
ALEXANDRE FOGAÇA CRISTANTE

**Emprego das células progenitoras no
tratamento da lesão medular crônica em
humanos : análise do potencial evocado
somato-sensitivo em 39 pacientes**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção de título de
Doutor em Ciências

Área de Concentração: Ortopedia e Traumatologia

Orientador: Prof. Dr. Tarcisio Eloy Pessoa de Barros Filho

São Paulo

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Cristante, Alexandre Fogaça

Emprego das células progenitoras no tratamento da lesão medular crônica em humanos : análise do potencial evocado somato-sensitivo em 39 pacientes / Alexandre Fogaça Cristante. -- São Paulo, 2007.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Ortopedia e Traumatologia.

Área de concentração: Ortopedia e Traumatologia.

Orientador: Tarcisio Eloy Pessoa de Barros Filho.

Descritores: 1.Paralisia 2.Traumatismos da medula espinal 3.Células-tronco
4.Sistema nervoso central/lesões 5.Humanos

USP/FM/SBD-139/07

DEDICATÓRIA

À minha esposa Adriana e minha filha Isabela, pela compreensão por tantos momentos de ausência durante a execução deste trabalho e pelo apoio e amor em todos os outros;

Aos meus pais Hécio e Maria Elisa, pelo sacrifício em me proporcionar tantas oportunidades.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor Tarcisio Eloy Pessoa de Barros Filho, Professor Titular do Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, um exemplo a ser seguido, meu agradecimento pela confiança, incansável incentivo e pelas oportunidades de contínuo aprimoramento.

Ao Doutor Reginaldo Perilo Oliveira, Chefe do Grupo de Coluna Cervical da Disciplina de Coluna Vertebral do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pelas oportunidades e ensinamentos transmitidos em meu aprimoramento na cirurgia de coluna.

Ao Professor Doutor Olavo Pires de Camargo, pela possibilidade da realização do doutorado e pelo exemplo de dedicação à pesquisa.

Ao Professor Doutor Arnaldo Valdir Zumiotti, pela possibilidade da realização do doutorado.

Ao Doutor Raphael Martus Marcon, companheiro nos primeiros passos na cirurgia de coluna, pela amizade e apoio em todos os momentos.

Ao Doutor Rui Maciel de Godoy, Doutor Jorge dos Santos Silva e Doutor Marcos Hideo Sakaki pela contribuição à minha formação acadêmica.

Ao Doutor Nelson Tatsui e Doutor Alfredo Mendrone por toda dedicação e ensinamentos, sem os quais este protocolo não poderia ter sido realizado.

Ao Doutor José Guilherme Caldas e sua equipe que realizaram as angiografias medulares e nos deram grande suporte.

Ao Doutor Amaro Camargo e sua assistente Andréa Alexandre, pela organização, paciência e dedicação.

Ao Professor Rames Mattar Jr., Professor Arnaldo José Hernandez e Doutora Ana Lúcia Munhoz pelo incentivo, confiança e conselhos.

Ao Engenheiro Tomaz Puga Leivas e a Sra Lucia Maria Evangelista Ferraz pelo auxílio na confecção deste trabalho.

Às enfermeiras da enfermagem de coluna do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pela paciência e apoio.

Aos colegas de Residência Médica do Instituto de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, junto com os quais o aprender se tornou um grande prazer.

A todos os funcionários do Instituto de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta pesquisa.

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com:

Terminologia Anatômica em Português conforme a TERMINOLOGIA ANATÔMICA INTERNACIONAL DA FEDERATIVE COMMITTEE ON ANATOMICAL TERMINOLOGY - FCAT (COMISSÃO FEDERATIVA DE TERMINOLOGIA ANATÔMICA – CFTA) aprovada em 1998 e traduzida pela Comissão de Terminologia Anatômica da Sociedade Brasileira de Anatomia – CTA-SBA. 1. Ed. (Brasileira) São Paulo, Editora Manole Ltda 2001. 248p.

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. GUIA DE APRESENTAÇÃO DE DISSERTAÇÕES, TESES E MONOGRAFIAS. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria Fazanelli Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena, 2ª ed. - São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação – SBD/FMUSP, 2005.

Utilizaram-se a terminologia e as definições estatísticas conforme o GUIA PARA EXPRESSÃO DA INCERTEZA DE MEDIÇÃO, Segunda Edição Brasileira do Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (BIPM, IEC, IFCC, ISSO, IUPAC, IUPAP, OIML, 1983). Edição Revisada (Agosto de 1998) – Rio de Janeiro: ABNT, INMETRO, SBM, 1998.

As abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com LIST OF JOURNALS INDEXED IN INDEX MEDICUS (1992) e na LILACS - LITERATURA LATINO-AMERICANA E DO CARIBE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE (1995).

Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

SUMÁRIO

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVO.....	12
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	14
4. MÉTODOS.....	49
4.1 Seleção de Pacientes.....	51
4.2 Mobilização das células progenitoras.....	53
4.3 Coleta das células progenitoras	53
4.4 Criopreservação celular	54
4.5 Infusão das células.....	55
4.6 Seguimento	59
4.7 Análise da Casuística	62
4.8 Análise Estatística	63
5. RESULTADOS	65
6. DISCUSSÃO.....	81
7. CONCLUSÕES.....	95
8. REFERÊNCIAS	97

RESUMO

Cristante AF. *Emprego das células progenitoras no tratamento da lesão medular crônica em humanos: análise do potencial evocado somato-sensitivo em 39 pacientes* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2007. 120p.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da infusão de células progenitoras indiferenciadas autógenas no tratamento de pacientes com lesão medular crônica. Foram selecionados trinta e nove pacientes com diagnóstico de lesão medular completa cervical e torácica há pelo menos dois anos. Os pacientes foram submetidos à mobilização e coleta das células progenitoras em sangue periférico. O concentrado de células progenitoras foi criopreservado e reinfundido por arteriografia no paciente doador caracterizando o momento zero do experimento. Estes pacientes foram então avaliados por dois anos e meio, sendo submetidos a exames de potencial evocado somato-sensitivo para avaliar a recuperação neurológica após a infusão de células indiferenciadas. Vinte e seis pacientes (66,7%) apresentaram positividade e/ou melhora do tempo de latência do exame de potencial evocado, ou seja, apresentaram resposta cortical aos estímulos periféricos. Assim, após dois anos e meio de seguimento, o protocolo descrito mostrou-se seguro e levou a positividade do exame de potencial evocado somato-sensitivo em pacientes com lesão medular completa.

DESCRITORES: 1.paralisia 2.traumatismos da medula espinal 3.células-tronco 4.sistema nervoso central/lesões 5.humanos

SUMMARY

Cristante AF - *Use of stem cells in the treatment of chronic spinal cord injury in humans: evaluation of somatosensitive evoked potential in 39 patients* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2007, 120p.

The objective of this study was to evaluate the effect of autogenous undifferentiated progenitor cell infusion in the treatment of patients with chronic spinal cord injury. Thirty-nine patients were selected among those diagnosed with complete cervical and thoracic spinal cord injury for at least two years. Patients underwent peripheral blood stem cell mobilization and collection. The progenitor cell concentrate was cryopreserved and reinfused through arteriography into the donor patient, characterizing the time zero of the experiment. These patients were then evaluated during two and a half years, being submitted to examinations with somatosensitive evoked potential to evaluate neurological recovery after undifferentiated cell infusion. Twenty-six patients (66,7%) were positive for evoked potential, that is, they presented cortical response to peripheral stimuli. In two and a half year, this protocol was safe for the patients and cause positive answers for evoked potentials in patients with complete spinal cord lesion.

DESCRIPTORS: 1.paralysis 2.spinal cord injuries 3.stem cells 4.central nervous system/injuries 5.humans

1. INTRODUÇÃO

Estima-se que a incidência anual das lesões medulares através dos vários países do mundo esteja em torno de 15 a 40 casos novos por milhão **(Fardon et al., 2002)**. Nos Estados Unidos, a incidência dessas lesões aumenta progressivamente nos últimos 20 anos: em 1957 é de 10 casos novos/ano/milhão de habitantes e em 1995, de 28 a 50 casos novos/milhão de habitantes, cerca de 10 a 20 mil casos novos por ano **(Greve, 1995)**. No Brasil, a incidência do traumatismo raquimedular encontra-se em torno de 40 casos novos/ano/milhão de habitantes, cerca de 6 a 8 mil casos novos/ano **(Greve, 1997)**. No Estado de São Paulo, dados da Secretaria de Estado da Saúde do Estado de São Paulo, mostram aproximadamente 1.750 casos novos/ano e uma população atual de aproximadamente 250.000 pacientes com lesão medular.

Historicamente, a mais antiga descrição da lesão da medula espinal encontra-se nos papiros de Edwin Smith, datado de 1700 a.C., que relatam que as fraturas da coluna vertebral como sendo uma “enfermidade que não deve ser tratada” **(Breasted, 1930; Hughes, 1988)**. Credita-se a Hipócrates o avanço no tratamento das lesões da coluna. O método Hipocrático de tratamento com o uso da tração axial para a redução e o alinhamento vertebral, aplicando-se uma força anterior à gibosidade, perdura por séculos. Durante a primeira metade do século XX, com o advento da radiologia, foi

possível um melhor entendimento da fisiopatologia das fraturas da coluna vertebral. Novo avanço no tratamento cirúrgico das fraturas da coluna vertebral ocorreu com a estabilização das fraturas com placas e parafusos. O desenvolvimento dos equipamentos e dos materiais cirúrgicos tem permitido a redução e a estabilização dessas e, por conseqüência, melhores resultados funcionais.

A observação clínica mostra que a evolução das lesões do sistema nervoso central é totalmente diferente daquela observada nas lesões do sistema nervoso periférico. Inúmeros estudos experimentais demonstram que o microambiente criado após a lesão do sistema nervoso central seria desfavorável e até mesmo inibidor das tentativas de regeneração e crescimento axonal, ao contrário do observado no sistema nervoso periférico **(Gebrin et al., 1997)**.

No início deste século, são realizados os primeiros experimentos acerca da fisiopatologia da lesão medular por **Allen (1911,1914)**. Contudo, esses trabalhos só são retomados na década de oitenta por investigadores que começam a valorizar as mudanças tempo dependentes na patologia do trauma raquimedular **(Anderson, 1982; Balantine, 1985)**.

O déficit neurológico decorrente da lesão da medula espinal advém da somatória de dois eventos distintos: a lesão mecânica inicial ou primária e a lesão endógena secundária conseqüente à primeira **(Goodkin e Campbell,**

1969; Kakulas e Bedbroock, 1976; Balantine, 1978; Wagner et al., 1978; Demapoulos et al., 1980; Balantine, 1985).

A lesão primária é produzida pelo trauma em si, com morte celular e liberação de eletrólitos, metabólitos e enzimas, sendo, portanto um processo mecânico que independe de controle celular. A lesão secundária da medula espinal envolve complexas mudanças bioquímicas, surgindo como cascata de eventos envolvendo edema, inflamação, isquemia, reperfusão, fatores de crescimento, metabolismo do cálcio e peroxidase lipídica na qual têm se concentrado os esforços científicos para possibilitar seu controle (**Green e Wagner, 1973; Sandler e Tator, 1976; Ducker et al., 1978; Rivlin e Tator, 1978; Wagner et al., 1978; Balantine, 1985; Janssen e Hansebout, 1989; Holtz et al., 1989; Noble e Wrathall, 1989; Tator e Fehlings, 1991; Dusart e Schwab, 1994).**

Indivíduos com lesões medulares incompletas apresentam recuperação neurológica, mas pacientes com lesão medular completa apresentam recuperação muito mais limitada e restrita aos primeiros dois anos de lesão (**Waters et al., 1995; Becker et al., 2003).**

O tratamento ideal para a lesão medular propriamente dita seria aquele que não apenas diminuísse a lesão, mas que também estimulasse o processo de reparação. Ao contrário do que se acredita, está provado que

neurônios fora do sistema nervoso central, na medula espinal imatura e em meios especiais de cultura podem se regenerar (**McDonald, 1999**).

Para melhoria da qualidade de vida do paciente com lesão medular, a medula não necessariamente precisa ser totalmente reconstruída. Benefícios desproporcionais podem ser obtidos de mínimas reparações anatômicas (**Blight, 1983**). O paciente pode não readquirir a capacidade de deambular, mas a melhora de controle esfinteriano, a recuperação da musculatura respiratória ou da função da mão representam melhorias importantes para estes pacientes.

Nas últimas duas décadas, realizam-se várias pesquisas na tentativa de obter um tratamento mais efetivo para a lesão da medula espinal. Todas essas pesquisas envolvem basicamente quatro formas de abordagem do paciente com lesão medular: a cirúrgica, a farmacológica, a biológica e a com meios físicos.

Cirurgicamente, a descompressão medular e a estabilização da coluna são os métodos mais comumente empregados. O papel da estabilização da coluna é ressaltado por **Legos et al. (2002)** em artigo de revisão, mas o papel da descompressão medular bem como o momento ideal para a realização do procedimento cirúrgico permanecem controversos na literatura (**Fehlings e Tator, 1999; La Rosa et al., 2004**). Até o momento,

as cirurgias reparadoras da medula e restauradoras da função neurológica mostram-se pouco eficazes (**McDonald,1999; Barros et al., 2003b**).

Quanto à abordagem farmacológica, a proposta é o emprego de drogas moduladoras das respostas endógenas na lesão primária a fim de limitar o dano tecidual e melhorar o potencial de recuperação funcional destes pacientes. Estas drogas visam interromper os mecanismos fisiopatológicos de lesão neuronal secundária.

Avanços clínicos e científicos indicam que as lesões agudas na medula espinal podem ser manipuladas por terapêuticas farmacológicas utilizadas num curto espaço de tempo. A metilprednisolona administrada dentro das primeiras oito horas pós-trauma foi o primeiro agente farmacológico a demonstrar melhora na recuperação do trauma raquimedular em seres humanos. A metilprednisolona tem como fator de contra-indicação a administração em pacientes politraumatizados devido aos seus efeitos sistêmicos (**Hall e Braughler, 1981, 1982; Braughler, 1985; Hall et al., 1984; Anderson et al., 1988; Hall et al., 1987; De Ley e Leybaert, 1993; Bracken, 1993; Hall, 1993**). Outras drogas, como tirilizade (**Hall et al., 1987; Anderson et al., 1988; Hall, 1988**) e os gangliosídeos (**Gorio, 1987; Cuello et al., 1989; Geisler et al., 1991; Karpiak et al., 1991; Geisler et al., 1993; Walker e Harris, 1993; Young, 1995**), ainda sob investigação clínica, apresentam resultados preliminares promissores. Em última análise a farmacologia contribui na prevenção do dano secundário.

Os meios físicos também são empregados com o intuito de minimizar os danos medulares secundários. Os principais meios pesquisados são a hipotermia e o oxigênio hiperbárico.

Vários estudos demonstram os efeitos benéficos locais com o resfriamento medular por perfusão ou irrigação com solução salina hipotérmica (**Ducker e Hamit, 1969; Albin e White, 1987; Kelly et al., 1970, 1972**). Essa abordagem é baseada na suposição de que a temperatura baixa protege os tecidos do sistema nervoso central contra os efeitos da hipóxia e da isquemia. Entretanto, é uma técnica de difícil aplicação que apresenta alta taxa de mortalidade, tornando preocupante a sua aplicação clínica (**Schwab e Bartholdi, 1996**).

A terapia com oxigênio hiperbárico é uma modalidade terapêutica fundamentada na obtenção de pressões parciais elevadas de oxigênio tecidual, ao se respirar o oxigênio puro no interior de uma câmara hiperbárica a uma pressão superior à da atmosfera (**Galvão, 2003**). A justificativa para este tipo de abordagem terapêutica baseia-se no fato de que a diminuição da perfusão pode ser compensada pelo aumento da pressão parcial de oxigênio. Contudo, os dados são ainda apenas experimentais.

Conceitua-se como terapia biológica à utilização de fatores que estimulam a regeneração neuronal. Com essa finalidade empregam-se fatores de crescimento tecidual e células tronco (totipotentes, pluripotentes

ou multipotentes; autólogas ou homólogas). São terapias que, devido ao curto prazo de seguimento e de avaliação, ainda não apresentam dados concretos sobre os resultados, entretanto, apesar das controvérsias, consiste numa possibilidade futura de se obter a cura.

Restaurar a integridade dos circuitos neuronais tem-se demonstrado a principal forma de recuperação neurológica em pacientes com lesão medular. No entanto, a reconstrução destes circuitos ainda não foi bem sucedida, nem em cobaias, nem em humanos. Contudo, existem evidências de reconstruções parciais, como em tecido do núcleo estriado fetal transplantado para tratar Doença de Huntington em ratos e seres humanos **(Bachoud-Levi et al., 2000; Hauser et al., 2002)**; e transplante de neurônios dopaminérgicos de fetos humanos para pacientes com Doença de Parkinson **(Piccini et al., 1999, 2000; Freed et al., 2001)**.

Células tronco são células indiferenciadas, multipotentes, com capacidade de proliferar e originar células de qualquer linhagem, formando qualquer tecido do organismo. O crescente entusiasmo em sua utilização deve-se também a artigos que provam que tais células, a partir de sinalizações recebidas do tecido em que são implantadas, podem se diferenciar em células destes tecidos e desempenhar suas funções **(Potten e Loeffler, 1990; Gage et al., 1995; Pittenger et al., 2000)**.

As células tronco classificam-se em embrionárias, achadas na massa celular interna do blastocisto (embrião), ou em células tronco somáticas ou adultas, encontradas em tecidos desenvolvidos do feto, recém-nascido ou no adulto. As células tronco somáticas são obtidas da medula óssea, do sangue periférico, do cordão umbilical e do fígado fetal.

Na medula óssea do adulto existem pelo menos duas populações de células tronco progenitoras: as células progenitoras hematopoéticas e as células progenitoras mesenquimais.

As células progenitoras hematopoéticas expressam uma glicoproteína de membrana que permite sua identificação e quantificação, o antígeno CD34. Outras células que a expressam são: célula endotelial, fibroblasto embrionário e algumas células do tecido nervoso fetal e adulto. As células progenitoras mesenquimais não apresentam nenhum marcador de superfície celular conhecido, sendo identificadas somente pela cultura celular.

Essas duas populações de células estão presentes na medula óssea e em condições normais apenas 0,1% delas circulam no sangue periférico. Este número pode ser aumentado em aproximadamente 30-50 vezes após a administração de fatores estimuladores de colônias hematopoéticas, especialmente o fator estimulador de colônias de granulócitos humanos metionil recombinante não glicosado (Filgrastima, G-CSF).

A utilização de implantes de células tronco prova sua utilidade no tratamento da Doença de Parkinson e na Doença de Huntington (**Bjoklund e Lindvall, 2000**).

Recentemente, vários artigos são publicados contrariando a antiga tese de que células do sistema nervoso central são incapazes de se renovar e de multiplicar (**Reynolds e Weiss, 1992; Morshead et al., 1994; Doetsch et al., 1997; Johansson et al., 1999; Kempermann e Gage, 1999; Temple e Alvarez-Buylla, 1999**).

A utilização de transplante de células indiferenciadas e células precursoras em estudos para tratamento da lesão medular tem cerca de dez anos. O modo como tais células podem vir a atuar na reparação de uma lesão do sistema nervoso ainda permanece controversa, mas certamente envolve fenômenos como a reconstrução funcional de circuitos neuronais com o restabelecimento de sinapses ou interconexões com as células hospedeiras; a produção de substâncias neuroquímicas como neurotransmissores, fatores de crescimento e anticorpos; na remielinização de axônios íntegros que deixaram de conduzir impulsos elétricos por estarem desmielinizados (**Freed et al., 2001; Okano, 2002**).

Em animais, prova-se que células indiferenciadas transplantadas na medula normal ou lesada podem se diferenciar em neurônios ou em células da glia (**McDonald, 1999**). Células precursoras de neurônios são isoladas e

expandidas em culturas na presença de mitógenos, e quando transplantadas originam neurônios e oligodendrócitos. Podem ainda diferenciar-se em astrócitos, evidenciando que os sinais do ambiente são determinantes na especificação da linhagem (**Akiyama et al., 2001; Cao et al., 2001**).

Células progenitoras transplantadas em ratos com lesão medular sobrevivem, migram e diferenciam-se em células do sistema nervoso como neurônios, astrócitos e oligodendrócitos. A diferenciação depende da sinalização do tecido hospedeiro e tais células continuam dividindo-se, diminuem a reação inflamatória em lesões agudas e melhoram o desempenho de marcha dos ratos transplantados (**McDonald e Howard, 2002**).

Enxertos de medula de embriões humanos já demonstraram que quando transplantados na cavidade da lesão medular de adultos causam efeitos morfológicos benéficos (**Akesson et al., 2001**).

Altera-se outro conceito ao provar-se que células adultas podem ser reprogramadas para expressar genes típicos de células diferenciadas de qualquer uma das três linhagens: mesoderma, ectoderma e endoderma. Este fato permite a constatação de que o estado diferenciado das células é reversível e que requer regulação contínua do meio, possibilitando estudos como o que prova que, após irradiação letal, células derivadas da medula óssea administradas endovenosamente originam células que expressam genes específicos de neurônios (**Brazelton et al., 2000**).

2. OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da infusão de células progenitoras indiferenciadas autógenas no tratamento de 39 pacientes com lesão medular crônica.

3. REVISÃO DA LITERATURA

McVeight (1923) estuda as mudanças ocorridas em cães submetidos à lesão da medula espinal através de compressão digital no nível TVII-TVIII e medulas espinais obtidas de cadáveres frescos que também são submetidas à compressão entre os dedos. Observa edema na coluna lateral e anterior oito horas após a lesão que progride até o 2º dia. A hemorragia está presente na substância cinzenta e se estende acima e abaixo do nível da lesão e através da substância branca anterior e lateral. Acredita que as lesões experimentais produzidas em cães e em medulas espinais humanas obtidas de necropsia são comparáveis às lesões medulares que ocorrem nos homens em todos os aspectos, especialmente no que diz respeito aos fatores mecânicos que causam a lesão e às mudanças observadas nas alterações histológicas.

Holdsworth (1953) citado por **Holdsworth (1970)** padroniza o tratamento através da classificação das fraturas em estáveis e instáveis. Define as lesões completas como aquelas em que não há função neurológica nos níveis distais à lesão podendo ser reversíveis ou irreversíveis, não ocorrendo recuperação neurológica na persistência de déficit depois de finalizada a fase de choque medular.

Woodward e Freeman (1956) estudam experimentalmente a isquemia da medula espinal em 27 cães adultos, através da secção dos vasos sanguíneos juntos com os pares de raízes nervosas de TVI a TXI, e os animais sacrificados entre uma e quatro semanas após a lesão. Encontram mudanças precoces na avaliação histológica. Na isquemia leve há a perda de neurônios no corno dorsal, seguida da redução da substância cinzenta posterior com separação passiva dos elementos neurais intersticiais e pela formação de cavitação. Em graus mais graves de isquemia, ocorre necrose dos tratos longos e dos elementos neurais, e redução no número de neurônios, produzindo quadro de mielomalácia com cavitação.

