

Reparação microcirúrgica de nervo facial de ratos Wistar por meio de sutura – Parte 1

Microsurgical reparation of facial nerve of Wistar rat with suture – Part 1

João Armando BRANCHER*
Maria Fernanda TORRES**

Endereço para correspondência:

Maria Fernanda Torres
Rua Eduardo Geronasso, 338 – ap. 73 – Bairro Bacacheri
CEP 82510-280 – Curitiba – PR
E-mail: bioterio@unicenp.br

* Professor da disciplina de Biologia Molecular da PUC/PR. Mestre em Ciências – Bioquímica.

** Professora da disciplina de Fisiologia do UnicenP. Mestre em Ciências Veterinárias – Patologia.

Recebido em 4/3/05. Aceito em 6/4/05.

Palavras-chave:

sutura epineural;
neuroanastomose;
bainha.

Keywords:

epineural suture;
neuroanastomosis;
sheath.

Resumo

O nervo facial direito de 20 ratos da raça Wistar foi seccionado e imediatamente tratado com três pontos de sutura epineurais. A análise dos resultados foi baseada no aspecto histopatológico da área anastomótica. Percebe-se que a presença do material de sutura foi responsável pelo pobre direcionamento das fibras nervosas e formação de neuroma na área de anastomose em virtude da colisão das fibras nervosas em regeneração com a reação granulomatosa ao fio de sutura. Alterações como degeneração walleriana e proliferação de tecido fibroso foram observadas.

Abstract

The right-side facial nerve of 20 Wistar rats was trans-sectioned and, immediately treated with three plain epineural suture stitches. Analysis of the results was based on histopathological aspects of the anastomotic area. It was noticed that the presence of the suture material was responsible for the poor directioning of the nerve fibers and the neuroma formation in the anastomosis area, due to the collision of the regenerating nerve fibers with the granulomatous reaction to the suture string. Wallerian degeneration and proliferation of fibrous tissue were noticed.

Introdução

Lesões de nervos periféricos são muito comuns, e por isso inúmeras técnicas de neurorrafias para reabilitação funcional têm sido utilizadas para reabilitação, entretanto os resultados obtidos ainda não são completamente satisfatórios [9].

As pesquisas sobre regeneração do sistema nervoso periférico iniciaram-se com as descrições feitas por Ramón e Cajal em 1905 (*apud* Torres *et al.*, 2003 [15]) e relatavam tanto sucessos quanto insucessos na regeneração de fibras nervosas em animais de experimentação.

Cirurgias reparadoras de nervos, visando à reabilitação funcional de pacientes cujos nervos foram lesados por acidente, vêm merecendo atenção dos especialistas. O emprego das suturas epineurais e perineurais é a técnica mais utilizada para direcionamento das fibras nervosas, entretanto, embora a técnica seja meticulosa e necessite de microscopia cirúrgica, geralmente resulta em lesões provocadas pela manipulação dos cotos nervosos e a recuperação é insatisfatória [8].

Torres *et al.* [15] descreveram três técnicas de reparação do epineuro que utilizavam sutura e comprovaram que, além de danificar o tecido neural, o material de sutura provoca a formação de granulomas pela presença de corpo estranho. Contudo o uso da técnica conhecida como tubulação, que consiste no posicionamento de um tubo ou bainha entre as duas extremidades de um nervo seccionado, favorece a regeneração axonal pelo espaço existente em seu interior, pois evita a invasão de fibroblastos e a aderência de tecido cicatricial [13, 15]. Porém algumas conseqüências negativas devidas à compressão foram evidenciadas depois de algumas semanas, como redução da condutibilidade comprovada em teste eletrofisiológico e redução do diâmetro do nervo na área correspondente à localização do tubo, observada em exame macroscópico durante a necropsia [11].

Embora os dois tratamentos supracitados, sutura e tubulação, viabilizem a reinervação, a recuperação funcional satisfatória da lesão de nervos periféricos depende da estrutura do nervo, para que um maior número possível de axônios em regeneração encontre o segmento distal.

Na prática odontológica, as lesões de nervos, tais como traumatismos com transecções ou esmagamentos de nervos, geralmente resultam em parestesia. Muitos estudos vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de estabelecer uma técnica capaz de promover cicatrização satisfatória, com boa regeneração e orientação das fibras nervosas por meio da área da anastomose, e

apresentar como resultado final a recuperação da função [8].

