EXPRESSÃO DA METALOPROTEINASE 2, 9 E TGF-B NA HIPERTROFIA DO LIGAMENTO AMARELO EM PACIENTES COM ESTENOSE DO CANAL LOMBAR

Marcelo Ferraz de Campos, Cintia Pereira de Oliveira, Maria Aparecida da Silva Pinhal, Luciano Miller Reis Rodrigues

Disciplina de Ortopedia e Bioquímica da Faculdade de Medicina do ABC

INTRODUÇÃO

A incidência de doenças da coluna tem aumentado, sendo o estreitamento do canal vertebral a principal origem de dor em idosos, causado pela artrose facetária, abaulamento discal e hipertrofia do ligamento amarelo (LA). O LA é composto por 70% de fibras elásticas e 30% colágenas. Ocorrendo hipertrofia ligamentar, há mudança na distribuição desses componentes fazendo as fibras elásticas se fragmentarem e se disporem desordenadamente. Em contrapartida, há um aumento das fibras colágenas, levando a um endurecimento e hipertrofia do LA.

OBJETIVO

Avaliar a expressão das metaloproteinases e o TGFb em pacientes com estenose do canal vertebral e em pacientes mais jovens, que apresentam outras doenças da coluna, como hérnia de disco.

MÉTODOS

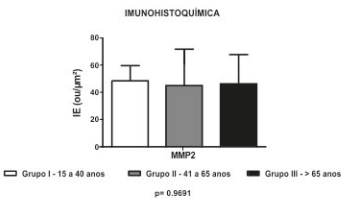
Foram encaminhadas dezenove amostras de LA, sendo nove de pacientes com discos de estenose de canal lombar e dez de pacientes com hérnia discal. Em relação à idade dos pacientes, cinco são de 15 a 40 anos, dez de 40 até 65 anos e quatro de acima de 65 anos. As áreas representativas do LA foram escolhidas com base na coloração dos tecidos por hematoxilina-eosina. Cortes com 3µm de espessura, embebidos em parafina e fixados em formalina, foram desparafinizados e reidratados. Todos os ligamentos foram incubados overnight a 4ºC com os anticorpos primários.

RESULTADOS

Em relação à idade houve um aumento na expressão do TGF-b em pacientes com mais de 65 anos. As metaloproteinases 2 e 9 somente a 9 teve um aumento conforme a idade, mas sem variação estatística significante (fig. 1, 2, 3).

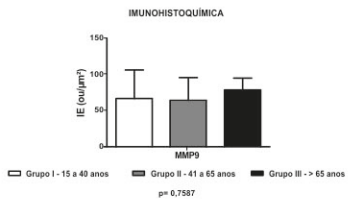
O grupo com estenose de canal lombar apresentou maior expressão de TGFb em comparação com o grupo de hérnia de disco (fig. 4, 5, 6). As metaloproteinases 2 e 9 tiveram maior expressão no grupo de hérnia de disco comparando com estenose do canal lombar.

Figura 1. Avaliação da expressão da metaloproteinase 2 nos diferentes grupos de idade



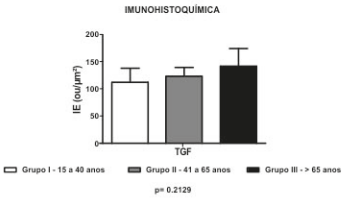
p= 0.9691

Figura 2. Avaliação da expressão da metaloproteinase 9 nos diferentes grupos de idade



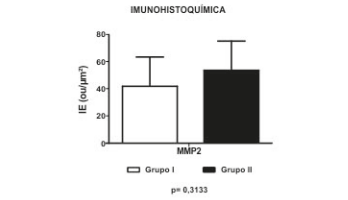
p= 0,7587

Figura 3. Avaliação da expressão do TGFb nos diferentes grupos de idade



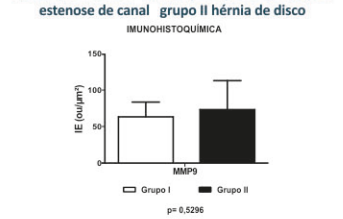
p= 0.2129

Figura 4. Avaliação da expressão da metaloproteinase 2 em relação à patologia grupo I estenose de canal grupo II hérnia de disco



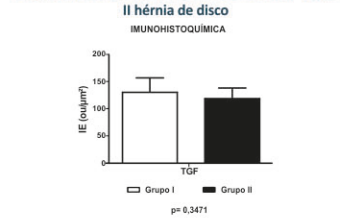
p= 0,3133

Figura 5. Avaliação da expressão da metaloproteinase 9 em relação à patologia grupo I estenose de canal grupo II hérnia de disco



p= 0,5296

Figura 6. Avaliação da expressão do TGFb em relação à patologia grupo I estenose de canal grupo II hérnia de disco



p= 0,3471

DISCUSSÃO

A claudicação neurogênica devido à estenose osteoligamentar é um processo degenerativo que ocorre em pacientes idosos. Estas alterações causam dor, significante limitação funcional e alterações neurológicas. A exata razão da hipertrofia do ligamento amarelo é pouco conhecida, embora o mecanismo de stress mecânico seja tido como o principal fator etiológico; a exata razão dessa progressiva hipertrofia é ainda desconhecida. Também não conhecemos se há algum outro fator que desencadeia essas alterações no ligamento amarelo além do stress mecânico, como, por exemplo, o processo inflamatório de tecidos circunjacentes, como exemplo o disco intervertebral.