Ducker e Hamit (1969) avaliam tratamentos experimentais em cães submetidos à lesão experimental por queda de peso de 25g de uma altura de 15cm. Comparam quatro grupos: grupo 1: controle sem tratamento específico; grupo 2: os animais que recebem tratamento com hipotermia local através da irrigação da ferida com solução salina circulando através de um tubo com água gelada a 0°C na taxa de 75 a 100ml/min.; grupo 3: tratados com administração de dexametasona, aplicados por via intramuscular três horas após a lesão. A dose de dexametasona é de 0,5mg/kg/24h no dia do trauma e 0,24 mg/kg/24h no 1º dia de pós-operatório administrada em doses divididas e doses 1,3mg/kg/24h de metilprednisolona nos sete dias subsequentes. No grupo 4: os animais recebem uma única dose de metilprednisolona de 8mg/kg intratecal administrada sob visão direta. A avaliação da recuperação neurológica é baseada na escala de

função motora de Tarlov. Observam melhora estatisticamente significativa e melhor recuperação neurológica, nos grupos que recebem dexametasona intramuscular e hipotermia local.

Holdsworth (1970) publica artigo baseado na observação de mais de 1000 pacientes paraplégicos ou tetraplégicos após trauma. Descreve a anatomia e os mecanismos do trauma, as características radiográficas e o diagnóstico da lesão neurológica. Mostra casos com fraturas estáveis, luxações e fraturas-luxações, rotacionais e por cisalhamento. Defende que a presença de sensibilidade sacral e da função motora distal à lesão são indicativos de uma lesão medular incompleta. Advoga ainda, a redução aberta e a fixação interna das fraturas, com placas inseridas nos processos espinhosos, com o objetivo de restaurar o alinhamento da coluna e prover melhores condições de recuperação neurológica. Recomenda também cautela quanto à realização da laminectomia em pacientes com lesão medular, devido à falha em demonstrar recuperação neurológica significativa e aumento do potencial desses pacientes de desenvolverem deformidades espinais tardias e piora do déficit neurológico.

Kelly et al. (1970) avaliam os efeitos da hipotermia local e os níveis de oxigênio tecidual em cães submetidos à lesão por impacto de queda de peso, concluindo que a hipotermia oferece proteção à medula espinal traumatizada pela diminuição da demanda metabólica.

Ducker et al. (1971) realizam estudo prospectivo, randomizado, com 32 macacos *Rhesus* pesando entre 4 a 8kg, submetidos ao trauma por queda de peso de 10, 15, 20 e 25g em forma de cilindro da altura de 20cm, de forma que a resultante do impacto sobre a medula é de 200g/cm, 300g/cm, 400g/cm, 500g/cm respectivamente. São divididos em quatro grupos de oito animais cada, sendo que cada grupo é randomizado novamente dentro de categorias agudas e subagudas, sendo os primeiros sacrificados seis horas após a lesão e os últimos cinco a seis dias após a lesão. Os achados patológicos na microscopia são graduados sem conhecimento da quantidade prévia de trauma. Nos animais categorizados como agudos, o edema, a diapedese, a hemorragia petequiral, a hemorragia em chama e o hematoma globular são graduados em leve, moderado e grave. Nos animais subagudos, o edema, a desmielinização, a necrose, a hemorragia e a deformidade vascular também são similarmente graduados. Os animais subagudos também são submetidos a testes neurológicos motor, sendo o exame sensitivo considerado não objetivo. Os níveis funcionais são graduados de zero a quatro, onde 0= capacidade de correr com pequeno ou com nenhum déficit motor, 1= a capacidade de ficar em pé, caminhar e correr embora com espasticidade, 2= bom movimento dos membros os quais permitem ao animal ficar em pé, mas não andar e 4 = paraplegia completa sem nenhum movimento voluntário. Observam que os vários graus de progressão do trauma medular desde uma pequena área de necrose central até uma extensa necrose central bem com necrose periférica são dependentes e diretamente relacionados à gravidade do trauma. Não

concluem porque a substância cinzenta é mais vulnerável, mas que provavelmente a anatomia, o metabolismo celular, o suprimento arterial e a drenagem venosa contribuem para o efeito cumulativo da fragilidade do centro da medula. Concluem que o desenvolvimento das mudanças patológicas não é paralelo às condições clínicas, enquanto pode haver melhora nos achados clínicos, as mudanças patológicas podem ser progressivas em gravidade por aproximadamente uma semana mesmo na presença de melhora clínica, que as mudanças são inicialmente mais proeminentes no centro da medula, mesmo sendo o trauma dirigido à sua superfície e que a localização e a progressão da área medular lesada são dependentes da quantidade de trauma aplicado. Em traumas leves, o animal se recupera e as mudanças são somente centrais. Em traumas moderados com paresia significativa, as mudanças também envolvem a substância branca adjacente. Em traumas graves com resultante paraplegia, as mudanças envolvem toda a substância medular.

Fairholm e Turnbull (1971) estudam prospectivamente 34 coelhos, pesando entre 2 e 3kg e cinco cães com modelo de contusão por queda de peso. Os animais são sacrificados em tempos variáveis desde 19 minutos até 14 dias após a lesão. Após o sacrifício são infundidos com solução coloidal de bário e a microangiografia de sete a 14 dias após o trauma define duas zonas de lesão na medula espinal: zona 1, localizada na porção póstero-central da medula espinal os capilares dessa região perdem progressivamente a capacidade de condução de sangue, e a zona 2 ao

redor da zona 1 com padrão microvascular normal. Concluem que a recuperação dos neurônios e axônios danificados depende da preservação da microcirculação.

Wagner et al. (1971) apresentam estudo prospectivo com 27 macacos *Rhesus* adultos, utilizando o modelo de impacto por queda de peso de 20 g e de uma altura de 15cm, gerando uma força de contusão de 300 g/cm ao nível de TX. Esses animais (n=18) são divididos em cinco grupos e, os segmentos da medula sujeitos ao trauma são removidos em diferentes intervalos de tempo pós-contusão: 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 1 hora e 4 horas. Em nove animais a laminectomia é realizada, mas a medula espinal não é traumatizada, servindo como grupo controle. Um adicional de quatro animais é traumatizado e mantido vivo durante seis meses, durante os quais são realizados exames motores freqüentemente. Notam que, neste grupo, denominado de grupo crônico todos os animais apresentam paralisia sensitiva e motora completa das extremidades inferiores. Dentro de 12 horas, movimentos isolados dos dedos são presentes, em torno de 24 horas frágeis respostas de reação são obtidas aos estímulos dolorosos entre sete e 10 dias, todos os animais são capazes de se mover facilmente em suas gaiolas e em seis meses os animais são indistinguíveis dos não operados. Nas observações da microscopia, nota-se após cinco minutos que a aparência da medula espinal não está grandemente alterada, estando os vasos distendidos, mas intactos, e são observados fluidos serosos, mas não formação de trombos. Após 15 minutos, constatam-se rupturas isoladas de

vasos mais finos com extravasamento de eritrócitos para os espaços perivasculares dentro da substância cinzenta central. Após 30 minutos, os eritrócitos e o fluido seroso são notados em discretas coleções nos espaços perivasculares e estendem-se dentro e ao redor do parênquima. Entre uma e quatro horas, as hemorragias perivasculares inicialmente discretas começam a coalescer, essas alterações não estão mais confinadas ao canal central e corno dorsal, mas são evidentes na substância branca. Essas alterações edematosas menos marcantes observadas nas camadas mais internas da substância branca em contraste com as mudanças hemorrágicas na substância cinzenta explicam em parte a natureza transiente da paraplegia.

Tator e Deecke (1973) estudam o valor da perfusão hipotérmica, normotérmica e da durotomia, em lesão experimental em macacos *Rhesus*. Observam que a perfusão hipotérmica e a normotérmica melhoram a recuperação neurológica, mas em compressões maiores somente a perfusão normotérmica produz melhora significativa. Esses resultados indicam que o modo como a perfusão exerce seu efeito benéfico é desconhecido, mas sugestivo que a diálise de substâncias nocivas da medula espinal lesada tem um importante papel na recuperação neurológica.

Hansebout et al. (1975) estudam os efeitos da hipotermia e dos corticosteróides no tratamento de cães fêmeas adultas, submetidas à lesão experimental da medula espinal pelo método de compressão com balão por um período de tempo de uma hora. Os animais submetidos à experimentação

são divididos em cinco grupos; somente laminectomia; laminectomia e aparato de troca de calor a 37°C; laminectomia + lesão; laminectomia, lesão, corticosteróide; laminectomia, lesão, resfriamento a 6°C por quatro horas. Observam, após sete semanas, que os grupos que recebem tratamento, qualquer corticosteróide ou resfriamento, conseguem taxas de recuperação motora significativamente superiores aos do grupo não tratado. O grupo não tratado é incapaz de caminhar, enquanto que os dois grupos tratados são capazes. Os grupos que não sofrem lesão necessitam de duas semanas para total recuperação motora. Não há diferença significativa entre o grupo no qual é realizada a laminectomia e o grupo que recebe o aparato de troca de calor a 37°C (normotérmico).

Yeo et al. (1975) estudam autópsias de pacientes que sofrem lesão medular e observam que, embora aparentemente intactos, os neurônios contundidos têm cessado sua função, e que através de métodos químicos ou físicos podem ser parcialmente revertidos. Procuram diferenciar a concussão, a contusão e a laceração em medulas recentemente lesadas em ovelhas. Tentam reproduzir a lesão contusa experimental em animais, a seqüência dos eventos patológicos, e o uso de mielografia com isótopos para definir o grau de lesão da medula espinal. Observam uma tendência similar nos padrões de recuperação sensitiva e motora, sugerindo que a isquemia e a hipóxia poderiam contribuir significativamente na patogênese da paraplegia pós-traumática.

De La Torre et al. (1975) em artigo de revisão sobre as estratégias de pesquisa básica e aplicada sobre lesão medular, analisam os modelos experimentais, as técnicas de avaliação do trauma medular experimental, os estudos neurofisiológicos e morfológicos, o mecanismo vascular e o fluxo sanguíneo medular, as mudanças bioquímicas e metabólicas e o tratamento da lesão medular aguda e crônica. Na lesão crônica, destacam três possíveis caminhos de regeneração axonal no sistema nervoso central: 1- brotamento colateral, 2- plasticidade e 3- regeneração axonal. Referem que a regeneração pode ser conseguida através de transplante de tecido neural (células fetais) e o uso de fatores de crescimento. Citam a existência de evidências de sobrevivência e crescimento dessas células.

Kuchner e Hansebout (1976) avaliam cães submetidos à lesão experimental com compressão por balão extra-dural, e submetidos a tratamento isolado com dexametasona, hipotermia sem irrigação, ou associação de dexametasona e hipotermia sem irrigação. A hipotermia é realizada através da colocação de uma bolsa de silicone (Silastic) local com conteúdo fluido resfriado entre 6° e $\pm 3^\circ$, não havendo a possibilidade da irrigação contribuir para a recuperação funcional. Constatam que os grupos que recebem tratamentos isolados com dexametasona e hipotermia apresentam a capacidade de deambulação enquanto o grupo não tratado não pode caminhar. O grupo que recebe tratamento associado de hipotermia e dexametasona é o que apresenta melhor índice de recuperação motora final.

Yeo et al. (1977) estudam os resultados das mudanças patológicas associadas com a necrose central pós-traumática da medula espinal em ovelhas submetidas à lesão experimental pelo modelo de queda de peso. Separam-nas em: grupo controle, isto é, sem tratamento algum a não ser os cuidados básicos e ovelhas tratados com metilprednisolona intratecal, alfa metil paratirosina e oxigênio hiperbárico. Encontram, no grupo sem tratamento, intensa necrose da substância cinzenta central e microcistos e desmielinização ao redor e na substância branca com vários graus de fibrose, gliose, e extensa degeneração cística central. Apesar do intenso grau de degeneração havia recuperação motora significativa com todos os animais desse grupo recuperando pelo menos os movimentos antigravitacionais. Nenhum animal do grupo controle ou dos grupos tratados obtém recuperação motora total. No grupo dos animais tratados com metilprednisolona intratecal, o grau de degeneração cística central e de desmielinização pareciam idênticos ao do grupo não tratado. No grupo tratado com alfa metil paratirosina há recuperação motora significativa e menor degeneração cística central e microcistos na substância branca. Nos animais tratados com oxigênio terapia hiperbárica há melhora significativa da recuperação motora por um período de oito semanas depois da lesão e menor degeneração cística central e formação de microcistos nas colunas anterior e lateral. Na análise estatística há melhora em todas as semanas com exceção da quinta semana. A possível aplicação clínica da alfa metil paratirosina é impedida pela sua toxicidade renal.

Balentine (1978) estuda a lesão necrótica da medula espinal em ratos adultos, submetidos à lesão experimental pelo modelo de queda de peso, através da análise da mudança patológica seqüencial das alterações dos vasos sanguíneos e da necrose tecidual da medula espinal em períodos de tempo que variam de três a cinco minutos após a lesão, 30 minutos, uma hora, duas horas, quatro horas, oito horas, e uma semana. Esse estudo confirma a evolução seqüencial do desenvolvimento de necrose primeiro na substância cinzenta e depois na substância branca. A observação dos vasos sanguíneos demonstra que a necrose é devida à ruptura dos vasos sanguíneos encontradas imediatamente após o trauma.

Rivlin e Tator (1978) estudam prospectivamente o fluxo sanguíneo regional em 12 ratos *Wistar*, pesando entre 350 e 400g, sendo o fluxo regional medido em cinco minutos, duas horas e 24 horas após a lesão. Utilizam a técnica radiográfica com C-antypirina para avaliação do fluxo sanguíneo. Concluem que lesões por compressão medular grave produzem severa isquemia pós-traumática na medula espinal, por pelo menos 24 horas. Descrevem um novo modelo de lesão medular através da utilização de cliques de aneurisma modificados para compressão, colocados ao redor da medula.

Young et al. (1981) estudam prospectivamente os efeitos do naloxene em 25 gatos adultos, submetidos à lesão traumática da medula espinal em modelos de impacto por queda de peso. Estudam o fluxo

sanguíneo da medula espinal através da depuração de hidrogênio, observando melhora do fluxo sangüíneo no grupo tratado com naloxene em comparação com o grupo controle sem tratamento e com o grupo que recebe solução salina. Observam também a preservação da função sensitiva e o potencial evocado somato-sensitivo, registros de eletrodos bipolares no espaço epidural, em 24 horas pós-lesão no grupo tratado com naloxene.

Anderson et al. (1982) estudam prospectivamente gatos adultos, fêmeas com lesão medular e os dividem em três grupos. O primeiro grupo não recebe tratamento, o segundo é tratado com altas doses de metilprednisolona (15mg/Kg/24h) e o terceiro, com megadose de metilprednisolona (60mg/Kg/24h). Avaliam a microvascularização no sítio da lesão por método indireto, através do uso de carbono coloidal. Observam que o grupo tratado com altas doses de metilprednisolona apresenta preservação substancial da perfusão microvascular quando comparado com o grupo não tratado.

Young e Flamm (1982), em estudo prospectivo, submetem 15 gatos adultos à lesão traumática pelo modelo de contusão de impacto por queda de peso de 400gm-cm; e formam três grupos: 1º grupo sem tratamento, 2º grupo recebe a dose de 15mg/Kg de succinato sódico de metilprednisolona 45 minutos após a lesão e o 3º grupo que recebe a dose de 30mg/Kg de succinato sódico de metilprednisolona. Observam que no grupo tratado com altas doses de metilprednisolona (30mg/Kg) ocorre melhora do fluxo

sangüíneo na primeira hora após lesão, medido pela depuração de hidrogênio. Há melhora da concentração de cálcio extracelular e do potencial evocado somato-sensitivo ativado pela estimulação do nervo ciático e registrados bipolarmente por eletrodos colocados no espaço epidural sobre o córtex somato-sensitivo. Esses dados sugerem que o tratamento com altas doses de corticosteróide causa dilatação dos vasos sangüíneos da medula espinal. O conseqüente aumento do fluxo sangüíneo pode explicar os efeitos benéficos das altas doses de corticosteróide na recuperação funcional.

Hansebout et al. (1984) avaliam prospectivamente 10 pacientes com lesão da medula espinal, através da administração de dexametasona 20mg no momento da admissão na sala de emergência e 6mg a cada seis horas por 11 dias, e associação com procedimento cirúrgico para colocação do aparato de troca de calor para resfriamento a 6°C por quatro horas. Durante o procedimento cirúrgico é realizada a descompressão medular, associada a artrodese na região cervical, e haste de Harrington na região torácica. Todos os pacientes recebem essa combinação de tratamento dentro de oito horas e trinta minutos da lesão. Revisam 52 casos na literatura mundial e encontram uma taxa de recuperação neurológica de 48%, taxa de deambulação de 17% e taxa de mortalidade em um ano de 17%. Encontram, no seu estudo, taxa de deambulação de 10% e taxa de mortalidade de 10%, considerando esses resultados melhores do que os dos tratamentos tradicionais quando comparados com os da literatura (27 a 37% de taxa de mortalidade em um ano e 2% de taxa de deambulação).

Gale et al. (1985) realizam um estudo de análise comportamental em ratos submetidos à lesão por contusão da medula espinal. Com base nessa análise, desenvolvem um protocolo para avaliação do déficit funcional. Esse protocolo é administrado por pessoas treinadas e consiste de uma contagem comportamental combinada de vários testes em que o componente principal da avaliação comportamental é a escala motora, que envolve uma avaliação passiva das patas traseiras (membros posteriores) dos animais. Os animais são observados em campo aberto, sendo cada membro traseiro observado individualmente e graduado em: 0- nenhum movimento das patas traseiras, nem suporte de peso; 1- movimento fracamente perceptível dos membros traseiros, mas sem suporte de peso; 2- movimentos freqüentes e/ou vigorosos nos membros traseiros mas sem suporte de peso; 3- suporte de peso nos membros traseiros, pode trocar um ou dois passos; 4- caminhar com déficit leve; 5- caminhar normal.

Noble e Wrathall (1985) estudam as alterações morfométricas da medula espinal em 51 ratos *Sprague-Dawley* submetidos à lesão medular experimental pela técnica de queda de peso de 10 gramas, da altura de 2,5; 5,0; 7,5; 10; 17,5cm. Quatro semanas após a lesão, o volume, a extensão e as dimensões do tecido no epicentro da lesão (área de lesão, área da substância branca e área da sustância cinzenta), são medidos e correlacionados com a altura da queda do peso e os resultados do déficit comportamental, motor e sensitivo. Concluem que a técnica de queda de peso pode ser usada em ratos para produzir lesões

leves, moderadas e graves, sendo, portanto, uma técnica apropriada para prover estudos com modelos de ratos para estudar a lesão contusa da medula espinal.

Fine et al. (1986) encontram, como maior causa de lesão medular, os acidentes com veículos motorizados (47%), quedas (21%), atos de violência (14%), esportes (14%) e outras causas (3%). Em relação à etiologia dessas lesões 61% a 77% ocorrem entre as idades de 16 a 30 anos, com exceção do grupo em que a etiologia da lesão é a queda a qual apresenta um número significativo de pessoas idosas (61%). Há predominância de homens com somente 18% de pacientes mulheres, e desses, 54% apresentam tetraplegia e 46% paraplegia. Esse estudo é realizado no Centro Nacional de Traumatismo da Medula Espinal da Universidade do Alabama, com 9.647 pacientes com trauma raquimedular.

Albin e White (1987) demonstram que o trauma da medula espinal além da destruição mecânica desencadeia hemorragia, diminuição da perfusão, hipóxia tecidual, edema e finalmente necrose dos elementos neurais.

Janssen e Hansebout (1989), em revisão sistemática da literatura, analisam a patogênese da lesão da medula espinal e os novos tratamentos químicos e físicos que podem diminuir o dano secundário entre eles e encontram que a terapia com oxigênio hiperbárico demonstra resultados

positivos. A razão pela qual é explicada essa abordagem é que a diminuição da perfusão tecidual pode ser compensada pelo aumento dos níveis de oxigênio no sangue. Concluem que obviamente nos casos onde ocorre cessação completa da circulação na área medular lesada esse tratamento pode não ser efetivo.

Noble e Wrathall (1987) descrevem um modelo de aparelho para provocar lesão experimental por contusão da medula espinal em ratos, utilizam a queda de peso. Utilizam pinças para fixar os processos espinhosos adjacentes e com essas modificações diminuem as variáveis que podem produzir lesões assimétricas, sendo a energia de impacto direcionada mais para a medula espinal com diminuição do efeito amortecedor da caixa torácica, da coluna vertebral e dos movimentos respiratórios, tornando-se um dos modelos mais utilizados atualmente.

Barros Filho et al. (1990), em estudo retrospectivo, analisam 428 casos no período de 1982 a 1987, encontrando como etiologias mais freqüentes os ferimentos por arma de fogo (36,7%), acidentes em água rasa (7,7%), queda de objeto sobre o paciente (4,2%), e outras causas (2,3%). Chamam a atenção para o fato de que neste estudo 28% dos pacientes são atendidos nas primeiras seis horas, 33,3% são atendidos no hospital um dia após o acidente e 3,3% são atendidos no hospital com 15 dias ou mais do acidente.

Goldberger et al. (1990) propõem critérios para avaliação da recuperação da função depois da lesão da medula espinal através de métodos comportamentais. Discutem a necessidade de reconhecimento das capacidades comportamentais específicas não conhecidas durante a recuperação neurológica e que na maioria dos casos não se distingue entre a recuperação das funções inicialmente perdidas e o uso de mecanismos de compensação. Acreditam e sugerem métodos através dos quais se possam analisar a natureza particular do déficit comportamental e definir qual capacidade comportamental retorna e qual falha em se recuperar. A melhora da análise comportamental leva a hipóteses sobre os mecanismos de recuperação da função.

Geisler et al. (1991) realizam estudo prospectivo randomizado duplo-cego com gangliosídeo GM-1 em 37 pacientes com lesão medular. Desses, 34 completam o experimento. Iniciam o tratamento nas primeiras 72 horas após a lesão e passam a receber diariamente 100mg de GM-1 por um período de 18 a 32 dias. São avaliados pela escala de Frankel e pela American Spine Injury Association – ASIA. Observam evidências de que o GM-1 aumenta a recuperação da função neurológica após 1 ano. Sugerem que um grande estudo deva ser conduzido antes de se considerar eficaz e seguro o tratamento da lesão medular com GM-1.

Tator e Fehlings (1991) procuram comprovar através de estudos microangiográficos a lesão isquêmica secundária através do uso do

angiograma de carbono coloidal com o uso de vários modelos de lesão medular experimental na tentativa de simular o trauma medular agudo tipo compressão: modelo de queda de peso, tração e o grampo de compressão extra-dural. Concluem que existem fortes evidências de que a isquemia pós-traumática é um importante mecanismo de lesão secundária e que esses efeitos vasculares podem ser tratados.

