

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

**REPARO DO RAMO BUCAL DORSAL DO
NERVO FACIAL EM COELHOS COM
SEGMENTO INTESTINAL ALÓGENO**

Camila Araujo Busnardo

Médica Veterinária

UBERLÂNDIA – MINAS GERAIS – BRASIL

2008

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**REPARO DO RAMO BUCAL DORSAL DO
NERVO FACIAL EM COELHOS COM
SEGMENTO INTESTINAL ALÓGENO**

Camila Araujo Busnardo

Orientador: Prof. Dr. Duvaldo Eurides

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária – UFU, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias (Saúde Animal).

UBERLÂNDIA – MINAS GERAIS – BRASIL

Fevereiro de 2008

“De longe, o maior prêmio que a vida oferece é a chance de trabalhar muito e se dedicar a algo que valha a pena.”
(Theodore Roosevelt)

Aos meus pais, exemplo de
força de vontade e
competência, dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia pela oportunidade e crédito para concretização deste trabalho e à CAPES pela bolsa de fomento.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Duvaldo Eurides, que diante de tantas dificuldades me guiou com brilhantismo e sabedoria até o final desta jornada. “É sempre possível aprender alguma sabedoria com um sábio” (Eurípedes).

Ao Prof. Dr. Marcelo Emílio Beletti, pela paciência, sugestões e importantes auxílios histológicos e estatísticos.

Ao Laboratório de Histologia do Instituto de Ciências Biomédicas e aos técnicos Richard e Rui que me ofereceram o espaço e materiais necessários para desenvolvimento da parte histológica deste trabalho.

Ao médico Prof. Msc. Lino Antônio Raimundo Lopes pelas palavras de apoio e de solidariedade e pelo fornecimento dos kits-catarata sem o qual este estudo não seria possível.

Às minhas amigas e médicas veterinárias, Letícia Binda Baungarten pela cumplicidade, amizade e apoio, e Janaína Rodrigues Simões, amiga de todas as horas.

Ao meu querido “estúpido” Evandro Zacché pelo seu amor, carinho e companherismo e à sua família.

Às Marias, Veridiana Basoni e Lidiane Gomes e à Viviane Pelissari pelas palavras de encorajamento, vida e otimismo. Saudade amigas!

As amigas mestrandas Lucélia e Andréa pela compreensão, paciência, amizade e força nas horas difíceis e felizes...

A graduanda Lorena pela sua amizade e ajuda na manutenção diária dos coelhos e ao seu pai César, pelo apoio financeiro na alimentação dos coelhos.

Ao prof. Dr. Frederico Ozanan Silva pelo auxílio valioso na parte anatômica e ao Prof. Dr. Ednaldo Guimarães pela estatística da avaliação clínica deste trabalho.

Aos funcionários e professores da graduação. Pós-graduação e do Hospital veterinário da UFU, especialmente, Beth, Marquinhos, Adélia, Helena, Prof. Dr. José Octávio Jacomini, Prof. Dr. Rogério Chaves, Prof. Dr. Cirilo de Paula, Prof. Marco Faria, Amado, Vânia, Rondino, João Batista, João de Assis, Antônio e Zé Maria, que cada um a seu jeito sempre me receberam muito bem.

Aos professores doutores da Universidade Federal do Espírito Santo, especialmente, Patricia Maria Coletto Freitas, Marcelo Rezende e Lenir Cardoso Porfírio pelo entusiasmo e vontade de ensinar que tanto me inspiraram e me estimularam a fazer ciência.

Ao gatinho Smeago pelo companheirismo nas noites em claro em frente ao computador... e ao meu velhinho, fiel e companheiro cão Isaac, exemplo maior de amizade incondicional, que tanto me inspira e motiva ao exercício competente desta profissão.

Aos meus pais, Marluici Machado Busnardo e Zildete Moura Araujo Busnardo e aos meus irmãos Fábio e Elaine, pelo carinho, amor e apoio sem limites. Eu nada sou sem vocês...

A Deus por me dar essa vida maravilhosa e por colocar todas essas pessoas no meu caminho.

SUMÁRIO

	Página
ABREVIATURAS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS	xii
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xiv
I. INTRODUÇÃO	1
II. REVISÃO DE LITERATURA	2
II.a. Anatomia e morfologia do nervo facial	2
II.b. Nervos periféricos	3
II.b.a. Alterações inflamatórias	3
II.b.b. Degeneração walleriana e função das células de Schwann	3
II.b.c. Classificação das lesões neurais.....	4
II.b.d. Regeneração neural	4
II.b.e. Neurorrafias	5
II.b.f. Homoenxertos	6
II.b.g. Enxertos tubulares	6
II.c. Segmento intestinal de jejuno	8
III. MATERIAL E MÉTODOS	8
III.a. Obtenção e preservação de segmentos de jejunos alógenos	8
III.b. Obtenção dos animais e distribuição dos grupos	9
III.c. Pré-operatório	9
III.d. Técnica cirúrgica	10
III.e. Pós-operatório	11
III.f. Avaliação clínica	12
III.g. Avaliação macroscópica	13
III.h. Avaliação histológica	13
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
V. CONCLUSÕES	31

VII. MATERIAIS DA PESQUISA	31
VIII. REFERÊNCIAS	32

ABREVIATURAS

PO – Pós-operatório

cm – centímetros

mm – milímetros

mL – mililitros

mg – miligramas

kg – quilogramas

SC – subcutâneo

IM – intramuscular

μm – micrômetros

HE – Hematoxilina e Eosina

p – coeficiente de probabilidade

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. A. Esquema representativo da localização do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho da raça Nova Zelândia (seta), ducto parotídeo (1), artéria facial transversa (2) e veia facial (3). Nota-se o nervo bucal dorsal individualizado (B) e seccionado (C), setas	10
Figura 2. A. Esquema representativo da rotação do ramo bucal dorsal do nervo facial com pontos de sutura para visualização da face medial (setas). B. Face ventral do nervo após rotação (setas). C. Aspecto final da aproximação do nervo com pontos simples separados e tubo-guia intestinal de jejuno alógeno mantido temporariamente no coto proximal (FI) do nervo em coelho da raça Nova Zelândia	11
Figura 3. A. Esquema representativo do tubo-guia intestinal de jejuno alógeno fixado no ramo bucal dorsal do nervo facial. B. Aspecto final da fixação do enxerto sobre o nervo (seta) em coelho da raça Nova Zelândia	12
Figura 4. Coelho da raça Nova Zelândia submetido à neurorrafia epineural do ramo bucal dorsal do nervo facial com implante de tubo-guia intestinal de jejuno alógeno aos 7 dias de PO. Observar intensa secreção nasal (seta preta) e local da abordagem cirúrgica com pontos de sutura de pele (seta azul)	18
Figura 5. Aspecto macroscópico do ramo bucal do nervo facial no grupo tratado em coelho da raça Nova Zelândia aos 15 (A), 30 (B) e 60 (C) dias de pós-operatório. Nota-se aderência dos tecidos adjacentes (TA) com o tubo-guia intestinal de jejuno alógeno (setas)	19
Figura 6. Aspecto macroscópico do ramo bucal do nervo facial no grupo controle em coelho da raça Nova Zelândia aos 15 (A), 30 (B) e 60 (C) dias de pós-operatório. Nota-se aderência dos tecidos adjacentes (TA) na área de coaptação dos cotos proximal e distal (setas)	19

- Figura 7.** Fotomicrografia da reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho da raça Nova Zelândia com tubo-guia intestinal de jejuno alógeno aos 15 dias de PO. Notam-se fibras colágenas interrompidas (seta preta), deposição de tecido conjuntivo (seta azul) e desvio das fibras pelo fio de sutura (seta vermelha). Coloração em Picro-sírius Red. (Barra = 10 20
- Figura 8.** Fotomicrografia da reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho da raça Nova Zelândia com tubo-guia intestinal de jejuno alógeno aos 15 dias de PO. Nota-se intensa reação inflamatória com formação de granulomas (seta preta), heterófilos (seta vermelha) e células gigantes (seta azul). Coloração em HE. (Barra = 100µm) 21
- Figura 9.** Fotomicrografia da reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho da raça Nova Zelândia com tubo-guia intestinal de jejuno alógeno aos 15 dias de PO. Nota-se intensa reação inflamatória com predomínio de heterófilos (seta preta) e células gigantes (seta azul). Coloração em HE. (Barra = 100µm) 22
- Figura 10.** Fotomicrografia da reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho da raça Nova Zelândia com tubo-guia intestinal de jejuno alógeno aos 15 dias de PO. Nota-se discreta degeneração com hiperplasia das células de Schwann (seta azul) em A e presença de vacúolos (seta preta) em A e B. Coloração em HE. (Barra = 100µm) 24
- Figura 11.** Fotomicrografia da reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho da raça Nova Zelândia com tubo-guia intestinal de jejuno alógeno aos 30 dias de PO. Notam-se fibras colágenas interrompidas (seta preta) por deposição de tecido conjuntivo (seta azul). Coloração em Picro-sírius Red. (Barra = 100µm) 25
- Figura 12.** Fotomicrografia da reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho da raça Nova Zelândia com tubo-guia intestinal de jejuno alógeno aos 30 dias de PO. Nota-se intensa degeneração walleriana com

proliferação das células de Schwann (seta preta) e esfacelamento do perineuro (seta azul). Coloração em HE. (Barra= 100 µm) 26

Figura 13. Fotomicrografia da reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho da raça Nova Zelândia com tubo-guia intestinal de jejuno alógeno aos 60 dias de PO. Notam-se fibras colágenas com orientação cruzada (seta preta) e deposição de tecido conjuntivo (seta azul). Coloração em Picro-sírius Red. (Barra = 100µm) 27

Figura 14. Fotomicrografia da reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho da raça Nova Zelândia com tubo-guia intestinal de jejuno alógeno aos 60 dias de PO. Notam-se discretas fibras regeneradas (setas). Coloração em HE. (Barra = 100µm) 28

Figura 15. Fotomicrografia da reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho da raça Nova Zelândia com tubo-guia intestinal de jejuno alógeno aos 15 dias de PO. Nota-se no enxerto intensa reação inflamatória com granulomas (seta azul) ao redor do fio e proliferação de tecido conjuntivo ao redor do tubo (seta preta). Coloração em HE. (Barra= 100µm) 29

Figura 16. Fotomicrografia da reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho da raça Nova Zelândia com tubo-guia intestinal de jejuno alógeno aos 30 dias de PO. Notam-se no enxerto granulomas (seta azul) ao redor do fio e fibrose (seta preta). Coloração em HE. (Barra = 100µm) . 29

Figura 17. Fotomicrografia da reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho da raça Nova Zelândia com tubo-guia intestinal de jejuno alógeno aos 60 dias de PO. Nota-se tecido conjuntivo organizado (seta preta) formado ao redor do enxerto (seta azul). Coloração em HE. (Barra = 100µm) 30

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Escalas e parâmetros clínicos avaliados referentes à secreção nasal, reflexo de piscar e movimentação do lábio superior e representação qualitativa das escalas quantificadas em coelho da raça Nova Zelândia	12
Tabela 2. Escalas e parâmetros histológicos avaliados referentes à reação inflamatória, orientação das fibras colágenas, degeneração/regeneração do coto distal do ramo bucal dorsal do nervo facial e representação qualitativa das escalas quantificadas, em coelhos da raça Nova Zelândia	14
Tabela 3. Escores atribuídos ao parâmetro de orientação de fibras colágenas aos 15, 30 e 60 dias de PO do grupo tratado e controle de coelhos da raça Nova Zelândia	20
Tabela 4. Valores de “p” (coeficiente de probabilidade) obtidos para os parâmetros histológicos de reação inflamatória, orientação de fibras colágenas e degeneração de fibras neurais entre o grupo tratado e controle aos 15, 30 e 60 dias de PO de coelhos da raça Nova Zelândia	21
Tabela 5. Escores atribuídos ao parâmetro de reação inflamatória aos 15, 30 e 60 de PO nos coelhos do grupo tratado e controle de coelhos da raça Nova Zelândia.....	22
Tabela 6. Escores atribuídos ao parâmetro de degeneração a regeneração do coto distal aos 15, 30 e 60 dias de PO do grupo tratado e controle de coelhos da raça Nova Zelândia	23

REPARO DO RAMO BUCAL DORSAL DO NERVO FACIAL EM COELHOS COM SEGMENTO INTESTINAL ALÓGENO

RESUMO

Foram utilizados 18 coelhos, raça Nova Zelândia, machos, adultos, para avaliação clínica e histológica do reparo do ramo bucal dorsal do nervo facial, decorridos 15, 30 e 60 dias de pós-operatório (PO). Os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos de igual número para secção e aproximação epineural do ramo bucal com fio náilon monofilamentoso 10-0. Nos animais do grupo I, o nervo foi revestido com tubo-guia de segmento intestinal de jejuno alógeno conservado em glicerina a 98% e o grupo II apenas aplicação de sutura epineural. Foi observada secreção nasal até a segunda semana nos animais do grupo II e, até a oitava semana, nos do grupo I. Nos coelhos dos dois grupos ocorreu retorno da resposta ao reflexo de piscar na primeira semana e da movimentação do lábio superior a partir da oitava semana. Decorridos os períodos pré-estabelecidos de PO foi notado nos animais de ambos os grupos, aderência fibrosa do nervo aos tecidos adjacentes, sendo mais intensa nos do grupo I. Verificou-se infiltrados celulares e células gigantes com fibrose desorganizada e fibras colágenas do tubo-guia entremeadas ao tecido conjuntivo. Aos 15 dias de PO, os cotos distais de ambos os grupos encontravam-se com degeneração walleriana discreta. Aos 30 dias, com intensa proliferação das células de Schwann e aos 60 dias, com dispersas fibras regeneradas. A reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial com o tubo-guia não foi significativamente diferente nos coelhos do controle, quanto à avaliação de recuperação funcional e histológica.

