleo c.m.p numa dosagem de 0,3mg/dia por 2 dias. No trigésimo dia pós-operatório, os animais foram sacrificados por doses letais de anestésico geral. Todos os animais foram clinicamente observados por um único observador por meio de um corredor de acrílico transparente, em que os animais foram conduzidos a transitar, a fim de se ter a impressão de suas patas estarem devidamente registradas em papel para obtenção dos dados. Foi demonstrado que houve diferenças significantes em relação à marcha dos dois grupos. Portanto, o presente estudo demonstrou que o Núcleo C.M.P. é uma droga que favorece a regeneração nervosa periférica após axonotmese.

**Descritores:** Regeneração Nervosa. Interações de Medicamentos. Dor Facial.

### ABSTRACT

Due to the frequent number of nerve injuries that affect the maxillofacial region with repercussions important and painful condition that compromise the bio-psycho-social, anti-neurotrophic in regenerative process presents itself as an essential element in today's dental clinic. The aim of this study was to evaluate the functional effect of the use of core CMP in peripheral nerve regeneration after axonotmesis through an experimental study in rats. We used 30 rats divided into two groups of 15, underwent surgery by linear incision, exposure of the sciatic nerve and the nerve to seize hemostatic forceps to cause neurotmesis. Twenty-four hours after surgery the animals in the experimental group were subjected to intramuscular injections of 0.3 mg / ml núcleo cmp a dosage of 0.3 mg / day for 2 days. On the thirtieth postoperative day, the animals were killed by lethal doses of general anesthetic. All animals were clinically observed by a single observer through a corridor of transpa-

<sup>I</sup>Mestrando em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial da Faculdade de Odontologia de Pernambuco (FOP/UPE).

<sup>II</sup>Cirurgiã-Dentista graduada pela Faculdade de Odontologia de Pernambuco (FOP/UPE).

<sup>III</sup>Doutor em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Professor Adjunto da área de Farmacologia da Universidade de Pernambuco (UPE).

<sup>IV</sup>Professor Adjunto da Disciplina de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial da Faculdade de Odontologia de Pernambuco (FOP/UPE). Coordenador da Residência e Especialização de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial do Hospital Universitário Oswaldo Cruz (HUOC/UPE) e da Faculdade de Odontologia de Pernambuco (FOP/UPE).

<sup>V</sup>Especialista, Mestre e Doutora em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial. Professora Adjunta da Disciplina de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial da Faculdade de Odontologia de Pernambuco (FOP/UPE).

rent acrylic, where the animals were taken to transit to take the impression of your feet properly recorded on paper to obtain the data. It was demonstrated that there were significant differences on the march of the two groups. Therefore, this study showed that the core CMP is a drug that promotes peripheral nerve regeneration after axonotmesis.

**Keywords:** Nerve Regeneration. Drug Interactions. Facial Pain.

## INTRODUÇÃO

A região buco-maxilo-facial, devido a sua projeção no crânio, é susceptível a diversas agressões, especialmente oriundas de traumatismos que podem ocasionar fraturas dos ossos faciais. Esse tipo de agressão representa grande parte dos atendimentos emergenciais em todo o mundo. Estudos mostram que a etiopatogenia das lesões traumáticas nos nervos faciais, ou seja, no sistema nervoso periférico, está relacionada, principalmente, às agressões interpessoais, seguida dos acidentes de trânsito e atividades esportivas. Pacientes do sexo masculino são os principais acometidos, e as lesões no nervo mandibular representam a maior parte dos casos<sup>1</sup>.

Em virtude do número frequente de lesões nervosas que atingem a região maxilo-facial com repercussões dolorosas importantes e que comprometem a condição bio-psico-social, o uso de medicações neurotróficas no processo regenerativo, como o Núcleo C.M.P., apresenta-se como elemento essencial na atualidade da clínica odontológica.

As lesões do sistema nervoso periférico têm sido alvo de inúmeros estudos para compreensão e entendimento do processo biológico estabelecido. Quando ocorre uma lesão da bainha de mielina, isolante gorduroso que envolve a fibra nervosa, ocorre a perda dessa substância (desmielinização), e os nervos não conseguem mais transmitir os impulsos normalmente. Por outro lado, diferentemente da bainha de mielina, a qual pode regenerar-se rapidamente, permitindo a recuperação completa da função nervosa, a reparação e o novo crescimento de uma célula nervosa lesada dificilmente ocorreriam sem auxílio<sup>2</sup>.

