Mecanismos básicos da regeneração de nervos

Artigo de revisão

Roberto S. Martins*, Mario G. Siqueira*, Ciro Ferreira da Silva**,
José Píndaro Pereira Plese*

Grupo de Cirurgia de Nervos Periféricos, Disciplina de Neurocirurgia, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

RESUMO

Um grande número de pacientes portadores de lesões de nervos é tratado por meio de intervenção cirúrgica. Embora nos últimos anos evoluções constantes tenham sido obtidas na elucidação dos mecanismos básicos da regeneração de nervos, esse progresso ainda não foi incorporado de forma eficaz às situações clínicas.

Neste estudo apresentamos uma revisão dos mecanismos básicos da regeneração de nervos. O conhecimento desses mecanismos é o primeiro passo para que terapêuticas adjuvantes sejam desenvolvidas e adicionadas rotineiramente à cirurgia no tratamento das lesões traumáticas de nervos.

PALAVRAS-CHAVE

Regeneração nervosa. Cirurgia de nervo periférico.

ABSTRACT

Basic mechanisms of peripheral nerve regeneration

The management of many peripheral nerve injuries includes surgical intervention. Although many important neurobiological observations in nerve regeneration have been made over the last years, this progress was not adequately incorporated in clinical situations.

We present a comprehensive review of the significant advances made in several aspects of nerve regeneration. The knowledge of these mechanisms should be the basis for development of adjuvant therapies that will be added to routine surgical treatment of traumatic peripheral nerve injury.

KEYWORDS

Nerve regeneration. Peripheral nerve surgery.

Introdução

Muitas vezes, a intervenção cirúrgica é a única opção terapêutica no tratamento das lesões de nervos. Embora na última década não tenham ocorrido grandes modificações nas técnicas utilizadas na cirurgia de nervos, grandes progressos ocorreram na compreensão dos mecanismos de regeneração. O objetivo deste artigo é rever esses mecanismos à luz das principais descobertas ocorridas nos últimos anos.

A secção de um nervo acarreta modificações no corpo celular, nos segmentos proximal e distal à secção, no local da lesão e nos órgãos inervados.

Modificações na região proximal à lesão

Na região proximal à lesão, os axônios sofrem um processo de degeneração semelhante ao que ocorre no coto distal, mas geralmente estendendo-se apenas ao nódulo de Ranvier mais proximal³³. Em situações extremas, o processo de degeneração pode atingir o corpo celular provocando a morte da célula, cujo mecanismo mais provável é a apoptose⁴.

Um dos mecanismos propostos para tornar a regeneração mais eficiente se dá pela redução do número de neurônios que sofrem essa degeneração, o que inclui a modulação da ação dos fatores

* Grupo de Cirurgia de Nervos Periféricos, Disciplina de Neurocirurgia, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

** Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.

neurotróficos. Todas as células do organismo necessitam da ação de fatores tróficos para prevenir a apoptose e promover a sua sobrevivência²⁶. O fator neurotrófico é a substância que regula e mantém a função do neurônio e promove o seu crescimento^{11,13}. No processo de regeneração do nervo, receptores específicos são expressos em maior quantidade na região do cone de crescimento aos quais se unem os fatores neurotróficos específicos. Esses fatores são transportados retrogradamente ao corpo celular e atuam modulando a interação entre enzimas denominadas caspases e proteínas pró-apoptóticas mediante a ocorrência de reações de fosforilação. A inibição dessas enzimas, que são consideradas as principais efectoras da morte celular, possibilita a manutenção da fisiologia normal da célula. Dessa forma, os fatores neurotróficos exercem seus efeitos diretamente sobre o metabolismo celular⁸, mas esses fatores podem ainda atuar de forma indireta, pela ação no metabolismo de células de suporte cujo representante principal é a célula de Schwann^{5,14}.

Várias substâncias produzidas no local da lesão atuam como fatores neurotróficos, tais como o *nerve growth factor* (NGF), o *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF), o *transforming growth factor-β* (TGF-β), o *glial cell line-derived neurotrophic factor* (GDNF), o *insulin-like growth factor* (IGF), o *platelet-derived growth factor* (PGF) e as neurotrofinas (NT)^{5,11,14,33}.