Palavras-chave: tubo-guia, intestino, enxerto, regeneração neural, nervos periféricos.

REPAIR OF THE DORSAL BUCCAL BRANCH OF FACIAL NERVE IN RABBITS WITH ALLOGRAFT INTESTINAL SEGMENT

ABSTRACT

18 rabbits, New Zealand race, males, adults were used for clinical and histological evaluation of repair dorsal buccal branch of facial nerve after 15, 30 and 60 days postoperatively (PO). The animals were divided into two groups of equal numbers for transection and 10-0 nylon monofilament epineural suture of buccal branch. In animals in Group I, the nerve was coated with chamber intestinal segment of jejunum allograft preserved in glycerin 98% and in group II was applied epineural suture. Nasal secretion was observed until the second week in the animals of group II and until the eighth week in the group I. In rabbits of the two groups occurred the return of response to blink reflex in the first week and the movement of the upper lip from the eighth week. After the pre-established periods of PO was noted in animals in both groups, adherence fibrous tissue adjacent to the nerve, more intense in the group I. There was infiltrated cellular and giant cells with fibrosis unsystematic and collagen fibers of the allograft conduit joining to the connective tissue. At 15 days of PO, the distal nerve stumps of both groups were found with mild degeneration wallerian. At 30 days, with intense proliferation of Schwann cells in 60 days, with scattered fibers regenerated. The repair of the dorsal buccal branch of facial nerve with the allograft conduit wasn't significantly different between the control rabbits as to the assessment of histological and functional recovery.

Keywords: nerve conduit, intestine, graft, nerve regeneration, peripheral nerve

I. INTRODUÇÃO

O nervo facial é responsável pela inervação dos músculos da expressão facial, incluindo o músculo motor da orelha externa e a musculatura envolvida no fechamento da fenda palpebral, além de fornecer fibras parassimpáticas para o controle do lacrimejamento. Lesões dos ramos individuais do nervo facial dos grupos musculares que ele inerva, ocasionam paresia ou paralisia restrita a esses músculos. Já nos ramos bucais do nervo facial localizado no músculo masseter causam o lábio superior pendular e o focinho desloca-se em direção ao lado oposto (SLATER, 2001). Quando ocorre em nervos periféricos, são seguidas, freqüentemente, de retorno incompleto da função e, às vezes, associadas com dor neuropática. Conseqüentemente, existe a necessidade de tratamentos que melhorem a recuperação da transmissão nervosa (JUBRAN, WIDENFALK, 2003).

O colágeno, que proporciona resistência a um nervo reparado, é produzido por fibroblastos no epineuro. Respostas inflamatórias exuberantes ou prolongadas podem causar excesso de produção de colágeno, com formação prejudicial de fibrose (RODKEY, 1998).

Na reparação neural é utilizada a técnica de tubulação que consiste no implante de um tubo-guia, com a finalidade de permitir o redirecionamento das fibras nervosas da extremidade proximal em direção a distal. Assim como, evitar a proliferação de tecidos cicatriciais entre os cotos que possam prejudicar a regeneração (DANIELSON, DAHLIN, POULSEN, 1996).

Vários estudos têm avaliado o uso de diferentes tubos-guia como músculos (OLIVEIRA et al., 2004), nervos (CHOI, RAISMAN, 2003), veias (KELLEHER et al, 2001), tendões (BRANDT, DAHLIN, LUNDBORG, 1999), colágenos (YOSHII et al., 2001). Bem como, tubos sintéticos de silicone (FERREIRA, STOPIGLIA, SILVA, 2002) e de ácido poliglicólico (COSTA, 2001). Entretanto, são métodos desprovidos de bons resultados.

Objetivou-se avaliar, clínica e histologicamente, o uso de segmento intestinal de jejuno alógeno conservado em glicerina a 98% como tubo-guia na reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial em coelhos.

II. REVISÃO DE LITERATURA

II.a. Anatomia e morfologia do nervo facial

Segundo Evans e De Lahunta (1994), o nervo facial ou sétimo nervo craniano inerva os músculos superficiais da cabeça e da face, bem como a parte caudal do digástrico e o platisma do pescoço. O nervo penetra na parte petrosa do osso temporal via meato acústico interno, segue pelo canal facial daquele osso e deixa o crânio no forame estilomastóideo. De acordo com Evans e Christensen (1979) e Evans e De Lahunta (1994), o tronco facial termina como os nervos auriculopalpebral, bucal dorsal e bucal ventral.

O ramo bucal dorsal do nervo facial continua rostralmente na face e recebe diversas ramificações do ramo transversal da face. Próximo à borda rostral do músculo masseter, une-se ao ramo de ligação do ramo bucal ventral, formando um extenso plexo. Do plexo, cruza o ducto parotídico e a veia facial em direção rostral, terminando no músculo orbicular da boca e na musculatura da região nasal lateral (GODINHO, GETTY, 1975). O ramo bucal dorsal, como os demais nervos periféricos, é constituído por fibras nervosas motoras, sensitivas e/ou simpáticas agrupadas em fascículos. Cada fibra é circundada por uma lâmina de tecido conjuntivo denominado endoneuro, cuja função é a proteção e nutrição dos axônios. Os fascículos são rodeados, individualmente, por uma lâmina de tecido conjuntivo, o perineuro, que contribui para a força tênsil do nervo. Os grupos fasciculares se agrupam por tecido conjuntivo frouxo denominado epineuro que os nutre e protege. O tronco nervoso constituído por numerosos fascículos apresenta mobilidade considerável dentro do epineuro (GUTZE, FORTET, HEREDERO, 2001).

II.b. Nervos periféricos

II.b.a. Alterações inflamatórias

Alterações da integridade axonal causam respostas inflamatórias agudas na região distal do nervo e em volta dos corpos celulares de neurônios lesados. Essas mudanças são caracterizadas por um influxo de leucócitos que auxiliam as células de Schwann a eliminar debris de mielina não-funcionais ao redor do corpo celular. As células inflamatórias locais são rapidamente ativadas e entram em contato direto com o corpo celular para interagir com células “T” (MAKWANA, RAIVICH, 2005).

Após secção de um nervo periférico, os axônios separados de seu corpo celular degeneram e as células de Schwann perdem sua mielina, dividem-se e fornecem uma trajetória para imediata regeneração (SNELL, 1985; ROSS, ROWRELL, 1993; HASHIMOTO et al., 2005). A degeneração da fibra nervosa ocorre por autólise, via entrada de Ca^{++} e ativação de protease na área da lesão. No entanto, migração de células mielomonocíticas é necessária para remoção de mielinas e induzir mitose nas células de Schwann. Macrófagos e células polimorfonucleares são recrutados em grande número, em um curso de tempo compatível com sua execução como função dentro da porção distal do nervo lesado. Os macrófagos atuam como intermediários na reutilização lipídica pela regeneração de cones de crescimento (LUNN et al., 1989).

II.b.b. Degeneração walleriana e função das células de Schwann

Apesar de o nervo facial ter origem central, possui capacidade de regeneração melhor quando comparado aos neurônios do sistema nervoso central. Sob esse aspecto, ele comporta-se como nervo periférico embainhado por células de Schwann (CHOI, DUNN, 2001). Quando a fibra nervosa é rompida, ocorre degeneração walleriana que impede a condução nervosa entre os segmentos proximais e distais (BROWN et al., 1997; DOURADO et al., 2003). Distalmente, o axônio e a mielina regeneram-se. Entretanto, as células de Schwann proliferam para

formar o tubo neurolemal através dos quais as fibras nervosas em crescimento guiam-se em direção ao músculo a fim de reinervá-lo (CHRISMAN, 1991).

A exposição do conteúdo intracelular de um axônio lesado para o meio extracelular ocasiona rápida entrada de íons extracelulares, como cálcio e sódio, através do canal aberto da membrana plasmática. Isso resulta em despolarização e uma sequência do potencial de ação induzida pela lesão. O influxo de cálcio e a ativação permanente de proteases e do citoesqueleto no axoplasma remodelam a formação de cones de crescimento e atuam na síntese protéica intra-axonal (MAKWANA, RAVICH, 2005).

II.b.c. Classificação das lesões neurais

As lesões são separadas em neuropraxia, axonotmese e neurotmese (CHRISMAN, 1991; RODKEY, 1998; GUTZKE, FORTET, HEREDERO, 2001). A neuropraxia se refere a um bloqueio de condução nervosa local com paralisia e ausência de degeneração walleriana distal. Macroscopicamente, o nervo não apresenta lesões e, histologicamente, aparecem segmentos desmielinizados (GUTZKE, FORTET, HEREDERO, 2001). A axonotmese se caracteriza por descontinuidade axonal, degeneração walleriana distal e regeneração axonal proximal, entretanto, o perineuro e o endoneuro permanecem intactos. A neurotmese equivale a uma disfunção fisiológica completa do nervo e degeneração walleriana (GUTZKE, FORTET, HEREDERO, 2001). A menos que se execute uma reparação cirúrgica, a função do nervo não será recuperada (CHRISMAN, 1991).

II.b.d. Regeneração neural

Nas lesões axonais maiores que 30,4mm em cães e gatos, não ocorre contato anatômico do tubo neurolemal entre os cotos neurais, devido à oclusão por fibrose. Quando em contato anatômico estabelecido, o canal neurolemal formado é estreito e não ocorre a mielinização adequada das novas fibras nervosas. O tempo

de condução é retardado e a fibrose muscular reduz a função motora (CHRISMAN, 1991).

A degeneração do segmento distal do axônio seccionado não é propriedade intrínseca do nervo. Depende da iniciação rápida do recrutamento de células mielomonocíticas ou da ativação das células de Schwann para fagocitar debris axonais e a mielina. Em lesões de terminações neuronais desmielinizadas, a regeneração depende, principalmente, da presença das células mielomonocíticas. As fibras mielinizadas são embainhadas pelas células de Schwann, e, portanto, a regeneração procede especialmente por essas células (LUNN et al., 1989).

Durante as primeiras seis horas após a lesão, ocorre regeneração neural desde o nódulo de Ranvier terminal através dos espaços criados pela retração das células de Schwann. O primeiro broto axonal é substituído durante as primeiras 27 horas por outro permanente com citoesqueleto, criando uma unidade regeneradora delimitada pelo perineuro. Inicialmente, constituída por fibras amielínicas, independentemente do nervo de origem, podendo chegar a ser mielínicas (GUTZKE, FORTET, HEREDERO, 2001).

II.b.e. Neurorrafias

As suturas epineurais e fasciculares são as técnicas mais comuns nas neurorrafias, sendo a epineural a mais aplicada. A reparação epineural consiste na coaptação dos segmentos nervosos mediante pontos de sutura não absorvível (GUTZE, FORTET, HEREDERO, 2001; MENOVSKY, BEEK, 2001; SHORES, 2005). Na reparação fascicular, a síntese é realizada através do perineuro de cada fascículo individual (DOURADO et al., 2003). Esta aproximação é teoricamente mais adequada porque o nervo é suturado internamente e externamente, garantindo uma anastomose fascicular. Entretanto, manipulação excessiva pode causar maiores danos traumáticos, inflamatórios ou degenerativos (DOURADO JR., VALMASEDA-CASTELLÓN, GAY-ESCODA, 2004).

II.b.f. Homoenxertos

Em humanos, lesões axonais maiores que 1,0cm entre as extremidades proximal e distal requerem autoenxertos de nervos periféricos. Contudo, existem numerosas deficiências incluindo cicatrizes inconsistentes, neuroma doloroso, escassa disponibilidade de tecido doador e comprometimento no local doador, além da cirurgia requerida para coletar o tecido doador (KATAYAMA et al., 2006).

II.b.g. Enxertos tubulares

Foram descritas várias técnicas para regeneração axonal como o uso de hormônios (TANZER et al., 2004; OBLE et al., 2004), gangliosídeos (ABREU, WEI, ZUMIOTTI, 2002), moduladores imunológicos (KVIST, DANIELSEN, DAHLIN, 2003), fatores promotores de crescimento (CORTES et al., 2003; JUBRAN, WIDENFALK, 2003; MARTINS et al., 2005) e tubos-guia (IJKEMA-PAASSEN et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2004; BERTELLI et al., 2005).

A recuperação da função após reconstituição espontânea de nervos periféricos é, freqüentemente, insuficiente (KUYPERS et al., 1995; GUTZE, FORTET, HEREDERO, 2001). Foi referido por Katayama et al. (2006) que dependendo do local da lesão e da formação de neuroma ou tecido cicatricial, há perda de reinervação espontânea, requerendo intervenção cirúrgica para reparação da injúria. Após secção, as extremidades do nervo tendem a retração e uma sutura primária dos cotos só é possível quando não há tensão local pela coaptação. Caso contrário, é necessário aplicar um tubo-guia entre os cotos proximal e distal para orientar as fibras proliferativas do nervo e impedir a formação de neuroma (IJKEMA-PAASSEN et al., 2004).

Os tubos-guias são cilindros ocos que servem como orientação das extremidades aproximadas do nervo. O traumatismo cirúrgico é mínimo devido ao reduzido número de pontos de sutura necessários para coaptação dos cotos terminais, que ocasiona melhor cicatrização. Entre as terminações neurais é deixado um espaço para permitir o redirecionamento dos fascículos nervosos (GUTZKE,

FORTET, HEREDERO, 2001). O objetivo de tubular um nervo seccionado é evitar a invasão de fibroblastos, favorecendo a regeneração axonal através do espaço existente no seu interior (DANIELSON, DAHLIN, POULSEN, 1996).