Bracken et al. (1992), em estudo prospectivo, randomizado, duplo-cego, multicêntrico, em pacientes com lesão medular aguda, observam que os pacientes que recebem metilprednisolona dentro de oito horas após a lesão, na dose de 30mg/kg em bolo na primeira hora e 5,4mg/kg/h por 23 horas, apresentam melhora da função neurológica nas primeiras seis semanas e no sexto mês. O grupo tratado com naloxene (5,4mg/kg em bolo na primeira hora e 4,0mg/kg/h por 23 horas) não apresenta recuperação significativamente maior. Os pacientes tratados após oito horas, recebendo metilprednisolona ou naloxene, apresentam menor recuperação da função motora quando comparados ao grupo placebo. Concluem que o tratamento com a dose utilizada de metilprednisolona é indicado para o trauma agudo da medula espinal, mas somente se iniciado dentro de oito horas da lesão.

Da Paz et al. (1992) observam as seguintes etiologias: acidentes de trânsito (44,7%), ferimentos por arma de fogo (26,9%), queda de altura (14,8%), mergulho em água rasa (9,3%), ferimentos por arma branca (0,9%). A média das idades é de 30,3 anos, com uma proporção de quatro

homens/uma mulher. Desses 87% apresentam lesões completas, sendo 64,9% paraplégicos e 35,1% tetraplégicos. Observam que desses 21,3% são decorrentes de acidentes de trabalho.

Nockels e Young (1992) em artigo sobre estratégias farmacológicas no tratamento experimental da lesão medular espinal, aguda e crônica, relatam que na fase crônica a mielina possui fatores de inibição da regeneração axonal. O bloqueio destes fatores aumenta a regeneração da medula espinal, constituindo-se em nova possibilidade terapêutica.

Reynolds e Weiss (1992) prova que precursores neurais ou células tronco têm capacidade de gerar outras células e de se diferenciar em várias linhagens de neurônios e da glia.

Constantini e Young (1994) estudam os efeitos do tratamento com a metilprednisolona, gangliosídeo GM1 e da associação metilprednisolona e gangliosídeo GM1, em modelos experimentais de lesão medular por queda de peso em ratos. O peso utilizado é de 10g e alturas de 12,5mm, 25mm e 50mm ao nível de TX. A metilprednisolona administrada em dose única de 30mg/kg, cinco minutos após a lesão tem efeito significativo em reduzir o volume da lesão, impedir a hiponatremia induzida pela lesão. O GM1 administrado isoladamente na dose de 10 a 30mg/kg tem pouco ou nenhum efeito em qualquer das variáveis medidas. A associação da metilprednisolona e GM1 bloqueia os efeitos da metilprednisolona.

Concluem, portanto, que a GM1 antagoniza os efeitos central e periférico da metilprednisolona em ratos com lesão medular. Recomendam que não seja usado concomitantemente para tratar lesão medular aguda em humanos até que essa interação seja mais bem conhecida.

Bregman e Bagden (1994) realizam um estudo experimental com ratos adultos submetidos à hemissecção medular nos níveis cervical e torácico, e transplantados com tecido medular espinal fetal e fatores neurotróficos injetados no sítio da lesão. Observam um claro aumento das interações entre as células hospedeiras do sistema nervoso central e o tecido medular fetal transplantado. Os fatores neurotróficos podem exercer uma influência no tropismo dos neurônios maduros do sistema nervoso central, aumentando a extensão do crescimento axonal das células transplantadas e a densidade destas (número e ramificações das fibras) e levando, em alguns aspectos, à melhora da função locomotora.

Waters et al. (1995) publicam artigo em que apresenta os resultados de levantamento epidemiológico de seu serviço e concluem que os indivíduos com lesões medulares incompletas apresentam recuperação neurológica, mas os pacientes com lesão completa apresentam recuperação muito mais limitada e restrita aos primeiros dois anos de lesão.

Basso et al. (1995) verificam o comportamento depois da lesão medular contusa em ratos fazendo uma modificação da escala locomotora

desenvolvida por **(Tarlov et al., 1953)**. Os dados obtidos indicam que a escala é válida e é uma medida preditiva da recuperação motora, capaz de distinguir resultados comportamentais devido às diferentes lesões e predizer alterações anatômicas no centro da lesão. Os testes indicam, que examinadores com experiência na sua aplicação conseguem aplicá-la consistentemente e obter resultados similares. A escala BBB oferece aos avaliadores uma medida mais discriminatória dos resultados comportamentais para avaliar o tratamento depois da lesão da medula espinal.

Schwab e Bartholdi (1996) realizam estudo de revisão dos conhecimentos dos mecanismos envolvidos na degeneração e regeneração axonal após lesão da medula espinal, particularmente, em mamíferos e humanos. Concluem que as pesquisas endereçadas ao tratamento da lesão primária e secundária podem, no futuro, levar a uma alta porcentagem de lesões incompletas, possibilitando melhores condições de reabilitação. A redução do dano secundário associado com a otimização do uso das conexões remanescentes, o aumento da plasticidade e a regeneração à longa distância dos axônios lesados são os ideais a serem obtidos no futuro.

Falci et al. (1997) transplam células de medula de fetos no cisto de paciente parapléxico com seringomielia progressiva. Não obtém resultados funcionais.

Bracken et al. (1997) em ensaio clínico randomizado, duplo-cego, compara a recuperação funcional e neurológica e as taxas de morbidade e mortalidade um ano após a lesão medular aguda em pacientes que recebem metilprednisolona durante 24 horas e 48 horas e mesilato de tirilazade durante 48 horas. Observam a recuperação neurológica similar nos três grupos de pacientes que recebem o tratamento dentro das primeiras três horas da lesão. Nos pacientes que recebem tratamento após três horas da lesão, o grupo que recebe metilprednisolona por 24 horas apresenta menor recuperação da função motora, mas aqueles que recebem metilprednisolona por 48 horas apresentam maior recuperação da função motora em um ano. O grupo que recebe mesilato de tirilazade apresenta recuperação semelhante àqueles que recebem metilprednisolona por 24 horas. As taxas de mortalidade e morbidade são iguais nos três grupos. Concluem que, para pacientes que iniciam o tratamento dentro das primeiras três horas, a manutenção do tratamento por 24 horas é apropriada. Para pacientes que iniciam a terapia três a oito horas após a lesão o regime de tratamento deve ser mantido por 48 horas a menos que haja contra-indicações clínicas.

Gimenez y Ribotta et al. (1998) utilizando ratos paraplégicos promove a recuperação parcial neurológica através do transplante halogênico de células embrionárias para o sítio da lesão medular.

Ramón-Cueto et al. (1998) estudam o transplante de células olfatórias gliais em ratos adultos submetidos à secção medular. Encontram

que as células olfatórias transplantadas através de pontes de células de Schwann atravessam a fibrose glial e migram longitudinalmente e lateralmente na distância máxima de 1,5cm através da substância branca e cinzenta. O crescimento à longa distância, de pelo menos 2,5cm, ocorre na porção rostral da medula espinal. Concluem que esta forma de estudo possibilitará novas possibilidades para tratamento das lesões do sistema nervoso central que requeiram regeneração axonal.

Amar e Levy (1999) revisam a patogênese e as estratégias farmacológicas para atenuar o dano secundário na lesão medular aguda. Através de observações em modelos experimentais e clínicos, acreditam que os conceitos de lesão primária e secundária estão bem estabelecidos e têm amplas implicações no tratamento da lesão medular aguda. Avaliam os efeitos de vários agentes farmacológicos entre eles dos glicocorticóides, lazeróides, gangliosídeos, antagonistas dos opióides, bloqueadores dos canais de cálcio, antagonistas dos receptores do glutamato, agentes antioxidantes, radicais livres e outros agentes farmacológicos em experimentos em modelos animais e humanos. Concluem que dentro de um espaço de tempo limitado esses agentes podem ser úteis e enfatizam que futuramente é provável que a terapia envolva a combinação de vários desses agentes.

Vialle et al. (1999) em estudo experimental de lesão medular em ratos *Long-Evans*, utilizando o modelo de queda de peso com NYU-

Impactor, avaliam a histologia da lesão da medula espinal dos ratos sacrificados a cada seis horas até 48 horas após a lesão. Utilizam a coloração com hematoxilina – eosina. Observam, nos ratos sacrificados em seis horas, uma redução volumétrica dos neurônios, em 24 horas pós-lesão, identificam redução no número de neurônios e indícios de vacuolização e, em 48 horas, observam intensa degeneração neuronal e vacuolização.

McDonald et al. (1999) demonstram que células tronco embrionárias de ratos quando transplantadas para o sítio da lesão medular de ratos com lesão medular torácica sobrevivem, diferenciam-se e promovem regeneração na medula lesada.

Kopen et al. (1999) revelam que células estromais da medula óssea podem se diferenciar em astrócitos quando injetadas no ventrículo lateral de ratos neonatos.

Johanson et al. (1999) mostram evidências de que células endimárias são células pluripotentes que em resposta a uma lesão medular se proliferam e formam astrócitos que participarão do processo de cicatrização. Tal evidência coloca em dúvida a tese de que as células do sistema nervoso central seriam incapazes de se proliferarem e de se auto-regenerar. As células endimárias seriam as células progenitoras do sistema nervoso central em mamíferos, sendo ativadas em caso de lesão medular para se proliferar em células que seriam as responsáveis pela formação da cicatriz no local da lesão.

Jeffery et al. (1999) concluem que o transplante de células gliais em ratos pode reverter déficits funcionais associados à desmielinização.

Debrovner (2000) publica artigo em meio eletrônico sobre o uso de células tronco, células primitivas capazes de formar muitos tipos diferentes de células do corpo, como chaves para a cura de doenças fatais ou crônicas. Define os diferentes tipos de células, sítio e momento da evolução nos quais são encontradas suas características, processo de especialização e de crescimento tecidual e possíveis aplicações: células tronco, totipotentes, pluripotentes e multipotentes. Aborda aspectos éticos, morais e religiosos, riscos e controvérsias. Refere algumas recomendações do “American Association for the Advancement of Science” e do “Institute for Civil Liberty” quanto ao uso dessa tecnologia. Chama a atenção quanto a possíveis riscos de criação de expectativas miraculosas e dos dilemas morais.

Liu et al. (2000), através de experimentos com ratos singênicos, demonstram que as células tronco embrionárias se diferenciam em oligodendrocitos e se mielinizam em cultura e em transplantes no sítio da lesão medular.

Chopp et al. (2000) publicam artigo em que células progenitoras retiradas da medula óssea de ratos quando transplantadas no sítio da lesão medular em ratos uma semana depois da lesão tem recuperação do padrão

da marcha superiores aos ratos que recebem apenas solução salina. Os cortes histológicos evidenciam ainda que células derivadas das células progenitoras expressam marcadores de proteínas neuronais.

Auerbach et al. (2000) demonstram em seu estudo que as células progenitoras transplantadas para o sistema nervoso de ratos adultos não são apenas a expressão de marcadores típicos de neurônios como, também, o estabelecimento de sinapses funcionais entre as células implantadas e as células hospedeiras.

Woodbury et al. (2000) demonstram que células tronco quando cultivadas em condições apropriadas, diferenciam-se em neurônios. Sugerem que, nos próximos estudos, as células devam primeiro ser direcionadas na linhagem de interesse antes de serem transplantadas. Haveria, dessa forma, um maior controle do processo de diferenciação e menor dependência dos sinais emitidos pelo microambiente do implante.

Smith e Storms (2000) propõem a hipótese de que a geração de células de outras linhagens a partir de transplante de medula óssea podem ser creditada ao fato das células progenitoras hematopoéticas gerarem outros tecidos além de células hematopoéticas ou, que na mesma amostra coletada para transplante de medula óssea haveria células progenitoras mesenquimais sem peso molecular semelhante.

Cao et al. (2001) provam que células neurais indiferenciadas de embriões sobrevivem quando transplantadas no córtex de ratos hospedeiros e se diferenciam em células gliais e neuronais.

Akiyama et al. (2001) demonstram que células precursoras neuronais implantadas no sistema nervoso neonatal ou embrionário de ratos se diferenciam em neurônios e células gliais; enquanto que tais células implantadas em sistema nervoso de ratos adultos se diferenciam em células gliais. Interpreta que tal fato se deve a sinalização do tecido hospedeiro que direciona a diferenciação das células progenitoras.

Zurita et al. (2001) publicam artigo em que experimentos com ratos provam que o transplante de tecido cerebral fetal pode causar remodelação e promover recuperação neurológica em ratos com lesão medular torácica.

Sasaki et al. (2001) ao realizar experimentos com ratos, evidenciam que o transplante de células da medula óssea para a medula espinal de ratos com axônios desmielinizados promove a remielinização destes axônios.

Wu et al. (2001) demonstram a viabilidade da utilização de neuroesferas com células derivadas do hipocampo fetal de ratos, e que ao serem transplantadas para o sítio de lesão medular de ratos, estas sobrevivem, se diferenciam, migram e se integram com as células hospedeiras.

Murakami et al. (2001), em estudo controlado, prospectivo, randomizado, avaliam os efeitos da terapia com oxigênio hiperbárico a três atmosferas em 23 coelhos brancos japoneses, com peso entre 2 e 3 kg, submetidos à isquemia transitória da medula espinal por oclusão da aorta infra-renal por um período de tempo de 15 minutos. Observam os efeitos protetores da terapia com oxigênio hiperbárico contra o dano isquêmico da medula espinal, por observação clínica da função neurológica por 14 dias e da posterior contagem dos neurônios motores na região ventral da medula espinal através de microscopia ótica de cortes histológicos corados com hematoxilina e eosina.

Wirth et al. (2001) publicam os seus resultados preliminares sobre o transplante de células neurais fetais humanas para pacientes com seringomielia pós traumática e demonstram melhora da espasticidade e algum grau de reversão do déficit neurológico antes apresentado.

Coumans et al. (2001) demonstram os resultados expressivos da melhora funcional em ratos com lesão medular submetidos a transplante de células fetais no sitio da lesão em combinação com agentes neurotróficos entre 2 a 4 semanas pós lesão. Surpreendentemente, a administração aguda desta combinação não demonstra melhora importante. Tal resultado leva o autor a sugerir a hipótese de que o microambiente que se instala agudamente após a lesão medular é impróprio para a regeneração celular e axonal.

Reier et al. (2001) publicam pela primeira vez resultados do emprego de transplante de células tronco em humanos. Provam que tal transplante é possível e, para o pouco tempo de observação, seguro.

Teng et al. (2002) provam que o emprego de pontes de polímeros contendo fatores de crescimento neurológico e células tronco neurais quando transplantados no sítio da lesão formam um ambiente propício a regeneração celular

Cristante et al. (2002), em estudo prospectivo, experimental com 20 ratos adultos submetidos à lesão hemimedular, transplantam células do sistema nervoso fetal no sítio da lesão em 15 destes ratos e mantém 5 sem transplante como grupo controle. Os ratos são sacrificados após 48 horas e submetidos a exame histológico. Encontram que, em 60% dos casos, as células fetais transplantadas permanecem viáveis e observam que a reação inflamatória é maior do que no grupo controle.

Ogawa et al. (2002) apresentam a primeira evidência de que células expandidas *in vitro* a partir de células embrionárias de ratos podem gerar neurônios *in vivo* e que elas melhoram a função motora de ratos com lesão medular após o transplante destas no sítio da lesão medular.

Lankford et al. (2002) demonstram que o transplante de células de Schwann alogênico em ratos com lesão medular promove remielinização.

Hofstetter et al. (2002) publicam artigo sobre transplante de células progenitoras retiradas da medula óssea de ratos para o sítio de lesões de ratos paraplégicos. Observam que os ratos submetidos a tais transplantes apresentam sensível melhora nos padrões de marcha. Os cortes histológicos das medulas destes ratos, na quinta semanas após o implante, mostram a associação das células transplantadas com astrócitos imaturos e o estabelecimento de conexões com as células hospedeiras.

Lu et al. (2002) revelam que o transplante de células da glia olfativa transplantadas tardiamente em lesões medulares em ratos causa recuperação motora.

Tebet (2002) em estudo com ratos, demonstra que a metilprednisolona é eficaz na recuperação da função locomotora de ratos com lesão medular incompleta e que os melhores resultados funcionais são obtidos quando esta droga é utilizada isoladamente. Revela que a recuperação funcional dos animais que receberam GM-1 é superior ao grupo controle, embora não estatisticamente significativo, e que a recuperação funcional dos animais que recebem metilprednisolona associada ao GM-1 é superior ao grupo controle.

Cao et al. (2002) dão continuidade aos trabalhos de **Fricker et al. (1999)** e demonstram que o ambiente do tecido hospedeiro tem influência decisiva na determinação da diferenciação das células tronco transplantadas.

Lakatos e Franklin (2002), em revisão bibliográfica acerca do uso de células tronco na terapia da lesão medular, propõem que estudos clínicos já tem embasamento suficiente para serem devolvidos com as evidências obtidas nos estudos experimentais até então publicados.

Korbling et al. (2002) utilizando protocolo de mobilização de células progenitoras com fator estimulador de colônia e coleta através de aférese, demonstram a ocorrência de enxertamento de células do doador para tecidos não hematopoiéticos. Consideraram que as células mononucleares do sangue periférico tem potencial plástico.

Korbling e Estrov (2003), num artigo de revisão, reúnem evidências sobre o recrutamento de células tronco circulantes para o reparo de órgãos sólidos lesados. Descrevem que os requisitos necessários para a reparação de órgãos lesados a partir de células circulantes seriam: células tronco circulantes acessíveis; sinalização para recrutamento destas células circulantes e sinais do órgão lesado para guiar a diferenciação destas células em células do respectivo órgão.

Burns et al. (2003) publicam artigo salientando a importância de se diferenciar pacientes com lesão completa dos pacientes com lesão medular incompleta para seleção e inclusão em protocolos clínicos. Referem ser possível diferenciar estes pacientes através de exame clínico após quarenta e oito horas.

Nunes et al. (2003) provam que a própria lesão medular sinaliza, atrai e estimula a proliferação das células implantadas.

Marino et al. (2003) publicam os critérios internacionais para classificação do dano neurológico na lesão medular. Estes critérios são adotados pela Sociedade Médica Internacional de Paraplegia

Dobkin e Havton (2004) num artigo de revisão, encorajam os estudos clínicos com células progenitoras e outras terapias biológicas e recomendam a criação de um comitê de ética internacional para avaliação dos protocolos e que, inicialmente, sejam incluídos apenas pacientes com lesões completas e crônicas, de modo a minimizar os riscos de piora neurológica que podem ocorrer em pacientes com lesão aguda ou incompleta.

Curt et al. (2004) em artigo de revisão, ressaltam a importância dos estudos neurofisiológicos, dentre eles o potencial evocado somato-sensitivo, na avaliação inicial, na classificação da gravidade da lesão e no seguimento clínico dos pacientes lesados medulares.

Reier (2004), em artigo de revisão, conclui que as terapias celulares voltadas para a lesão medular podem ser apreciadas para ensaios clínicos pois demonstram segurança e razoável eficácia em animais.

Keirstead et al. (2005) num protocolo de pesquisa sobre transplante de células progenitoras embrionárias humanas no sítio de lesão medular de ratos adultos, confirmam que há maior remielinização e maior recuperação neurológica nestes ratos quando comparados com os ratos controles.

Shapiro et al. (2005) demonstram que o campo elétrico oscilante utilizado em pacientes com lesão medular completa é seguro, fácil e apresenta eficácia. Diante disto, conseguem liberação para prosseguir com o tratamento em maior número de pacientes.

Pallini et al. (2005) realizam uma pesquisa experimental com ratos nos quais são transplantadas células progenitoras homólogas para o sítio da lesão medular e concluem que há melhora da recuperação neurológica.

Hofstetter et al. (2005) em um estudo com ratos com lesão medular torácica nos quais são transplantadas células progenitoras, demonstram que apesar de causar melhora motora nos ratos, em função da proliferação axonal aberrante, pode causar efeitos colaterais indesejáveis como dor neuropática.

Park et al. (2005) descrevem ensaio que incluiu seis pacientes com lesão medular completa que recebem transplantes de células progenitoras colhidas da medula óssea entre 7 e 14 dias depois da lesão. Todos os seis pacientes apresentam melhora neurológica. Todos os pacientes recebem injeções de fatores estimuladores de colônia e um

dos pacientes que tem melhora recebe apenas estas injeções e não é submetido ao transplante de células.

Marcon (2006) publica estudo que compara o emprego da metilprednisolona antes e depois da lesão medular contusa por impacto em ratos. A avaliação funcional do déficit neurológico mostra-se semelhante nos dois grupos.

Raghunath et al. (2006) demonstram que o sangue periférico de indivíduos sadios é uma fonte segura e acessível de células tronco com capacidade de diferenciação tanto em tecidos mesenquimais como em tecidos hematopoéticos.

Callera e Nascimento (2006) realizam infusão líquórica de células progenitoras por punção lombar em pacientes com lesão medular traumática. Demonstram a segurança de tal procedimento.

Tator (2006) publica artigo de revisão no qual considera que o exame de potencial evocado somato-sensitivo é o único exame neurofisiológico desenvolvido o suficiente para ser incluso em ensaios clínicos. Com melhor desenvolvimento espera que o potencial evocado somato-sensitivo seja utilizado ainda como critério de inclusão, estratificação de pacientes e análise dos desfechos destes ensaios.

4. MÉTODOS

O protocolo foi avaliado e aprovado pela Comissão de Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq – do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Protocolo 768/01), e pela Comissão Nacional de Ética - CONEP (Registro 7524).

Selecionaram-se pacientes com diagnóstico de lesão medular completa cervical ou torácica há pelo menos dois anos.

Estes pacientes foram submetidos a exame inicial de acordo com a padronização da “American Spinal Injury Association International”, para graduação do déficit neurológico e considerados como portadores de lesão medular completa. Foram submetidos a exame de potencial evocado somato-sensitivo que confirmou ausência de resposta cortical aos estímulos periféricos de membros inferiores, confirmando serem os pacientes portadores de lesão medular completa. Foram submetidos a exame de sangue para avaliação hematológica e de distúrbios de coagulação.

Os pacientes foram encaminhados para mobilização e coleta das células progenitoras em sangue periférico. O concentrado de células progenitoras foi criopreservado e reinfundido através de angiografia medular no paciente doador caracterizando o momento zero do experimento.

Estes pacientes foram então avaliados por dois anos e meio, onde foram submetidos a exames de potencial evocado somato-sensitivo para se avaliar a recuperação neurológica após a infusão de células indiferenciadas.

4.1 Seleção de Pacientes

Foram incluídos no estudo trinta e nove pacientes acompanhados no Grupo de Trauma Raquimedular do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Os critérios de inclusão adotados para seleção dos pacientes foram:

- ambos os sexos;
- idade superior a dezoito anos;
- lesão medular traumática fechada completa de acordo com os critérios da ASIA (ausência de função motora ou sensitiva dos segmentos sacrais) (**Maynard et al., 1997**).
- tempo de lesão medular superior a dois anos e ausência de alteração neurológica durante o último ano;
- exames laboratoriais de hemograma e coagulograma dentro dos valores de normalidade;

- exame de potencial evocado somato-sensitivo revelando ausência de transmissão de impulsos ao córtex após estimulação periférica dos membros inferiores;
- assinatura do termo de consentimento informado voluntária após explanação acerca de riscos e benefícios potenciais da inclusão no protocolo.