A produção dos fatores neurotróficos, após a lesão, obedece a uma ordem temporal, ou seja, esses fatores são secretados à medida em que sinais celulares atingem o DNA no núcleo da célula (neurônio ou célula de Schwann) e induzem à produção de RNA, responsável pela síntese da proteína relacionada. Esses sinais em geral são proteínas produzidas a partir de reações bioquímicas após a ligação de moléculas aos receptores específicos de membrana. Um exemplo é o padrão de produção de NGF e BDNF. A concentração de ácido ribonucléico, mensageiro relacionado à transcrição de NGF, atinge a concentração máxima rapidamente, 24 horas após a lesão¹⁶. Ao contrário, a produção de BDNF inicia-se mais tardiamente, cerca de quatro dias após uma axoniotomia, e apresenta uma concentração máxima quatro semanas após a lesão²³. Além disso, o BDNF é mais eficaz em promover a sobrevivência de axônios motores em crescimento em comparação à manutenção da sobrevivência dos neurônios sensoriais e simpáticos¹⁴. Assim, sugere-se que esses dois fatores neurotróficos exercem suas atividades de maneira complementar, o que provavelmente se repete com outros fatores no processo de regeneração.

Modificações no corpo celular

Nas primeiras horas após a lesão do axônio, o corpo celular passa a apresentar uma série de alterações denominadas de cromatólise, que se caracterizam histologicamente por ingurgitamento da célula, degeneração da substância de Nissl e migração do núcleo do centro para a periferia¹². Durante a cromatólise, o citoplasma aumenta de volume devido a um incremento na formação de ácido ribonucléico e enzimas relacionadas, fato que também justifica o deslocamento do núcleo²⁰. Os ribossomos desprendem-se das lamelas que constituem o retículo endoplasmático e situam-se de forma dispersa no citoplasma, disposição que se traduz na rarefação da substância de Nissl¹⁵. As alterações presentes no corpo celular são interpretadas como um incremento do metabolismo celular, que visa à produção de proteínas relacionadas à regeneração do citoesqueleto do axônio, em detrimento da produção de neurotransmissores³⁹. Essas proteínas, representadas principalmente pela actina e tubulina, estão relacionadas ao transporte intracelular e à movimentação do cone de crescimento³².

Modificações na região distal à lesão

Na extremidade distal, as alterações que ocorrem no axônio se iniciam com a degeneração walleriana. Durante esse evento, o citoesqueleto e o axoplasma se degeneram, deixando o correspondente tubo endoneural vazio. A destruição da mielina estimula a atividade dos macrófagos, resultando na remoção da maioria dos seus fragmentos por essas células e pelas células de Schwann¹.

As células de Schwann têm fundamental papel na regeneração, atuando como condutores físicos que possibilitam o direcionamento dos axônios durante o crescimento em direção ao órgão-alvo³¹. Essas células também produzem elementos da matriz extracelular como proteoglicanas, colágeno e fatores neurotróficos⁵. A regeneração que ocorre no sistema nervoso periférico está diretamente relacionada à possibilidade de manutenção das células de Schwann independentemente da degeneração do axônio. Essa sobrevivência, que pode atingir meses no coto distal de animais submetidos à axoniotomia, ocorre pela existência de uma série de sinais celulares produzidos pelas próprias células de Schwann e que é independente do contato com os axônios¹⁸. Entre os componentes principais dessa série de sinais destaca-se o TGF-β^{14,18}.

Assim como ocorre durante o desenvolvimento embriológico dos nervos, após a lesão, as células de

Schwann do coto distal perdem o contato com as fibras nervosas, e seu fenótipo é revertido a uma condição semelhante a das células de Schwann precursoras (Figura 1). Essa desdiferenciação é consequência das alterações secundárias à expressão de genes que ocorrem nessas células²⁵. O GDNF atua como fator trófico para as células precursoras das células de Schwann, estimulando a proliferação celular e atuando na manutenção das células de Schwann nas junções neuromusculares em desenvolvimento³³. Na vida adulta, o GDNF atua aumentando a motilidade e a proliferação das células de Schwann.

Legenda: CS: célula de Schwann; CS mielin.: célula de Schwann mielinizante; CS pró-miel.: célula de Schwann pró-mielinizante; CS não-miel.: célula de Schwann não mielinizante.

Figura 1 – Diagrama ilustrando as modificações possíveis na diferenciação das células de Schwann.