Guias biodegradáveis sintéticos têm sido desenvolvidos, como o ácido poliglicólico (COSTA, 2001), o caprolactone (YOUNG, TERENGHI, WIBERG, 2002), o polifosfazene (ALDINI et al., 2000), o polisulfone (RODRÍGUES et al., 1999) e o metil metacrilato (BELKAS et al., 2005; KATAYAMA et al., 2006). Foi referido por Katayama et al. (2006) que os biodegradáveis têm sucesso limitado devido à sua instabilidade durante a regeneração. Ainda permitem a infiltração de tecido cicatricial e/ou reabsorção precoce (BELKAS et al., 2005). Conforme Ijkema-Paassen et al. (2004), esses materiais não degradam completamente e alguns apresentam produtos de degradação citotóxicos.

Os implantes não-biodegradáveis sintéticos utilizados como tubo-guia foram o silicone (STOPIGLIA et al., 1998), a quitosana (ITOH et al., 2002; CORTES et al., 2003), a celulose liofilizada (MELLO et al., 2001; TORRES, GRACA, FARIAS, 2003) e a seda (YANG et al., 2007). Segundo Ijkema-Paassen et al. (2004), apresentam a desvantagem de permanecerem como corpo estranho, com excessiva formação de tecido cicatricial. Isso pode resultar em constrição do nervo em regeneração, colocando em risco a recuperação do nervo funcional.

Dentre os materiais biológicos utilizados como tubos-guia encontram-se o músculo esquelético (MLIGILICHE et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2004; BERTELLI et al., 2005), a lâmina de músculo basal (NETO, SABHA JR., MARQUES, 2005), veia (KELLEHER et al., 2001), colágeno (YOSHII et al., 2001; ITOH et al., 2002) e tendão autólogo (BRANDT, DAHLIN, LUNDBORG, 1999). Implantes de veias podem colapsar devido as suas paredes finas e ausência de pressão interna, além de que o tecido cicatricial pode causar constrição. Com o emprego de tecido muscular, as fibras nervosas podem facilmente divergir do tecido, conseqüentemente, formando neuroma (IJKEMA-PAASSEN et al., 2004). Os tubos-guia biológicos como o colágeno e tendão autólogo associados a outros componentes de matriz extracelular favoreceram a regeneração (BRANDT, DAHLIN, LUNDBORG, 1999).

II.c. Segmento intestinal de jejuno

O intestino já foi utilizado como bioenxerto no reparo de diversas estruturas, como bexiga (GRECA et al., 2002), intestino (SOUZA FILHO et al., 2005) e parede abdominal (CLARKE et al., 1996). O jejuno alógeno desprovido do epitélio e lâmina própria da túnica mucosa foi empregado para reparação de diafragma (MOTA et al., 2003b), tendão (EURIDES et al., 2004) e esôfago cervical (FREITAS et al., 2002). Esta membrana biológica foi avaliada em diferentes métodos de preservação, sendo a glicerina a 98% um dos meios de conservação que melhor manteve a integridade tecidual (MOTA et al., 2003a). A glicerina tem sido utilizada como meio de conservação de enxertos biológicos como peritônio (DALECK et al., 1988; RODASKY et al., 2000), pericárdio (LAVALLE et al., 1998; QUITZAN et al., 2003), cápsula esplênica (EURIDES et al., 2006), centros frênicos (BRUNN et al., 2004), osso cortical (ZILIOTTO et al., 2003), membrana amniótica (OLIVEIRA, ALVARENGA, 1998), dentre outros. Os autores referiram que não foram observados sinais de rejeição, devido à ação antigênica da glicerina a 98%. Esta solução possui efeito fixador e protetor da integridade celular, aumenta a resistência à tração, não altera a elasticidade e age como anti-séptico, exceto contra as formas esporuladas. A ausência de reações inflamatórias agudas relacionadas ao uso de implantes conservados neste meio indica sua baixa antigenicidade (ALVARENGA, 1992).

III. MATERIAL E MÉTODOS

III.a. Obtenção e preservação de segmentos de jejunos alógenos

Foram obtidos segmentos tubulares do jejuno proximal de dois coelhos da raça Nova Zelândia, imediatamente ao abate, realizado no abatedouro da Escola Agrotécnica Federal de Uberlândia, fiscalizado pelo serviço de Inspeção Municipal. Após coleta, foram evertidos com pinças de Adson e lavados por várias vezes com

polivinil-pirolidona diluída a 0,1% em solução fisiológica a 0,9%. Uma seringa de insulina foi introduzida sob tensão no lúmen de cada segmento intestinal evertido. O epitélio e lâmina própria da túnica mucosa foram removidos, sob suaves fricções, com compressa umedecida em solução fisiológica a 0,9%. Depois, irrigados com solução fisiológica a 0,9%, colocados em frasco esterilizado contendo glicerina a 98%^b e mantidos estocados em temperatura ambiente por um período mínimo de 30 dias (EURIDES, MAZZANTI, BELETTI, 1998).

Para implante, os segmentos foram removidos do meio de conservação, hidratados por várias vezes em solução fisiológica a 0,9%, seccionados em fragmentos de 8,0mm de comprimento e mantidos submersos em solução fisiológica a 0,9% durante 20 minutos.

III.b. Obtenção dos animais e distribuição dos grupos

Foram utilizados 18 coelhos, oriundos da Escola Agrotécnica Federal de Uberlândia, machos, adultos, raça Nova Zelândia, com pesos variando de 2,5 e 3,0kg. Após hemograma e exame parasitológico e considerados aptos para participarem do experimento, os animais foram mantidos em gaiolas individuais, onde receberam ração comercial^c e água à vontade, por um período inicial de 15 dias para adaptação. Os coelhos foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos de igual número, denominados de tratado (grupo I) e controle (grupo II).

III.c. Pré-operatório

Após jejum de alimentos sólidos de seis horas e hídrico de duas horas, 30 minutos antes da intervenção cirúrgica, os coelhos foram submetidos à administração subcutânea de cloridrato de tramadol^d (2,0mg/kg), enrofloxacina^e (15,0mg/kg) e cetoprofeno^f (3,0mg/kg).

Para a anestesia, os animais receberam cetamina^g (30,0mg/kg, IM) e xilazina^h (3,0mg/kg, IM), seguindo-se de tricotomia da região massetérica, temporal e parotídica e anti-sepsia com polivinil-pirrolidona diluída a 0,1%.

III.d. Técnica cirúrgica

Cada coelho foi posicionado em decúbito lateral direito e foi realizada uma incisão rostrocaudal de aproximadamente 4,0cm de pele e músculo cutâneo da face, na face lateral do músculo masseter. A incisão foi feita a partir de um ponto médio entre a pálpebra inferior e a borda caudal da mandíbula. Envolto por tecido conjuntivo, o ramo bucal dorsal do nervo facial foi individualizado e seccionado transversalmente (Figura 1).

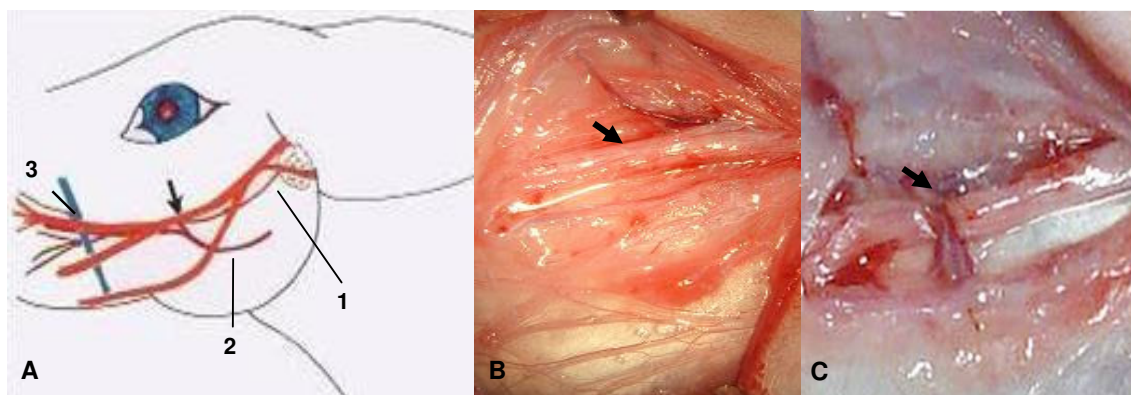


Figura 1. A. Esquema representativo da localização do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho da raça Nova Zelândia (seta), ducto parotídeo (1), artéria facial transversa (2) e veia facial (3). Nota-se o nervo bucal dorsal individualizado (B) e seccionado (C), setas.

Nos animais do grupo I, após secção do nervo, foi introduzido um segmento tubular intestinal alógeno de 8,0mm no coto proximal de forma que a túnica serosa ficasse em contato com o nervo. Com microscópio cirúrgicoⁱ, foram aplicados quatro pontos simples separados no epineuro, equidistantes, com fio de náilon monofilamentoso 10-0^j. De cada ponto de sutura realizado na face dorsal e ventral, foi deixada uma ponta longa para permitir a rotação do nervo e sutura de sua face medial. Após a sutura, as pontas dos fios foram seccionadas (Figura 2).

O tubo intestinal alógeno foi colocado sobre a anastomose epineural a uma distância de 4,0mm entre o local da anastomose e da borda proximal e dorsal do implante e fixado no epineuro com ponto simples contínuo e fio de náilon monofilamento 10-0. O excedente do enxerto foi removido de forma a evitar a formação de espaço entre o nervo e o implante. As bordas foram aproximadas com ponto simples contínuo e fio náilon monofilamentoso 10-0 (Figura 3).

O músculo cutâneo da face foi unido com ponto simples contínuo e fio catagute cromado 3-0^k. A síntese da pele foi realizada com pontos de Wolff e fio de náilon monofilamentoso 4-0^l. Para os animais do grupo II, foram praticados os mesmos procedimentos, porém sem implante do tubo guia.

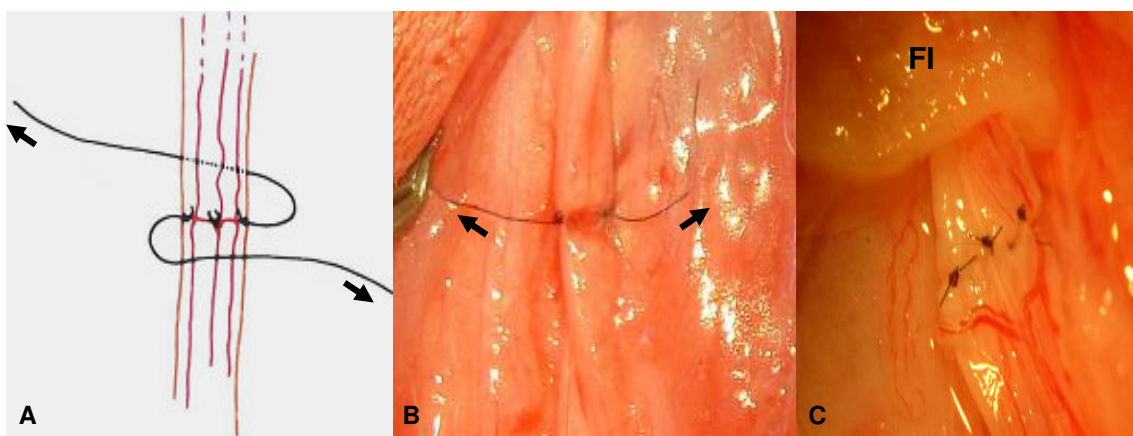


Figura 2. A. Esquema representativo da rotação do ramo bucal dorsal do nervo facial com pontos de sutura para visualização da face medial. B. Nota-se a face ventral do nervo após rotação (setas). C. Aspecto final da aproximação do nervo com pontos simples separados e tubo-guia intestinal de jejuno alógeno mantido temporariamente no coto proximal (FI) do nervo em coelho da raça Nova Zelândia.

III.e. Pós-operatório

Os coelhos foram mantidos em gaiolas individuais com colar tipo elisabetano, confeccionado com filme de raio-x, durante o período experimental. Os animais foram submetidos à administração subcutânea de cloridrato de tramadol (2,0mg/kg), a cada oito horas, e cetoprofeno (2,0mg/kg), a cada 24 horas, por três dias e enrofloxacin (15,0mg/kg), a cada 24 horas, por cinco dias. As feridas de pele foram diariamente higienizadas com solução fisiológica a 0,9% e aplicação tópica de

polivinil-pirrolidona a 0,1% durante sete dias. Os fios de sutura de pele foram retirados após 10 dias de PO.

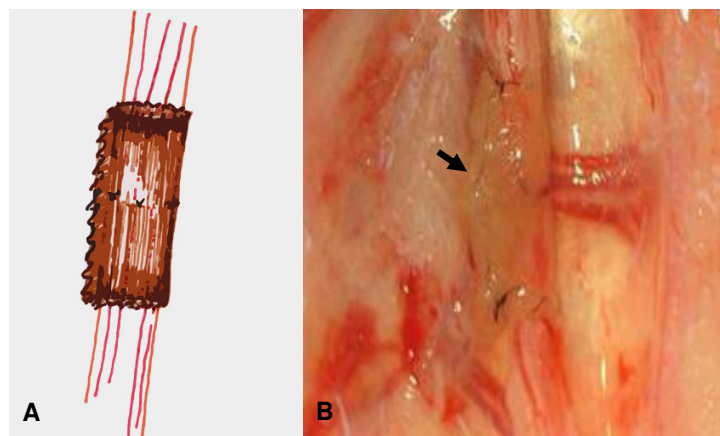


Figura 3. A. Esquema representativo do tubo-guia intestinal de jejuno alógeno fixado no ramo bucal dorsal do nervo facial. B. Aspecto final da fixação do enxerto sobre o nervo (seta) em coelho da raça Nova Zelândia.