Classificaram-se como tetraplégicos os pacientes com diminuição de função neurológica nos membros superiores, tronco, membros inferiores e órgãos pélvicos; e como paraplégicos os pacientes com perda de função motora e sensitiva dos membros inferiores nos quais a função dos membros superiores era conservada.

Os critérios de exclusão adotados foram:

- ausência de artéria que perfundisse a área de lesão medular identificável durante angiografia medular
- manifestação voluntária do paciente em se desligar do protocolo
- complicação ou efeito adverso que colocasse em risco a integridade do paciente ou impedisse seu seguimento no protocolo

Os critérios de interrupção foram:

- ocorrência de neoplasia nos pacientes submetidos ao protocolo decorrentes de proliferação indevida das células implantadas

4.2 Mobilização das células progenitoras

Os pacientes foram individualmente internados. A mobilização das células progenitoras da medula óssea para o sangue periférico foi feita através da administração subcutânea de fator estimulador colônias de granulócitos humanos metionil recombinante não glicosilado (Filgrastima, G-CSF, Granululokine®, caixa contendo 1 seringa preenchida com 25ml de solução injetável contendo 300ug de filgrastima) na dose de 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$, por cinco dias consecutivos (**Stroncek et al., 1996**).

4.3 Coleta das células progenitoras

Uma vez mobilizadas, as células progenitoras presentes no sangue periférico foram coletadas por aférese.

Os pacientes foram submetidos à instalação de cateter duplo lúmen para hemodiálise de número 12 através de punção de veia calibrosa.

A coleta foi realizada no Hemocentro do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo utilizando-se separador celular de fluxo contínuo. Em cada coleta foi processado um volume sanguíneo equivalente a duas volemias do paciente.

Foi realizada uma coleta por dia, em dias consecutivos, até a obtenção de, no mínimo, $2,5 \times 10^6$ células CD 34+/ kg de peso do paciente.

A análise das células CD34 positivas foi realizada por citometria de fluxo.

As etapas de mobilização e coleta de células progenitoras obedeceram ao protocolo empregado no Hemocentro do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo estava em concordância com o protocolo empregado em diversos serviços que realizam pesquisas desta natureza, como por exemplo o que é empregado na Universidade do Texas (**Huss, 2000; Huss et al., 2000; Korbling et al., 2002**).

4.4 Criopreservação celular

Após a coleta, as células progenitoras foram criopreservadas utilizando Dimetil Sulfoxido como agente crioprotetor a uma concentração final de 10%. O congelamento foi programado de forma a produzir redução da temperatura das células em 1°C/ min até 40° C negativos, e a partir de então, a redução de 10° C/min até 80° C negativos. Neste momento as células foram transferidas para um freezer mecânico de temperatura igual ou inferior a 120° C negativos (**Stiff, 1995**).

4.5 Infusão das células

Imediatamente antes da infusão, as células foram descongeladas em “banho-maria” a 37° C.

Os pacientes foram admitidos no Serviço de Radiologia Vascular Intervencionista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e submetidos à angiografia medular. A técnica consistia em anestesia geral, punção da artéria femoral comum direita e introdução de cateter Cobra 2 (cateter para hemodinâmica, poliuretano trançado, biocompatível, radiopaco, cilíndrico, de calibre 4Fr com 65cm de comprimento, com guia na curvatura terminal tipo Cobra 2).

Nos pacientes tetraplégicos, introduziram os catéteres na artéria femoral guiaram-se até a artéria vertebral e buscaram identificar um ramo que perfundisse a artéria espinal anterior ao nível da lesão. Aos pacientes tetraplégicos administrou-se heparina visando minimizar o risco de acidente vascular cerebral decorrente do procedimento (Figura 1).

Nos pacientes paraplégicos, foi realizada a introdução seletiva de cateter nas artérias intercostais até a identificação da artéria que irrigasse a artéria espinal anterior responsável pelo nível lesado (Figura 2).

Quando totalmente descongeladas, as células foram infundidas na circulação periférica do paciente a uma velocidade de 10ml/min, utilizando um equipo comum de transfusão (170 μ). Neste momento, não foi realizado controle radioscópico da infusão para evitar irradiação das células que estavam sendo infundidas.

Durante a infusão, uma amostra da solução a ser infundida era separada e examinada microscopicamente para comprovação da presença e viabilidade das células progenitoras.

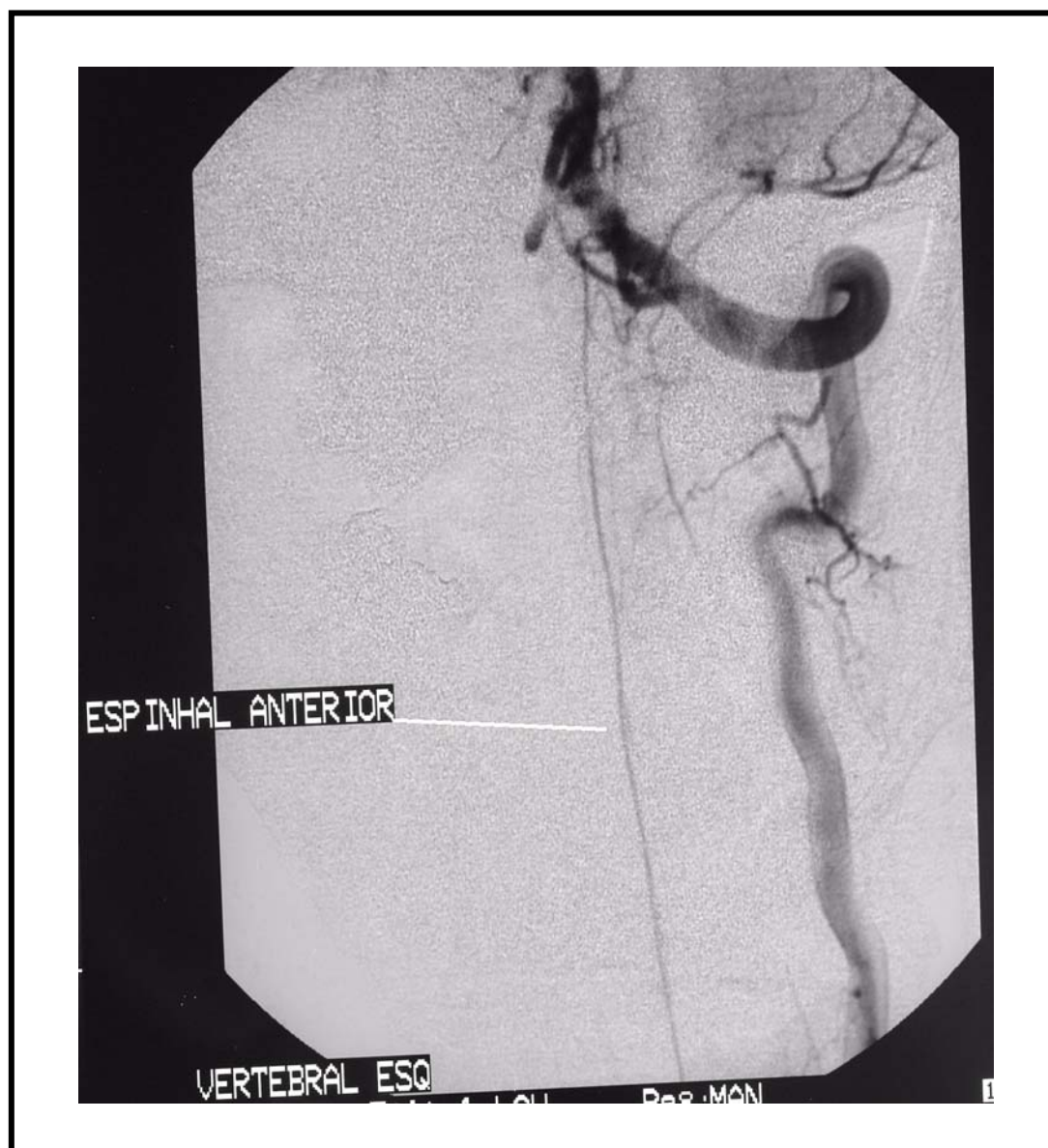


Figura 1. Arteriografia medular revelando cateterização da artéria vertebral com perfusão da artéria espinal anterior no sítio da lesão medular cervical.

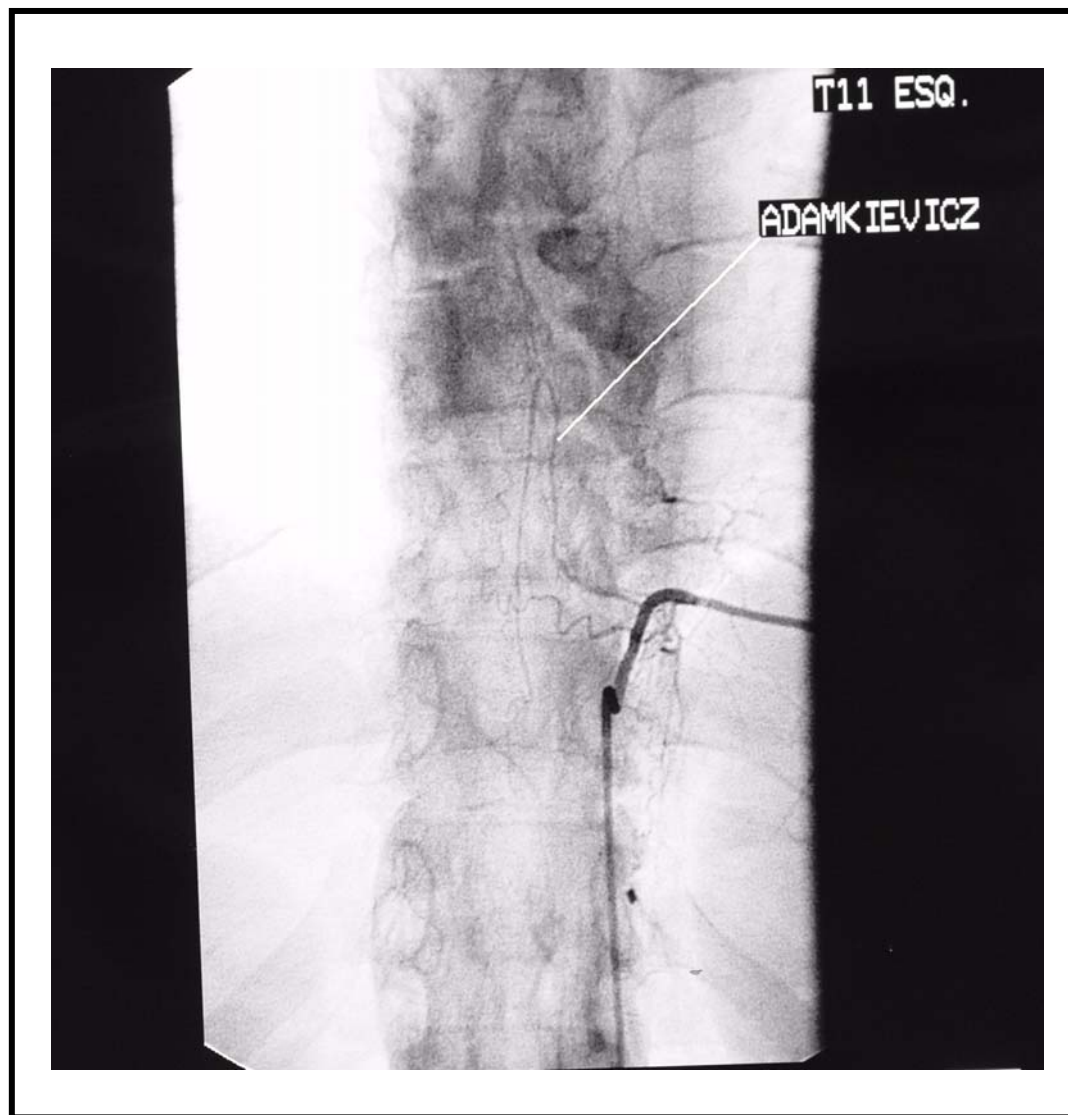


Figura 2. Arteriografia medular torácica revelando cateterização da artéria intercostal, identificação da artéria de espinal anterior ao nível da lesão medular torácica.

4.6 Seguimento

No dia seguinte à infusão, o sítio da punção arterial era examinado e, caso não houvesse formação de hematoma ou sangramento ativo, o paciente recebia alta hospitalar.

Os pacientes foram então submetidos a exames seriados de potencial evocado somato-sensitivo dos membros inferiores para os paraplégicos e dos membros superiores e inferiores para os tetraplégicos de modo trimestral nos primeiros seis meses e semestralmente por dois anos e meio. Tais exames foram sempre realizados e avaliados pelo mesmo médico.

No exame de potencial evocado somato-sensitivo de membros superiores, os estímulos foram realizados nos nervos medianos nos punhos e a captação realizada nos pontos FZ - Ponto de ERB, P3'/P4'-A1/A2. No exame de potencial evocado somato-sensitivo dos membros inferiores, os estímulos foram realizados nos nervos tibiais posteriores nos tornozelos e a captação no couro cabeludo nos pontos FZ -PZ.

Considerou-se o surgimento de resposta cortical aos estímulos periféricos dos membros superiores e inferiores ou a normalização do tempo de latência até a obtenção de resposta cortical aos estímulos periféricos de membros superiores em pacientes tetraplégicos que já apresentavam alguma resposta cortical aos estímulos como sendo resultados positivos (Figuras 3 e 4).

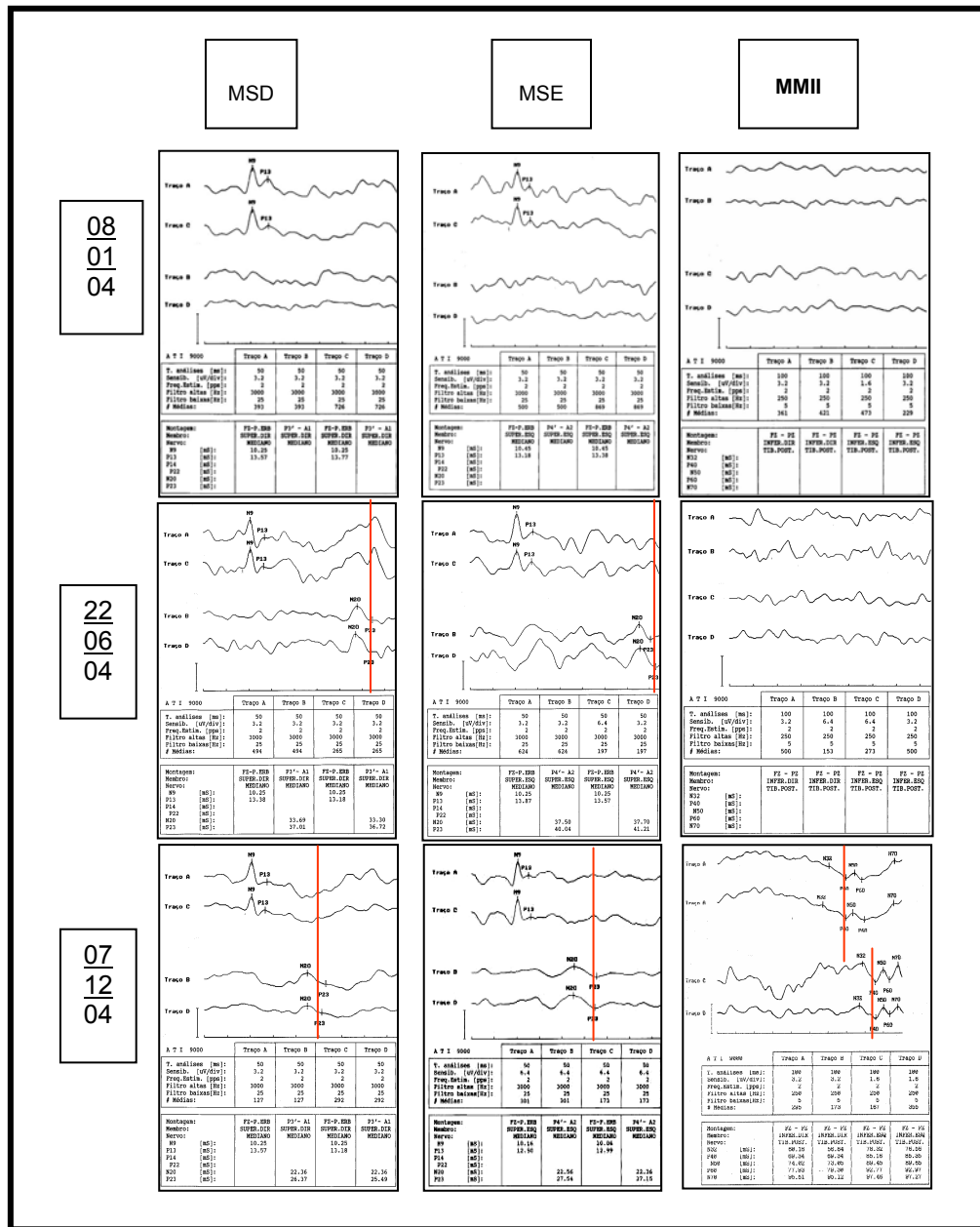


Figura 3. Exemplo de evolução do potencial evocado somato-sensitivo de paciente tetraplégico evidenciando aparecimento de resposta cortical aos estímulos tanto de membros superiores como de membros inferiores.

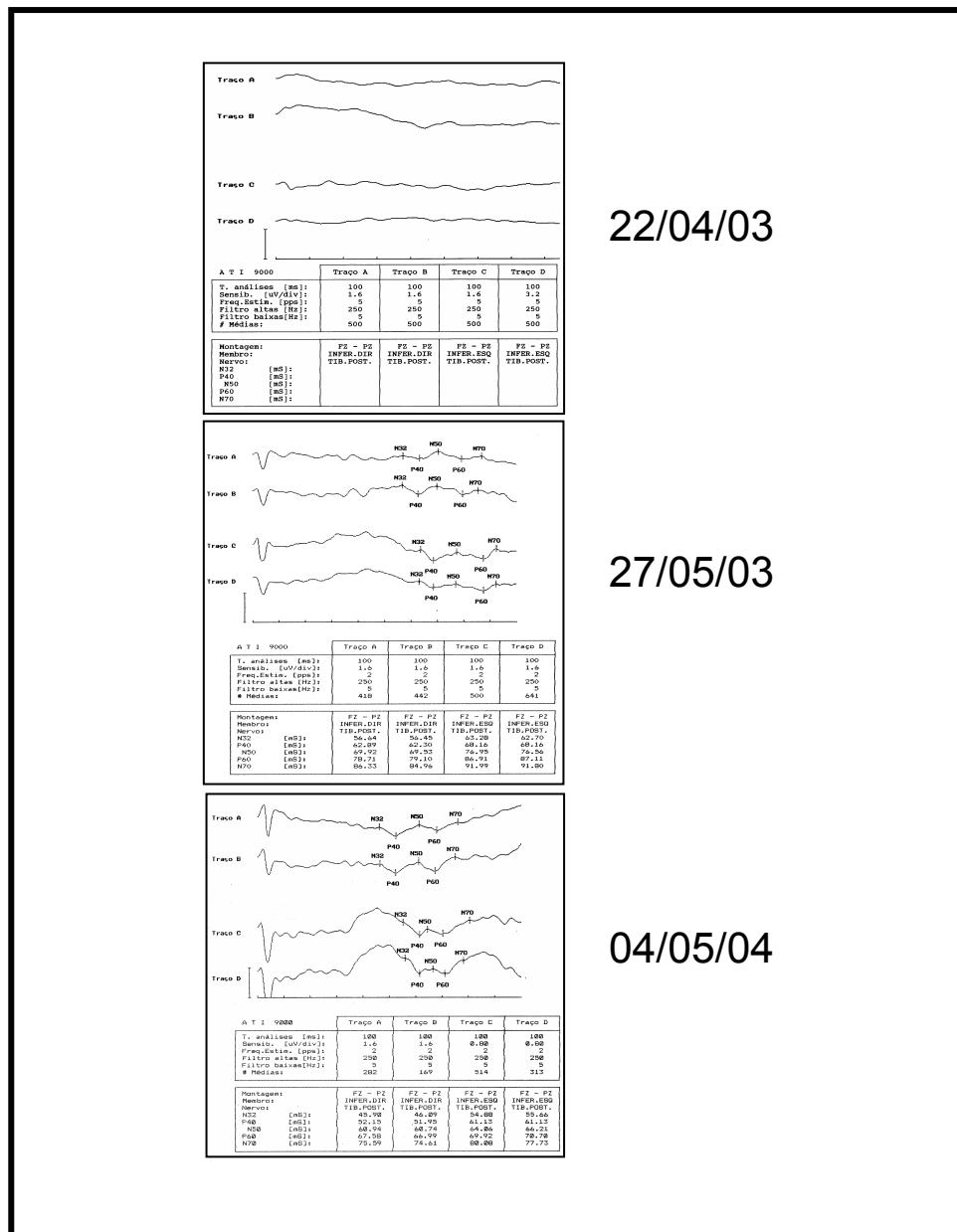


Figura 4. Exemplo de evolução do potencial evocado somato-sensitivo de paciente paraplégico evidenciando aparecimento de resposta cortical aos estímulos de membros inferiores.

4.7 Análise da Casuística

Segundo os critérios de inclusão e exclusão, foram incluídos 39 pacientes; onze mulheres e vinte e oito homens.

Quanto às causas da lesão medular, foram incluídos pacientes com lesão decorrente de acidentes automobilísticos (61,5%); decorrentes de atividades esportivas como quedas e mergulho (17,9%); decorrentes de acidente com motocicletas (15,4%); e decorrentes de acidentes com veículos aéreos (5,1%).

Quanto ao nível da lesão, 15,4% dos pacientes apresentavam lesões entre a segunda e a quarta vértebra cervical; 20,5% apresentavam lesão entre a quinta vértebra cervical e a primeira vértebra torácica; e 64,1% pacientes apresentavam lesão entre a segunda vértebra torácica e a primeira vértebra lombar.

Quanto à classificação entre paraplégicos e tetraplégicos, consideramos 30,8% dos pacientes como tetraplégicos e 69,2% dos pacientes como paraplégicos.

4.8 Análise Estatística

Para a análise dos dados enumerativos (atributos), realizou-se a distribuição de frequência, absoluta (n) e relativa (%), intergrupo), das características nominais (qualitativas).

Nas comparações das frequências das classes entre os grupos (amostras) utilizou-se o teste exato de Fisher para tabelas de contingências.

Para a análise das grandezas específicas (variáveis), realizou-se a estatística descritiva das medidas ordinais e intervalares (características quantitativas): média (M), desvio padrão (DP), erro padrão da média (EPM), valores máximo (MAX) e mínimo (MIN) e número de casos (N).

As estatísticas descritivas das amostras foram representadas na forma de diagramas de coluna (média \pm erro padrão da média).

Para a verificação da normalidade das distribuições, utilizaram-se a prova de Kolmogorov-Smirnov (K-S) para variáveis contínuas e o coeficiente de variação de Pearson (CVP %). A distribuição de uma grandeza foi admitida como normal, quando a prova de Kolmogorov-Smirnov não apresentou diferença significativa ($p \geq 0,05$) e/ou apresentou o coeficiente de variação de Pearson inferior a 30%. Nesses casos, utilizaram-se provas paramétricas (Tabelas 6,7). Nos demais casos (K-S: $p \leq 0,05$ e/ou $CVP \geq 30\%$), utilizaram-se testes não paramétricos (Tabelas 5 e 8).