Após a fase inicial, as células de Schwann passam a se dividir e expressam um fenótipo molecular semelhante ao das células de Schwann imaturas e não mielinizadas^{5,9}. Nesta etapa, os receptores expressos na superfície celular das células de Schwann pertencem principalmente às famílias das imunoglobulinas e das caderinas, e incluem aqueles relacionados à fibrina, à laminina, à fibronectina, à mielina, aos fatores neurotróficos como o NGF e às neuroregulinas, especialmente os receptores c-erbB2, c-erbB3 e c-erbB4^{5,9,10}.

Modificações no local da lesão

No local da lesão, alterações estão presentes já nas primeiras 24 horas²⁴. O intervalo entre os dois cotos do nervo, quando há uma transecção, é preenchido com sangue e é formado um coágulo de fibrina²⁰. A este coágulo convergem capilares e fibroblastos de tecidos adjacentes e dos cotos do nervo. Na extremidade do coto proximal, os axônios formam protrusões axoplasmáticas denominadas de brotos de crescimento³⁷.

Por esse processo, cada axônio pode originar vários axônios delimitados pelo perineuro. O brotamento axonal está presente precocemente após a lesão e pode ser documentado três horas após a ocorrência desta³⁵. Logo após a formação dos brotos axonais, há um aumento da presença de mitocôndrias e vesículas e essas estruturas passam a ser denominadas de cones de crescimento, sendo consideradas como a extremidade de um axônio bem desenvolvido.

O cone de crescimento possui duas porções: a região do lamelipódio e os filopódios (Figura 2)⁷. A região do lamelipódio é definida como a área central da extremidade do cone, que está em constante remodelamento pela formação e retração dos filopódios^{19,38}. Os filopódios são expansões em forma de espículas que se retraem e se estendem a partir da superfície do lamelipódio pela contração de filamentos de actina que formam uma rede poligonal complexa no seu interior¹⁹. A membrana celular dessas estruturas apresenta grande quantidade de receptores para moléculas de adesão^{2,38}. Por meio dessa disposição, o cone de crescimento atua de forma semelhante ao movimento amebiano, explorando o microambiente extracelular até que, pela interação de receptores de superfície com estímulos adequados, tais como fatores de crescimento, haja uma reorientação apropriada que possibilite o crescimento axonal em direção ao coto distal e ao órgão-alvo^{7,21}.

Figura 2 – Desenho esquemático da extremidade do axônio e cone de crescimento.

Para que haja a expansão do cone de crescimento e a formação de uma membrana pré-sináptica é necessária a incorporação de proteínas na extremidade do cone. Esse processo de incorporação é determinado pela fusão de vesículas contendo proteínas específicas transportadas de forma anterógrada a partir do corpo celular¹³. As principais proteínas envolvidas nesse evento são a sinaptofisina, a sinaptotagmina, a sinapsina, a GAP-43, a proteína quinase C e a tirosina quinase.

A adesão entre as células de Schwann e o axônio em crescimento é modulada, em parte, por imunoglobulinas como as moléculas de adesão celular neural (N-CAM), a L1 e as caderinas. Durante o desenvolvimento, as N-CAM e a L1 são expressas nas regiões de contato entre as membranas plasmáticas dos axônios e das células de Schwann³⁶. Após esta fase, há uma redução acentuada na expressão destas moléculas de forma que, nas fibras mielinizadas, há ínfimas quantidades de N-CAM e L1 na região de contato celular entre as células de Schwann e o axônio. No entanto, na presença de uma lesão, essas moléculas são expressas novamente na superfície das células de Schwann, onde há o contato entre elas durante a fase de proliferação, o mesmo ocorrendo na região de contato entre essas células e o axônio em crescimento³⁶.

As caderinas são moléculas de adesão celular que participam também das interações entre os axônios em regeneração e as células de Schwann¹³. Evidências experimentais sugerem que essas moléculas atuam também como mediadores do metabolismo de elementos do citoesqueleto durante a regeneração³⁰. Os domínios intracelulares dessas moléculas são denominados de cateninas e ligam-se a filamentos de actina, possibilitando seu processo de contração durante a fase de alongamento dos axônios em crescimento, após a interação das caderinas com moléculas específicas¹³.