III.f. Avaliação clínica

Após 24 horas de PO e semanalmente, foram realizadas avaliações clínicas para verificar secreção nasal, reflexo de piscar e movimentação do lábio superior. Estes parâmetros foram quantificados, utilizando as escalas de 0 a 3, conforme especificado na Tabela 1.

Tabela 1. Escalas e parâmetros clínicos avaliados referentes à secreção nasal, reflexo de piscar e movimentação do lábio superior e representação qualitativa das escalas quantificadas em coelho da raça Nova Zelândia.

ESCALAS	PARÂMETROS		
	Secreção nasal	Reflexo de piscar	Movimentação do lábio superior
0	Ausente	Ausente	Ausente
1	Discreta	Lento	Retorno parcial
2	Moderada	Normal	Retorno completo
3	Intensa	—	—

O parâmetro secreção nasal foi obtido por meio de avaliação visual direta da região nasal. Para a resposta motora ao reflexo de piscar foi realizado o teste de sensibilidade ao fechamento palpebral com toque digital na pálpebra superior. A movimentação do lábio superior foi verificada por meio de avaliação visual durante a alimentação do animal.

Para comparação semanal do grupo I com o grupo II foi utilizado o teste de Mann-Whitney. Os dados foram submetidos à análise estatística por meio do programa BioEstat (AYRES et al., 2004).

III.g. Avaliação macroscópica

Decorridos os períodos pré-estabelecidos de 15, 30 e 60 dias, os animais foram reoperados seguindo os mesmos protocolos do pré-operatório para coleta de fragmento do local da anastomose epineural e do enxerto (CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 1979). Durante a biópsia foram feitas avaliações macroscópicas quanto à aderência entre tecidos adjacentes e o local da lesão neural.

III.h. Avaliação histológica

Os fragmentos coletados foram fixados em formol a 10%, incluídos em parafina e processados rotineiramente. As lâminas foram coradas pela técnica Hematoxilina-Eosina (HE) e Picro-sírius Red para observação em microscópio de luz.

Os cortes histológicos foram analisados por meio de imagens digitalizadas obtidas em microscópio Olympus Triocular BX 40^m acoplado a câmera Olympus Oly 200ⁿ, ligada a um computador PC^o através de placa digitalizadora Data Translation 3153^p. Em lâminas coradas com HE sobre o corte longitudinal foram observadas a presença de células inflamatórias, a deposição de tecido conjuntivo na anastomose neural e as características do tubo-guia. Em cortes transversais, foram avaliadas a

degeneração e regeneração do coto distal, tomando-se como referência de normalidade, o coto proximal. Sob a coloração de Picro-Sírius Red em corte longitudinal, foi verificada a deposição de tecido conjuntivo e orientação de fibras colágenas.

Os achados em microscopia foram agrupados de forma qualitativa, utilizando as escalas de 0 a 3, como representado na tabela 2, e submetidos à avaliação estatística pelo teste de Wilcoxon considerando 5% de significância ($\alpha \leq 0,05$) (AYRES et al., 2004).

Tabela 2. Escalas e parâmetros histológicos avaliados referentes à reação inflamatória, orientação das fibras colágenas, degeneração/regeneração do coto distal do ramo bucal dorsal do nervo facial e representação qualitativa das escalas quantificadas, em coelhos da raça Nova Zelândia.

ESCALAS	PARÂMETROS		
	Reação inflamatória	Orientação das fibras colágenas	Degeneração/regeneração
0	Ausente	Realinhadas	Degeneração discreta
1	Discreta	Cruzadas	Moderada hiperplasia de células de Schwann
2	Moderada	Difusas	Intensa proliferação de células de Schwann
3	Intensa	Interrompidas por tecido conjuntivo	Presença de fibras axonais regeneradas

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A abordagem foi suficiente para realização da neurorrafia epineural como descrito por Dourado Jr., Valmaseda-Castellón e Gay-Escoda (2004) e aplicação do tubo-guia de jejuno alógeno. O acesso escolhido deveu-se ao fato de que o ramo bucal dorsal do nervo facial passa lateralmente ao músculo masseter dirigindo-se rostralmente e terminando na musculatura da região nasal lateral (EVANS, CHRISTENSEN, 1979).

Para anastomose de nervos ciáticos de ratos (CATALTEPE et al., 1999; ALDINI et al., 2000; MARTINS et al., 2005) e do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelhos (VASCONCELOS, GAY-ESCODA, 2000; DOURADO JR., VALMASEDA-CASTELLÓN, GAY-SCODA, 2004), foi utilizado o fio de náilon monofilamentoso 10-0. Os autores referiram aos bons resultados obtidos na utilização do fio de náilon no reparo de nervos periféricos. Porém, não apresentaram comentários sobre avaliações histológicas relacionadas à reação ao fio. Em ambos os grupos deste experimento, foram notadas células gigantes ao redor dos pontos de sutura, sendo verificada em maior quantidade nos animais do grupo I (tratado). Observações também verificadas por Menovsky e Beek (2001) na neurografia epineural do nervo ciático de ratos com fio de ácido poliglicólico 10-0. Possivelmente, o tipo de fio escolhido e o enxerto alógeno estimularam reação de corpo estranho caracterizada com presença de células gigantes.

Para coaptação dos cotos neurais do ramo bucal dorsal do nervo facial dos animais dos dois grupos, foram aplicados quatro pontos simples eqüidistantes no epineuro. Em cada ponto de sutura foi deixado uma ponta longa para facilitar a rotação do nervo em torno do seu próprio eixo (Figura 2), semelhante à técnica descrita por Shores (2005). O método permitiu, durante a síntese, boa visualização da face medial do nervo e evitou manipulação excessiva com instrumentos cirúrgicos. Na literatura consultada, não houve analogia em relação ao número de pontos empregados para sutura epineural do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelhos. Vasconcelos e Gay-Escoda (2000) utilizaram somente dois pontos e Dourado Jr., Valmaseda-Castellón e Gay-Scoda (2004) de quatro a seis pontos, simples separados e eqüidistantes. A falta de unanimidade quanto ao número de pontos empregados pode estar relacionado à reação de corpo estranho que pode ocasionar desorganização das fibras neurais, como referido por Torres, Graca e Farias (2003). Na anastomose término-terminal dos cotos neurais com quatro pontos de sutura, empregada nesta pesquisa, os achados histológicos foram semelhantes nos coelhos dos dois grupos.

O tubo-guia de fragmento intestinal de jejuno alógeno desprovido do epitélio e lâmina própria da túnica mucosa foi implantado no ramo bucal dorsal do nervo facial com a túnica serosa do enxerto em contato com o nervo. O método teve como

objetivo favorecer a vedação da anastomose epineural do tecido conjuntivo. Procedimento também adotado por Mota et al. (2003b) no reparo do diafragma de cães, sendo verificado aderência da camada serosa do enxerto ao pulmão. Nos coelhos do grupo I e em todos os períodos de avaliação, notou-se, histologicamente, invasão de tecido conjuntivo e aderência dos tecidos adjacentes com o tubo-guia. A túnica serosa do fragmento de jejuno foi identificada com a sua camada de tecido conjuntivo, porém sem o mesotélio. Esta camada, por ser composta de epitélio simples pavimentoso, poderia ter dificultado a entrada de tecido conjuntivo. A ausência do mesotélio pode ter ocorrido devido a sua fragilidade na manipulação do enxerto ou pela reação inflamatória verificada no tubo. Portanto, o tecido conjuntivo da serosa não foi capaz de impedir a infiltração de células inflamatórias na anastomose neural.

Neste estudo, o implante de segmento tubular de jejuno foi padronizado com extensão longitudinal de 8,0mm. Entretanto, foram empregados diferentes comprimentos de tubo-guia como de 8,0mm de celulose no reparo de nervos ciáticos de cães (TORRES, GRACA, FARIAS, 2003), 10,0mm de quitosana (YANG et al., 2004) e 14,0mm de silicone (BRANDT, DAHLIN, LUNDBORG, 1999) em nervos ciáticos de ratos. Apesar das dimensões dos tubos-guia diferirem na literatura consultada, o comprimento do enxerto alógeno utilizado neste trabalho foi suficiente para cobrir a área de anastomose neural.

As condutas pré-operatórias e pós-operatórias com administração do antibiótico enrofloxacina e do antiinflamatório cetoprofeno e curativos diários foram suficientes em evitar complicações no local da intervenção dos animais do grupo I e II. Foram observados sinais clínicos de inflamação evidentes somente até o terceiro dia de PO nos coelhos dos grupos tratado e controle. A manifestação inflamatória foi provavelmente devido aos efeitos sistêmicos do antiinflamatório empregado nesse estudo. Neste período, os animais dos dois grupos foram submetidos ao teste de sensibilidade do fechamento das pálpebras para avaliação da resposta motora ao reflexo de piscar e foi observada a ausência do reflexo. Ao sétimo dia de PO, foi verificado que 17 coelhos (94,44%) do grupo controle e 15 (83,33%) do grupo tratado obtiveram retorno da resposta motora. Choi e Raisman (2003) notaram ausência ao reflexo de piscar até a terceira semana após secção do nervo facial

extracranial de ratos com implante de nervo ciático de camundongos. Neste trabalho, o aumento de volume na região massetérica ocasionada pela reação inflamatória pode ter comprimido o nervo auriculopalpebral que é ramo do nervo facial que impediu o reflexo de piscar. Não foram observados sintomas de contaminação como abscessos ou deiscência de sutura nos animais de ambos os grupos. Fato devido à anti-sepsia e assepsia, aos cuidados na coleta, preparação e conservação do enxerto em glicerina a 98% (ALVARENGA, 1992) e à antibioticoterapia pré e pós-operatória.

A partir do primeiro dia de PO, os animais dos grupos I e II apresentaram remissão dos movimentos dos músculos orbicular da boca e da região nasal lateral. Alterações que foram devidas à secção dos ramos bucais dorsais do nervo facial (SLATER, 2001). Em ambos os grupos foi verificado retorno parcial da movimentação do lábio superior a partir da oitava semana em quatro animais (66,67%) do grupo tratado e do grupo controle, sem que fosse notada dificuldade na apreensão das rações peletizadas. A técnica de neurorrafia epineural empregada neste trabalho foi devida a sua praticidade, com pouca manipulação de tecidos neurais e ao menor período de tempo necessário para a intervenção cirúrgica (DOURADO et al., 2003; SHORES, 2005). O retorno funcional da movimentação do lábio superior sugere que a neurorrafia isolada e associada ao enxerto tubular de jejuno alógeno permitiu a reparação de fibras neurais do ramo bucal dorsal do nervo facial, que foi confirmado histologicamente.

A secreção nasal foi notada até a segunda semana de PO no grupo controle e no grupo tratado (Figura 4). Houve diferença significativa entre o grupo I e II apenas na segunda semana de avaliação. Neste período, 16 animais (88,89%) do grupo tratado e 10 (55,6%) do grupo controle apresentaram secreção nasal. Em um animal do grupo tratado verificou-se secreção nasal até a oitava semana. A secreção deveu-se, possivelmente, em consequência da perda da tonicidade da região nasal lateral, que contribuiu para a inalação de partículas da ração durante a alimentação.



Figura 4. Coelho da raça Nova Zelândia submetido à neurorrafia epineural do ramo bucal dorsal do nervo facial com implante de tubo-guia intestinal de jejuno alógeno aos 7 dias de PO. Observar intensa secreção nasal (seta preta) e local da abordagem cirúrgica com pontos de sutura de pele (seta azul).

Nos coelhos de ambos os grupos aos 15, 30 e 60 dias de PO, foi verificada macroscopicamente, aderência fibrosa com os tecidos adjacentes. Que tornou necessária sua remoção para localização e avaliação da coaptação dos cotos do ramo bucal dorsal do nervo facial (Figura 5 e 6). A aderência foi mais intensa no segmento intestinal alógeno (Figura 5) em relação ao grupo controle que se apresentava na área de coaptação (Figura 6). Diferente de Ferreira, Stopiglia e Silva (2002) que não encontraram aderências ao redor do tubo-guia de silicone no reparo do nervo digital palmar de eqüinos. A maior aderência nos coelhos do grupo tratado foi devido ao implante de jejuno alógeno ter estimulado a produção e deposição de tecido conjuntivo.

Aos 15 dias de PO, foi encontrada maior deposição de fibras colágenas na área de coaptação entre os cotos neurais nos coelhos do grupo tratado do que na do grupo controle. Nos dois grupos ocorreu desvio do sentido das fibras colágenas, principalmente no local do fio de sutura e interrupção pelo tecido conjuntivo (Figura 7). Achados condizentes com os referidos por Torres, Graca e Faria (2003), no reparo de nervo ciático de cães com neurorrafia epineural. A maior deposição de fibras colágenas nos animais do grupo tratado foi devido ao enxerto alógeno somado a presença do fio de sutura que estimulou a produção de tecido conjuntivo. Nos do grupo I foi verificado em três animais (50%) fibras colágenas com orientação difusa e em três (50%), interrupção pelo tecido conjuntivo.

