

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

Microsurgical reparation of Wistar rats facial nerve through suture – Part II

João Armando BRANCHER*
Maria Fernanda TORRES**

Endereço para correspondência:

Maria Fernanda Torres
Rua Prof. Pedro Viriato Parigot de Souza, 2.664 – ap. 81B – Bairro Mossunguê
CEP: 81200-100 – Curitiba – PR
E-mail: bioterio@unicenp.br

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

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

Recebido em 17/8/05. Aceito em 23/9/05.

Palavras-chave:
sutura epineural;
neuroanastomose;
BioFill®.

Resumo

O nervo facial direito de 20 ratos da raça Wistar foi seccionado, e as extremidades foram aproximadas por um ponto simples inicial e envolvidas por uma bainha de BioFill®. As mudanças histológicas observadas foram proliferação de tecido fibroso, invasão do tecido nervoso por mastócitos e fibroblastos e presença de fibrilas de colágeno. O uso da bainha de BioFill® oferece vantagens porque é responsável pelo melhor direcionamento das fibras nervosas.

Keywords:
epineural suture;
neuroanastomosis;
BioFill®.

Abstract

The right side facial nerves of 20 Wistar rats were trans-sectioned, and the extremities were approximated with one plain epineural suture stitch and surrounded by a BioFill® sheath. The observed histological changes were proliferation of fibrous tissue, invasion of the nervous tissue by mastocites and fibroblasts and presence of collagen fibrils. The use of de BioFill® sheath offers advantages because they are responsible for the better direction of the nerve fibers.

Introdução

Técnicas microcirúrgicas para reparação de nervos vêm sendo desenvolvidas, visando à reabilitação funcional destes. Entretanto a regeneração nervosa não é completamente satisfatória [9].

A necessidade de desenvolver técnicas mais eficazes para a reparação de nervos que sofrem transecção é reconhecida há vários anos. A reparação com sutura do epineuro, embora realizada com técnica meticulosa, geralmente resulta em lesões nervosas provocadas pela manipulação, com freqüente recuperação insatisfatória da função [8].

O emprego das suturas epineurais e perineurais tem sido questionado, em virtude do mau direcionamento do tecido endoneural e da compressão pelo fio de sutura observados no exame histopatológico. Por outro lado, a aproximação dos cotos nervosos e o envolvimento deles com uma bainha favorecem a regeneração axonal por intermédio do espaço existente no seu interior, pois evita a invasão de fibroblastos e a aderência de tecido cicatricial [13, 15].

Um avanço na técnica de reparação nervosa, tornando-a mais simples, seria de grande valor tanto para a Medicina Veterinária quanto para Odontologia, por causa da alta freqüência de lesões de nervos periféricos em traumatologia, as quais resultam em perda da função do nervo, levando à amputação na maioria dos casos.

Esta pesquisa teve como principal objetivo fazer uma análise da técnica de tubulação com BioFill® (Biofill produtos biotecnológicos S. A., Curitiba, PR, Brasil), com o auxílio de microscopia cirúrgica, para determinar a eficiência na reparação de nervos periféricos. Pretende-se verificar a eficiência da bainha em orientar as fibras em regeneração a partir do segmento nervoso proximal. Foram analisadas as vantagens e/ou desvantagens da utilização do BioFill® como material empregado na produção das bainhas utilizadas nas neuroanastomoses e buscou-se comparar os resultados com os obtidos com outros materiais, visto que não constam relatos sobre a utilização de BioFill® em cicatrização de tecido nervoso periférico. Assim, será possível desenvolver novas alternativas para a técnica microcirúrgica de reconstrução de nervos periféricos, uma vez que os resultados alcançados com as técnicas atualmente disponíveis não foram satisfatórios.

Material e métodos

Foram utilizadas 20 ratas fêmeas 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 da pele com 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 um ponto isolado simples inicial, e os cotos foram envolvidos por uma lâmina de BioFill® medindo aproximadamente 8 mm de comprimento e 6 mm de largura (figura 1). As duas bordas dessa lâmina foram unidas com colódio elástico para formar uma bainha cujo centro correspondeu à área da anastomose (figura 2). O colódio elástico consiste em uma solução viscosa de celulose nitrada dissolvida em acetona, também conhecida como nitrocelulose.