Durante as fases precoces da regeneração, os axônios em crescimento estão em contato direto com componentes da matriz extracelular até que as células de Schwann em proliferação atinjam os cones de crescimento. Nesta fase, a regeneração dos axônios é possível pelo estabelecimento de interações entre esses e a membrana basal. A fibronectina e a laminina são glicoproteínas que fazem parte da constituição da membrana basal da célula de Schwann e são o estímulo mais importante para esse tipo de migração, conduzindo o cone de crescimento em direção ao tubo endoneural distal⁹. Receptores específicos localizados na superfície dos axônios em crescimento permitem a adesão entre esses e a laminina-2⁹.

O contato entre os axônios e a membrana basal é mediado principalmente pela ligação entre laminina e seus receptores, as integrinas. Essas moléculas são um subgrupo de receptores de adesão constituído por glicoproteínas situadas na membrana que estabelecem interações entre o citoplasma e o microambiente extracelular²⁷. A interação de integrinas com a fibronectina e a laminina afeta a velocidade e a direção de crescimento do cone durante a embriogênese e a regeneração²⁷. As integrinas $\alpha 1\beta 1$ e $\alpha 5\beta 1$ estão presentes, de forma transitória, nas células de Schwann após a lesão do nervo e provavelmente contribuem para o processo de migração dessas células assim como para

o desenvolvimento do cone de crescimento^{10,27}. O complexo laminina-integrina promove a adesão e a motilidade do cone de crescimento pela transdução de um sinal intracelular mediado em parte pela proteína quinase C e que altera a arquitetura do citoesqueleto³.

A sobrevivência das células de Schwann no coto distal é fundamental no processo de crescimento do cone. Em geral, essa sobrevivência ocorre por interações com moléculas liberadas pelo axônio íntegro, principalmente a beta neuroregulina¹⁷. Com a degeneração dos axônios no coto distal, a manutenção das células de Schwann é determinada pela atuação de fatores de crescimento como o IGF, o PGF e o NT-3, liberados durante a lesão²². A conservação da integridade dos axônios no coto distal e seu sucesso em atingir os órgãos-alvo dependem da atuação de fatores neurotróficos e neurotrópicos¹³.

O fator neurotrópico é o que exerce atração à distância sobre axônios em crescimento¹⁴. Essa atração pode ser específica para determinado tecido – como músculo ou pele – ou direcionada topograficamente para um determinado ramo de um nervo a partir do coto distal. Essa especificidade pode ser ainda determinada pelo tipo de fibra nervosa, sensitiva ou motora⁶. O mecanismo celular do neurotropismo ainda não está completamente esclarecido, mas evidências sugerem a participação das células de Schwann. Estas células que acompanham os axônios motores expressam uma proteína de superfície denominada L2 que está ausente nas células de Schwann relacionadas aos axônios sensitivos. Axônios motores em crescimento estabeleceriam relações com as células de Schwann específicas de acordo com a sua expressão no coto distal³³.

Elementos da matriz extracelular também exercem um importante papel durante a regeneração²⁸. As glicosaminoglicanas (GAGS) são polímeros longos de unidades de dissacarídeos^{28,29}. Proteoglicanas, constituídas por GAGS em associação com uma região central de proteína, estão presentes de forma abundante nos tecidos endoneurais envolvendo a membrana basal da célula de Schwann após a lesão do nervo⁴⁰. Algumas dessas moléculas estão relacionadas à inibição da regeneração axonal^{34,40}. Outros componentes da matriz extracelular como a laminina e a fibronectina promovem e orientam o crescimento dos axônios em regeneração^{9,34}.

Modificações nos órgãos-alvo

Se a regeneração dos axônios não ocorrer, alterações podem se desenvolver nos órgãos-alvo. As fibras musculares tornam-se atroficas, apresentando-se mais arredondadas e com o núcleo deslocado da sua posição

original periférica para o centro da célula. Parte dessas alterações pode ser identificada algumas semanas após a lesão. As placas motoras também se tornam atroficas e desaparecem, processo que se inicia três meses após a lesão axonal. O tecido muscular é substituído por tecido fibrótico no período de 12 a 24 meses após a lesão do nervo¹³.