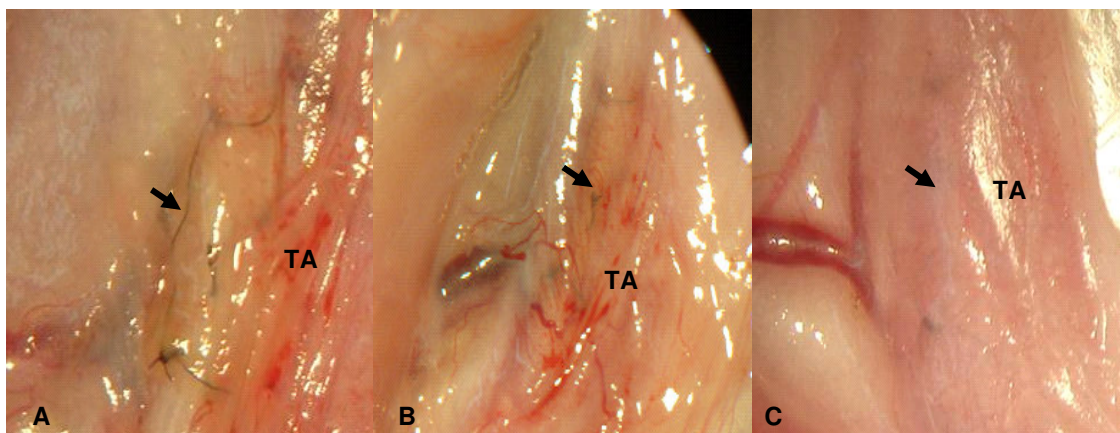


Figura 5. Aspecto macroscópico do ramo bucal do nervo facial no grupo tratado em coelho da raça Nova Zelândia aos 15 (A), 30 (B) e 60 (C) dias de pós-operatório. Nota-se aderência dos tecidos adjacentes (TA) com o tubo-guia intestinal de jejuno alógeno (setas).

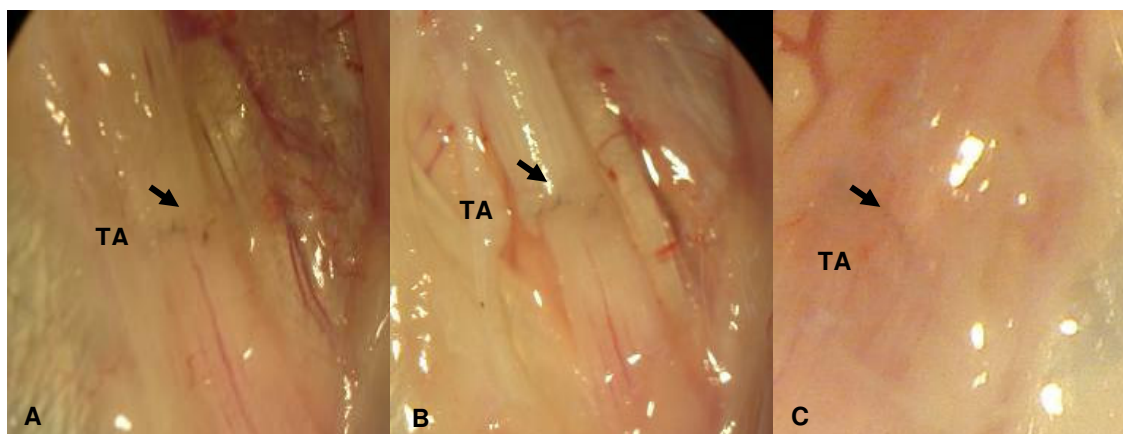


Figura 6. Aspecto macroscópico do ramo bucal do nervo facial no grupo controle em coelho da raça Nova Zelândia aos 15 (A), 30 (B) e 60 (C) dias de pós-operatório. Nota-se aderência dos tecidos adjacentes (TA) na área de coaptação dos cotos proximal e distal (setas).

Nos do grupo controle, foi observado em dois coelhos (33,33%) fibras com orientação difusa, em dois (33,33%) com direção cruzada e em dois (33,33%) com interrupção pelo tecido conjuntivo (Tabela 3). Esses achados não diferiram significativamente entre o grupo tratado e controle ($p= 0,1519$), Tabela 4, entretanto, os animais do grupo I encontravam-se visualmente com maior deposição de colágeno. Os resultados indicaram que as fibras colágenas, em ambos os grupos, apresentavam-se com tendência a desviar-se do local de coaptação, devido à proliferação do tecido conjuntivo proporcionado pelo enxerto e pelo fio de sutura.

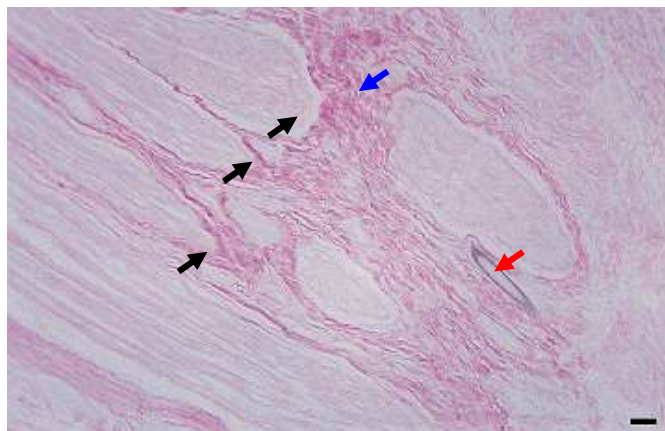


Figura 7. Fotomicrografia da reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho da raça Nova Zelândia com tubo-guia intestinal de jejuno alógeno aos 15 dias de PO. Notam-se fibras colágenas interrompidas (seta preta), deposição de tecido conjuntivo (seta azul) e desvio das fibras pelo fio de sutura (seta vermelha). Coloração em Picro-sírius Red. (Barra = 100µm).

Tabela 3. Escores atribuídos ao parâmetro de orientação de fibras colágenas aos 15, 30 e 60 dias de PO do grupo tratado e controle de coelhos da raça Nova Zelândia.

DIAS	ANIMAIS	ESCORES	
		Grupo tratado	Grupo controle
15	01	3	3
	02	2	2
	03	2	2
	04	3	1
	05	3	1
	06	2	3
30	01	3	3
	02	2	2
	03	-	1
	04	3	1
	05	2	2
	06	3	1
60	01	3	1
	02	1	1
	03	1	2
	04	3	2
	05	3	1
	06	1	2

0 = realinhadas. 1 = cruzadas. 2 = difusas. 3 = interrompidas pelo tecido conjuntivo.

Tabela 4. Valores de “p” (coeficiente de probabilidade) obtidos para os parâmetros histológicos de reação inflamatória, orientação de fibras colágenas e degeneração de fibras neurais entre o grupo tratado e controle aos 15, 30 e 60 dias de PO de coelhos da raça Nova Zelândia.

PARÂMETROS AVALIADOS	p*
Reação inflamatória	0,088 ^{ns}
Orientação de fibras colágenas	0,1519 ^{ns}
Degeneração de fibras neurais	0,1519 ^{ns}

* = Teste de Wilcoxon. ^{ns} = não significativo

Em ambos os grupos, aos 15 dias de PO, foi constatada formação de granulomas ao redor dos fios de sutura e predomínio de heterófilos e células gigantes (Figura 8). No grupo I, em três animais (50%), a resposta inflamatória foi intensa (Figura 9) e moderada em três (50%). No grupo controle, em dois animais (33,33%) foi intensa, em dois (33,33%), moderada e em dois (33,33%), discreta (Tabela 5). Apesar de não diferirem significativamente ($p = 0,088$) entre os grupos I e II (Tabela 4), a reação inflamatória foi mais acentuada no grupo tratado.



Figura 8. Fotomicrografia da reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho da raça Nova Zelândia com tubo-guia intestinal de jejuno alógeno aos 15 dias de PO. Nota-se intensa reação inflamatória com formação de granulomas (seta preta), heterófilos (seta vermelha) e células gigantes (seta azul). Coloração em HE. (Barra = 100µm).

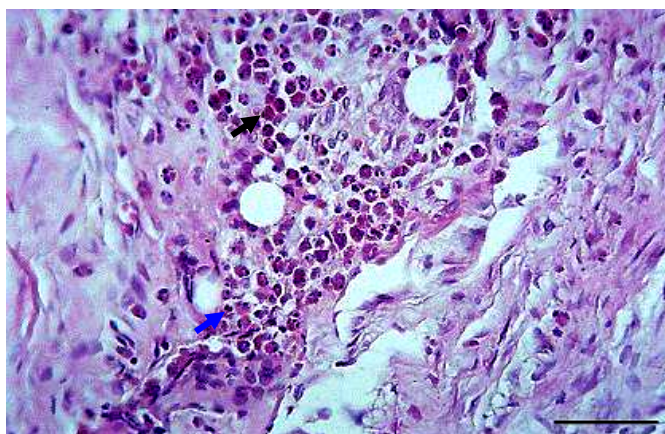


Figura 9. Fotomicrografia da reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho da raça Nova Zelândia com tubo-guia intestinal de jejuno alógeno aos 15 dias de PO. Nota-se intensa reação inflamatória com predomínio de heterófilos (seta preta) e células gigantes (seta azul). Coloração em HE. (Barra = 100µm).

Tabela 5. Escores atribuídos ao parâmetro de reação inflamatória aos 15, 30 e 60 de PO nos coelhos do grupo tratado e controle de coelhos da raça Nova Zelândia.

DIAS	ANIMAIS	ESCORES	
		Grupo tratado	Grupo controle
15	01	3	3
	02	2	2
	03	2	2
	04	3	1
	05	2	1
	06	3	3
30	01	3	3
	02	3	2
	03	2	1
	04	2	1
	05	2	2
	06	3	1
60	01	1	1
	02	1	0
	03	2	0
	04	2	0
	05	2	1
	06	1	0

0= ausente. 1= presença discreta. 2= presença moderada. 3= presença intensa.

Dados semelhantes foram encontrados no reparo de nervo ciático de ratos com sutura epineural (MENOVSKY e BEEK, 2001), em nervo ciático de cães com

celulose liofilizada (MELLO et al., 2001) e de nervo facial de ratos com tubo-guia de nervo ciático de camundongos (CHOI e RAISMAN, 2003). A resposta inflamatória caracterizada por granulomas e células gigantes, observada nos dois grupos deste experimento, foi devido à reação de corpo estranho ao fio de sutura utilizado para anastomose neural. A maior intensidade de infiltrados celulares e células gigantes no grupo tratado deveu-se à reação do organismo ao material alógeno e ao fio.

Sob avaliação comparativa dos parâmetros de degeneração e regeneração neural dos cotos proximal e distal aos 15 dias de PO, não houve diferença significativa entre os grupos tratado e controle ($p = 0,1519$), Tabela 6. Nos animais dos grupos I e II, o coto distal apresentava-se em processo de degeneração walleriana discreta, mantendo a integridade estrutural dos fascículos, hiperplasia das células de Schwann e, no interior dessas células, presença de vacúolos contendo gotículas de gordura (Figura 10).

Tabela 6. Escores atribuídos ao parâmetro de degeneração a regeneração do coto distal aos 15, 30 e 60 dias de PO do grupo tratado e controle de coelhos da raça Nova Zelândia.

DIAS	ANIMAIS	ESCORES	
		Grupo tratado	Grupo controle
15	01	1	0
	02	1	1
	03	0	1
	04	1	0
	05	0	0
	06	0	0
30	01	1	2
	02	2	2
	03	1	2
	04	2	2
	05	2	1
	06	2	1
60	01	3	2
	02	3	3
	03	3	3
	04	3	3
	05	2	2
	06	2	3

0 = discreta degeneração. 1 = moderada hiperplasia das células de Schwann.

2 = intensa proliferação de células de Schwann. 3 = fibras axonais regeneradas.

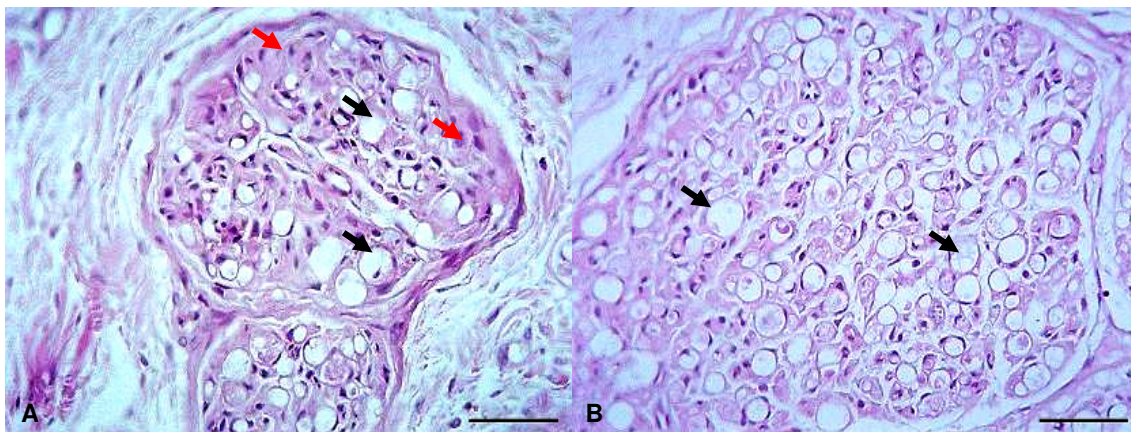


Figura 10. Fotomicrografia da reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho da raça Nova Zelândia com tubo-guia intestinal de jejuno alógeno aos 15 dias de PO. Nota-se discreta degeneração com hiperplasia das células de Schwann (seta vermelha) em A e presença de vacúolos (seta preta) em A e B. Coloração em HE. (Barra = 100µm).

Características também encontradas neste período por Mostafa e Samir (1998) no reparo de nervos faciais de suínos com redirecionamento posterior do nervo facial e por Fujimoto et al. (2006) em nervos ciáticos de ratos com nervos intercostais xenógenos. De acordo com Snell (1985) e Navarro et al. (2001), durante a degeneração walleriana, os axônios do coto distal são fragmentados e fagocitados por células de Schwann e por macrófagos teciduais. Essas células também fagocitam a bainha de mielina, fragmentando-as a gotículas de gordura. Seguidamente, as células de Schwann proliferam rapidamente e se dispõem em cordões paralelos na membrana basal persistente, como observados em ambos os grupos deste estudo. A degeneração walleriana observada neste período de avaliação criou um microambiente distal à área de lesão, sendo favorável ao crescimento axonal dos neurônios sobreviventes. Os vacúolos encontrados deveram-se à fragmentação da bainha de mielina, favorecendo a regeneração e o crescimento axonal.

