

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIRURGIA PLÁSTICA E
MICROCIRURGIA RECONSTRUTIVA**

EDUARDO MAINIERI CHEM

**Uso da cola de fibrina na anastomose nervosa: estudo comparativo
experimental, em ratos.**

PORTO ALEGRE

2003

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIRURGIA PLÁSTICA E
MICROCIRURGIA RECONSTRUTIVA

EDUARDO MAINIERI CHEM

**Uso da cola de fibrina na anastomose nervosa: estudo comparativo
experimental, em ratos.**

Dissertação (Mestrado) desenvolvida no Laboratório de Microcirurgia do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do grau de mestre em Medicina.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Corrêa
Chem

PORTO ALEGRE
2003

EDUARDO MAINIERI CHEM

**Uso da cola de fibrina na anastomose nervosa: estudo comparativo
experimental, em ratos.**

Dissertação (Mestrado) desenvolvida no Laboratório de Microcirurgia do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do grau de mestre em Medicina.

Dissertação aprovada pela Banca Examinadora em: dezembro de 2003.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Roberto Corrêa Chem

Profa. Dra.

Prof. Dr.

Prof. Dr.

AGRADECIMENTOS

Centro de Microscopia

- Moema Queiroz Vieira
- Cristiane de Queiroz Lopes
- Maria Cristina Faccioni Heuser

Laboratório de Cirurgia Experimental (Hospital de Clínicas)

- Roseli de Oliveira Möllerke
- Eduardo Mottola Amaro da Silveira
- Marcos Eugênio Soares Duarte

Instituto de Ciências Básicas da Saúde (UFRGS Centro)

- Antônio Generoso Severino

Estudantes de Medicina da UFRGS

- Felipe Colombo de Holanda
- Guilherme Larsen da Cunha

Residentes do Serviço de cirurgia plástica da Santa Casa de Porto Alegre

- Denis Souto Valente
- Giuliano Borile

Chefe do Serviço de Cirurgia Plástica da UFRGS

- Dr. Rinaldo de Angeli Pinto

RESUMO

A procura de um método que permita um melhor resultado na anastomose de um nervo completamente seccionado é antiga. Há muitos anos a técnica, dita convencional, para aproximação dos cotos afastados do nervo lesado, é realizada com pontos de fios microcirúrgicos. Mais recentemente, a utilização da cola de fibrina tem permitido a adesão de tecidos, como pele, fáscia e outras estruturas anatômicas. O uso da cola de fibrina, na aproximação das extremidades nervosas, tem sido propagada pela indústria como um fato incontestável. No entanto, somente com a realização de estudos comparativos clínicos e laboratoriais tornou-se possível comparar a eficácia da cola de fibrina como agente de reconstituição em lesões de nervos periféricos. Com o objetivo de comprovar essa afirmação foi realizado um trabalho através de uma mensuração nas bainhas de mielina de cotos regenerados de nervos entre diferentes tipos de anastomose nervosas em nervo isquiático de ratos da raça Wistar. Com esse mesmo escopo, foi mensurado o número de axônios em regeneração após o uso dessa cola. Foi utilizada uma amostra de 35 ratos divididos em 03 grupos (A, B e C). No grupo A, 25 ratos foram submetidos à cirurgia com o uso da cola de fibrina para a anastomose nervosa. No grupo B, 05 ratos foram submetidos ao mesmo procedimento; entretanto, ao reparo nervoso acrescentou-se a utilização de dois pontos opostos de mononylon 9-0, usando-se cola de fibrina no seu interior. No terceiro grupo (C), 05 ratos foram submetidos a neurorrafia com 6 a 8 pontos de mononylon 9-0 sem auxílio da cola de fibrina (anastomose nervosa convencional). Os animais foram submetidos a um novo procedimento após 90 dias, quando o nervo isquiático tratado foi retirado e encaminhado para o estudo. Após

esse procedimento, os animais foram sacrificados. Cabe esclarecer que os espécimens foram submetidas a uma preparação histológica, sendo avaliados. Para tanto, foi realizada uma mensuração da espessura média da bainha de mielina das fibras regeneradas. Também foi realizada uma medição do número de axônios regenerados em um milímetro quadrado. Com base nesses achados, foram comparados os resultados.