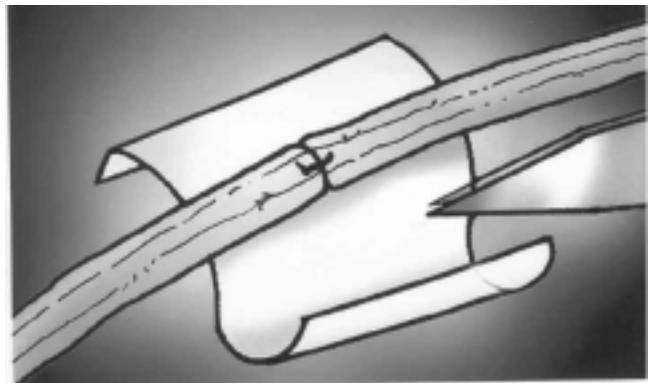


Figura 1 – Posicionamento da lâmina de BioFill® sobre o local da anastomose

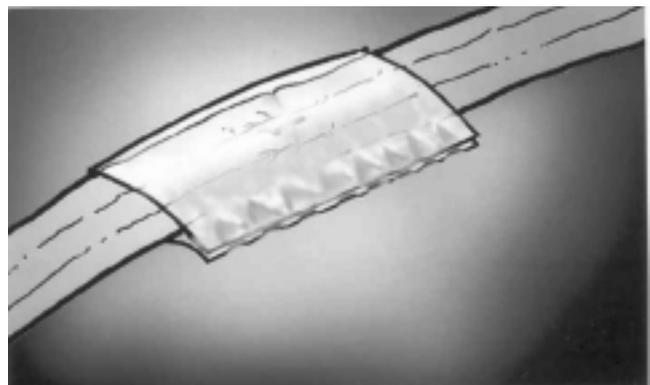


Figura 2 – União das bordas do BioFill® formando a bainha

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 extraída 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 era 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 o 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

Na porção proximal são observadas as fibras na sua maior parte orientadas longitudinalmente, enquanto aquelas que passam próximo ao fio estão direcionadas oblíqua ou transversalmente (figuras 3A e 3B). Nos locais onde os axônios crescem desordenadamente encontramos células de Schwann proliferadas formando bulbos de cebola ao redor dos axônios. Na porção distal ainda estão presentes muitas câmaras de digestão (figura 3C). Nos cortes de tecido em que é possível observar vários fascículos, o colágeno do perineuro está aumentado.

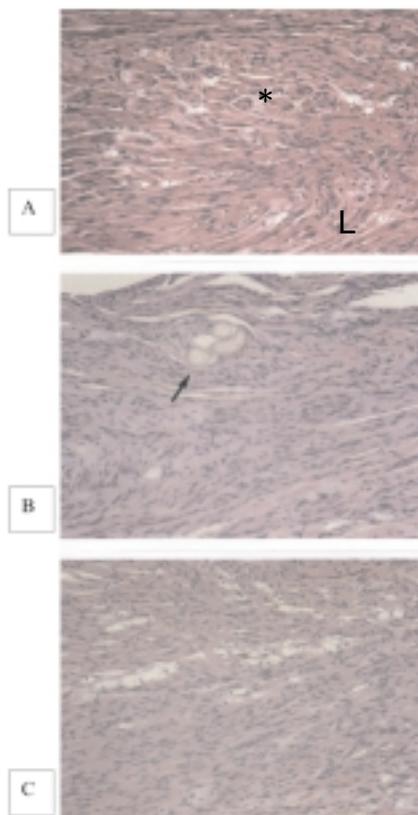


Figura 3 – A) Segmento proximal com orientação longitudinal (L) e transversal (*) dos axônios regenerados. As células de Schwann formam bulbos de cebola ao redor dos axônios transversais. B) Área de anastomose. Reação ao fio de sutura. C) Segmento distal apresenta numerosas câmaras de digestão

Discussão

Métodos alternativos à sutura convencional têm sido pesquisados, visando desenvolver uma nova técnica para o reparo de nervos periféricos rompidos. Esse interesse é justificado por duas razões principais: minimizar tanto o trauma provocado pela manipulação e pela introdução e passagem da agulha quanto a reação por corpo estranho causada pela presença de material de sutura na área de anastomose [1, 3, 5, 6, 7, 12].

De acordo com Uzman *et al.* [16], muitas técnicas já foram desenvolvidas com o objetivo de proteger e melhor orientar as fibras nervosas em regeneração, porém, mesmo com novos recursos, nem todas as fibras nervosas que se regeneram alcançam os alvos corretos, o que resulta em perda da função.

Caso não seja realizada anastomose de um nervo rompido, os axônios em regeneração que partem do segmento proximal perdem a direção e crescem aleatoriamente, formando neuroma de amputação. Podem também ser observadas outras seqüelas, como alterações musculares, ósseas e articulares. As células musculares desnervadas atrofiam e se degeneram rapidamente, mas essa situação é revertida quando ocorre reinervação. As articulações podem perder a mobilidade em virtude da contração progressiva da cápsula articular e da invasão da articulação por tecido conjuntivo intra-articular fibroso e adiposo [5].