Aos 30 dias de PO, no grupo tratado, foi verificado em três coelhos (50%) fibras interrompidas pelo tecido conjuntivo (Figura 11) e em dois (33,33%) com orientação difusa. Em um animal (16,67%) houve perda do material durante o processamento histológico.

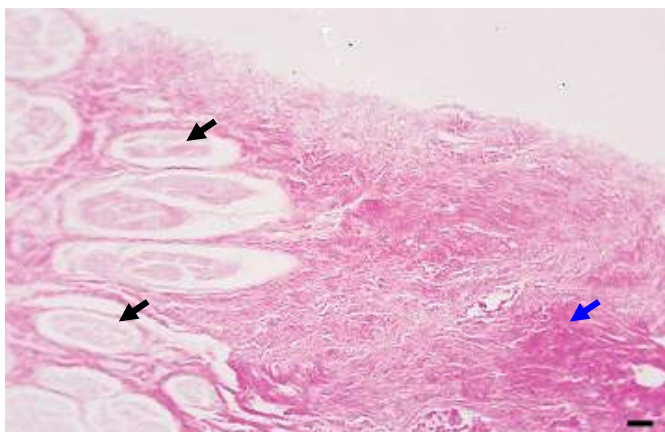


Figura 11. Fotomicrografia da reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho da raça Nova Zelândia com tubo-guia intestinal de jejuno alógeno aos 30 dias de PO. Notam-se fibras colágenas interrompidas (seta preta) por deposição de tecido conjuntivo (seta azul). Coloração em Picro-sírius Red. (Barra = 100 μ m).

No grupo controle, foi verificado em um coelho (16,67%) com fibras interrompidas pelo tecido conjuntivo, três (50%) com orientação cruzada e em dois (33,33%) com orientação difusa (Tabela 3). Em ambos os grupos foi identificado fibrose no local dos pontos. Resultados também identificados por Menovsky e Beek (2001) no reparo de nervos ciáticos de ratos com sutura epineural. Esses achados indicaram que houve maior produção de tecido conjuntivo nos animais do grupo tratado, causando desorientação das fibras colágenas e interrupção do crescimento das fibras neurais pelo tecido conjuntivo. A intensa proliferação de tecido conjuntivo verificado no local da anastomose neural nos coelhos do grupo I foi devida à maior quantidade de pontos de sutura no local do enxerto. Por sua vez, o material de sutura utilizado levou a reação do tipo corpo estranho com conseqüente fibrose no local dos pontos.

Neste período de avaliação foi verificada nos coelhos dos dois grupos, reação inflamatória com formação de granulomas, predomínio de heterófilos, e células gigantes. Nos do grupo tratado, foi moderada em três animais (50%) e intensa em três (50%). Nos do grupo controle, a presença de células inflamatórias foi discreta em três coelhos (50%), moderada em dois (33,33%) e intensa em um (16,67%) (Tabela 5). Dados semelhantes também foram constatados por Choi e Raisman (2003) no reparo de nervo facial de ratos com tubo-guia de nervo ciático de

camundongos e por Fujimoto (2006) na restauração de nervo ciático de ratos com nervo intercostal xenógeno. Embora não significativo ($p= 0,088$), os infiltrados celulares com maior intensidade no grupo tratado foram devidos à reação do organismo ao material alógeno e ao fio de sutura (Tabela 4).

Os cotos distais dos dois grupos, aos 30 dias de PO, encontravam-se na fase de degeneração walleriana com intensa proliferação das células de Schwann. O que ocasionou a formação de uma massa tecidual densa e o perineuro encontrava-se esfacelado (Figura 12), Tabela 6. Observações coincidentes com as referidas por Aldini et al. (2000) na regeneração de nervos ciáticos de ratos com tubo-guia de copolímero ácido láctico e ácido carpróico. Assim como referido por Oble et al. (2004) na restauração do nervo mandibular com tiroxina e espermidina de ratos e Costa et al. (2006) na recuperação pós-compressão do nervo facial de coelhos.

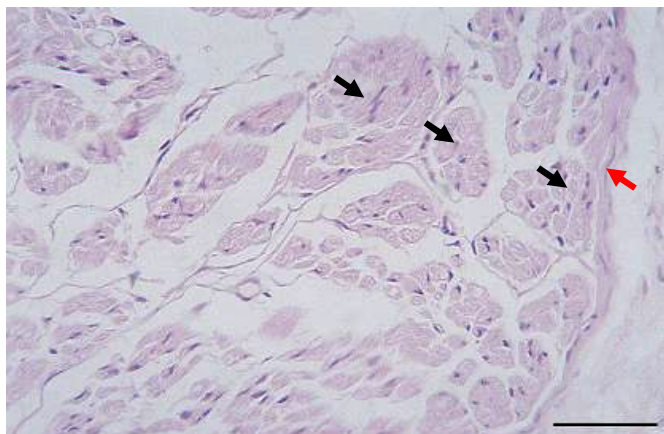


Figura 12. Fotomicrografia da reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho da raça Nova Zelândia com tubo-guia intestinal de jejuno alógeno aos 30 dias de PO. Nota-se intensa degeneração walleriana com proliferação das células de Schwann (seta preta) e esfacelamento do perineuro (seta vermelha). Coloração em HE. (Barra= 100 μ m).

Os resultados obtidos aos 30 dias de PO referem-se à fase de degeneração walleriana onde as células de Schwann encontravam-se em intensa proliferação e as bainhas de tecido conjuntivo são reparadas por fibroblastos (CORMACK, 1991). Conforme Hashimoto et al. (2005), as células de Schwann proporcionam melhor efeito de arcabouço para axônios em regeneração. Esta fase de degeneração, caracterizada principalmente pela proliferação de células de Schwann, deve ter sido

necessária para promover orientação das fibras axonais e conseqüente reparação do nervo lesado.

Aos 60 dias de PO, no grupo tratado, três animais (50%) apresentaram fibras colágenas com orientação cruzada (Figura 13) e três (50%), interrompidas pelo tecido conjuntivo. No grupo controle, três coelhos (50%) encontravam-se com fibras difusas e três (50%) cruzadas (Tabela 3). Resultados semelhantes foram observados por Brandt, Dahlin e Lundborg (1999) no reparo de nervo ciático de ratos com tendão autólogo.

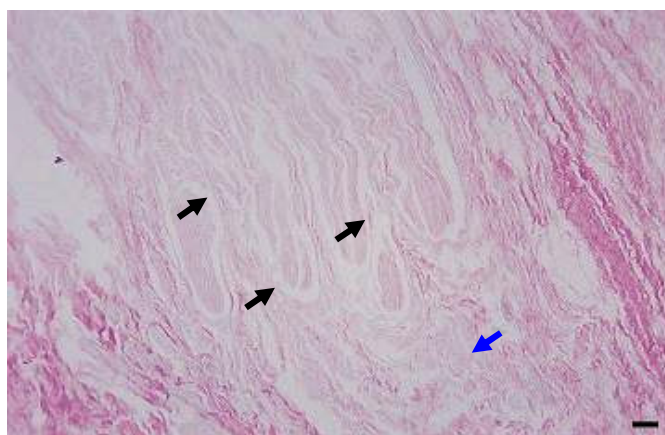


Figura 13. Fotomicrografia da reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho da raça Nova Zelândia com tubo-guia intestinal de jejuno alógeno aos 60 dias de PO. Notam-se fibras colágenas com orientação cruzada (seta preta) e deposição de tecido conjuntivo (seta azul). Coloração em Picro-sírius Red. (Barra = 100µm).

Neste experimento, a melhor orientação das fibras colágenas observadas aos 60 dias em relação aos 15 e 30 dias de PO, deveu-se ao decréscimo do processo inflamatório. No grupo tratado, três coelhos (50%) apresentavam-se com presença moderada de células inflamatórias e discreta em três (50%). No grupo controle, em quatro animais (66,67%) foi ausente e discreta em dois (33,33%). Fato também verificado por Mello et al. (2001) no reparo de nervos ciáticos de cães com tubo-guia de celulose liofilizada. Assim como por Tetik et al. (2002) em nervo ciático de ratos com sutura epineural e por Yang et al. (2007) em nervos ciáticos de ratos com tubo-guia de fibras de seda. O decréscimo da reação inflamatória favoreceu a organização do tecido conjuntivo e reparação neural. Foram verificadas dispersas fibras regeneradas no grupo tratado (Figura 14) e controle (Tabela 6). Resultados

semelhantes foram encontrados no reparo de nervos ciáticos de ratos com tubo-guia de polifosfazene (ALDINI et al., 2000), em nervos medianos de ratos com músculo autólogo (BERTELLI et al., 2005) e em nervos ciáticos de ratos com queratina derivado de fio de cabelo humano (SIERPINSKI et al., 2008). Esses achados encontram-se relacionados ao início da fase regenerativa da reparação neural. Segundo Ross e Rowrell (1993), as fibras neurais possuem aspecto característico quando vistas em corte transversal. Cada fibra apresenta um axônio em posição central, circundado por um espaço de mielina no qual pode ser retido algum precipitado em disposição radial. Externamente ao espaço de mielina, pode ser observado um halo citoplasmático delgado, o neurilema. Aspecto encontrado no grupo I e II neste período de avaliação. As fibras neurais reparadas comprovaram o início da reparação neural do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho com emprego de neurorrafia isolada e associada a segmento intestinal de jejuno tubular alógeno. A regeneração deveu-se à anastomose término-terminal empregada no grupo tratado e controle.

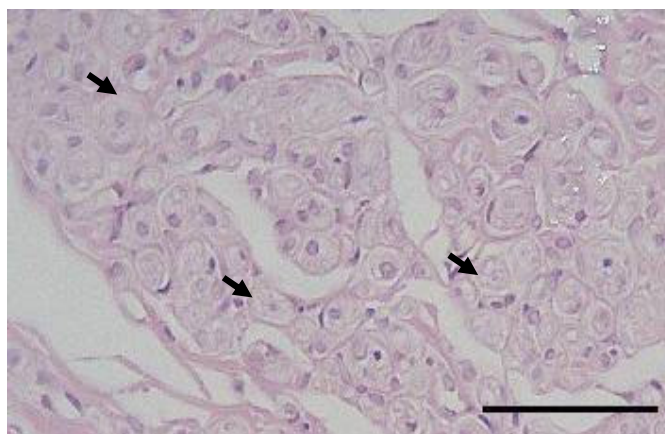


Figura 14. Fotomicrografia da reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho da raça Nova Zelândia com tubo-guia intestinal de jejuno alógeno aos 60 dias de PO. Notam-se discretas fibras regeneradas (setas). Coloração em HE. (Barra = 100µm).

Os tubos com composição predominante de colágeno, como o enxerto alógeno utilizado neste experimento, permite a infiltração de células reparativas, macrófagos e fibroblastos na fase inicial, o que contribuem para formação de reparação viável (NAVARRO et al., 2001). Neste experimento, optou-se por tubo de segmento de jejuno alógeno de coelhos para minimizar reação de corpo estranho,

no entanto, foi confirmada intensa quantidade de células gigantes aos 15 (Figura 15) e 30 dias de PO (Figura 16) nos animais do grupo tratado.

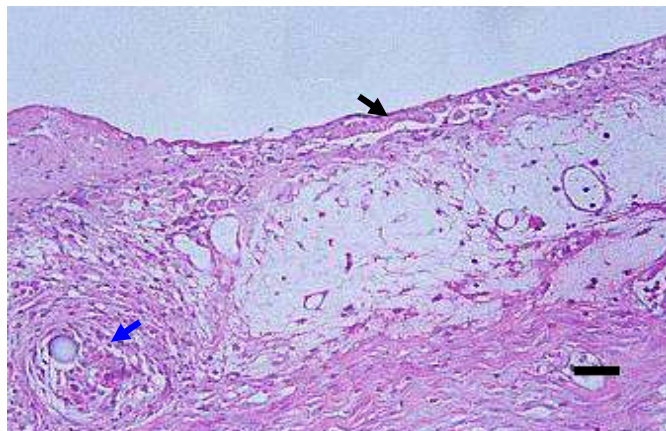


Figura 15. Fotomicrografia da reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho da raça Nova Zelândia com tubo-guia intestinal de jejuno alógeno aos 15 dias de PO. Nota-se no enxerto intensa reação inflamatória com granulomas (seta azul) ao redor do fio e proliferação de tecido conjuntivo ao redor do tubo (seta preta). Coloração em HE. (Barra= 100 μ m).

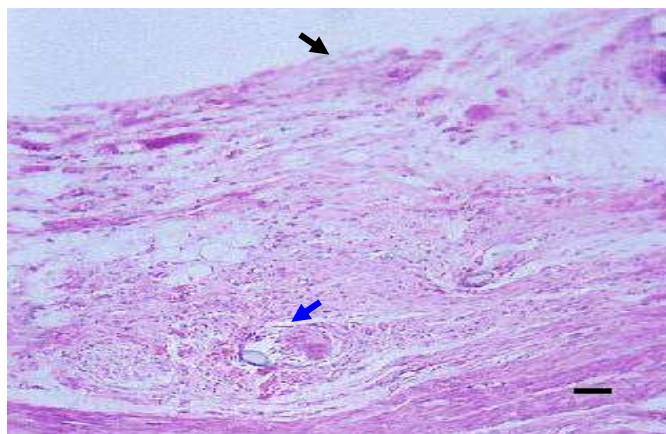


Figura 16. Fotomicrografia da reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho da raça Nova Zelândia com tubo-guia intestinal de jejuno alógeno aos 30 dias de PO. Notam-se no enxerto granulomas (seta azul) ao redor do fio e fibrose (seta preta). Coloração em HE. (Barra = 100 μ m).