Esta pesquisa teve como principal objetivo fazer uma análise da técnica microcirúrgica para determinar a eficiência na reparação do ramo bucal do nervo facial. Além disso, pretende-se verificar a capacidade que o fio de sutura tem para manter a coaptação dos segmentos proximal e distal do nervo, empregando o menor número de pontos possível para evitar trauma tecidual.

Material e métodos

Foram utilizadas 20 ratas da raça Wistar, com peso entre 200 e 250 g, provenientes do biotério do Centro Universitário Positivo. Durante todo o experimento os animais foram alimentados com ração comercial e água *ad libitum*, mantidos em caixas individuais.

Os animais foram anestesiados intraperitonealmente com cloridrato de xilazina a 2% (20 mg/mL) e cloridrato de quetamina a 50% (50 mg/mL), imobilizados e posicionados sob o microscópio cirúrgico da marca Inami. A região facial, lado direito, sofreu tricotomia, e, após incisão na pele de lâmina de bisturi número 11, o ramo bucal do nervo facial foi identificado, focalizado e seccionado na sua porção mediana. A aproximação dos cotos proximal e distal dos nervos de todos os animais foi feita com fio mononáilon 10-0, mediante o emprego de 3 pontos isolados simples no epineuro. A síntese dos planos anatômicos muscular e tegumentar foi realizada com fio mononáilon 2-0 e mononáilon 4-0, respectivamente. Durante o período pós-operatório imediato, os animais foram colocados sobre bolsa de água quente para evitar hipotermia. Nas horas subseqüentes permaneceram em sala climatizada para observação até total recuperação da anestesia e posteriormente foram mantidos no biotério do Centro Universitário Positivo.

Aos 45 dias da operação, os animais foram sacrificados e retirou-se a área anastomótica. A amostra foi retirada por meio de secção do nervo com lâmina de bisturi, procurando centralizar a área da anastomose. Após a coleta, o segmento, apresentando aproximadamente 1,0 cm de comprimento com a área de anastomose centralizada, foi embebido na solução fixadora contendo paraformaldeído a 2% e glutaraldeído a 0,5%, diluídos em tampão cacodilato a 0,1 Molar (pH 7,4) e, em seguida, dividido ao meio, no sentido longitudinal. Uma metade foi desfiada com auxílio de lupa e agulhas de insulina e a outra, após a

fixação com tetróxido de ósmio diluído em tampão cacodilato 0,2 molar, foi desidratada e incluída em resina para posteriores cortes ultrafinos e análise em microscópio eletrônico de transmissão.

Resultados

Observaram-se, na extremidade proximal, axônios orientados no eixo longitudinal do fascículo, pouca densidade celular e raras câmaras de digestão localizadas preferencialmente na periferia do fascículo (figura 1A). No centro do corte vemos muita densidade celular, sendo difícil distinguir os axônios individualmente (figura 1B). Na extremidade distal há alta densidade celular e muitas câmaras de digestão (figura 1C). Nos locais onde é encontrado o fio de sutura, observa-se reação piogranulomatosa (macrófagos com células gigantes e polimorfonucleares associados) envolvendo-a (figuras 2A e 2B).

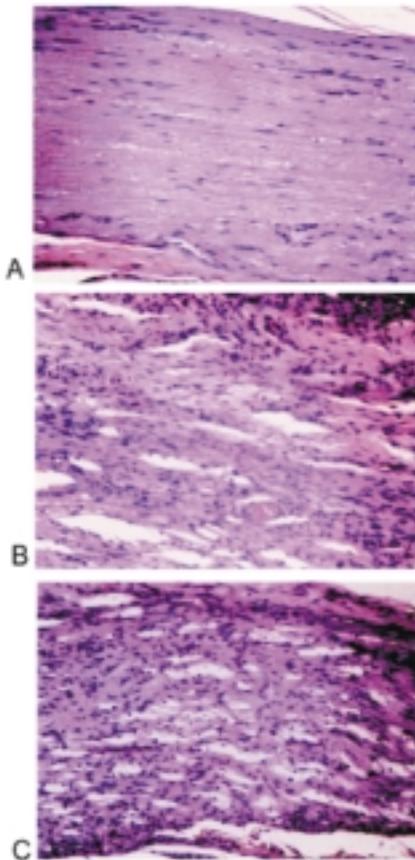


Figura 1 – A) Segmento proximal com axônios regenerados paralelos ao eixo longitudinal do fascículo; B) aumento da densidade celular na área da anastomose; C) fascículo distal com inúmeras câmaras de digestão