Nas comparações entre os grupos, para inferência das médias, utilizaram-se o teste t de student para duas amostras não relacionadas (independentes ou não pareadas) paramétricas (Tabelas 6 e 7) e o teste U de Mann-Whitney para duas amostras independentes não paramétricas (Tabelas 5 e 8).

Utilizou-se o arredondamento científico. Os valores das distribuições de frequência e das estatísticas descritivas foram apresentados com uma casa após a vírgula nas tabelas de contingência e estatísticas e os resultados dos testes estatísticos com duas casas ou até o primeiro número significativo após a vírgula.

As diferenças comprovadas estatisticamente foram evidenciadas por asteriscos (*) nas tabelas.

Adotaram-se testes bilaterais ou bicaudais.

$$(H_0 = \mu_1 - \mu_2 = 0)$$

Adotou-se o nível de confiança de 5% ($\alpha = 0,05$).

Utilizaram-se os programas estatísticos StatSoft, Inc.® (2001) Statistica (data analysis software system), versão 6.0 e GraphPad Software, Inc.® (1996) Graphpad Prism, versão 2.01.



5. RESULTADOS



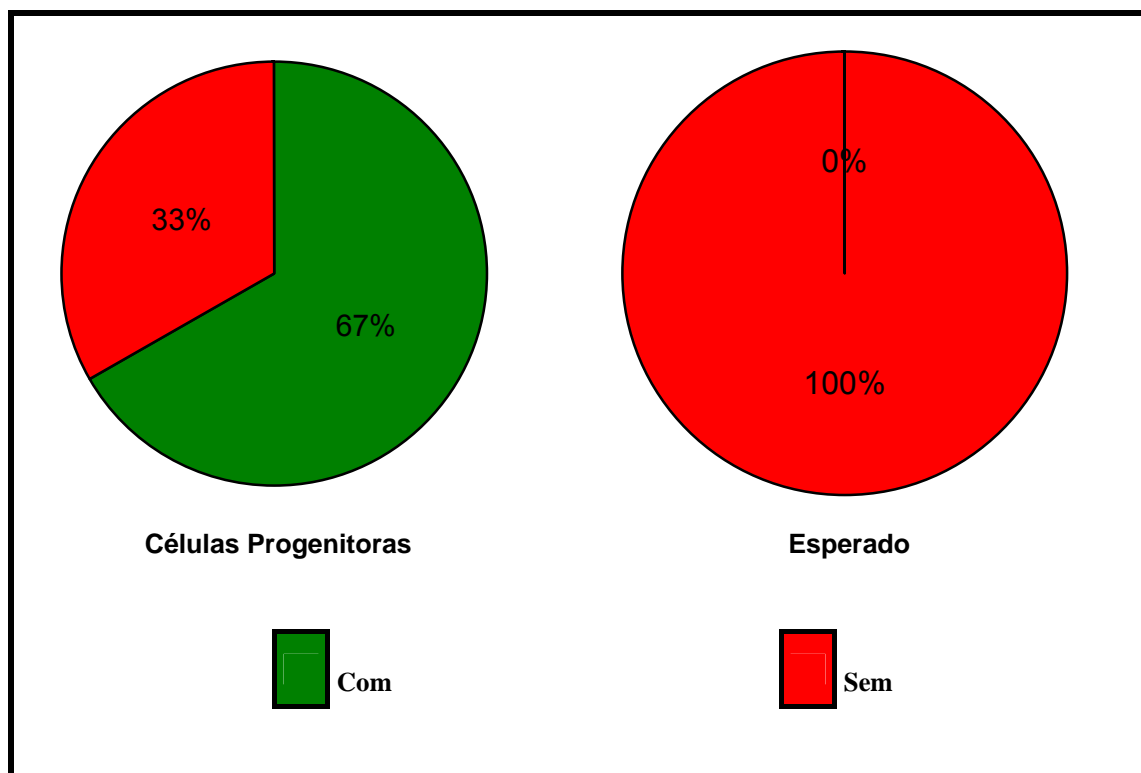
Dentre os 39 pacientes submetidos ao protocolo, 23 apresentaram positividade do exame de potencial evocado somato-sensitivo, o que foi considerado melhora neurológica (Tabela 1).

Comparamos este resultado com a ausência de resposta cortical aos estímulos periféricos, a qual seria esperada para estes pacientes com lesão medular completa com pelo menos dois anos de evolução (Gráfico 1).

Tabela 1 - Distribuição de freqüência, absoluta (n) e relativa (%), da ocorrência ou não da melhora neurológica dos pacientes (potencial evocado) após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas de acordo com o tipo de tratamento. Comparação pelo teste exato de Fisher ($\alpha= 0,05$ bilateral)

MELHORA NEUROLÓGICA	TRATAMENTO			
	<i>Células Progenitoras</i>		Esperado	
	N	%	N	%
Com	26	66,7	0	100,0
Sem	13	33,3	39	0,0
TOTAL	39	100,0	39	100,0
Fisher	P \cong 0,00*			

Gráfico 1 - Ocorrência, ou não, da melhora neurológica dos pacientes (potencial evocado) após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas de acordo com o tipo de tratamento



Comparamos a ocorrência de positividade do potencial evocado somato-sensitivo entre os pacientes classificados como paraplégicos e tetraplégicos. Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos (Tabela 2, Gráfico 2).

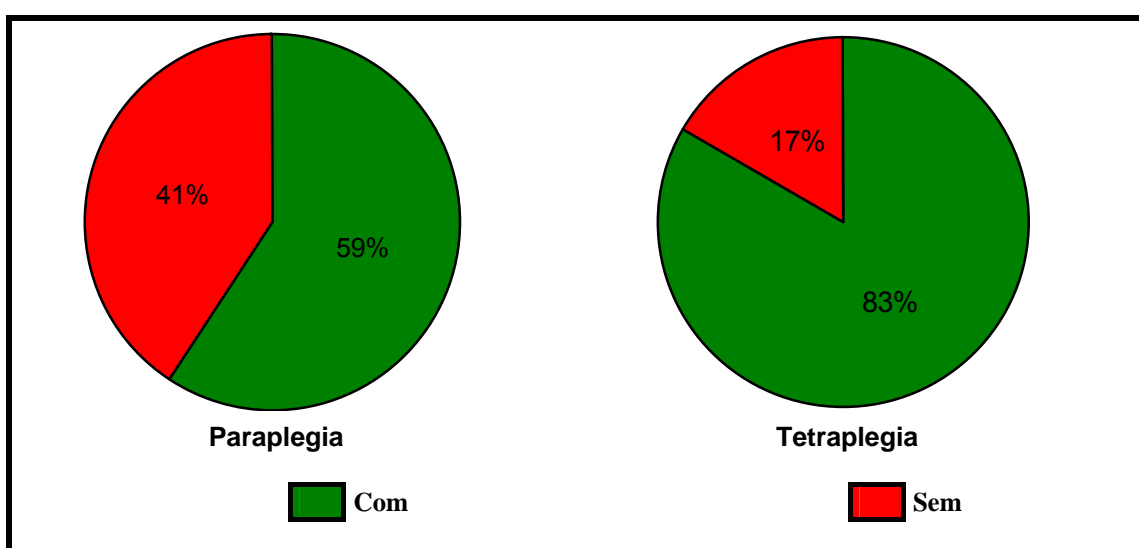
Tabela 2 - Distribuição de frequência, absoluta (n) e relativa (%), do tipo de paralisia dos pacientes agrupados de acordo com a ocorrência ou não da melhora neurológica (potencial evocado) após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas. Comparação pelo teste exato de Fisher ($\alpha=0,05$ bilateral)

MELHORA NEUROLÓGICA	TIPO DE PARALISIA				TOTAL	
	PARAPLEGIA		TETRAPLEGIA		N	%
	N	%	N	%		
MMII	16	41,0	1	2,6	17	43,6
MMII + MMSS	0	0,0	5	12,8	5	12,8
MMSS	0	0,0	4	10,2	4	10,2
COM	16	41,0	10	25,6	26	66,7
SEM	11	28,2	2	5,1	13	33,3
Total	27	69,2	12	30,8	39	100,0

Fisher (Com \leftrightarrow Sem)

p=0,27

Gráfico 2 - Tipo de paralisia dos pacientes agrupados de acordo com a ocorrência ou não da melhora neurológica (potencial evocado) após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas



Quanto à ocorrência de positivação do potencial evocado somato-sensitivo de membros superiores e inferiores, também não foi notada variação estatisticamente significativa entre estes dois grupos (Tabela 3, Gráfico 3).

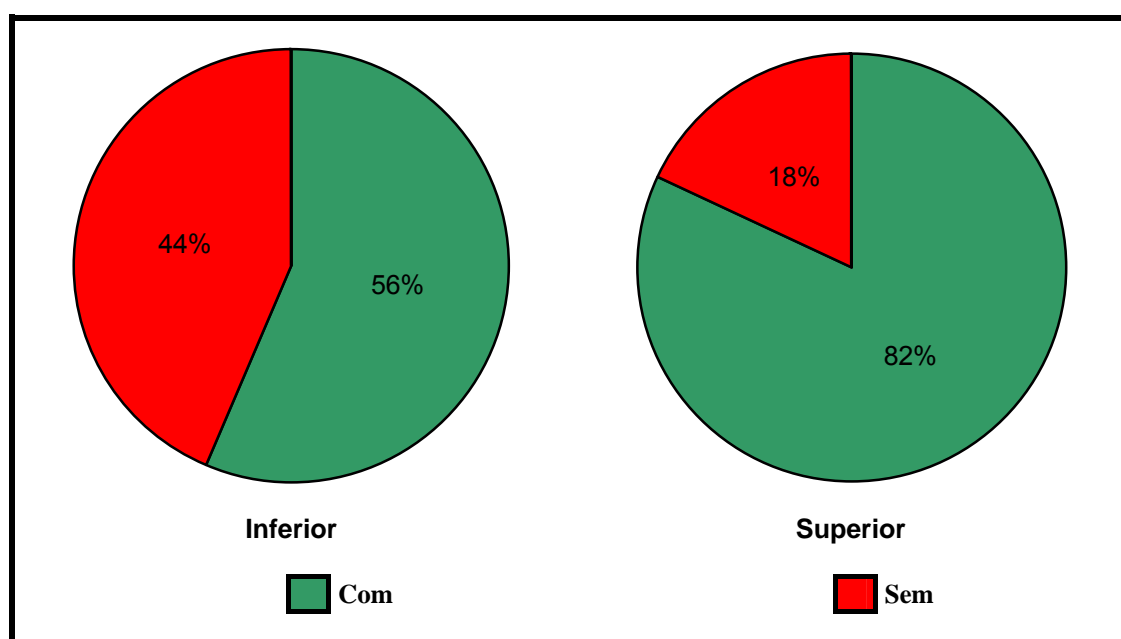
Tabela 3 - Distribuição de frequência, absoluta (n) e relativa (%), da melhora neurológica dos membros inferiores e superiores dos pacientes (potencial evocado) após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas. Comparação pelo teste exato de Fisher ($\alpha=0,05$ bilateral)

MELHORA NEUROLÓGICA	MEMBROS			
	Inferiores		Superiores	
	N	%	N	%
Com	22	56,4	9	81,8
Sem	17	43,6	2	18,2
TOTAL	39	100,0	11 ¹	100,0

Fisher $p=0,17$

¹ Um paciente tetraplégico apresentou tempo de latência normal nos membros superiores previamente à infusão.

Gráfico 3 - Ocorrência ou não da melhora neurológica dos membros inferiores e superiores dos pacientes (potencial evocado) após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas



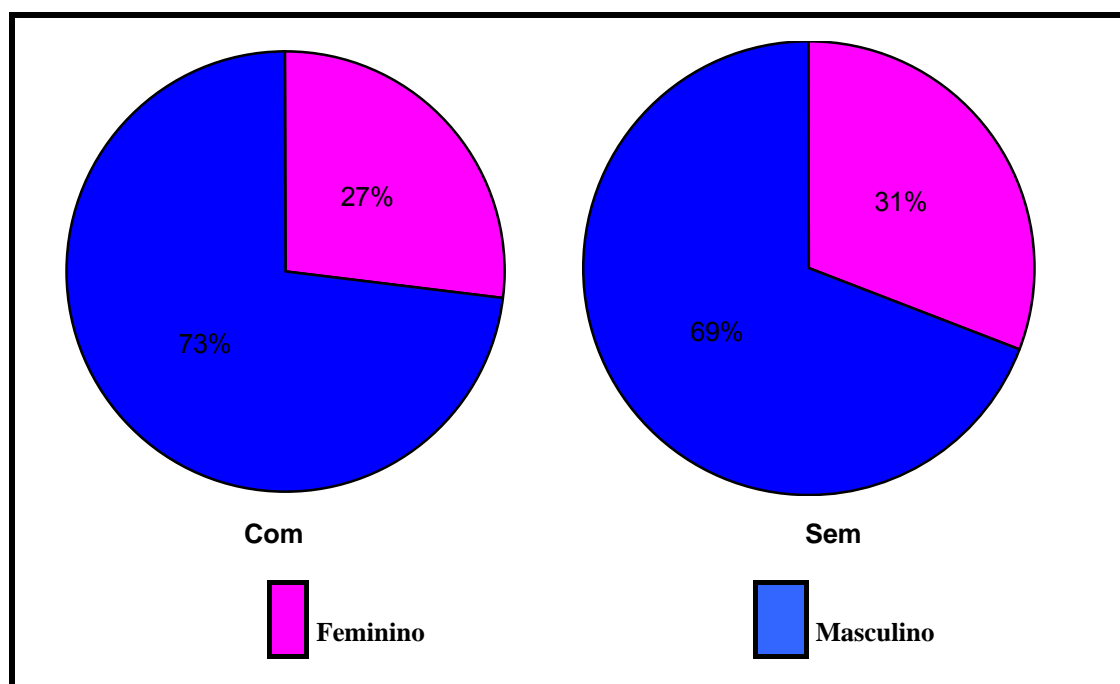
Comparando-se o sexo dos pacientes com e sem positivação de potencial evocado somato-sensitivo avaliados, não notamos correlação estatística significativa (Tabela 4, Gráfico 4).

Tabela 4 - Distribuição de freqüência, absoluta (n) e relativa (%), do sexo dos pacientes agrupados de acordo com a ocorrência ou não da melhora neurológica (potencial evocado) após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas. Comparação pelo teste exato de Fisher ($\alpha=0,05$ bilateral)

SEXO	MELHORA NEUROLÓGICA				TOTAL	
	Com		Sem		N	%
	N	%	N	%		
FEMININO	7	17,9	4	10,2	11	28,2
MASCULINO	19	48,7	9	23,1	28	71,8
Total	26	66,7	13	33,3	39	100,0

Fisher p=1,00

Gráfico 4 - Sexo dos pacientes agrupados de acordo com a ocorrência ou não da melhora neurológica (potencial evocado) após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas

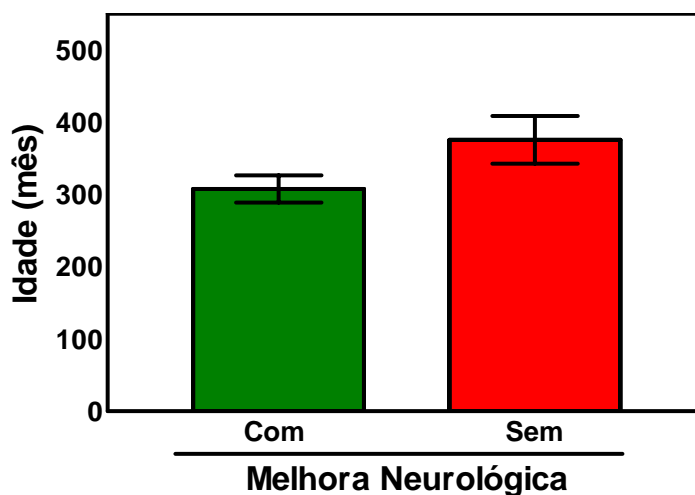


Quando foi avaliada a idade dos pacientes por ocasião da lesão medular, não houve correlação com a ocorrência de positividade do potencial evocado somato-sensitivo entre os pacientes (Tabela 5, Gráfico 5).

Tabela 5 - Estatística descritiva da idade (mês) dos pacientes por ocasião da lesão medular agrupados de acordo com a ocorrência ou não da melhora neurológica (potencial evocado) após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas. comparação pelo teste u de Mann-Whitney ($\alpha=0,05$ bilateral)

IDADE (MÊS) POR OCASIÃO DA LESÃO	MELHORA NEUROLÓGICA		
	Com	Sem	TOTAL
M	307,6	375,8	330,3
MN	280,5	323	293
DP	96,0	119,1	107,7
EPM	18,8	33,0	17,2
MAX	588	601	601
MIN	191	220	191
N	26	13	39
K-S	0,14	0,21	0,15
CV%	31,2	31,7	32,6
Teste U de Mann-Whitney		U=108	p=0,07

Gráfico 5 - Idade (mês) dos pacientes por ocasião da lesão medular, agrupados de acordo com a ocorrência ou não da melhora neurológica (potencial evocado) após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas.

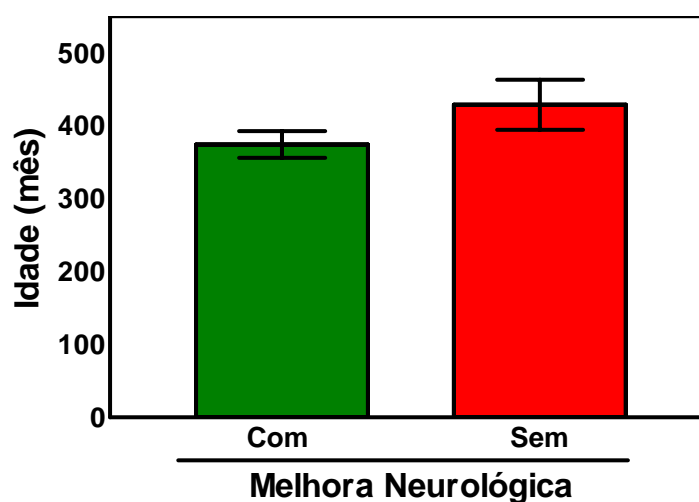


Quando foi avaliada a idade dos pacientes por ocasião da coleta de sangue, não houve correlação com a ocorrência de positividade do potencial evocado somato-sensitivo entre os pacientes (Tabela 6, Gráfico 6).

Tabela 6 - Estatística descritiva da idade (mês) dos pacientes por ocasião da coleta de sangue agrupados de acordo com a ocorrência ou não da melhora neurológica (potencial evocado) após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas. Comparação pelo teste t de student ($\alpha=0,05$ bilateral)

IDADE (MÊS) POR OCASIÃO DA COLETA	MELHORA NEUROLÓGICA		
	Com	Sem	TOTAL
M	374,3	428,9	392,5
DP	93,2	123,5	105,9
EPM	18,3	34,3	17,0
MAX	636	679	679
MIN	227	256	227
N	26	13	39
K-S	0,12	0,18	0,11
CV%	24,9	28,8	27,0
Teste t de student		t=1,55	p=0,13

Gráfico 6 - Idade (mês) dos pacientes por ocasião da coleta de sangue agrupados de acordo com a ocorrência ou não da melhora neurológica (potencial evocado) após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas

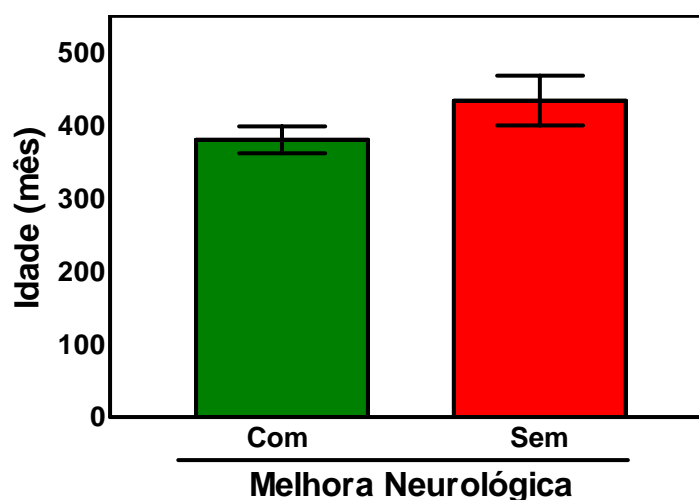


Na avaliação da idade dos pacientes por ocasião da infusão de células progenitoras autógenas não houve correlação com a ocorrência de positividade do potencial evocado somato-sensitivo (Tabela 7, Gráfico 7).

Tabela 7 - Estatística descritiva da idade (mês) dos pacientes por ocasião da infusão agrupados de acordo com a ocorrência ou não da melhora neurológica (potencial evocado) após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas. Comparação pelo teste t de student ($\alpha=0,05$ bilateral)

IDADE (MÊS) POR OCASIÃO DA INFUSÃO	MELHORA NEUROLÓGICA		
	Com	Sem	TOTAL
M	380,1	434,0	398,1
DP	92,6	122,9	105,2
EPM	18,2	34,1	16,8
MAX	643	686	686
MIN	236	263	236
N	26	13	39
K-S	0,12	0,19	0,11
CV%	24,4	28,3	26,4
Teste t de student	t=1,54		p=0,13

Gráfico 7 - Idade (mês) dos pacientes por ocasião da infusão agrupados de acordo com a ocorrência ou não da melhora neurológica (potencial evocado) após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas

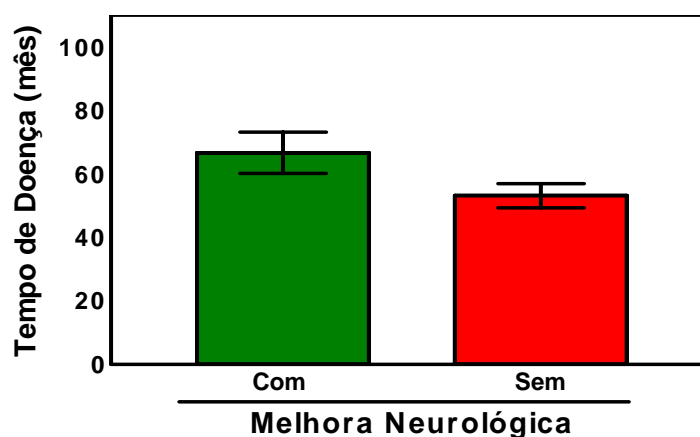


Comparando-se o tempo decorrido entre a lesão medular e a infusão de células progenitoras autógenas entre os pacientes que tiveram positividade do potencial evocado somato-sensitivo com o tempo dos pacientes que não obtiveram mudança no padrão de seus exames de potencial evocado, não houve variação estatisticamente significativa. (Tabela 8, Gráfico 8).