Conforme Tarlov *et al.* [14], os fatores que mais influenciam na escolha da técnica para reparar nervos são uma restauração precisa da topografia fascicular e a utilização de materiais e método que provoquem o mínimo de cicatrização na área de anastomose. Quando se trata de um nervo misto, é fundamental o alinhamento preciso das extremidades dos segmentos proximal e distal, para evitar que fibras nervosas motoras em regeneração ocupem canais de Schwann que conduzem a órgãos terminais sensoriais e vice-versa. A direção errada das fibras implica recuperação incompleta da função do nervo.

O implante de bainhas ou tubos-guia sobre o local de anastomose de nervos periféricos tem sido proposto como técnica alternativa para sutura e enxertos, em que é realizada a aproximação das extremidades proximal e distal [5]. Braun [2] concluiu que essas bainhas deveriam ser removidas, em virtude da fibrose excessiva por eles causada.

Suematsu [13], após utilizar veia femoral como ponte entre as extremidades do nervo ciático de rato e obter bons resultados tanto eletrofisiologicamente quanto histologicamente, defende o enxerto de veia para conduzir a regeneração do nervo, pelo fato de possuir paredes finas, o que permite rápida difusão

de nutrientes sem necessitar de preparo especial, e pelo fato de ser facilmente encontrada, sem causar grandes prejuízos à área doadora.

Seguindo essas recomendações quanto às características ideais de uma bainha para que seja eficiente na reparação de nervos periféricos, foram utilizados nesta pesquisa tubos ou bainhas desenvolvidos com um material semipermeável que não causa compressão do nervo, constituído por microfibrilas de celulose pura, conhecido comercialmente como BioFill®.

A técnica de tubulação normalmente descrita na literatura menciona a aproximação das extremidades dos segmentos proximal e distal do nervo, através das suas aberturas, sem o emprego de sutura, ficando um espaço vazio entre elas, por meio do qual as fibras nervosas se regeneram [2]. Porém, para que seja possível manter os segmentos proximal e distal com suas extremidades no interior do tubo, este deve ser adequadamente apertado, para que uma ou ambas as extremidades do nervo não escapem e ocorra formação de neuroma e invasão de tecido conjuntivo fibroso. Assim, a principal desvantagem que os tubos apresentam – a compressão – não é evitada.

Os resultados obtidos nesta pesquisa conferiram com os apresentados na literatura e revelam bom alinhamento longitudinal das fibras nervosas regeneradas [15]. No entanto contradizem a presença de edema observada por Smahel *et al.* [11].

Os resultados morfológicos e funcionais superiores são consequência do alinhamento longitudinal dos tecidos neural e mesenquimal, devido ao implante de um pseudo-epineuro uniforme.

O sucesso da técnica de tubulação pode ser explicado pela redução tanto da manipulação e quantidade de material de sutura introduzido quanto da proliferação de tecido fibroso cicatricial e formação de neuroma no local de anastomose, favorecendo a orientação dos axônios em direção ao coto distal do nervo. Além disso, as bainhas também têm a vantagem de permitir a concentração dos fatores neurotróficos, os quais favorecem o brotamento axonal e, conseqüentemente, a regeneração do nervo [4, 5].

Conclusões

Os resultados obtidos nesta pesquisa condizem com os apresentados na literatura e revelam um bom alinhamento longitudinal das fibras nervosas regeneradas, em virtude do envolvimento dos cotos nervosos com uma bainha tubular.

A redução da manipulação do tecido nervoso e da quantidade de material de sutura introduzido

é responsável pelo melhor alinhamento das fibras nervosas. Além disso, as bainhas também têm a vantagem de permitir a concentração dos fatores neurotróficos, os quais favorecem o brotamento axonal e, conseqüentemente, a regeneração do nervo.

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 neurorrhaphy 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 *et al.* Suturas 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 *et al.* Comparison of methods of peripheral nerve suturing in monkeys. *Plast Reconstr Surg* 1970 Oct; 46(1): 31-8.
7. Korff M, Bent S W *et al.* Head and neck surgery. *Otology* 1992 Nov; 106: 345-50.
8. Lauto A, Trickett R *et al.* 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 *et al.* 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 neurorafia 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 *et al.* *Archives of surgery* 1943 Sep; 47(44): 44-58.
15. Torres M F P, Graça D L *et al.* 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. Uzman B G, Snyder *et al.* Status of peripheral nerve regeneration. In: Seil F J. *Neural Regeneration and Transplantation*. New York: Alan R. Liss; 1989. p. 15-28.