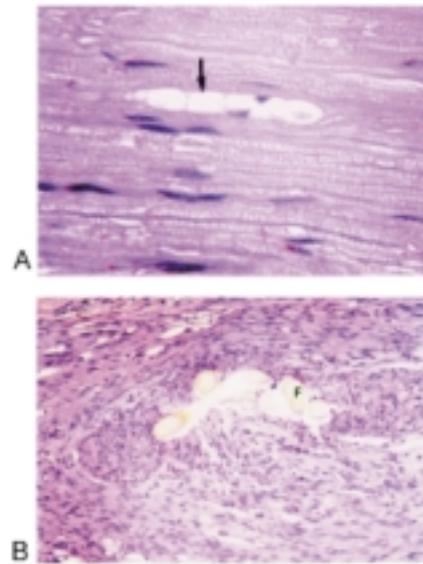


Figura 2 – A) câmara de digestão (seta); B) reação piogranulomatosa ao fio de sutura (F)

Discussão

Uma recuperação funcional satisfatória, após lesão de nervo periférico, depende da restauração da estrutura do nervo para que o maior número possível de axônios em regeneração, a partir do segmento proximal do nervo, encontre facilmente as bandas de Büngner no segmento distal e sejam orientados por elas até as placas motoras [4, 9].

A técnica de escolha para neurorrafia deve ter como objetivo favorecer a orientação dos axônios em fase de regeneração, visto que um mau direcionamento dos axônios é um dos fatores mais comuns que impedem a completa recuperação da função do nervo. Considera-se o reparo ideal para um nervo periférico aquele que permite a aposição perfeita das superfícies das extremidades proximal e distal, promovendo o íntimo contato entre elas, sem distorção e sem a presença de material estranho que possa interferir na passagem das fibras nervosas em regeneração do coto proximal para o distal [10, 1]. A direção errada das fibras implica recuperação incompleta da função do nervo.

No presente estudo, foram considerados os aspectos anatomopatológicos para estabelecer se houve recuperação. Avaliaram-se basicamente a orientação dos axônios regenerados, a presença de células inflamatórias e câmaras de digestão, a formação de neuroma, a presença de degeneração walleriana no segmento distal do nervo e quantidade de fibrilas de colágeno.

Os resultados referentes à microssutura de nervo periférico obtidos por Braun [2] e Bertelli e Mira [1], baseados tanto em exames histológicos quanto eletrofisiológicos, não foram satisfatórios, em virtude da grande desorganização das fibras nervosas provocada pela posição intraneural da sutura. Tal observação coincide com a organização confusa das fibras nervosas na área de anastomose, apresentada no presente estudo pelos nervos suturados.

De acordo com Tarlov *et al.* [14] e Bertelli e Mira [1], o uso de material de sutura é prejudicial porque constitui um obstáculo para as fibras nervosas em regeneração, por causa da proliferação de tecido conjuntivo e conseqüente fibrose no local da sutura. Deve-se utilizar um fio de sutura fino e limitado ao epineuro para que a reação inflamatória seja minimizada. Entretanto, em nervos muito pequenos que possuem as bainhas de tecido conjuntivo muito delicadas, torna-se muito difícil incluir somente o epineuro nos pontos de sutura e normalmente ocorre estrangulamento de tecido nervoso, resultando em fibrose. A presença de qualquer tipo de fio de sutura estrangulando o tecido neural no local da anastomose provoca reação cicatricial, que impede uma boa orientação das fibras nervosas regeneradas. Além disso, a aplicação dos pontos requer maior manipulação do nervo, o que resulta em trauma e proliferação de tecido fibroso. Esses fatores negativos para a regeneração do nervo são evitados empregando-se uma técnica que não implique excessiva manipulação do nervo e trauma do tecido nervoso.

A presença de axônios ondulados e desorganizados, próximo à linha de sutura, também foi relatada por Smahel *et al.* [11], enquanto Wise *et al.* [16] observaram alto grau de fibrose entre os segmentos proximal e distal dos nervos, refletindo a continuidade perineural e epineural insatisfatória, o que permitiu a migração de fibroblastos para a área da anastomose, fato também observado durante os exames histológicos desta pesquisa.

Os resultados obtidos por Medinacelli e Freed [10], após utilização de sutura perineural, também foram insatisfatórios, uma vez que ocorreu uma maciça desorganização axonal em todos os locais onde existia microssutura. Esses resultados, bem como os obtidos no presente estudo, contrariam os encontrados por Erhart e Erhart [3] e Stopiglia e Erhart [12], os quais relatam a presença de pequenos neuromas, pequena proliferação de tecido conjuntivo, fibrose perineuromatosa não significativa e axônios morfológicamente íntegros, paralelos, dispostos em fascículos.