Tabela 8 - Estatística descritiva do tempo de doença (mês) dos pacientes agrupados de acordo com a ocorrência ou não da melhora neurológica (potencial evocado) após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas. Comparação pelo teste u de Mann-Whitney ($\alpha=0,05$ bilateral)

TEMPO DE DOENÇA (MÊS)	MELHORA NEUROLÓGICA		
	Com	Sem	TOTAL
M	66,7	53,2	62,2
DP	33,0	13,5	28,5
EPM	6,5	3,8	4,6
MAX	14,4	78	144
MIN	30	36	30
N	26	13	39
K-S	0,25	0,17	0,22
CV%	49,4	25,6	45,9
Teste U de Mann-Whitney	U=149,5		p=0,57

Gráfico 8 - Tempo de doença dos pacientes (mês) agrupados de acordo com a ocorrência ou não da melhora neurológica (potencial evocado) após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas



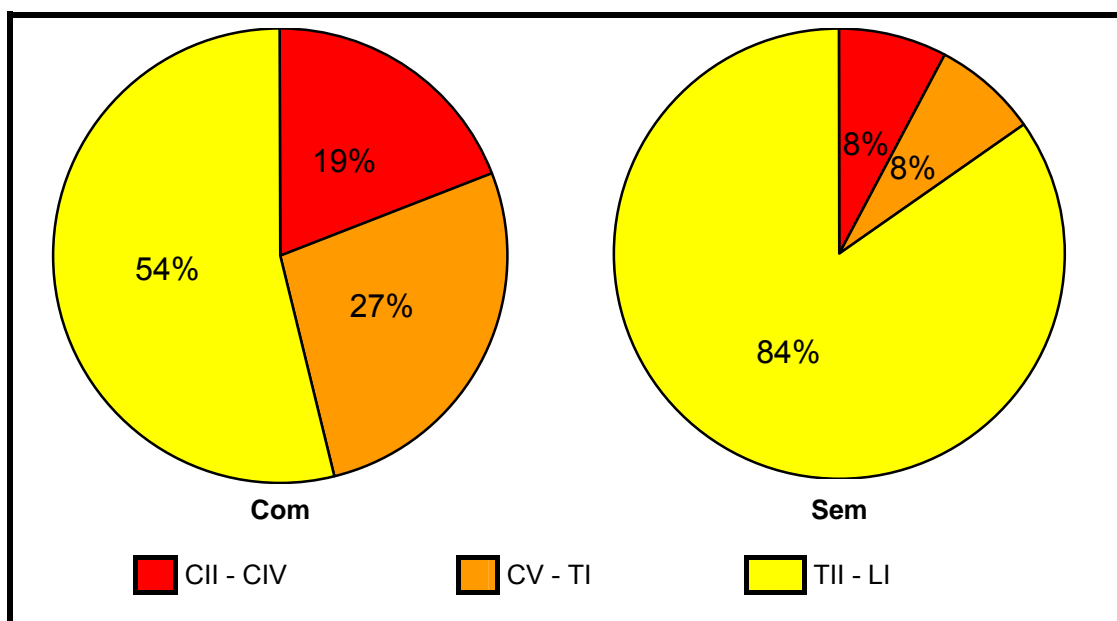
Quando foi avaliado o nível ósseo de lesão medular e a ocorrência de posituação do exame de potencial evocado também não houve correlação estatisticamente significativa (Tabela 9, Gráfico 9).

Tabela 9 - Distribuição de freqüência, absoluta (n) e relativa (%), do nível da lesão dos pacientes agrupados de acordo com a ocorrência ou não da melhora neurológica (potencial evocado) após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas. Comparação pelo teste exato de Fisher ($\alpha=0,05$ bilateral)

NIVEL DA LESÃO	MELHORA NEUROLÓGICA				TOTAL	
	Com		Sem		N	%
	N	%	N	%		
CII - CIV	5	12,8	1	2,6	6	15,4
CV - TI	7	17,9	1	2,6	8	20,5
TII - LI	14	35,9	11	28,2	25	64,1
Total	26	66,7	13	33,3	39	100,0

Fisher (CII-CIV + CV-TI ↔ TII-LI) p=0,08

Gráfico 9 - Nível da lesão dos pacientes agrupados de acordo com a ocorrência ou não da melhora neurológica (potencial evocado) após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas

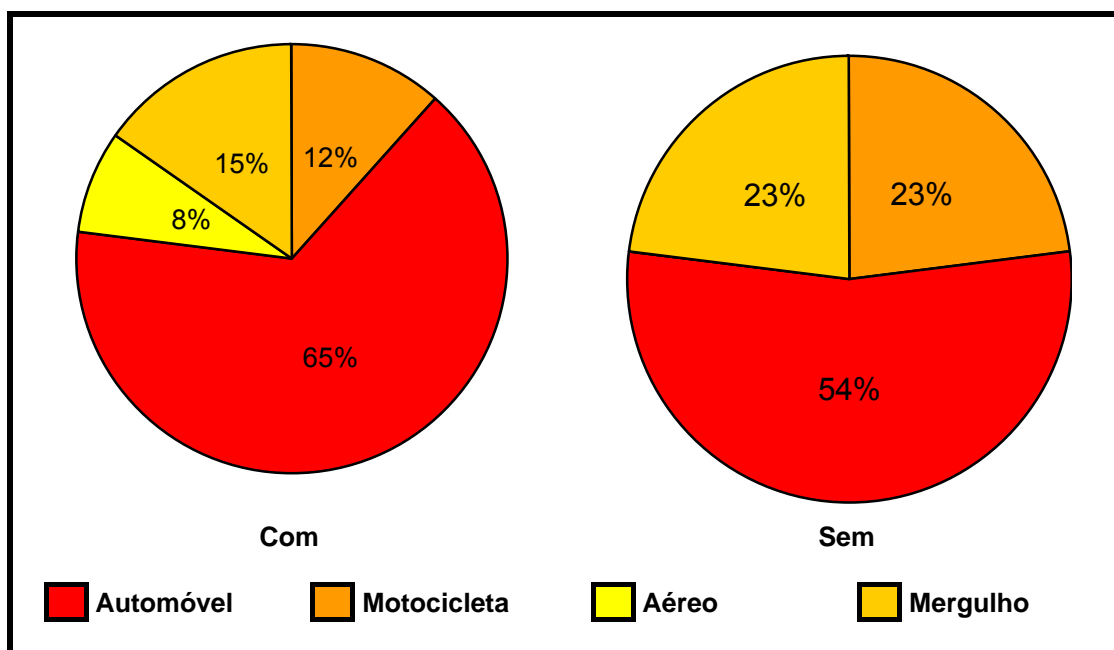


Quando foi avaliada a causa de lesão medular e a ocorrência de posituação do exame de potencial evocado também não houve correlação estatisticamente significativa (Tabela 10, Gráfico 10).

Tabela 10 - Distribuição de frequência, absoluta (n) e relativa (%), da causa externa de morbidade dos pacientes agrupados de acordo com a ocorrência ou não da melhora neurológica (potencial evocado) após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas.

CAUSA EXTERNA DE MORBIDADE	MELHORA NEUROLÓGICA				TOTAL	
	Com		Sem		N	%
	N	%	N	%		
ACIDENTE COM MOTOCICLETA	3	7,7	3	7,7	6	15,4
ACIDENTE COM AUTOMÓVEL	17	43,6	7	17,9	24	61,5
ACIDENTE COM VEÍCULO AÉREO	2	5,1	0	0	2	5,1
ESPORTE, QUEDA E MERGULHO	4	10,2	3	7,7	7	17,9
Total	26	66,7	13	33,3	39	100,0

Gráfico 10 - Causa externa de morbidade dos pacientes agrupados de acordo com a ocorrência ou não da melhora neurológica (potencial evocado) após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas



Dentre os pacientes com positividade do potencial evocado somato-sensitivo, observamos uma média de nove meses decorridos desde a infusão até a positividade de potencial evocado de membros inferiores e uma média de 10,4 meses até a positividade de potencial evocado de membros superiores (Tabelas 11, 12, 13; Gráfico 11).

Tabela 11 - Estatística descritiva do tempo (mês) após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas até a recuperação neurológica do paciente (sinal inicial do potencial evocado)

	TEMPO (MÊS) ATÉ A RECUPERAÇÃO NEUROLÓGICA	
	MMII	MMSS
M	9,0	10,4
DP	6,6	7,3
EPM	1,4	2,8
MAX	24	18
MIN	1	1
N	21 ¹	7
K-S	0,34* (não paramétrico)	0,30
CV%	72,8	70,0

¹ Para a análise do tempo até a recuperação neurológica (sinal do potencial evocado MMII) não se consideraram os pacientes sem melhora

Gráfico 11 - Tempo (mês) após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas até a recuperação neurológica do membro inferior e superior (sinal inicial do potencial evocado no mmii e no MMSS)

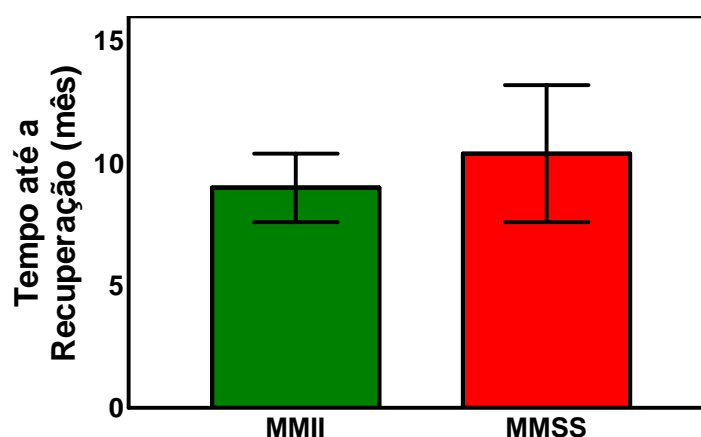


Tabela 12 - Estatística descritiva do tempo de latência (ms) medido pelo potencial evocado (p40 – córtex) dos membros inferiores, direito (d) e esquerdo (e), segundo o tempo decorrido após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas

TEMPO DE LATENCIA (ms) – POTENCIAL EVOCADO MMII (P40 – CÓRTEX)														
	1 mês		6 meses		12 meses		18 meses		24 meses		30 meses		36 meses	
	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E
M	74,7	69,3	65,2	65,7	60,3	61,7	61,9	62,0	60,6	61,1	58,3	59,7	56,9	61,6
DP	10,3	8,7	11,6	13,7	12,2	13,9	12,6	13,5	21,1	13,4	9,6	10,8	7,6	8,2
EPM	6,0	4,3	3,1	3,8	3,0	3,6	2,8	3,1	2,6	3,0	2,2	2,5	3,1	3,3
MAX	82,03	78,13	81,25	82,74	82,81	85,16	83,20	85,35	85,16	86,91	76,56	77,34	66,99	72,46
MIN	62,89	57,81	43,95	46,48	41,80	42,97	40,04	44,73	41,99	41,02	42,38	41,99	44,73	48,24
N	3	4	14	13	17	15	20	19	22	20	19	18	6	6
K-S	0,33	0,20	0,12	0,16	0,14	0,14	0,10	0,22	0,10	0,12	0,10	0,09	0,20	0,16
CV%	13,81	12,54	17,83	20,84	20,25	22,50	20,40	21,80	19,92	21,87	16,44	18,06	13,29	13,28

Tabela 13 - Estatística descritiva do tempo de latência (ms) medido pelo potencial evocado (n20 – córtex) dos membros superiores, direito (d) e esquerdo (e), segundo o tempo decorrido após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas (11 pacientes com alterações dos mmss, 9 melhoras)

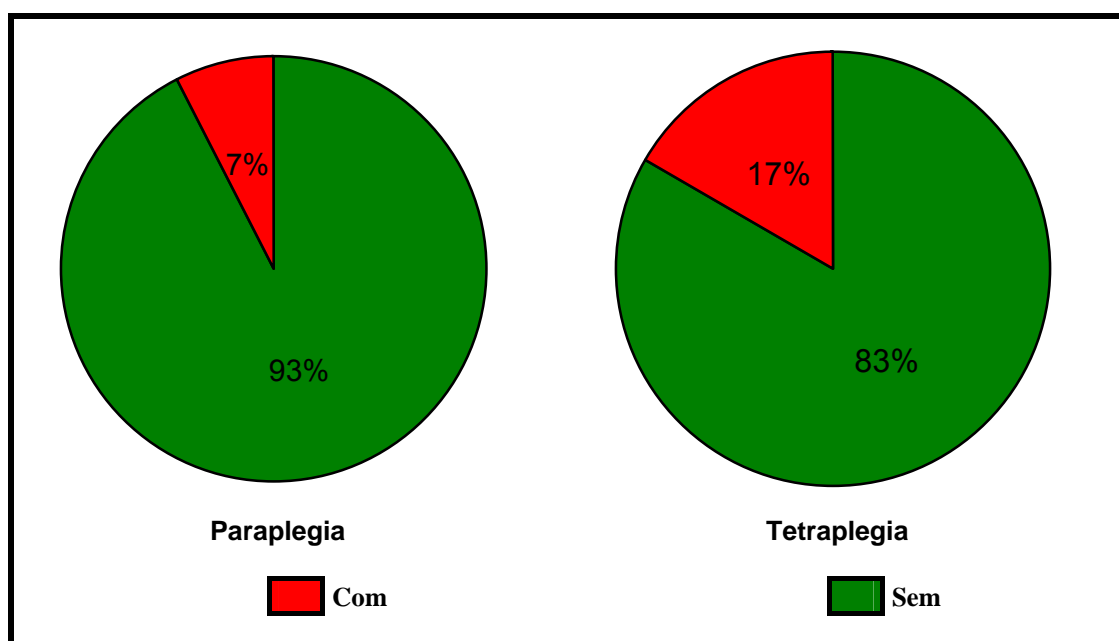
TEMPO DE LATENCIA (ms) – POTENCIAL EVOCADO MMSS (N20 – CÓRTEX)														
	1 mês		6 meses		12 meses		18 meses		24 meses		30 meses		36 meses	
	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E
M	22,0	21,6	26,4	23,9	31,4	26,2	26,6	24,1	27,1	24,9	25,6	22,5	-	-
DP	0,5	0,7	7,7	4,3	8,8	6,3	5,6	4,3	6,8	5,2	7,0	2,2	-	-
EPM	0,3	0,4	3,4	1,9	3,3	2,2	2,0	1,5	2,4	1,8	2,8	0,8	-	-
MAX	22,56	22,36	39,55	30,96	42,09	37,50	33,30	34,28	36,13	36,04	38,77	26,95	-	-
MIN	21,58	21,19	20,90	19,82	20,51	20,90	19,24	20,02	19,62	19,82	20,12	20,70	-	-
N	3	3	5	5	7	8	8	8	8	8	6	7	-	-
K-S	0,22	0,38	0,29	0,29	0,17	0,33	0,23	0,37	0,26	0,24	0,25	0,5	-	-
CV%	2,24	3,13	29,12	17,84	27,92	23,98	21,08	17,77	25,16	20,73	27,17	9,62	-	-

Observamos complicações em quatro pacientes. Um caso de pneumotórax e três de reação alérgica localizada ao contraste empregado durante a angiografia medular para localização da artéria espinal anterior. Não houve diferença estatisticamente significativa de complicações entre pacientes classificados como paraplégicos e tetraplégicos (Tabela 14; Gráfico 14).

Tabela 14 - Distribuição de freqüência, absoluta (n) e relativa (%), da ocorrência ou não de complicações após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas nos pacientes agrupados de acordo com o tipo de paralisia. Comparação pelo teste exato de Fisher ($\alpha=0,05$ bilateral)

COMPLICAÇÕES	TIPO DE PARALISIA				TOTAL	
	PARAPLEGIA		TETRAPLEGIA		N	%
	N	%	N	%		
COM	2	5,1	2	5,1	4	10,2
SEM	25	64,1	10	25,6	35	89,7
Total	27	69,2	12	30,8	39	100,0
Fisher	p= 0,57					

Gráfico 14 - Ocorrência ou não de complicações nos pacientes após a infusão das células progenitoras indiferenciadas autógenas agrupados de acordo com o tipo de tratamento



6. DISCUSSÃO

O esclarecimento da fisiopatologia envolvida na lesão medular, o conhecimento mais detalhado da circulação sanguínea da medula e a melhoria das técnicas cirúrgicas, da segurança anestésica e dos instrumentais de estabilização da coluna vertebral propiciam que a partir do final da década de 70 e início da década de 80 fosse estabelecido um protocolo mais adequado de tratamento para pacientes com lesão medular que consistia em:

- descompressão do canal vertebral o mais rapidamente possível para possibilitar melhor chance de recuperação neurológica;
- estabilização rígida da coluna vertebral com instrumentais que permitam a mobilização precoce dos pacientes sem a necessidade de grandes aparelhos de imobilização externa;
- programas de reabilitação iniciados precocemente com atividades de fisioterapia motora e respiratória, reeducação de esfínteres, acompanhamento psicológico visando evitar as graves complicações decorrentes da lesão medular.

Com este protocolo o prognóstico dos pacientes melhorou, porém ainda pouco era feito em relação à lesão medular propriamente dita.

Até há pouco tempo o sistema nervoso central dos mamíferos era tido como incapaz de se reparar ou se regenerar após algum grau de lesão (**Yamamoto et al., 2001**). Contudo, demonstra-se que para recuperação da qualidade de vida do paciente com lesão medular, a medula não necessariamente precisaria ser totalmente reconstruída. Benefícios desproporcionais podem ser obtidos de mínimas reparações anatômicas.

Blight (1983) demonstra em seu trabalho empregando ratos com lesão medular torácica que apenas 10% de restabelecimento de conexões neuronais seriam suficientes para permitir a locomoção dos animais.

Restaurar a integridade dos circuitos neuronais demonstra-se a principal forma de obtenção da recuperação neurológica em lesados medulares. A reconstrução destes circuitos neurológicos lesados ainda não foi conseguida nem em cobaias nem em humanos. Contudo já existem evidências de reconstruções parciais como em tecido do núcleo estriato fetal transplantado para tratar a Doença de Huntingtons em ratos e seres humanos (**Bachoud-Levi, 2000; Hauser et al., 2002**) e em transplante de neurônios dopaminérgicos de fetos humanos para pacientes com a Doença de Parkinson (**Piccini et al., 1999, 2000; Freed et al., 2001**).

A farmacologia emprega preferencialmente a metilprednisolona por seus efeitos neuroprotetores. Citam-se a inibição da lesão oxidativa da célula pela formação de radicais livres, a inibição da peroxidação lipídica, a

diminuição da liberação de aminoácidos excitatórios, a diminuição do influxo de cálcio intracelular e o aumento do fluxo sangüíneo para a medula lesada (**Anderson et al.,1982**). O protocolo do “National Acute Spinal Cord Injury Studies” (NASCIS-2 e NASCIS-3), amplamente utilizado, resulta em melhora da função neurológica na lesão medular aguda (**Bracken et al., 1990; Bracken, 2001**). Os gangliosídeos (GM-1) demonstram efeito neurotrófico, mas parecem inibir os efeitos neuroprotetores da metilprednisolona e seu mecanismo de ação ainda não está bem elucidado, estando esta droga em caráter experimental (**Geisler et al., 1991 e 1993; Constantini e Young, 1994**). Percebe-se que na prática clínica o emprego dos fármacos se restringe à ação coadjuvante na lesão medular aguda, necessitando de maiores evidências quanto ao mecanismo de ação e eficácia.

As técnicas cirúrgicas têm grande avanço. O uso de materiais de implante aperfeiçoados propiciam a realização de cirurgias de reconstrução com fixação de fraturas instáveis. A prevenção de danos adicionais e a facilitação da reabilitação precoce são vantagens consagradas. Entretanto, isoladamente não conduzem à melhora do estado neurológico necessitando de terapias complementares.

As duas linhas de pesquisa dirigidas para a regeneração do dano medular são a modificação do ambiente do sítio de lesão e a ativação da capacidade neuronal intrínseca. A primeira se faz através do implante de pontes semeadas com células de tecido fetal, células gliais e neutralização

das moléculas de inibição do crescimento neuronal. O segundo ramo de pesquisa diz respeito à utilização de genes estimuladores da regeneração neuronal intrínseca (*GAP-43*, *Bcl-2*, *c-Jun*), ou através do implante de fatores neurotróficos (fatores de crescimento derivados das plaquetas e fatores de crescimento dos fibroblastos). Sabemos que a regeneração ocorre mais facilmente no sistema nervoso periférico do que no sistema nervoso central e esta diferença está em parte relacionada a proteínas associadas à mielina. A neutralização dessas proteínas por anticorpos monoclonais (IN-1) pode levar a regeneração em ratos adultos (**Bregman e Bagden, 1994; Bartholdi e Schwab, 1997**).

Muitos estudos, em andamento, avaliam a regeneração do sistema nervoso central com o uso de fatores neurotróficos, do enxerto de nervos periféricos associados ou não a fatores neurotróficos, de anticorpos bloqueadores dos fatores inibitórios da regeneração, do enxerto de células do sistema nervoso central (**Ramon-Cueto et al., 1998**), e de células tronco (**Nockels e Young, 1992; Schwab e Bartholdi, 1996; Amar e Levy, 1999; Cristante et al., 2002; Barros Filho et al., 2002**).

Os transplantes podem influenciar a recuperação da função pós-dano do sistema nervoso central através de grande variedade de mecanismos, como: conseqüências não específicas de transplantes (ações tróficas, liberação hormonal e transmissores) e inclusive através de mecanismos mais específicos envolvendo a reinervação das células hospedeiras e

estabelecimento de conexões recíprocas entre o tecido transplantado e o tecido hospedeiro. O transplante de células do sistema nervoso central fetal pode servir como ponte entre a medula e os níveis supraespinais através do sítio da lesão; pode fornecer uma população de células no sítio da lesão e servir de substrato para o restabelecimento da comunicação celular entre os níveis supra e infralesionais (**Bregman e Reier, 1986; Bregman e Bagden, 1994; Horner et al., 1994**). Os requisitos para a reparação anatômica e funcional após lesão medular são mais complexos que os requisitos para recuperação de outros danos neurológicos que geralmente requerem apenas restauração dos níveis de neurotransmissores para que haja importante recuperação funcional (**Horner et al., 1994**).

Estes novos recursos terapêuticos proporcionam, pela primeira vez, uma perspectiva de cura, ainda que, controversa pelas suas implicações éticas (**Debrovner, 2000**). A utilização de células embrionárias na prática clínica se depara com implicações éticas, técnicas e imunológicas (**Whittemore, 1999**). Devido aos pequenos resultados práticos do uso de medicamentos e ainda do longo caminho a ser percorrido com estes novos estudos sobre a regeneração neuronal, não há presunção da terapia única.

Estudos sobre transplantes de células progenitoras demonstram que tais células têm a capacidade de mudar sua linhagem de acordo com sinalizações recebidas do tecido em que são implantadas e têm capacidade de se integrar ao tecido receptor. Tais células podem ser isoladas,

expandidas e mesmo assim mantém sua pluripotencialidade (**Suhonen et al., 1996; McDonald e Becker, 2003; Cizkova et al., 2006**).

Reier et al., em **2001**, publicam pela primeira vez resultados do emprego de transplante de células tronco em humanos. Provam que tal transplante seria possível e para o pouco tempo de observação possível, seria seguro.