Lohr e colaboradores demonstraram uma grande presença de infiltrado inflamatório na região periférica dos ligamentos amarelos hipertrofiados compostos principalmente por macrófagos, células endoteliais e linfócitos T correspondendo a uma reação imune crônica10. Essas células apresentavam uma grande expressão de TGFb conhecido como um importante fator de deposição de colágeno extracelular. Isso demonstrou que essa inflamação pode ser um importante fator de progressão da hipertrofia do ligamento amarelo pela substituição de fibras elásticas por fibras colágenas. Nosso estudo demonstrou um aumento da expressão do TGFb em pacientes com estenose de canal lombar com hipertrofia do ligamento amarelo, mas também houve um aumento da expressão fo TGFb em indivíduos com quadro de lombociatalgia por hérnia de disco lombar. Nossa hipótese é que grandes alterações no disco intervertebral podem influenciar alterações no ligamento amarelo, mas para isso teremos que estudar diferentes alterações do disco intervertebral e a relação com o ligamento amarelo.

As metaloproteinases são responsáveis pela degradação e modificação da matriz extracelular e inclui mais que 20 tipos. A metaloproteinase 2 e 3 apresenta grande associação com degradação da matriz da cartilagem articular e em disco intervertebral11. Soo e Kee-Young demonstraram em seu estudo que na espondilolistese degenerativa o stress mecânico sofrido pelo ligamento amarelo influencia o aumento da expressão das metaloproteinases. Esse stress biomecânico ocorre devido ao escorregamento vertebral e a instabilidade tensional as estruturas ligamentares da coluna12. Em nosso estudo houve um aumento da expressão das metaloproteinases em ambos os grupos sendo que os pacientes com hérnia de disco apresentam um maior aumento comparando com o grupo de estenose de canal lombar, adicionando o fator inflamatório na hipótese biomecânica de Soo e Kee-Young.

Saiyro e colaboradores detectaram a presença de citocinas inflamatórias, como COX-2 e interleucina 1, 6, 8 e 15 em ligamentos com e sem aumento da espessura13. Também em seu artigo demonstrou que a expressão do RNAm dessas citocinas inflamatórias ocorre antes da própria hipertrofia ligamentar. Demonstramos em nosso estudo que em pacientes sem hipertrofia do ligamento amarelo houve também um aumento da expressão das metaloproteinases e TGFb.

Conclusão: O aumento do TGFb ocorre em indivíduos mais velhos, como observados em outros estudos. As metaloproteinases não apresentaram uma diferença importante entre os grupos tanto em relação com a idade como em relação ao tipo de alteração da coluna vertebral.

REFERÊNCIAS

1 Szpalski M, Gunzburg R. Lumbar spinal stenosis in the elderly: an overview. Eur Spine J. 2003;12(suppl 2):170–175.
2 Nachemson AL, Evans JH. Some mechanical properties of the third human lumbar interlaminar ligament (ligamentum flavum). J Biomech. 1968;1:211–220.
3 Yahia LH, Garzon S, Strykowski H, Rivard CH. Ultra- structure of the human interspinous ligament and ligamentum flavum. Spine. 1990;15:262–268.
4 Fukuyama S, Nakamura T, Ikeda T, Takagi K. The effect of mechanical stress on hypertrophy of the lumbar ligamentum flavum. J Spinal Disord. 1995;8:126–130.
5 Ramani PS, Perry RH, Tomlinson BE. Role of ligamentum flavum in the symptomatology of prolapsed lumbar intervertebral discs. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 1975;38:550–557.
6 Postacchini F, Gumina S, Cinotti G, Perugia D, DeMartino C. Ligamenta flava in lumbar disc herniation and spinal stenosis. Spine. 1994;19:917–922.
7 Sairyo K, Biyani A, Goel V, Leaman D, Booth R, Thomas J, Gehling D, Vishnubhotla SL, Long R, Ebraheim N. Pathomechanism of ligamentum flavum hypertrophy: a multidisciplinary investigation based on clinical, biomechanical, histologic, and biologic assessments. Spine. 2005;30:2649–2656.
8 Sairyo K, Biyani A, Goel VK, Leaman DW, Booth R, Thomas J, Ebraheim NA, Cowgill IA, Mohan SE. Lumbar ligamentum flavum hypertrophy is due to accumulation of inflammation- related scar tissue. Spine. 2007;32:E340–E347
9 Park JB, Lee JK, Park SJ, Riew D. Hypertrophy of ligamentum flavum in lumbar spinal stenosis associated with increased proteinase inhibitor concentration. J Bone Joint Surg Am. 2005;87:2750–2757.
10 Lohr M, Hampi JA, Lee JY, Ernestus R, Deckert M, Stenzel W. Hypertrophy of the lumbar ligament flavum is associated with inflammation-related TGFb expression. Acta Neurochir. 2011;153:134-141.
11 Robert V, Hidaeki T, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue in-hibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. Circ Res. 2003;92:827–39.
12 Oh IS, Ha KY. Matrix metalloproteinase-3 on ligamentum flavum in degenerative lumbar spondylolisthesis; Spine (Phila Pa 1976). 2009; 15;34(16):E552-7.
13 Sairyo K, Biyani A, Goel VK, Leaman DW, Booth R Jr, Thomas J, Ebraheim NA, Cowgill IA, Mohan SE. Lumbar ligamentum flavum hypertrophy is due to accumulation of inflammation-related scar tissue. Spine (Phila Pa 1976). 2007; 15;32(11):E340-7.