A regeneração nervosa é formada por um conjunto

de fenômenos complexos colocados sob a dependência de fatores centrais, locais e periféricos. A reparação deverá permitir o restabelecimento das conexões que existiam entre os centros nervosos e os órgãos terminais<sup>3</sup>. Em traumatismos de nervos periféricos, dependendo do grau da lesão, acontece uma sequência previsível de degeneração, conhecida como degeneração walleriana, que impede a condução nervosa entre os cabos proximais e distais. Sua regeneração está baseada na possibilidade de recuperação funcional e no grau de interrupção intraneural. A regeneração se inicia a partir de onde se produziu a lesão, de forma que os axônios proliferem em direção ao órgão efeto<sup>4</sup>.

A qualidade da regeneração neuronal está em função da idade do paciente, do tipo e tamanho da lesão, da nutrição do nervo, da quantidade de tecido cicatricial e do tipo de técnica utilizada na reparação<sup>5</sup>. Diversas substâncias, como fatores neurotróficos e co-fatores, são estudadas a fim de se avaliarem suas funções na reparação de um nervo lesado. Esses fatores agem de forma complexa, inibindo a atividade proteásica, diminuindo a capacidade regeneradora dos fibroblastos e estimulando o processo regenerativo de células nervosas lesadas. As células da glia (GDNF) apresentam um importante efeito no desenvolvimento de células ganglionais e representam o mais potente fator neurotrófico conhecido<sup>6</sup>.

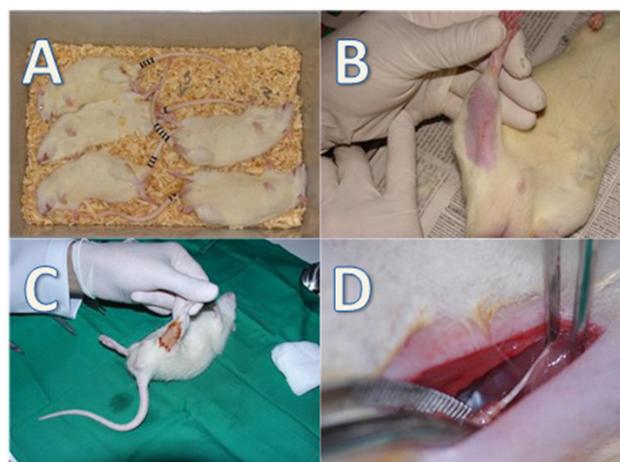
Um importante auxiliar no processo de reabilitação, capaz de melhorar a força muscular e proporcionar uma maior disposição de uma forma geral, o Núcleo C.M.P (Citidina-5-monofosfato dissódico), é um nucleotídeo que intervém ativamente no metabolismo do sistema nervoso, tomando parte como coenzima dos sistemas enzimáticos que intervêm na síntese dos fosfolípidios e glicolípidios. Essas substâncias lipídicas fundamentais

para o funcionamento e atividade normal do sistema nervoso estão submetidas a um constante processo de degradação e síntese; a citidina-5-monofosfato dissódica (CMP), cuja ação para a síntese de glicolipídios é completada pela uridina-5-trifosfato trissódica (UTP), torna-se um fator coenzimático absolutamente necessário para a manutenção e regeneração das estruturas nervosas, especialmente no que se refere à bainha de mielina. Os estudos recentes em ratos revelaram que a ausência de C.M.P causa o inchamento axonal e a degeneração neuronal<sup>7</sup>.

O Núcleo C.M.P apresenta participação em diversos metabolismos gerais, pois intervém como um fator essencial no metabolismo dos lipídios complexos, proteínas e glicídios. Possui ação importante durante o desenvolvimento do cérebro, a regeneração neural e os processos plásticos, incluindo a aprendizagem e a memória<sup>8</sup>. Portanto, o objetivo deste estudo foi de verificar o efeito funcional do uso do núcleo C.M.P em regeneração nervosa periférica após axonotmese, apor meio de um estudo experimental em ratos.