A reação de corpo estranho também foi constatada por Aldini et al. (2000) no reparo de nervo ciático de ratos com tubo-guia de ácido láctico e caprolactone. Apesar da infiltração de células inflamatórias e existência de células gigantes na anastomose neural, não houve sinais de rejeição do enxerto. A propriedade antigênica da glicerina a 98% (ALVARENGA, 1992), utilizada como meio de

conservação do material alógeno deste experimento, pode ter evitado a rejeição do implante. A permeabilidade do tubo-guia provavelmente favoreceu a infiltração das células inflamatórias e a existência do enxerto induziu reação tipo corpo estranho.

Sob avaliação microscópica do tubo-guia alógeno nos animais do grupo I foi constatado que, aos 15 dias de PO, houve aparente integração de fibras colágenas do segmento intestinal às do tecido conjuntivo e presença intensa de heterófilos e células gigantes (Figura 15). Aos 30 dias de PO, a quantidade de células inflamatórias decresceu consideravelmente (Figura 16). A presença maior de infiltrados celulares aos 15 dias de PO do que aos 30 dias pode ter sido devido à neovascularização mais ativa neste período (YANG et al., 2004). Verificou-se ainda, fibrose desorganizada com fibras colágenas do tubo entremeadas ao tecido conjuntivo, dificultando a diferenciação entre fibras colágenas do enxerto e do tecido conjuntivo. Aos 60 dias de PO, foi notada melhor reorganização das fibras colágenas no local do tubo e aparente diminuição do tecido fibroso (Figura 17). Observações similares foram encontradas com emprego de tubo-guia elaborados com tendão autólogo (BRANDT, DAHLIN e LUNDBORG, 1999), polifosfazene (ALDINI et al, 2000) e quitosana (YANG et al., 2004) no reparo de nervos ciáticos de ratos. Os resultados indicaram que o segmento intestinal alógeno conservado em glicerina a 98% foi progressivamente substituído por tecido conjuntivo denso, caracterizando o processo cicatricial.

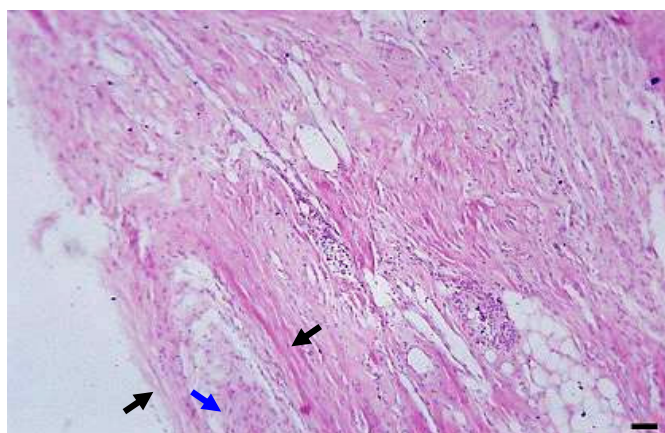


Figura 17. Fotomicrografia da reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial de coelho da raça Nova Zelândia com tubo-guia intestinal de jejuno alógeno aos 60 dias de PO. Nota-se tecido conjuntivo organizado (seta preta) formado ao redor do enxerto (seta azul). Coloração em HE. (Barra = 100µm).

V. CONCLUSÕES

O tubo-guia de segmento intestinal de jejuno alógeno, desprovido de epitélio e lâmina própria da túnica mucosa, associado à sutura epineural, induziu a proliferação de tecido conjuntivo na coaptação e entre os cotos neurais.

A reparação do ramo bucal dorsal do nervo facial com o tubo-guia, associado à sutura epineural, não foi significativamente diferente do grupo controle, quanto à avaliação de recuperação funcional e histológica.

VI. MATERIAIS DA PESQUISA

^a Riodeine 1% tópico. Indústria Rioquímica, São José do Rio Preto, SP. Brasil.

^b Glicerina 98%. Indústria Rioquímica, São José do Rio Preto, SP. Brasil.

^c Ração Animal Guabi. Guabi. Campinas, SP. Brasil.

^d Tramal 50. Laboratório Pfizer. Guarulhos, SP. Brasil.

^e Flotril 10%. Indústria Química e Farmacêutica Schering-Plough. Rio de Janeiro, RJ. Brasil.

^f Ketofen 10%. Indústria Merial Saúde Animal. Laboratório Plamec. Campinas, SP. Brasil.

^g Dopalen. Indústria AGRIBANDS do Brasil. Paulínia, SP. Brasil.

^h Virbaxyl 2%. IVirbac. Laboridine, Glicobar Indústria Farmacêutica. São Paulo, SP. Brasil.

ⁱ Microscópio 1902. D.F. Vasconcellos. São Paulo, SP. Brasil.

^j Mononylon 10-0. Ethicon. Johnson & Johnson. São José do Rio Preto, SP. Brasil.

^k Catgut cromado 10-0. Ethicon. Johnson & Johnson. São José do Rio Preto, SP. Brasil.

^l Mononylon 4-0. Ethicon. Johnson & Johnson. São José do Rio Preto, SP. Brasil.

^m Microscópio binocular BX40. Olympus-Shinjuku-ku. Tokyo. Japão.

ⁿ Câmera OLY 2000. Olympus – Center Valley, PA. Estados Unidos.

^o HL Image. Western Vision – Salt Lake City, Utah. Estados Unidos.

^p Placa digitalizadora Data Translation 3153 – Malboro, MA. Estados Unidos.

VII. REFERÊNCIAS

ABREU, A.A.N.; WEI, T.H.; ZUMIOTTI, A.V. Avaliação dos gangliosídeos na regeneração nervosa em ratos. **Revista Brasileira de Ortopedia**, São Paulo, v.37, n.1/2, p.39-44, Jan./Fev. 2002.

ALDINI, N.N.; FINI, M.; ROCCA, M.; GIAVARESI, G.; GIARDINO, R. Guided regeneration with resorbable conduits in experimental peripheral nerve injuries. **International Orthopaedics**, New York, v.24, n.3, p.121-125, July 2000.

ALVARENGA, J. Possibilidades e limitações da utilização de membranas biológicas preservadas em cirurgia. In: DALECK, C.R. **Tópicos em cirurgia de cães e gatos**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 1992. p.33-42.

AYRES, M.; AYRES JUNIOR, M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. **BioEstat 4.0**: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Belém: Sociedade Civil Mamirauá, 2004. p.25-28.

BELKAS, J.S.; MUNRO, C.A.; SHOICHET, M.S.; JOHNSTON, M.; MIDHA, R. Long-term in vivo biomechanical properties and biocompatibility of poly(2-hydroxyethyl methacrylate-co-methyl methacrylate) nerve conduits. **Biomaterials**, Guilford, v.26, n.14, p.1741-1749, May 2005.

BERTELLI, J.A.; TALEB, M.; MIRA, J.C.; GHIZONI, M.F. The course of aberrant reinnervation following nerve repair with fresh or denatured muscle autografts. **Journal of Peripheral Nervous System**, New York, v.10, n.4, p.359-368, Dec. 2005.

BRANDT, J.; DAHLIN, L.B.; LUNDBORG, G. Autologous tendons used as grafts for bridging peripheral nerve defects. **Journal of Hand Surgery British Volume**, Edinburgh, v.24, n.3, p.284-290, June 1999.

BROWN, H.C.; CASTAÑO, A.; FEARN, S.; TOWNSEND, M.; EDWARDS, G.; STREULI, C.; PERRY, V.H. Adhesion molecules involved in macrophage responses to wallerian degeneration in the murine peripheral nervous system. **European Journal of Neuroscience**, Oxford, v.9, n.10, p.2057-2063, Oct. 1997.

BRUNN, M.V.; PIPPI, N.L.; DRIEMEIER, D.; CONTESINI, A.; BECK, C.A.C.; CUNHA, O.; PINTO FILHO, S.T.L.; ROEHSIG, C.; STEDILE, R.; SILVA, T.F. Solução hipersaturada de sal ou de glicerina a 98% como conservantes de centros frênicos caninos utilizados na reparação de defeitos musculares em ratos wistar. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.1, p.147-153, jan./fev. 2004.

CATALTEPE, O.; ÖZCAN, O.E.; ONUR, R.; DEMIRHAN, B.; RUACAN, S.; ERBENGLI, A. Arterial bridging for repair of peripheral nerve gap: a comparative study. **Acta Neurochirurgica Wien**, Wien, v.121, n.3-4, p.181-186, Sept. 1993.

CHOI, D.; DUNN, L.T. Facial nerve repair and regeneration: an overview of basic principles for neurosurgeons. **Acta Neurochirurgica Wien**, Wien, v.143, n.2, p.107-114, Mar. 2001.

CHOI, D.; RAISMAN, G. Immune rejection of a facial nerve xenograft does not prevent regeneration and the return of function: an experimental study. **Behavioral Neuroscience**, Washington, v.121, n.2, p.501-507, Oct. 2003.

CHRISMAN, C.L. **Problems in small animal neurology**. 2.ed. Philadelphia: Lea & Febiges, 1991. 526p.

CLARKE, K.M.; LANTZ, G.C.; SALISBURY, S.K.; BADYLACK, S.F.; HILES, M.C.; VOYTIK, S.L. Intestine submucosa and polypropylene mesh for abdominal wall repair

in dogs. **Journal of Surgery Research**, Philadelphia, v.60, n.1, p.107-114, Jan. 1996.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. Lei nº 6.638, de 08 de maio de 1979. Estabelece normas para a prática didático-científica da vivisseção de animais e determina outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 de maio de 1979. Disponível em: <<http://www.imepa.org.br/lei6638.html>>. Acesso em: 19 out. 2006.

CORMACK, D.H. O tecido nervoso e o sistema nervoso. In: _____. **Ham histologia**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. cap.14, p.292-298.

CORTES, M.R.; SANDOVAL, J.P.; PINEDA, J.B.; MARTÍNEZ, E.C.; PINEDO, U.A.G.; RODRÍGUEZ, E.A. Regeneração do nervo ciático axotomizado do cão pela técnica de tubulização com o biomaterial quitosana pré-carregado com progesterona. **Revista de Neurologia**, Barcelona, v.36, n.12, p.1137, jun. 2003.

COSTA, H.J.Z.R.; DA SILVA, C.F.; KORN, G.P.; LAZARINI, P.R. Regeneração pós-traumática do nervo facial em coelhos. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, São Paulo, v.72, n.6, p.786-793, nov./dec. 2006.

COSTA, M.P. **Tubo de ácido poliglicólico e FK506 na regeneração de nervos periféricos**: estudo experimental em ratos. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2001. 148p.

DALECK, C.R.; ALESSKI, A.C.; DALECK, C.L.M.; PADILHA FILHO, J.G.; COSTA NETO, J.M. Substituição de um retalho diafragmático de cão por peritônio de bovino conservado em Glicerina. Estudo experimental. **Ars Veterinária**, Jaboticabal, v.4, n.1, p.53-61, ago. 1988.

DANIELSON, P.; DAHLIN, L.; POULSEN, B. Tubulization increases axonal outgrowth of rat sciatic nerve after crush injury. **Experimental Neurology**, San Diego, v.139, n.2, p.238-243, June 1996.

DOURADO, E.; GOMES, A.C.A.; GOMES, P.F.S.; RIBEIRO, A. Técnicas microcirúrgicas de reparação nervosa: procedimentos convencionais e alternativos. **Revista de Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-facial**, Recife, v.3, n.2, p.51-54, abr./jun. 2003.

DOURADO JÚNIOR, E.P.; VALMASEDA-CASTELLÓN, E.; GAY-ESCODA, C. Facial nerve repair with epineural suture and anastomosis using fibrin adhesive: an experimental study in the rabbit. **Journal of Oral Maxillofacial Surgery**, Philadelphia, v.62, n.12, p.1524-1529, Dec. 2004.

EVANS, H.E.; CHRISTENSEN, G.C. **Anatomy of the dog**. 2.ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1979. 1.181p.

EVANS, H.E.; DE LAHUNTA, A. **Guia para a dissecação do cão**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. p.90-91.

EURIDES, D.; BENTO, L.R.T.; DALECK, C.R.; REIS, F.A.C.; FIORAVANTI, M.C.S.; OLIVEIRA, W.S.; SILVA, L.A.F.; FREITAS, P.M.C.; MOTA, F.C.D.; BERETA, D.C. Reparo do tendão do músculo gastrocnêmio de coelhos com implante de tendão flexor de cães, revestido com jejuno livre homólogo, conservado em açúcar a 300%. **Ciência Animal Brasileira**, Goiás, v.5, p.214-216, jul./dez. 2004.

EURIDES, D.; DALECK, C.R.; SILVA, M.; SILVA, L.A.F.; GONÇALVES, G.F.; PRIETO, L.A.; BORREZZI, C. Utilização da cápsula esplênica de bovino na ceratoplastia lamelar em coelhos. **Arquivo de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**, Umuarama, v.9, n.2, p.117-121, jul./ago. 2006.

EURIDES, D.; MAZZANTI, A.; BELETTI, M.E. Remoção do epitélio e lâmina própria da túnica mucosa de um segmento intestinal livre de cães. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIRURGIA E ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA, 3., 1998, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: UFMG, 1998. p.95.

FERREIRA, M.A.; STOPIGLIA, A.J.; SILVA, L.C.L.C. Avaliação da técnica de tubulização do nervo digital palmar de eqüino, após neurectomia, com uso de prótese de silicone. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v.8, n.1, p.35-43, jan./jun. 2002.

FREITAS, P.M.C.; EURIDES, D.; BELETTI, M.E.; MOTA, F.C.D.; SHIMIZU, B.J.; NAVES, E.A.; REBOUÇAS, K.S.; SILVA, L.A.F.; FIORAVANTI, C.S. Reparo de esôfago cervical de cães com segmento intestinal livre autólogo desprovido de epitélio e de lâmina própria da túnica mucosa. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.3, p.445-450, maio/jun. 2002.