Conclusões

Pela presente revisão observamos que a regeneração é um mecanismo complexo cuja eficiência depende da ocorrência e integração de várias etapas dependentes de numerosos sinais celulares e moleculares. Dessa maneira, é fácil entender que apesar de o processo de regeneração ser extremamente eficiente quando observado em sua totalidade, a deficiência de uma etapa implica em prejuízo de todo o processo, levando a resultados clínicos insatisfatórios.

O desafio para as próximas décadas é trazer, para a aplicação clínica, todos os avanços obtidos a partir da compreensão da regeneração, melhorando as taxas de sucesso após o tratamento cirúrgico das lesões traumáticas de nervos.

Referências

1. AVELLINO AM, DAILEY AT, HARLAN JM, SHARAR SR, WINN RK, MCNUTT LD, KLIOT M: Blocking of up-regulated ICAM-1 does not prevent macrophage infiltration during Wallerian degeneration of peripheral nerve. *Exp Neurol* 187:430-44, 2004.
2. BERRY M, HALL S, SHEWAN D, COHEN J: Axonal growth and its inhibition. *Eye* 8:245-54, 1994.
3. BIXBY JL, JHABVALA P: Extracellular matrix molecules and cell adhesion molecules induce neurites through different mechanisms. *J Cell Biol* 111:2725-32, 1990.
4. BONTIOTI EN, KANJE M, DAHLIN LB: Regeneration and functional recovery in the upper extremity of rats after various types of nerve injuries. *J Peripher Nerv Syst* 8:159-68, 2003.
5. BOYD JG, GORDON T: Neurotrophic factors and their receptors in axonal regeneration and functional recovery after peripheral nerve injury. *Mol Neurobiol* 27:277-323, 2003.
6. BRUSHART TM: Motor axons preferentially reinnervate motor pathways. *J Neurosci* 13:2730-8, 1993.
7. BUETTNER HM: Nerve growth dynamics. Quantitative models for nerve development and regeneration. *Ann N Y Acad Sci* 745:211-21, 1994.
8. CHAN YM, YICK L, YIP HK, SO K, OPPENHEIM RW, WU W: Inhibition of caspases promotes long-term survival and reinnervation by axotomized spinal motoneurons of denervated muscles in newborn rats. *Exp Neurol* 181:190-203, 2003.
9. CHEN ZL, STRICKLAND S: Laminin 1 is critical for schwann cell differentiation, axon myelination, and regeneration in the peripheral nerve. *J Cell Biol* 163:889-99, 2003.
10. CHERNOUSOV MA, CAREY DJ: AV β 8 integrin is a Schwann cell receptor for fibrin. *Exp Cell Res* 291:514-24, 2003.
11. DA SILVA CF: Fatores neurotróficos: estrutura, funções e aplicações clínicas. Atualização em Neurociências 1:1-20, 1995.
12. ENGH CA, SCHOFIELD BH: A review of the central response to peripheral nerve injury and its significance in nerve regeneration. *J Neurosurg* 37:198-203, 1972.
13. EVANS GRD: Challenges to nerve regeneration. *Semin Surg Oncol* 19:312, 2000.
14. GORDON T, SULAIMAN O, BOYD JG: Experimental strategies to promote functional recovery after peripheral nerve injuries. *J Peripher Nerv Syst* 8:236-50, 2003.
15. GRAFSTEIN B: The nerve cell body response to axotomy. *Exp Neurol* 48:32-51, 1975.
16. HEUMANN R, KORSHING S, BANDTLOW C, THOENEN H: Changes of nerve growth factor synthesis in non-neuronal cells in response to sciatic nerve transection. *J Cell Biol* 104:1623-31, 1987.
17. JESSEN KR, MIRSKY R: Schwann cells and their precursors emerge as major regulators of nerve development. *Trends Neurosci* 22:402-10, 1999.
18. JESSEN KR, MIRSKY R: Signals that determine Schwann cell identity. *J Anat* 200:367-76, 2002.
19. LANDIS SC: Neuronal growth cones. *Annu Rev Physiol* 45:567-80, 1983.
20. LIUZZI FJ, TEDESCHI B: Peripheral nerve regeneration. *Neurosurg Clin N Am* 2:31-42, 1991.
21. MADISON RD, ZOMORODI A, ROBINSON GA: Netrin-1 and peripheral nerve regeneration in the adult rat. *Exp Neurol* 161:563-70, 2000.
22. MEIER C, PARMANTIER E, BRENNAN A, MIRSKY R, JESSEN KR: Developing Schwann cells acquire the ability to survive without axons by establishing an autocrine circuit involving insulin-like growth factor, neurotrophin-3 and platelet-derived growth factor-BB. *J Neurosci* 19:3847-59, 1999.
23. MEYER M, MATSUOKA I, WETMORE C, OLSON L, THOENEN H: Enhanced synthesis of brain-derived neurotrophic factor in the lesioned peripheral nerve: different mechanisms are responsible for the regulation of BDNF and NGF mRNA. *J Cell Biol* 119:45-54, 1992.
24. MIDHA R, MACKAY M: Principles of nerve regeneration and surgical repair. *Semin Neurosurg* 12: 81-93, 2001.
25. MIRSKY R, JESSEN KR, BRENNAN A, PARKINSON D, DONG Z, MEIER C, PARMANTIER E, LAWSON D: Schwann cells as regulators of nerve development. *J Physiol (Paris)* 96:17-24, 2002.
26. PETTMANN B, HENDERSON CE: Neuronal cell death. *Neuron* 20:633-47, 1998.
27. PREVITALI SC, FELTRI ML, ARCHELOS JJ, QUATTRINI A, WRABETZ L, HARTUNG H: Role of integrins in the peripheral nervous system. *Progr Neurobiol* 64: 35-49, 2001.
28. RUTKA JT, APODACA G, STERN R, ROSENBLUM M: The extracellular matrix of the central and peripheral nervous systems: structure and function. *J Neurosurg* 69:155-70, 1988.
29. SANES JR: Roles of extracellular matrix in neural development. *Annu Rev Physiol* 45:581-600, 1983.
30. SHIBUYA Y, MIZOGUCHI A, TAKEICHI M, SHIMADA K, IDE C: Localization of N-cadherin in the normal and regenerating nerve fibers of the chicken peripheral nervous system. *Neuroscience* 67:253-61, 1995.