Em virtude do grande número de conclusões não favoráveis à utilização das técnicas disponíveis atualmente para o reparo de nervos periféricos, muitos pesquisadores estão empenhados na descoberta de uma técnica que favoreça a regeneração das fibras nervosas sem interferir no seu trajeto ao longo do fascículo até a sua conexão com o órgão-alvo.

Conclusões

Os resultados obtidos com essa pesquisa revelam que o alinhamento longitudinal das fibras nervosas é insatisfatório. O uso de material de sutura é prejudicial porque constitui um obstáculo para as fibras nervosas em regeneração.

O tecido nervoso é traumatizado tanto pela manipulação quanto pela introdução e passagem da agulha, e ocorre reação por corpo estranho causada pela presença de material de sutura na área de anastomose, fato confirmado por outros estudos [5, 6, 7].

Métodos alternativos à sutura convencional devem ser pesquisados, visando desenvolver técnicas para o reparo de nervos periféricos rompidos que não utilizem material de sutura.

Referências

1. Bertelli A J, Mira J. Nerve repair using freezing and fibrin glue: immediate histologic improvement of axonal coaptation. *Microsurgery* 1993 Feb.; 14: 135-40.
2. Braun R M. Comparative studies of neuroorrhaphy and sutureless peripheral nerve repair. *Surgery Gynecology and Obstetrics* 1966 Jan.; 122(1): 15-8.
3. Erhart M B, Erhart E A. Sobre o comportamento das fibras nervosas no coto distal de nervo fibular de *canis familiaris* após transecção total. *Folia Clinica et Biologica* 1958 Jun.; 28: 98-100.
4. Erhart E A, Ferreira M C, Tedesco-Marchese A, Azze R J, Puech-Leão P. Sutures de nervos com técnica microcirúrgica podem evitar total degeneração walleriana. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 1975 Jul.; 21(7): 213-7.
5. Gibson K L, Daniloff J K. Peripheral nerve repair. *The compendium on continuing education for the practicing veterinarian* 1989 Jan.; 11(8): 938-44.

6. Grabb W C, Bement S L, Koepke G H, Green R A. Comparison of methods of peripheral nerve suturing in monkeys. *Plast. Reconstr. Surg.* 1970 Oct.; 46(1): 31-8.
7. Korff M, Bent S W, Havig M T, Schwaber M K, Ossoff R H, Zeale D L. Head and neck surgery. *Otology* 1992 Nov.; 106: 345-50.
8. Lauto A, Trickett R, Malik R, Dawes J M, Owen E R. Laser-activated solid protein bands for peripheral nerve repair. *Lasers Surg. Med.* 1997 Jul.; 21:134-41.
9. Mackinnon S E, Novak C B. Nerve transfers. New options for reconstruction following nerve injury. *Hand Clin.* 1999 Feb.; 15(4): 643-66.
10. Medinaceli L, Freed W J. Peripheral nerve reconnection: Immediate histologic consequences of distributed mechanical support. *Experimental Neurology* 1983 Ago.; 81: 459-68.
11. Smahel J, Meyer V E, Morgenthaler W. Silicone cuffs for peripheral nerve repair: experimental findings. *J. Reconstr. Microsurg.* 1993 Jul.; 9(4): 293-7.
12. Stopiglia A J, Erhart E A. Utilização de técnica microcirúrgica na neurografia de animais domésticos. Estudo experimental da reparação fascicular no nervo ulnar de cão (*Canis familiaris*). *Rev. Fac. Med. Vet. Zootec.* 1987 Mar.; 24(2): 193-208.
13. Suematsu N. Tubulation for peripheral nerve gap: its history and possibility. *Microsurgery* 1989 Mar.; 10(1): 71-4.
14. Tarlov I M, Denslow C, Swarz S, Pineles D. *Archives of surgery* 1943 Sep.; 47(44): 44-58.
15. Torres M F P, Graça D L, Farias E L P. Reparação microcirúrgica de nervo periférico por meio de sutura, cola de fibrina ou bainha de Biofill® em ratos Wistar. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2003 Sep.; 55(5): 557-61.
16. Wise Jr. A J, Topzlu C, Davis P, Kaye I S. A comparative analysis of macro- and microsurgical neurorrhaphy technics. *Am. J. Surg.* 1969 Jan.; 117(1): 566-72.