FUJIMOTO, E.; OHSHIMA, C.; OKAMOTO, K.; IDE, C. Possibility of using nerve segments dissected from human cadavers for grafting: preliminary report. **Anatomical Science International**, New York, v.81, n.1, p.34-38, Mar. 2006.

GODINHO, H.P.; GETTY, R. Sistema nervoso periférico. In: GETTY, R. **Anatomia dos animais domésticos**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1975. v.2, p.1583-1589.

GRECA, F.H.; BIONDO-SIMÕES, M.L.P.; SANTOS, E.A.A.; GONÇALVES, P.C.Z.; SHIN, K.E.W.; IOSHII, S.O. Retalho de submucosa de intestino delgado autólogo para aumento da capacidade da bexiga: estudo experimental em cães. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgia**, Rio de Janeiro, v.29, n.5, p.294-299, set./out. 2002.

GUTZKE, M.M.; FORTET, J.R.C.; HEREDERO, X.S. Lesiones agudas de los nervios periféricos. **Sociedade española de cirurgia plastica reparadora y estética**, 2000-2001. Disponível em: <<http://www.secre.org>>. Acesso em: dez. 2005.

HASHIMOTO, T.; SUZUKI, Y.; SUZUKI, K.; NAKASHIMA, T.; TANIHARA, M.; IDE, C. Peripheral nerve regeneration using non-tubular alginate gel crosslinked with covalent bonds. **Journal of Materials Science**, London, v.16, n.6, p.503-509, June 2005.

IJKEMA-PAASSEN, J.; JANSEN, K.; GRAMSBERGEN, A.; MEEK, M.F. Transection of peripheral nerves, bridging strategies and effect evaluation. **Biomaterials**, Guilford, v.25, n.9, p.1583-1592, Apr. 2004.

ITOH, S.; TAKAKUDA, K.; KAWABATA, S.; ASO, Y.; KASAI, K.; ITOH, H.; SHINOMIYA, K. Evaluation of cross-linking procedures of collagen tubes used in peripheral nerve repair. **Biomaterials**, Guilford, v.23, n.23, p.4475-4481, Dec. 2002.

JUBRAN, M.; WIDENFALK, J. Repair of peripheral nerve transections with fibrin sealant containing neurotrophic factors. **Experimental Neurology**, San Diego, v.181, n.2, p.204-212, June 2003.

KATAYAMA, Y.; MONTENEGRO, R.; FREIER, T.; MIDHA, R.; BELKAS, J.S.; SHOICHET, M.S. Coil-reinforced hydrogel tubes promote nerve regeneration equivalent to that of nerve autografts. **Biomaterials**, Guilford, v.27, n.3, p.505-518, Jan. 2006.

KELLEHER, M.O.; AL-ABRI, R.K.; ELEUTÉRIO, M.L.; MYLES, L.M.; LENIHAN, D.V.; GLAS, Y.M.A. The use of conventional and invaginated autologous vein grafts for nerve repair by means of entubulation. **British Journal of Plastic Surgery**, Edinburgh, v.54, n.1, p.53-57, Jan. 2001.

KUYPERS, P.D.L.; EGERAAT, J.M.V.; GODSCHALK, M.; HOVIUS, S.E.R. Loss of viable neuronal units in the proximal stumps as possible cause for poor function recovery following nerve reconstructions. **Experimental Neurology**, San Diego, v.132, n.1, p.77-81, Mar. 1995.

KVIST, M.; DANIELSEN, N.; DAHLIN, L.B. Effects of FK506 on regeneration and macrophages in injured rat sciatic nerve. **Journal of Peripheral Nervous System**, New York, v.8, n.4, p.251-259, Dec. 2003.

LAVALLE, G.E.; ARAÚJO, R.B.; PEREIRA, L.C. Uso de pericárdio bovino conservado em glicerina em cão – relato de caso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIRURGIA E ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA, 1998, Belo Horizonte, MG. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, 1998. p.109.

LUNN, E.R.; PERRY, V.H.; BROWN, M.C.; ROSEN, H.; GORDON, S. Absence of wallerian degeneration does not hinder regeneration in peripheral nerve. **European Journal of Neuroscience**, Oxford, v.1, n.1, p.27-33, Jan. 1989.

MAKWANA, M.; RAIVICH, G. Molecular mechanisms in successful peripheral regeneration. **The FEBS Journal**, Oxford, v.272, n.11, p.2628-2638, June 2005.

MARTINS, R.S.; SIQUEIRA, M.G.; SILVA, C.F.; PLESE, J.P.P. Overall assesment of regeneration in peripheral nerve lesion repair using fibrine glue, suture, or a combination of the techniques in a rat model: wich is the ideal choice? **Surgery Neurology**, New York, v.64, n.1, p.10-16, July 2005.

MELLO, L.R.; FELTRIN, Y.; SELBACH, R.; MACEDO JUNIOR, G.; SPAUTZ, C.; HAAS, L.J. Uso de celulose liofilizada em lesões de nervos periféricos com perda de substância. **Arquivos de Neuro-psiquiatria**, São Paulo, v.59, n.2, p.372-379, jun. 2001.

MENOVSKY, T.; BEEK, J.F. Laser, fibrin glue or suture repair of peripheral nerves: a comparative functional, histological and morphometric study in the rat sciatic nerve. **Journal of Neurosurgery**, Charlottesville, v.95, n.4, p.694-699, Oct. 2001.

MLIGILICHE, N.L.; TABATA, Y.; KITADA, M.; ENDOH, K.; OKAMATO, K.; FUJIMOTO, E.; IDE, C. Poly lactic acid-caprolactone copolymer tube with a denatured skeletal muscle segment inside as a guide for peripheral nerve regeneration: a morphological and electrophysiological evaluation of the regenerated nerves. **Anatomical Science International**, Oxford, v.78, n.3, p.156-161, Sept. 2003.

MOSTAFA, B.A.; SAMIR, M.M. Neurohistological changes after facial nerve rerouting. **Archives of otorhinolaryngology**, Berlin, v.255, n.3, p.115-118, Mar. 1998.

MOTA, F.C.D.; EURIDES, D.; FREITAS, P.M.C.; BELETTI, M.E.; MASTRANTONIO, E.C.; SHIMIZU, B.J.; SILVA, L.A.F.; CARDOSO, J.R.; MARTINS, A.K. Análise morfológica e microbiológica utilizando-se diferentes métodos de preservação sobre a camada muscular do intestino delgado de cães. **Ciência Animal Brasileira**, Goiás, v.4, n.2, p.117-123, jul./dez. 2003a.

MOTA, F.C.D.; EURIDES, D.; FREITAS, P.M.C.; BELETTI, M.E.; PRIETO, L.A.; REIS, F.A.C.; CARDOSO, J.R. Reparação do diafragma de cães por fragmento intestinal livre homogêneo conservado em solução hipersaturada por açúcar. **Ars Veterinária**, Jaboticabal, v.19, n.1, p.44-51, abr. 2003b.

NAVARRO, X.; VERDÚ, E.; RODRÍGUES, F.J.; CEBALLOS, D. Artificial nerve graft for the repair of peripheral nerve injuries. **Neurology Science**, Milan, v.22, n.7, p.7-13, May 2001.

NETO, H.S.; SABHA JUNIOR, M.J.J.; MARQUES, M.J. Cryopreserved muscle basal lamina grafts retain their grafting potential for nerve repair. **Cryobiology**, San Diego, v.50, n.1, p.112-115, Feb. 2005.

OBLE, D.A.; BURTON, L.; MAXWELL, K.; HASSARD, T.; NATHANIEL, E.J.H. A comparison of thyroxine- and polyamine-mediated enhancement of rat facial nerve

regeneration. **Experimental Neurology**, San Diego, v.189, n.1, p.105-111, Sept. 2004.

OLIVEIRA, E.F.; MAZZER, N.; BARBIERI, C.H.; DELBEL, E.A. The use of a muscle graft to repair a segmentary nerve defect: an experimental study using the sciatic nerve of rats as model. **Journal of Neuroscience Methods**, Amsterdam, v.133, n.1-2, p.19-26, Feb. 2004.

OLIVEIRA, V.A.; ALVARENGA, J. Membrana amniótica preservada em glicerina no reparo de feridas cutâneas de membros locomotores de eqüinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.28, n.4, p.623-628, out./dez. 1998.

QUITZAN, J.G.; RAHAL, S.C.; ROCHA, N.S.; CROCCI, A.J. Comparação entre pericárdio bovino preservado em glicerina e malha de poliéster no reparo de falhas da parede abdominal em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.18, n.4, p.297-301, jul./ago. 2003.

RODASKI, S.; GUÉRIOS, S.D.; PERRONI, M.A.; NARDI, A.B.; SILVA, C.A.M. Esfincteroplastia anal externa experimental com membrana de peritônio bovino preservada em glicerina a 98% em cães. **Archives of Veterinary Science**, v.5, n.1, p.55-60, out. 2000.

RODKEY, W.G. Cirurgia dos nervos periféricos. In: SLATER, D.H. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 2.ed. São Paulo: Manole, 1998. p.360-368.

RODRÍGUEZ, F.J.; GÓMEZ, N.; PEREGO, G.; NAVARRO, X. Highly permeable polylactide-caprolactone nerve guides enhance peripheral nerve regeneration through long gaps. **Biomaterials**, Guilford, v.20, n.16, p.1489-1500, Aug. 1999.

ROSS, M.H.; ROWRELL, L.J. Regeneração do tecido nervoso. In: _____. **Histologia: texto e atlas**. 2.ed. São Paulo: Panamericana, 1993. cap.11, p.263-280.

SHORES, A. Sistema nervoso periférico. In: BOJRAB, M.J. **Técnicas atuais em cirurgia de pequenos animais**. 3.ed. São Paulo: Roca, 2005. cap.6, p.49-60.

SIERPINSKI, P.; GARRETT, J.; MA, J.; APEL, P.; KLORIG, D.; SMITH, T.; KOMAN, L.A.; ATALA, A.; DYKE, M.V. The use of keratin biomaterials derived from human hair for the promotion of rapid regeneration of peripheral nerves. **Biomaterials**, Guilford, v.29, n.1, p.118-128, Jan. 2008.

SLATER, D.H. Neuro-ophthalmology. In: _____. **Fundamentals of veterinary ophthalmology**. Canadá: WB Saunders Company, 2001. cap.17, p.489-532.

SNELL, R.S. Tecido nervoso. In: _____. **Histologia clínica**. Rio de Janeiro: Interamericana, 1985. p.339-441.

SOUZA FILHO, Z.A; GRECA, F.H.; ROCHA, S.L.; IOSHII, S.O.; DOMANSKI, A.C.; KFOURI, D.; CAMPOS, P.D.P.; SILVA, R.F.K. Enxerto de submucosa porcina no tratamento de lesões duodenais em cães. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.20, n.5, p.394-398, out. 2005.

STOPIGLIA, A.J.; LAINETTI, R.D; PIRES, R.S.; DA SILVA, C.F. Avaliação morfométrica de fibras nervosas do nervo ulnar após reparação cirúrgica com auto-enxerto e prótese tubular em cães. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v.35, n.2, p.80-83, maio 1998.

TANZER, L.; JONES, K.J. Neurotherapeutic action of testosterone on hamster facial nerve regeneration: temporal window of effects. **Hormonal Behavioral**, New York, v.45, n.5, p.339-344, Jan. 2004.

TETIK, C.; OZER, K.; AYHAN, S.; SIEMIONOW, K.; BROWNE, E.; SIEMIONOW, M. Conventional versus epineural sleeve neuroorrhaphy technique: functional and histomorphometric analysis. **Annals of Plastic Surgery**, Boston, v.49, n.4, p.397-403, Oct. 2002.

TORRES, M.F.P.; GRACA, 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. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.55, n.5. p.557-561, out. 2003.

VASCONCELOS, B.C.E.; GAY-SCODA, C. Facial nerve repair with expanded polytetrafluorethylene and collagen conduits: an experimental study in the rabbit. **Journal of Oral Maxillofacial Surgery**, Philadelphia, v.58, n.11, p.1257-1262, Jan. 2000.

YANG, Y.; DING, F.; WU, W.; LIU, W.; LIU, J.; GU, X. Development and evaluation of silk fibroin-based nerve grafts used for peripheral nerve regeneration. **Biomaterials**, Guilford, v.28, n.36, p.5526-5535, Dec. 2007.

YANG, Y.; GU, X.; TAN, R.; HU, W.; WANG, X.; ZHANG, P.; ZHANG, T. Fabrication and properties of a porous chitin/chitosan conduit for nerve regeneration. **Biotechnology Letters**, Dordrecht, v.26, n.23, p.1793-1797, Dec. 2004.

YOSHII, S.; OKA, M.; LKEDA, N.; AKAGI, M.; MATSUSUE, Y.; NAKAMURA, T. Bridging a peripheral nerve defect using collagen filaments. **Journal of Hand Surgery British Volume**, Edinburgh, v.26, n.1, p.52-59, Jan. 2001.

YOUNG, R.C.; TERENCEHI, G.; WIBERG, M. Poly-3-hydroxybutyrate (PHB): a resorbable conduit for long-gap repair in peripheral nerves. **British Journal of Plastic Surgery**, Edinburgh, v.55, n.3, p.235-240, Apr. 2002.

ZILIOOTTO, L.; FANTINATTI, A.P.; DALECK, C.R.; PADILHA FILHO, J.G.; SOUZA, A.P.; DINIZ, P.P.V.P. Utilização de implante ósseo cortical alógeno conservado em glicerina para preservação de membro torácico. Estudo experimental em cães. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.18, n.2, p.107-115, mar./abr. 2003.