## MATERIAS E MÉTODO

O estudo se caracterizou pela utilização de 35 ratos machos albinos, adultos jovens, com três meses de idade e peso corporal variando entre 250 e 350 gramas. Os animais foram obtidos do Biotério do Departamento de Farmácia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Brasil. Foram excluídos da amostra 05 animais que apresentaram sinal de canibalismo, autofagia ou óbito. Os animais foram submetidos a um período de quarentena e confinamento para adaptação às condições experimentais. Os animais foram acondicionados em gaiolas plásticas, tendo como dieta água purificada e ração sólida peletizada (Labina® - Purina) (Figura 1A). Durante o experimento, os animais ficaram expostos sob uma temperatura de 23°C +/- 2°C, ciclo claro-escuro de 12h e umidade relativa do ar de 70% +/- 5%.



**Figura 1A:** Aspecto macroscópico do confinamento dos ratos; **1B:** Tricotomia da pata esquerda do rato; **1C:** Preparação para o ato cirúrgico; **1D:** Identificação do nervo isquiático

A anestesia geral por infiltração intramuscular foi realizada na coxa direita, utilizando 0,1ml/100g do anestésico geral, à base de Xilazina (Anasedan®) e 0,1ml/100g do anestésico geral, à base de Ketamina (Dopalen®). Na medida em que foi verificada a abolição do reflexo digital das patas, os animais foram posicionados em decúbito lateral, na mesa cirúrgica onde foi realizada a tricotomia manual (Figura 1B), antissepsia com polivinil-iodo-pirrolidona (Povidine degermante®) e aposição de campo fenestrado estéril na região compreendida entre a porção proximal da coxa esquerda e a respectiva pata (Figura 1C). O ato cirúrgico foi realizado pelo mesmo operador, sendo padronizado apor meio da seguinte sequência:

1. Incisão linear com aproximadamente 15 mm de extensão, utilizando lamina de bisturi número 15, envolvendo o plano tegumentar e subcutâneo, localizada na face dorsal da coxa esquerda do animal.
2. Divulsão com tesoura de Metzemaum, curva de 12 cm, para promover separação do plano tegumentar e subcutâneo das faces lateral e medial da coxa do animal.
3. Divulsão romba, com pinça hemostática curva de 12cm, entre os músculos bíceps femoral e semitendinoso para visualização do nervo isquiático (Figura 1D).
4. Isolamento do nervo isquiático esquerdo e compressão deste por um período de 2 minutos com

pinça hemostática reta de 12cm. O sítio específico de compressão foi a região proximal do nervo isquiático no seu trajeto, na coxa antes de sua bifurcação em nervos tibial e fibular comum. A força utilizada para compressão foi padronizada na segunda trava da pinça hemostática (Figura 2).

5. Síntese, utilizando fio número 5, envolvendo o plano tegumentar e subcutâneo por meio de sutura linear contínua.



**Figura 2:** Aprisionamento do nervo isquiático por compressão.

Os animais utilizados nesta pesquisa foram distribuídos, aleatoriamente em 2 grupos: experimental e controle. Cada grupo composto por 15 animais. Vinte e quatro horas após a cirurgia, os animais do grupo experimental foram submetidos a injeções intramusculares de 0,3mg/ml núcleo c.m.p (Núcleo C.M.P.®, Laboratório Gross S.A. Rio de Janeiro, RJ, Brasil) numa dosagem de 0,3mg/dia, por 2 dias. No trigésimo dia pós-operatório, os animais foram sacrificados por doses letais de anestésico geral. Vinte e quatro horas após a cirurgia, os animais do grupo-controle foram submetidos a injeções intramusculares de água destilada numa dosagem de 0,2 ml, por 2 dias. O grupo-controle, igualmente ao experimental, foi sacrificado 30 dias após o ato cirúrgico. Todos os animais foram clinicamente observados por um único observador por meio de um corredor de acrílico transparente, onde os animais foram conduzidos a transitar, a fim de ter a impressão de suas patas devidamente registradas em papel para obtenção dos dados (Figura 3).



**Figura 3:** Impressão da superfície plantar da pata do rato.

Para análise dos dados, foram obtidos as medidas de estatística descritiva: média, mediana, desvio-padrão, valor mínimo e valor máximo e utilizados o teste F (ANOVA) para medidas repetidas com correção de Greenhouse-Geisser e com comparações de Bonferroni (Técnica de estatística inferencial). O nível de significância utilizado nas decisões do teste estatístico foi de 5,0% nos experimentos<sup>9,10</sup>.