No presente estudo optou-se pela utilização do transplante de células progenitoras em humanos visto que **Lakatos e Franklin (2002)**, em seu artigo de revisão apontam para a necessidade de ensaios clínicos com este tipo de metodologia para dar seqüência aos então promissores estudos experimentais realizados. **Dobkin e Havton (2004)**, também em artigo de revisão, encorajam os estudos clínicos com células progenitoras e outras terapias biológicas e recomendam a criação de um comitê de ética internacional para a avaliação dos protocolos e que inicialmente fossem incluídos apenas pacientes com lesões completas e crônicas, de modo a minimizar os riscos de piora neurológica que poderia ocorrer em pacientes com lesão aguda ou incompleta.

Optou-se por realizar o estudo com pacientes com lesão medular traumática fechada visto que a fisiopatologia deste tipo de lesão é a mais bem conhecida e estudada. Classificou-se a lesão em completa ou incompleta baseados no exame clínico e no exame de potencial evocado

somato-sensitivo que pode ser utilizado tanto para diferenciação como para monitorização de recuperação neurológica (**Burns et al., 2003; Barros et al., 2003a; Marino et al., 2003**).

Incluíram-se apenas pacientes com lesão medular há mais de dois anos e optou-se por utilizar o quadro neurológico inicial dos pacientes como controle visto que **Burns e Ditunno (2001), Ditunno et al. (1992), Waters et al. (1992), Waters et al. (1994)** demonstram que a maioria da recuperação neurológica em pacientes com lesão completa ocorre nos primeiros 6 a 9 meses depois da lesão e que após 12 a 18 meses praticamente não há mais recuperação para estes pacientes. Desse modo, qualquer tipo de alteração no estado neurológico desses pacientes após inclusão no estudo seria creditada à terapêutica testada. O uso de transplante de células tronco nas fases agudas da lesão faz com que pequena porcentagem sobreviva, e ainda há a diferenciação destas células em astrócitos em função do microambiente desfavorável criado imediatamente depois da lesão medular (**Johansson et al., 1999**).

Optou-se pelo uso de enxerto autólogo ao invés de enxerto de células embrionárias em função das implicações éticas e das dificuldades técnicas do uso de células embrionárias, além da necessidade de imunossupressão que seria necessária para pacientes lesados medulares, já predispostos a infecções respiratórias, urinárias e de escaras (**Whittemore, 1999**).

Realizaram-se todas as etapas do protocolo com os pacientes internados para melhor controle de eventuais intercorrências e complicações.

Seguiu-se o protocolo de mobilização de células e coleta celular através de método de aférese empregado no Hemocentro do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo que coincide com o empregado em diversos serviços que realizam pesquisas sobre células tronco. **(Huss, 2000; Huss et al., 2000; Korbling et al., 2002).**

Optou-se pela coleta de sangue periférico, visto que está provado que o sangue de indivíduos adultos contém células progenitoras, o que faz do sangue uma fonte acessível e segura de células progenitoras tanto de linhagem hematopoética como de linhagem mesenquimal **(Huss, 2000; Huss et al., 2000; Raghunath et al, 2006).**

Os pacientes foram submetidos ao número de coletas necessárias para a obtenção de, no mínimo, $2,5 \times 10^6$ células CD 34+/ kg de peso do paciente. O número mínimo de células CD34+ necessárias para o tratamento da lesão medular crônica não está definido na literatura atual. Adotou-se o número mínimo de $2,5 \times 10^6$ células CD 34+/ kg de peso/paciente, número suficiente para reconstituição hematopoética a curto e a longo prazo em pacientes que recebem terapia mieloablativa para o transplante de medula óssea. Entende-se que se este número é suficiente

para reconstituição de toda hematopoese, também deve ser suficiente para a reconstituição do tecido nervoso lesado (**Korbling et al., 2002**).

Fez-se a infusão arterial do concentrado de células progenitoras e acredita-se que a própria lesão medular sinaliza, atrai e estimula a proliferação das células implantadas (**Nunes et al., 2003; Cizkova et al., 2006; Sykova et al., 2006**). Em todos os pacientes foi possível identificar a artéria espinal anterior que irrigasse o sítio da lesão medular.

O seguimento dos pacientes foi realizado através de exames de potencial evocado somato-sensitivo, visto que até agora somente este exame neurofisiológico está desenvolvido o suficiente para ser incluso em ensaios clínicos. Com melhor desenvolvimento espera-se que o potencial evocado somato-sensitivo seja utilizado ainda como critério de inclusão, estratificação de pacientes e análise dos desfechos destes ensaios (**Rowed et al., 1978; Rowed, 1982; Curt et al., 2004; Tator, 2006**).

Nestes dois anos e meio houve perda de seguimento de três pacientes. Para fins estatísticos, considerou-se o desfecho destes pacientes como sendo o pior possível, ou seja, sem positividade do exame de potencial evocado.

Observou-se a positividade de potencial evocado de membros inferiores ou a normalização do tempo de latência nos potenciais evocados de membros superiores em 66,7% (Tabela 1 e Gráfico 1) dos pacientes

submetidos ao protocolo. A positivação do potencial evocado dos pacientes transplantados foi creditada à formação de novas sinapses entre os neurônios hospedeiros com os neurônios derivados das células tronco transplantadas o que possibilitaria a condução de impulsos elétricos **(Bregman et al., 1993)** ou à contribuição das células gliais derivadas das células transplantadas que poderiam remielinizar células e restaurar suas propriedades de condução elétrica. **(Crowe et al., 1997)**.

Os vários estudos em animais empregando células progenitoras no tratamento da lesão medular e a comprovação de que tais células transplantadas se diferenciam em células gliais e neuronais e promovem recuperação neurológica incentivam os ensaios clínicos em vários países. As maiores atrações desta estratégia de tratamento reside na possibilidade de obter material autólogo para transplante e no fato destas células demonstrarem tropismo pela área lesada da medula e poderem ser efetivas mesmo com infusão à distancia; de modo intravascular ou intratecal. **(Chopp et al., 2000; Cizkova et al., 2006; Sykova et al., 2006; Tator, 2006)**.

Embora existam vários ensaios clínicos por todo o mundo envolvendo o uso de células progenitoras, publicam-se poucos artigos até o momento. **Park et al.** em **2005**, publicam um estudo que inclui seis pacientes com lesão medular completa que recebem transplantes de células progenitoras colhidas da medula óssea entre 7 e 14 dias depois da lesão. Todos os seis pacientes

apresentam melhora neurológica. Todos os pacientes recebem injeções de fatores estimuladores de colônia e um dos pacientes que tem melhora recebe apenas estas injeções e não é submetido ao transplante de células. **Sykova et al.** em **2006**, em estudo com 20 pacientes com lesão medular completa que recebem células progenitoras autólogas por injeção intravascular (intravenosa periférica ou através de cateterização da artéria vertebral), observa melhora neurológica em todos os pacientes com lesão subaguda que recebem células via artéria vertebral e em apenas um paciente com lesão subaguda que recebe células endovenosamente. Relatam ainda melhora em apenas dois pacientes com lesão crônica que recebem células via artéria vertebral; e inferem que a técnica de injeção intravascular empregada é segura e que seria importante realizar o tratamento com pacientes após três ou quatro semanas da lesão medular e que a infusão deveria ser feita o mais próximo possível do sítio da lesão para obtenção de melhores resultados.

Com dois anos e meio de seguimento e com este número de pacientes não se conseguiu identificar nenhum fator que se correlacione com uma chance maior de resposta ao implante de células tronco. Correlacionou-se a idade dos pacientes por ocasião da lesão (Tabela 5 de Gráfico 5), a idade dos pacientes por ocasião da coleta de células (Tabela 6 e Gráfico 6), a idade dos pacientes por ocasião da infusão das células (Tabela 7 e Gráfico 7), o sexo dos pacientes (Tabela 4 e Gráfico 4), o nível da lesão (Tabela 9 e Gráfico 9), o mecanismo de trauma causador da lesão

(Tabela 10 e Gráfico 10) e somente a idade dos pacientes por ocasião da lesão revelou uma tendência de que quanto menor fosse a idade por ocasião da lesão maior seria a probabilidade de resposta ao implante de células tronco (Tabela 9 e Gráfico 9).

Quanto às complicações, observaram-se quatro: um caso de pneumotórax durante o procedimento de passagem de cateter duplo lúmen para realização de coleta de células tronco; e três casos de reação alérgica localizada durante a infusão de contraste para identificação das artérias intercostais para infusão das células tronco. O pneumotórax foi resolvido através de drenagem de tórax e os casos de reação alérgica foram resolvidos com infusão intravenosa de corticóide. Estes pacientes concluíram todas as etapas do protocolo e não foi necessária a exclusão dos mesmos. Não foram observados óbitos nestes dois anos e meio de seguimento; nenhum paciente apresentou piora do quadro neurológico inicialmente constatado e não foi diagnosticado nenhum caso de doença metaplásica. Contudo, **Hofstetter et al.** em **2005**, demonstram em animais que tal transplante pode causar efeitos colaterais indesejáveis, entre eles dor neuropática.

O presente estudo é pioneiro, prospectivo porém não é randomizado e nem cego. O médico fisiatra que realizou os exames de potencial evocado tinha conhecimento que estes pacientes estavam envolvidos no protocolo de células tronco.

No futuro, a possibilidade da engenharia genética celular permitirá correções e melhor orientação das células a serem transplantadas e a produção de substâncias importantes para estimular a regeneração celular no ambiente da lesão medular.

A ciência está desvendando os mecanismos de proteção celular e neuroregeneração, mas clinicamente esta-se ainda apenas fornecendo tratamento de suporte para os pacientes com lesão medular. O presente trabalho demonstrou que o domínio da diferenciação e proliferação das células tronco e sua associação com drogas, meios físicos e procedimentos cirúrgicos abrem grandes possibilidades na busca do tratamento da lesão medular.

7. CONCLUSÕES

Após dois anos e meio de seguimento, o protocolo de mobilização, coleta e infusão de células progenitoras mostrou-se seguro.

A infusão de células progenitoras autógenas em pacientes com lesão medular completa crônica levou à positivação do exame de potencial evocado somato-sensitivo ou à melhoria do tempo de latência para a obtenção de resposta cortical a partir do estímulo periférico.

8. REFERÊNCIAS

Akesson E, Holmberg L, Jonhagen ME, Kjaeldgaard A, Falci S, Sundstrom E, et al. Solid human embryonic spinal cord xenografts in acute and chronic spinal cord cavities: a morphological and functional study. *Exp Neurol.* 2001;170(2):305-16.

Akiyama Y, Honmou O, Kato T, Uede T, Hashi K, Kocsis JD. Transplantation of clonal neural precursor cells derived from adult human brain establishes functional peripheral myelin in the rat spinal cord. *Exp Neurol.* 2001;167(1):27-39.

Albin MS, White RJ. Epidemiology, physiopathology, and experimental therapeutics of acute spinal cord injury. *Crit Care Clin.* 1987;3(3):441-52.

Allen AR. Remarks on the histopathological changes in spinal cord due to impact: an experimental study. *J Nerv Ment Dis.* 1914; 41: 141-47.

Allen AR. Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation: a preliminary report. *J Am. Med. Assoc.* 1911; 57: 878-880.

Amar AP, Levy ML. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery.* 1999;44(5):1027-39.

Anderson DK, Braughler JM, Hall ED, Waters TR, Maccall JM, Means ED. Effects of treatment with U-74006F on neurological outcome after experimental spinal cord injury. *J Neurosurg.* 1988;69(4):562-7.

Anderson DK, Means ED, Waters TR, Green ES. Microvascular perfusion and metabolism in injured spinal cord after methylprednisolone treatment. *J Neurosurg.* 1982;56(1):106-13.

Auerbach JM, Eiden MV, McKay RD. Transplanted CNS stem cells form functional synapses in vivo. *Eur J Neurosci.* 2000; 12(5):1696-704.

Bachoud-Levi AC, Remy P, Nguyen JP, Brugieres P, Lefaucheur JP, Bourdet C, et al. Motor and cognitive improvements in patients with Huntington's disease after neural transplantation. *Lancet.* 2000;356(9246):1975-9.

Balentine JD. Hypotheses in spinal cord trauma research. In: Becker DP, Povlishock, editores. *Central Nervous System Trauma Status Report.* Bethesda: National Institutes of Health; 1985. p. 455-61.

Balentine JD. Pathology of experimental spinal cord trauma: I the necrotic lesion as a function of vascular injury. *Lab Invest.* 1978;39(3):236-53.

Barros TE, Oliveira R, Barros EMK, Cristante AF, Marcon RM, Camargo A. Somatosensory evoked potential in the evaluation of the effects of 4-aminopyridine. *J Spinal Cord Med.* 2003a; 26:S33.

Barros TE, Oliveira R, Barros EMK, Mattar Junior R, Cristante AF, Marcon RM, et al. The use of peripheral nerve brigdes to spinal cord injury. *J Spinal Cord Med.* 2003b; 26:S33.

Barros Filho TEP, Oliveira RP, Tsanaclis AM, Barros EMKP, Cristante AF, Palma RM, et al. An experimental model for the transplatation of fetal central nervous system cells to the injured spinal cord in rats. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo.* 2002;57(6):257-64.

Barros Filho TEP, Taricco MA, Oliveira RP, Greve JMD, Santos LCR, Napoli MMM. Estudo epidemiológico dos pacientes com traumatismo da coluna vertebral e déficit neurológico, internados no Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo.* 1990; 45(3):123-26.

Bartholdi D, Schwab ME. Expression of pro-inflammatory cytokine and chemokine mRNA upon experimental spinal cord injury in mouse: an in situ hybridization study. *Eur J Neurosci.* 1997;9(7):1422-38.

Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma.* 1995;12(1):1-21.

Becker D, Sadowsky CL, McDonald JW. Restoring function after spinal cord injury. *Neurologist.* 2003;9(1):1-15.

Bjorklund A, Lindvall O. Cell replacement therapies for central nervous system disorders. *Nat Neurosci.* 2000;3(6):537-44.

Blight AR. Cellular morphology of chronic spinal cord injury in the cat: analysis of myelinated axons by line-sampling. *Neuroscience.* 1983;10(2):521-43.

Bracken MB. Methylprednisolone and acute spinal cord injury: an update of the randomized evidence. *Spine.* 2001;26(24 Suppl):S47-54.

Bracken MB. Pharmacological treatment of acute spinal cord injury: current status and future projects. *J Emerg Med.* 1993;11(Suppl 1):43-8.

Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF, Holford TR, Baskin DS, Eisenberg HM, et al. Methylprednisolone or naloxone treatment after acute spinal cord injury: 1-year follow-up data. Results of the second National Acute Spinal Cord Injury Study. *J Neurosurg.* 1992;76(1):23-31.

Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF, Holford TR, Young W, Baskin DS, et al. A randomized, controlled trial of methylprednisolone or naloxone in the treatment of acute spinal-cord injury. Results of the Second National Acute Spinal Cord Injury Study. *N Engl J Med.* 1990;322(20):1405-11.

Bracken MB, Shepard MJ, Holford TR, Leo-Summers L, Aldrich EF, Fazl M, et al. Administration of methylprednisolone for 24 or 48 hours or tirilazad mesylate for 48 hours in the treatment of acute spinal cord injury. Results of the Third National Acute Spinal Cord Injury Randomized Controlled Trial. National Acute Spinal Cord Injury Study. *JAMA.* 1997; 277(20):1597-604.

Braughler JM, Hall ED. Current application of "high-dose" steroid therapy for CSN injury: a pharmacological perspective. *J Neurosurg.* 1985;62(6):806-10.

Brazelton TR, Rossi FM, Keshet GI, Blau HM. From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice. *Science.* 2000; 290(5497):1775-9.

Breasted JH. *The Edwin Smith surgical papyrus.* Chicago: University of Chicago Press; 1930. 2v.

Bregman BS, Bagden EK. Potential mechanisms underlying transplant mediated recovery of function after spinal cord injury In: Marwah J, Teitelbaum H, Prasad KN, editores. *Neural transplantation, CNS neuronal injuries and regeneration: recents advances.* New York: CRC Press Inc; 1994. p. 81-102.

Bregman BS, Kunkel-Bagden E, Reier PJ, Dai HN, McAtee M, Gao D. Recovery of function after spinal cord injury: mechanisms underlying transplant-mediated recovery of function differ after spinal cord injury in newborn and adult rats. *Exp Neurol.* 1993;123(1):3-16.

Bregman BS, Reier PJ. Neural tissue transplants rescue axotomized rubrospinal cells from retrograde death. *J Comp Neurol.* 1986;244(1):86-95.

Burns AS, Ditunno JF. Establishing prognosis and maximizing functional outcomes after spinal cord injury: a review of current and future directions in rehabilitation management. *Spine.* 2001;26(24 Suppl):S137-45.

Burns AS, Lee BS, Ditunno JF Jr, Tessler A. Patient selection for clinical trials: the reliability of the early spinal cord injury examination. *J Neurotrauma.* 2003;20(5):477-82.

Callera F, Nascimento RX. Delivery of autologous bone marrow precursor cells into the spinal cord via lumbar puncture technique in patients with spinal cord injury: a preliminary safety study. *Exp Hematol.* 2006;34(2):130-1.

Cao QL, Onifer SM, Whittemore SR. Labeling stem cells in vitro for identification of their differentiated phenotypes after grafting into the CNS. In: Zigova T, Sandberg PR, Sanchez-Ramos J, editores. *Neural Stem Cell: methods and protocols.* New Jersey: Humana Press; 2002. p. 307-18.

Cao QL, Zhang P, Howard RM, Walters W, Tsoulfas P, Whittemore SR. Pluripotent stem cells engrafted into the normal or lesioned adult rat spinal cord are restricted to a glial lineage. *Exp Neurol.* 2001;167(1):48-58.

Chopp M, Zhang XH, Li Y, Wang L, Chen J, Lu D, et al. Spinal cord injury in rat: treatment with bone marrow stromal cell transplantation. *Neuroreport.* 2000;11(13):3001-5.

Cizkova D, Rosocha J, Vanicky I, Jergova S, Cizek M. Transplants of human mesenchymal stem cells improve functional recovery after spinal cord injury in the rat. *Cell Mol Neurobiol,* 2006; 26(7-8):1167-80.

Constantini S, Young W. The effects of methylprednisolone and the ganglioside GM1 on acute spinal cord injury in rats. *J Neurosurg.* 1994;80(1):97-111.

Coumans JV, Lin TT, Dai HN, MacArthur L, McAtee M, Nash C, et al. Axonal regeneration and functional recovery after complete spinal cord transection in rats by delayed treatment with transplants and neurotrophins. *J Neurosci.* 2001;21(23):9334-44.

Cristante AF, Tsanaclis AM, Santos CV, Barros EMKP, Marcon RM, Oliveira RP, et al. Estudo do implante e viabilidade de células do sistema nervoso central fetal no tratamento da lesão de medula espinal em ratos. *Folha de Ortopedia e Traumatologia.* 2002;9(34):2.

Crowe MJ, Bresnahan JC, Shumam SL, Masters JN, Beattie MS. Apoptosis and delayed degeneration after spinal cord injury in rats and monkeys. *Nat Med.* 1997;3(1):73-6.

Cuello AC, Garofalo L, Kenigsberg RL, Maysinger D. Gangliosides potentiate in vivo and in vitro effects of nerve growth factor on central cholinergic neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989;86(6):2056-60.

Curt A, Schwab ME, Dietz V. Providing the clinical basis for new interventional therapies: refined diagnosis and assessment of recovery after spinal cord injury. *Spinal Cord.* 2004;42(1):1-6.

Da Paz AC, Beraldo PS, Almeida MC, Neves EG, Alves CM, Khan P. Traumatic injury to the spinal cord: prevalence in Brazilian Hospitals. *Paraplegia.* 1992;30(9):636-40.

Debrovner CH. Stem cells: the miraculous cells rooted in controversy. *New York Society for Ethical Culture* [internet]. 2000. Disponível em: http://www.nysec.org/addresses/stem_cells.html

De La Torre JC, Johnson CM, Goode DJ, Mullan S. Pharmacologic treatment and evaluation of permanent experimental spinal cord trauma. *Neurology*. 1975;25(6):508-14.

De Ley G, Leybaert L. Effect of flunarizine and methylprednisolone on functional recovery after experimental spinal injury. *J Neurotrauma*. 1993;10(1):25-35.

Demopoulos HB, Flamm ES, Pietronigro DD, Seligman ML. The free radical pathology and the microcirculation in the major central nervous system disorders. *Acta Physiol Scand Suppl*. 1980;492:91-119.

Ditunno JF Jr, Stover SL, Freed MM, Ahn JH. Motor recovery of the upper extremities in traumatic quadriplegia: a multicenter study. *Arch Phys Med Rehabil*. 1992;73(5):431-6.

Dobkin BH, Havton LA. Basic advances and new avenues in therapy of spinal cord injury. *Annu Rev Med*. 2004;55:255-82.

Doetsch F, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Cellular composition and three-dimensional organization of the subventricular germinal zone in the adult mammalian brain. *J Neurosci*. 1997;17(13):5046-61.

Ducker TB, Hamit HF. Experimental treatments of acute spinal cord injury. *J Neurosurg*. 1969;30(6):693-7.

Ducker TB, Kindt GW, Kempf LG. Pathological findings in acute experimental cord trauma. *J Neurosurg.* 1971;35(6):700-8.

Ducker TB, Saleman M, Perot PL Jr, Ballantine D. Experimental spinal cord trauma, I: correlation of blood flow, tissue oxygen and neurologic status in the dog. *Surg Neurol.* 1978;10(1):60-3.

Dusart I, Schwab ME. Secondary cell death and the inflammatory reaction after dorsal hemisection of the rat spinal cord. *Eur J Neurosci.* 1994;6(5):712-24.

Fairholm DJ, Turnbull IM. Microangiographic study of experimental spinal cord injuries. *J Neurosurg.* 1971;35:277-86.

Falci S, Holtz A, Akesson E, Azizi M, Ertzgaard P, Hultling C, et al. Obliteration of a posttraumatic spinal cord cyst with solid human embryonic spinal cord grafts: first clinical attempt. *J Neurotrauma.* 1997;14(11):875-84.

Fardon D, Gardin S, Abitbol, JJ, editores. *Orthopaedic knowledge update: spine 2.* 2 ed. Rosemont: Academy of Orthopaedic Surgeons, 2002.

Fehlings MG, Tator CH. An evidence-based review of decompressive surgery in acute spinal cord injury: rationale, indications, and timing based on experimental and clinical studies. *J Neurosurg.* 1999;91(1 Suppl):1-11.

Fine PR, DeVivo MJ, Lazarus PB, Kartus PL, Rutt RD, Stover SL. The state of the national SCI database. *Paraplegia.* 1986;24: 51-2.

Freed CR, Greene PE, Breeze RE, Tsai WY, DuMouchel W, Kao R, et al. Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease. *N Engl J Med.* 2001;344(10):710-9.

Fricker RA, Carpenter MK, Winkler C, Greco C, Gates MA, Bjorklund A. Site-specific migration and neuronal differentiation of human neural progenitor cells after transplantation in the adult rat brain. *J Neurosci*. 1999;19(14):5990-6005.