31. SON Y, THOMPSON WJ: Schwann cell processes guide regeneration of peripheral axons. *Neuron* 14:125-32, 1995.
 32. TASHIRO T, KOMIYA Y: Changes in organization and axonal transport of cytoskeletal proteins during regeneration. *J Neurochem* 56:1557-63, 1991.
 33. TERENCE G: Peripheral nerve regeneration and neurotrophic factors. *J Anat* 194:1-14, 1999.
 34. TONGE DA, GOLDING JP, EDBLADH M, KROON M, EKSTRÖM PER, EDSTRÖM A: Effects of extracellular matrix components on axonal outgrowth from peripheral nerves of adult animals in vitro. *Exp Neurol* 146: 81-90, 1997.
 35. TORIGOE K, TANAKA H, TAKAHASHI A, AWAYA A, HASHIMOTO K: Basic behavior of migratory Schwann cells in peripheral nerve regeneration. *Exp Neurol* 137:301-8, 1996.
 36. VOGELAAR CF, HOEKMAN MFM, BRAKKEE JH, BOGERD J, BURBACH JPH: Developmental regulation of homeobox gene expression in dorsal adult root ganglia neurons is not recapitulated during regeneration of the crushed sciatic nerve regeneration. *Neuroscience* 125: 645-50, 2004.
 37. WONG BJ, CRUMLEY RL: Nerve wound healing: an overview. *Otolaryngol Clin North Am* 28:881-95, 1995.
 38. YAMADA KM, SPOONER BS, WESSELLS NK: Ultrastructure and function of the growth cones and axons of cultured nerve cells. *J Cell Biol* 49:614-35, 1971.
 39. ZIGMOND RE: Can galanin also be considered as growth-associated protein 3.2 ? *Trends Neurosci* 9: 494-5, 2001.
 40. ZUO J, NEUBAUER D, GRAHAM J, KREKOSKI CA, FERGUSON TA, MUIR D: Regeneration of axons after nerve transection repair is enhanced by degradation of chondroitin sulfate proteoglycan. *Exp Neurol* 176:221-8, 2002.
- Original recebido em janeiro de 2005*
Aceito para publicação em fevereiro de 2005
- Endereço para correspondência:***
Roberto S. Martins
Rua Maestro Cardim, 592, conj. 1101
CEP 01323-001 – São Paulo, SP