Os dados foram digitados na planilha Excel, e o "software" estatístico utilizado para a obtenção dos cálculos estatístico foi o SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) na versão 13. O objetivo da análise estatística foi determinar o valor do IFC nas avaliações com 8, 15 e 30 dias de pós-operatório e verificar se existe ou não diferença significativa entre as médias da referida medida.

## RESULTADOS

A avaliação clínica revelou que, após 24 horas do ato cirúrgico, todos os 15 ratos apresentaram alteração na sua marcha com a pata operada. A partir da análise com 8, 15 e 30 dias de pós-operatório, observou-se uma melhora na marcha dos animais com sua pata operada. Foi demonstrado que houve diferenças significantes em relação à marcha dos dois grupos.

Da Tabela 1, verifica-se que os valores da média e da mediana do IFC reduziram da avaliação de 8 para 15 dias e tiveram pequenos acréscimos da avaliação

de 15 para 30 dias. Por meio do teste estatístico para medidas repetidas, comprova-se diferença significativa entre os tempos de avaliação ( $p < 0,05$ ) e, por meio dos testes pareados, comprova-se diferença significativa entre cada um dos tempos.

Tabela 1 – Estatísticas do IFC, segundo o tempo de avaliação

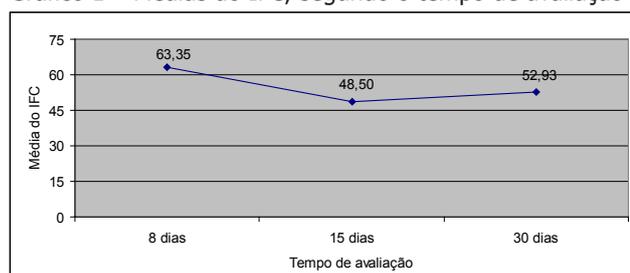
Estatística	Avaliação			Valor de p
	8 dias	15 dias	30 dias	
Média	63,35 <sup>(A)</sup>	48,50 <sup>(B)</sup>	52,93 <sup>(C)</sup>	$p(1) < 0,001^*$
Mediana	62,88	43,45	53,33	
Desvio-padrão	5,04	9,81	7,32	
Coefficiente de variação	7,96	20,23	13,83	
Valor mínimo	54,73	37,04	41,05	
Valor máximo	73,68	64,85	67,51	

(\*) – Diferença significativa a 5,0%.

(1) – Por meio do teste F (ANOVA) para medidas repetidas.

Obs – Se as letras entre parênteses são todas distintas, existe diferença significativa entre as médias dos tempos correspondentes por meio do teste de Bonferroni.

Gráfico 1 – Médias do IFC, segundo o tempo de avaliação



## DISCUSSÃO

Há relatos na literatura sobre o uso de substâncias exógenas, os gangliosídeos, os quais se definem como moléculas de glicolípídeos derivados do ácido siálico, que desempenham um importante papel na diferenciação neuronal, crescimento e regeneração<sup>11</sup>. Seu comportamento relaciona-se ao aumento da formação e do crescimento de expansões citoplasmáticas dos axônios, que originam novas conexões funcionais, induzindo à reparação nervosa.

Silva Neto<sup>12</sup> efetuou um estudo clínico e histopatológico do uso de gangliosídeos (GM1, GD1a, GD1b e GT1b) após axonotmese em nervo isquiático de ratos. Após esmagamento por 1 minuto, os animais do grupo experimental foram tratados com os gan-

gliosídeos, enquanto o grupo-controle recebeu água destilada. Foi realizada avaliação clínica da marcha após 24 horas e 45 dias do ato cirúrgico e avaliação histopatológica dos nervos ciáticos após 45 dias. Não houve indícios de que o uso de gangliosídeos altere significativamente a marcha após 45 dias. Os animais do grupo experimental apresentaram maior ocorrência e intensidade de reação inflamatória em comparação com o grupo controle.

Changa et al.<sup>13</sup> e Borin et al.<sup>14</sup> realizaram pesquisas para verificar a possível influência neurotrófica do nucleotídeo cíclico adenosina monofosfato (AMPC) na regeneração do nervo facial de ratos, obtendo resultados promissores na reparação nervosa.

## CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que o núcleo C.M.P. é uma droga que favorece a regeneração nervosa periférica após axonotmese. De acordo com a pesquisa, por meio do teste estatístico para medidas repetidas, comprova-se diferença significativa entre os tempos de avaliação ( $p < 0,05$ ) e a marcha dos ratos em relação aos dois grupos apresentados. Apesar de ainda não terem sido analisados os efeitos histológicos e fisiológicos do Núcleo C.M.P., sabe-se da sua provável eficácia regeneradora em nervos periféricos, após axonotmese.

## REFERÊNCIAS

1. Falcão MFL, Segundo AVL, Silveira MMF. Estudo epidemiológico de 1758. Fraturas faciais tratadas no Hospital da Restauração, Recife/PE. Rev Ci. Traumatol. Buco-Maxilo-fac. 2005;5(3):65-72.
2. Grecco MAS, Leite VM, Albertoni WM, Santos JBG, Hirakawa CK, Faloppa F, Valente SG. Estudo da regeneração nervosa em nervos tibiais de ratos wistar, utilizando o Fluoro-Gold® como marcador neuronal. Acta Ortop Bras. 2003;11(4):225-9.
3. Thanos PK, Okajima S, Terzis JK. Ultrastructure

- and cellular biology of nerve regeneration. *Jour Reconst Microsurg.* 1998; 14(6):423-36.
4. Dourado E, Gomes ACA, Gomes PFS, Ribeiro TPA. Técnicas microcirúrgicas de reparação nervosa: procedimentos convencionais e alternativos. *Rev Cir. Traumatol. Buco-Maxilo-fac* 2003;3(2):50-4.
  5. Vasconcelos BCE, Gay-Escoda C, Vasconcellos RJH, Neves RFSN. Conduction velocity of the rabbit facial nerve: a noninvasive functional evaluation. *Pesqui Odontol Bras.* 2003;17(2):12631.
  6. Chen ZY, Chai YF, Cao L, Lu CL, He C. Glial cell line-derived neurotrophic factor enhances axonal regeneration following sciatic nerve transection in adult rats. *Brain Res.* 2001;902(2):272-6.
  7. Sakamoto Y, Tanaka N, Ichimiya T, Kurihara T, Nakamura KT. Crystal structure of the catalytic fragment of human brain 2',3'-cyclic-nucleotide 3'-phosphodiesterase. *J Mol Biol.* 2005; 346(3):789-800.
  8. Horstkorte R, Mühlenhoff M, Reutter W, Nöhring S, Zimmermann-Kordmann M, Gerardy-Schahn R. Selective inhibition of polysialyltransferase ST8-SiaII by unnatural sialic acids. *Exp Cell Res.* 2004; 298(1):268-74.
  9. Altman DG. *Practical Statistics for Medical Research.* 2 ed. London: Chapman & Hall; 2008.
  10. Zar JH. *Biostatistical Analysis.* 4 ed. Prentice Hall: New Jersey; 1999.
  11. Sobeski JK, Kerns JM, Safanda JF, Shott S, Gonzalez MH. Functional and structural effects GM-1 ganglioside treatment on peripheral nerve grafting in the rat. *Microsurgery.* 2001;.21(3):108-15.
  12. Silva Neto JC. Estudo clínico e histopatológico do uso de gangliosídeos na regeneração nervosa em ratos após axonotmese [dissertação]. Camaragibe: Faculdade de Odontologia de Pernambuco, Universidade de Pernambuco; 2003.
  13. Changa LL, Wunb WSA, Lin YL, Wang PS. Effects of S-petasin on cyclic AMP production and enzyme activity of P450scc in rat zona fasciculata-reticularis cells. *Eur J Pharmacol.* 2004; 489(1-2),29-37.
  14. Borin A, Toledo RN, Ho PL, Testa JRG, Cruz OLM, Fukuda Y. Influência do AMP cíclico na regeneração do nervo facial em ratos. *Rev Bras Otorrinolaringol.* 2008;74(5):675-83.

**ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:**

Ana Cláudia Amorim Gomes  
 Av. Gal. Newton Cavalcanti,1.650. Tabatinga, Camaragibe - Pernambuco - Brasil  
 CEP 54753-220  
 E-mail: thiago.ctbmf@yahoo.com.br