Gage FH, Coates PW, Palmer TD, Kuhn HG, Fisher LJ, Suhonen JO, et al. Survival and differentiation of adult neuronal progenitor cells transplanted to the adult brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(25):11879-83.

Gale K, Kerasidis H, Wrathall JR. Spinal cord contusion in the rat: behavioral analysis of functional neurologic impairment. *Exp Neurol*. 1985;88(1):123-34.

Galvão PEC. *Avaliação funcional e histológica do efeito da oxigenoterapia hiperbárica em ratos com lesão medular contusa* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2003.

Gebrin AS, Cunha AS, Silva CF, Barros Filho TEP, Azze R. Perspectivas de recuperação do lesado medular. *Rev. Bras. Ortop*. 1997; 32(2):103-08.

Geisler FH, Dorsey FC, Coleman WP. Past and current clinical studies with GM-1 ganglioside in acute spinal cord injury. *Ann Emerg Med*. 1993;22(6):1041-7.

Geisler FH, Dorsey FC, Coleman WP. Recovery of motor function after spinal-cord injury: a randomized, placebo-controlled trial with GM-1 ganglioside. *N Engl J Med*. 1991; 324(26):1829-38.

Gimenez y Ribotta M, Orsal D, Feraboti-Lohnherr D, Privat A. Recovery of locomotion following transplantation of monoaminergic neurons in the spinal cord of paraplegic rats. *Ann N Y Acad Sci*. 1998;860: 393-411.

Goldberger ME, Bregman BS, Vierck CJ Jr, Brown M. Criteria for assessing recovery of function after spinal cord injury: behavioral methods. *Exp Neurol.* 1990;107(2):113-7.

Goodkin R, Campbell JB. Sequential pathologic changes in spinal cord injury: a preliminary report. *Surg Forum.* 1969;20:430-2.

Gorio A. Gangliosides as a possible treatment affecting neuronal repair processes. In: Waxman SG, editor. *Functional recovery in neurological disease.* New York: Raven Press; 1987. p. 523-530 (Advances in Neurology, v.47).

Green BA, Wagner FC Jr. Evolution of edema in the acutely injured spinal cord: a fluorescence microscopic study. *Surg Neurol.* 1973;1(2):98-101.

Greve JMD. Reabilitação da lesão da medula espinal. In: Barros Filho TEP, Basile Jr. R. *Coluna vertebral: diagnóstico e tratamento.* São Paulo: Sarvier; 1995. p.199-227.

Greve JMD. Traumatismos raquimedulares nos acidentes de trânsito e o uso de equipamentos de segurança. *Diag & Tratam.* 1997;2(3):10-13.

Hall ED. Effects of the 21-aminosteroid U74006F on posttraumatic spinal cord ischemia in cats. *J Neurosurg.* 1988;68(3):462-5.

Hall ED. The effects of glucocorticoid and nonglucocorticoid steroids on acute neuronal degeneration. In: Sell, FJ, editor. *Advances in neurology.* New York: Raven Press; 1993. v.59, p. 241-48.

Hall ED, Braugher JM. Acute effects of intravenous glucocorticoid pretreatment on the in vitro peroxidation of cat spinal cord tissue. *Exp Neurol.* 1981;73(1):321-4.

Hall ED, Braughler JM. Effects of intravenous methylprednisolone on spinal cord lipid peroxidation and (Na⁺ + K⁺)-ATPase activity: dose-response analysis during 1st hour after contusion injury in the cat. *J Neurosurg.* 1982;57(2):247-53.

Hall ED, McCall JM, Chase RL, Yonkers PA, Braughler JM. A nonglucocorticoid steroid analog of methylprednisolone duplicates its high-dose pharmacology in models of central nervous system trauma and neuronal membrane damage. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1987;242:137-42.

Hall ED, Wolf DL, Braughler JM. Effects of a single large dose of methylprednisolone sodium succinate on experimental posttraumatic spinal cord ischemia: dose response and time-action analysis. *J Neurosurg.* 1984 61(1):124-30.

Hansebout RR, Kuncner EF, Romero-Sierra C. Effects of local hypothermia and of steroids upon recovery from experimental spinal cord compression injury. *Surg Neurol.* 1975;4(6):531-6.

Hansebout RR, Tanner JA, Romero-Sierra C. Current status of spinal cord cooling in the treatment of acute spinal cord injury. *Spine.* 1984;9(5):508-11.

Hauser RA, Furtado S, Cimino CR, Delgado H, Eichler S, Schwartz S, et al. Bilateral human fetal striatal transplantation in Huntington's disease. *Neurology.* 2002;58(5):687-95.

Hofstetter CP, Holmstrom NA, Lilja JA, Schweinhardt P, Hao J, Spenger C, et al. Allodynia limits the usefulness of intraspinal neural stem cell grafts; directed differentiation improves outcome. *Nat Neurosci.* 2005;8(3):346-53.

Hofstetter CP, Schwartz EJ, Hess D, Widenfalk J, El Manira A, Prockop DJ, et al. Marrow stromal cells form guiding strands in the injured spinal cord and promote recovery. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(4):2199-204.

Holdsworth F. Fractures, dislocations, and fracture-dislocations of the spine. *J Bone Joint Surg Am*. 1970 Dec;52(8):1534-51.

Holtz A, Nystrom B, Gerdin B. Spinal cord blood flow measured by 14C-iodoantipyrine autoradiography during and after graded spinal cord compression in rats. *Surg Neurol*. 1989; 31(5):350-60.

Horner PJ, Popovich PG, Reier PJ, Stokes BT. Fetal spinal transplant vascularity: metabolic and immunologic mechanisms. In: Marwah J, Teitelbaum H, Prasad KN, editores. *Neural transplantation, cns neuronal injuries and regeneration: recents avances*. Boca Raton: CRC Press Inc, 1994, 119-40.

Hughes JT. The Edwin Smith Syrgical Papyrus: an analysis of the first case reports of spinal cord injuries. *Paraplegia*. 1988;26(2):71-82.

Huss R. Isolation of primary and immortalized CD34-hematopoietic and mesenchymal stem cells from various sources. *Stem Cells*. 2000;18(1):1-9.

Huss R, Lange C, Weissinger EM, Kolb HJ, Thalmeier K. Evidence of peripheral blood-derived, plastic-adherent CD 34-/ low hematopoietic stem cell clones with mesenchymal stem cell characteristics. *Stem Cells*. 2000;18(4):252-60.

Janssen L, Hansebout RR. Pathogenesis of spinal cord injury and newer treatments: a review. *Spine*. 1989;14(1):23-32.

Jeffery ND, Crang AJ, O'Leary MT, Hodge SJ, Blakemore WF. Behavioral consequences of oligodendrocyte progenitor cell transplantation into experimental demyelinating lesions in the rat spinal cord. *European Journal of Neuroscience*. 1999; 11:1508-14.

Johansson CB, Momma S, Clarke DL, Risling M, Lendahl U, Frisen J. Identification of a neural stem cell in the adult mammalian central nervous system. *Cell*. 1999 8;96(1):25-34.

Kakulas BA, Bedbroock GM. Pathology of injuries of the vertebral column: with emphasis on the microscopic aspects. In: Vinken PJ, Bruyn GW. *Injuries of the spine and the spinal Cord*. Amsterdam: Elsevier;1976. p. 27-42. (Handbook of Clinical Neurology, v. 25).

Karpiak SE, Wakade CG, Taglivia A, Mahadik SP. Temporal changes in edema, Na⁺, K⁺, and Ca⁺⁺ in focal cortical stroke: GM1 ganglioside reduces ischemic injury. *J Neurosci Res*. 1991;30(3):512-20.

Keirstead HS, Nistor G, Bernal G, Totoiu M, Cloutier F, Sharp K, et al. Human embryonic stem cell-derived oligodendrocyte progenitor cell transplants remyelinate and restore locomotion after spinal cord injury. *J Neurosci*. 2005;25(19):4694-705.

Kelly DL Jr, Lassiter KR, Calogero JA, Alexander E Jr. Effects of local hypothermia and tissue oxygen studies in experimental paraplegia. *J Neurosurg*. 1970;33(5):554-63.

Kelly DL Jr, Lassiter KR, Vongsivut A, Smith JM. Effects of hyperbaric oxygenation and tissue oxygen studies in experimental paraplegia. *J Neurosurg*. 1972;36(4):425-9.

Kempermann G, Gage FH. New nerve cells for the adult brain. *Sci Am.* 1999;280(5):48-53.

Kopen GC, Prockop DJ, Phinney DG. Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum, and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96(19):10711-6.

Korbling M, Estrov Z. Adult stem cells for tissue repair: a new therapeutic concept? *N Engl J Med.* 2003;349(6):570-82.

Korbling M, Katz RL, Khanna A, Ruifrok AC, Rondon G, Albitar M, et al. Hepatocytes and epithelial cells of donor origin in recipients of peripheral-blood stem cells. *N Engl J Med.* 2002;346(10):738-46.

Kuchner EF, Hansebout RR. Combined steroid and hypothermia treatment of experimental spinal cord injury. *Surg Neurol.* 1976;6(6):371-6.

Lakatos A, Franklin RJM. Transplant mediated repair of the central nervous system: an imminent solution? *Curr Opin Neurol.* 2002;15(6):701-5.

Lankford KL, Imaizumi T, Honmou O, Kocsis JD. A quantitative morphometric analysis of rat spinal cord remyelination following transplantation of allogenic Schwann cells. *J Comp Neurol.* 2002;443(3):259-74.

La Rosa G, Conti A, Cardali S, Cacciola F, Tomasello F. Does early decompression improve neurological outcome of spinal cord injured patients? Appraisal of the literature using a meta-analytical approach. *Spinal Cord.* 2004;42(9):503-12.

Legos JJ, Gopez JJ, Young WF. Non surgical management of spinal cord injury. *Expert Opin Investig Drugs.* 2002;11(4):469-82.

Liu S, Qu Y, Stewart TJ, Howard MJ, Chakraborty S, Holekamp TF, et al. Embryonic stem cells differentiate into oligodendrocytes and myelinate in culture and after spinal cord transplantation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000; 97: 6126-31.

Lu J, Feron F, Mackay-Sim A, Waite PM. Olfactory ensheathing cells promote locomotor recovery after delayed transplantation into transected spinal cord. *Brain*. 2002;125(Pt 1):14-21.

Marcon RM. *Estudo experimental da ação da metilprednisolona utilizada antes do traumatismo raquimedular em ratos Wistar* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2006.

Marino RJ, Barros T, Biering-Sorensen F, Burns SP, Donovan WH, Graves DE, et al. International standards for neurological classification of spinal cord injury. *J Spinal Cord Med*. 2003;26(Suppl 1):S50-6.

Maynard FM Jr, Bracken MB, Creasey G, Ditunno JF Jr, Donovan WH, Ducker TB. International Standards for Neurological and Functional Classification of Spinal Cord Injury. American Spinal Injury Association. *Spinal Cord*. 1997;35(5):266-74.

McDonald JW. Repairing the damaged spinal cord. *Sci Am*. 1999;281(3):64-73.

McDonald JW, Becker D. Spinal cord injury: promising interventions and realistic goals. *Am J Phys Med Rehabil*. 2003;82(10 Suppl):S38-49.

McDonald JW, Howard MJ. Repairing the damaged spinal cord: a summary of our early success with embryonic stem cell transplantation and remyelination. *Prog Brain Res*. 2002;137:299-309.

McDonald JW, Liu XZ, Qu Y, Liu S, Mickey SK, Turetsky D, et al. Transplanted embryonic stem cells survive, differentiate and promote recovery in injured rat spinal cord. *Nat Med.* 1999; 5: 1410-12.

McVeight JF. Experimental cord crushes with special reference to the mechanical factors involved and subsequent changes in the areas of the cords affected. *Arch Surg.* 1923 7:573-600.

Morshead CM, Reynolds BM, Craig CG, McBurney MW, Staines WA, Morassutti, et al. Neural stem cells in the adult mammalian forebrain: a relatively quiescent subpopulation of subependymal cells. *Neuron.* 1994;13(5):1071-82.

Murakami N, Horinouchi T, Sakurai M, Ejima Y, Matsukawa S, Kato M, et al. Hyperbaric oxygen therapy given 30 minutes after spinal cord ischemia attenuates selective motor neuron death in rabbits. *Crit Care Med.* 2001;29(4):814-8.

Noble LJ, Wrathall JR. An inexpensive apparatus for producing graded spinal cord injury in the rat. *Exp Neurol.* 1987;95(2):530-3.

Noble LJ, Wrathall JR. Distribution and time course of protein extravasation in the rat spinal cord after contusive injury. *Brain Res.* 1989;482(1):57-66.

Noble LJ, Wrathall JR. Spinal cord contusion in the rat: morphometric analyses of alterations in the spinal cord. *Exp Neurol.* 1985;89(3):530-42.

Nockels R, Young W. Pharmacologic strategies in the treatment of experimental spinal cord injury. *J Neurotrauma.* 1992;9 (Suppl 1):S211-7.

Nunes MC, Roy NS, Keyoung HM, Goodman RR, McKhann G 2nd, Jiang L, et al. Identification and isolation of multipotential neural progenitor cells from the subcortical white matter of the adult human brain. *Nat Med.* 2003;9(4):439-47.

Ogawa Y, Sawamoto K, Miyata T, Miyao S, Watanabe M, Nakamura M, et al. Transplantation of in vitro-expanded fetal neural progenitor cells results in neurogenesis and functional recovery after spinal cord contusion injury in adult rats. *J Neurosci Res.* 2002;69(6):925-33.

Okano H. Stem cell biology of the central nervous system. *J Neurosci Res.* 2002;69(6):698-707.

Pallini R, Vitiani LR, Bez A, Casalbore P, Facchiano F, Di Giorgi Gerevini V, et al. Homologous transplantation of neural stem cells to the injured spinal cord of mice. *Neurosurgery.* 2005;57(5):1014-25.

Park HC, Shim YS, Ha Y, Yoon SH, Park SR, Choi BH, et al. Treatment of complete spinal cord injury patients by autologous bone marrow cell transplantation and administration of granulocyte-macrophage colony stimulating factor. *Tissue Eng.* 2005;11(5-6):913-22.

Piccini P, Brooks DJ, Bjorklund A, Gunn RN, Grasby PM, Rimoldi O, et al. Dopamine release from nigral transplants visualized in vivo in a Parkinson's patient. *Nat Neurosci.* 1999;2(12):1137-40.

Piccini P, Lindvall O, Bjorklund A, Brundin P, Hagell P, Ceravolo R, et al. Delayed recovery of movement-related cortical function in Parkinson's disease after striatal dopaminergic grafts. *Ann Neurol.* 2000;48(5):689-95.

Pittenger MF, Mosca JD, McIntosh KR. Human mesenchymal stem cells: progenitor cells for cartilage, bone, fat and stroma. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2000;251:3-11.

Potten CS, Loeffler M. Stem cells: attributes, cycles, spirals, pitfalls and uncertainties. Lessons for and from the crypt. *Development*. 1990;110(4):1001-20.

Raghunath J, Sales KM, Butler PE, Seifalian AM. Multipotent stem cells from adult blood: the future. *British Journal Surgery*. 2006; 93 (suppl 3):4.

Ramon-Cueto A, Plant GW, Avila J, Bunge MB. Long-distance axonal regeneration in the transected adult rat spinal cord is promoted by olfactory ensheathing glia transplants. *J Neurosci*. 1998;18(10):3803-15.

Reier PJ. Cellular transplantation strategies for spinal cord injury and translational neurobiology. *NeuroRx*. 2004;1(4):424-51.

Reier PJ, Thompson FJ, Fessler RG, et al. Spinal cord injury and fetal CNS tissue transplantation: an initial “bench-to bedside” translational research experience. In Ingogolia NA, Murray M, editores: *Axonal regeneration in the central nervous system: neurological disease and therapy*. New York: Marcel-Dekker; 2001. p. 603–47.

Reynolds BA, Weiss S. Generations of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian nervous system. *Science*. 1992;255(5052):1707-10.

Rivlin AS, Tator CH. Regional spinal cord blood flow in rats after severe cord trauma. *J Neurosurg*. 1978;49(6):844-53.

Rowed DW. Value of somatosensory evoked potentials for prognosis in partial cord injuries. In Tator CH editor. *Early management of acute spinal cord injury*. New York: Raven Press; 1982. p. 167–80.

Rowed DW, McLean JA, Tator CH. Somatosensory evoked potentials in acute spinal cord injury: prognostic value. *Surg Neurol.* 1978;9(3):203-10.

Sandler AN, Tator CH. Effect of acute spinal cord compression injury on regional spinal cord blood flow in primates. *J Neurosurg.* 1976;45(6):660-76.

Sasaki M, Honmou O, Akiyama Y, Uede T, Hashi K, Kocsis JD. Transplantation of an acutely isolated bone marrow fraction repairs demyelinated adult rat spinal cord axons. *Glia.* 2001;35(1):26-34.

Schwab ME, Bartholdi D. Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. *Physiol Rev.* 1996;76(2):319-70.

Shapiro S, Borgens R, Pascuzzi R, Roos K, Groff M, Purvines S, et al. Oscillating field stimulation for complete spinal cord injury in humans: a phase 1 trial. *J Neurosurg Spine.* 2005;2(1):3-10.

Smith C, Storms B. Hematopoietic stem cells. *Clin Orthop Relat Res.* 2000; (379 Suppl):S91-7.

Stiff PK. Cryopreservation of hematopoietic stem cells. In: Lasky LC, Warkentin P, editores. *Marrow stem cell processing for transplantation.* Bethesda MD: American Association of Blood Banks; 1995. p. 69-82.

Stroncek DF, Clay ME, Petzoldt ML, Smith J, Jaszcz W, Oldham FB, et al. Treatment of normal individuals with granulocyte-colony-stimulating factor: donor experiences and the effects on peripheral blood CD 34+ cell counts and on the collection of peripheral blood stem cells. *Transfusion.* 1996;36(7):601-10.

Suhonen JO, Peterson DA, Ray J, Gage FH. Differentiation of adult hippocampus-derived progenitors into olfactory neurons in vivo. *Nature*. 1996;383(6601):624-7.

Sykova E, Jendelova P, Urdzikova L, Lesny P, Hejcl A. Bone marrow stem cells and polymer hydrogels – two strategies for spinal cord injury repair. *Cell Mol Neurobiol*, 2006; 26(7-8):1113-29.

Tarlov IM, Klinger H, Vitale S. Spinal cord compression studies. I. Experimental techniques to produce acute and gradual compression. *AMA Arch Neurol Psychiatry*. 1953 ;70(6):813-9.

Tator CH, Deecke L. Value of normothermic perfusion, hypothermic perfusion, and durotomy in the treatment of experimental acute spinal cord trauma. *J Neurosurg*. 1973;39(1):52-64.

Tator CH, Fehlings G. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg*. 1991;75(1):15-26.

Tator CH. Review of treatment trials in human spinal cord injury issues, difficulties, and recommendations. *Neurosurgery*. 2006;59(5):957-82.

Tebet MA. *Efeito da metilprednisolona e do gangliosídeo GM-1 na lesão medular em ratos: análise funcional e histológica [tese]*. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2002.

Temple S, Alvarez-Buylla A. Stem cells in the adult mammalian central nervous system. *Curr Opin Neurobiol*. 1999;9(1):135-41.

Teng YD, Lavik EB, Qu X, Park KI, Ourednik J, Zurakowski D, et al. Functional recovery following traumatic spinal cord injury mediated by a unique polymer scaffold seeded with neural stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(5):3024-9.

Vialle LRG, Fischer J, Marcon JC, Vialle E, Luzzi R, Bleggi-Torre LF. Estudo histológico da lesão medular experimental em ratos. *Rev.Bras. Ortop*. 1999, 34(2):85-9.

Wagner FC Jr, Dohrmann GJ, Bucy PC. Histopathology of transitory traumatic paraplegia in the monkey. *J Neurosurg*. 1971;35:272-76.

Wagner FC Jr, Vangilder JC, Dohrmann GJ. Pathological changes from acute to chronic in experimental spinal cord trauma. *J Neurosurg*. 1978;48(1):92-8.

Walker JB, Harris M. GM-1 ganglioside administration combined with physical therapy restores ambulation in humans with chronic spinal cord injury. *Neurosci Lett*. 1993;161(2):174-8.

Waters RL, Adkins RH, Yakura JS, Sie I. Motor and sensory recovery following incomplete paraplegia. *Arch Phys Med Rehabil*. 1994;75(1):67-72.

Waters RL, Sie I, Adkins RH, Yakura JS. Injury pattern effect on motor recovery after traumatic spinal cord injury. *Arch Phys Med Rehabil*. 1995;76(5):440-3.

Waters RL, Yakura JS, Adkins RH, Sie I. Recovery following complete paraplegia. *Arch Phys Med Rehabil*. 1992;73(9):784-9.

Whittemore SR. Neuronal replacement strategies for spinal cord injury. *J Neurotrauma*. 1999;16(8):667-73.

Wirth Ed III, Reier PJ, Fessler RG, Thompson FJ, Uthman B, Behrman A, et al. Feasibility and safety of neural tissue transplantation in patients with syringomyelia. *J Neurotrauma*. 2001;18(9):911-29.

Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ, Black IB. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *J Neurosci Res*. 2000;61(4):364-70.

Woodward JS, Freeman LW. Ischemia of the spinal cord: an experimental study. *J Neurosurg*. 1956;13(1):63-72.

Wu S, Suzuki Y, Kitada M, Kitaura M, Kataoka K, Takahashi J, et al. Migration, integration and differentiation of hippocampus-derived neurosphere cells after transplantation into injured rat spinal cord. *Neurosci Lett*. 2001 26;312(3):173-6.

Yamamoto N, Yamamoto S, Inagaki F, Kawaichi M, Fukamizu A, Kishi N, et al. Role of Deltex-1 as a transcriptional regulator downstream of the Notch receptor. *J Biol Chem*. 2001;276(48):45031-40.

Yeo JD, Payne W, Hinwood B, Kidman AD. The experimental contusion injury of the spinal cord in sheep. *Paraplegia*. 1975;12(4):279-98.

Yeo JD, Stabback S, McKenzie B. Central necrosis following contusion to the sheep's spinal cord. *Paraplegia*. 1977;14(4):276-85.

Young W, Flamm ES, Demopoulos HB, Tomasula JJ, DeCrescito V. Effect of naloxene on posttraumatic ischemia in experimental spinal contusion. *J Neurosurg*. 1981;55(2):209-19.

Young W, Flamm ES. Effect of high-dose corticosteroid therapy on blood flow, evoked potentials, and extracellular calcium in experimental spinal injury. *J Neurosurg*. 1982;57(5):667-73.

Young W. Recovery mechanisms in spinal cord injury: implications for regenerative therapy. In: SEIL AJ, editor. *Neural Regeneration and Transplantation*. New York: Alan Liss;1995. p. 157-59.

Zurita M, Vaquero J, Oya S, Montilla J. Functional recovery in chronic paraplegic rats after co-grafts of fetal brain and adult peripheral nerve tissue. *Surg Neurol*. 2001;55(5):249-54.