Palavras-chave: Neurorrafia. Cola de fibrina. Nervo Isquiático.

ABSTRACT

The search for a method that allows better results for the anastomosis of a completely sectioned nerve has been pursued from a long time. From many years the conventional technique using microsurgical sutures has been used to bring near the separated stumps of the injured nerve. Actually, the fibrin glue use is allowing tissue adhesion of the skin, fascia and other anatomical structures. The fibrin glue use for the nervous edges approach, have been propagated by the industries as an incontestable fact. Trying to verify this affirmation an evaluation through the myelin sheath was made along regenerated nerve edges between different techniques of anastomosis of an injured sciatic nerve from Wistar. Was also measured the axon regeneration after this glue application. A 35 rats sample was separated in 03 groups (A, B and C). In group A 25 rats were submitted to nervous anastomosis surgery using fibrin glue. In group B, 05 rats were submitted to the same procedure; however, during nervous repair, two opposite stitches of mononylon 9-0 were added with inward fibrin glue. In group C 05 rats were submitted to neuroraphy with 6-8 stitches of mononylon 9-0 without fibrin glue use (conventional nervous anastomosis). The animals were submitted to a new procedure, 90 days after the initial surgery, to remove and lead to additional study the healed portion of the sciatic nerve. After this procedure the animals were sacrificed. These specimens were submitted to histological preparation and evaluated. The myelin sheath thickness average of the regenerated fibers was measured. The number of regenerated axons by (**milimetro quadrado**) was also measured. Using these measures a comparison between the results were made.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	acondicionamento dos animais	28
Figura 2	Cola de Fibrina Beriplast P	29
Figura 3	preparo pré-operatório	30
Figura 4	anestesia intraperitoneal	30
Figura 5	Cirurgia microscópica sob acompanhamento de televisão	31
Figura 6	nervo isquiático dissecado	32
Figura 7	nervo isquiático seccionado	33
Figura 8	Tela de Medida	39
Figura 9	Tela de Contagem	39
Figura 10	Imagem com pouca regeneração	40
Figura 11	Imagem com ótima regeneração onde foi usada a cola.....	41
Figura 12	Imagem com ótima regeneração onde foi usado sutura	41
Figura 13	Imagem com ótima regeneração onde foi usado cola mais sutura	41
Gráfico 1	Valores médios e intervalos de confiança para espessura da bainha mielina dos grupos	44
Gráfico 2	BOXPLOT apresentando valores mediano e quartis para espessura da bainha mielina dos grupos	45
Gráfico 3	médias e intervalos de confiança para número médio de axônios reinervados por milímetro quadrado dos grupos	47
Gráfico 4	BOXPLOT apresentando valores mediano e quartis para número médio de axônios reinervados por milímetro quadrado dos grupos	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Preparação das lâminas	36
Tabela 2	Valores de espessura média da bainha de mielina, desvio-padrão, mínimo e máximo dos grupos	43
Tabela 3	Valores de espessura mediana da bainha de mielina e intervalos e amplitudes interquartílicos dos grupos	44
Tabela 4	Comparação entre os grupos da espessura média da bainha de mielina	46
Tabela 5	Número médio de axônios reinervados por milímetro quadrado, desvio-padrão, mínimo e máximo dos grupos	46
Tabela 6	Medianas de número médio de axônios reinervados por milímetro quadrado e intervalos e amplitudes interquartílicos dos grupos	47
Tabela 7	Comparação entre os grupos do número médio de axônios reinervados por milímetro quadrado	49

SUMÁRIO

1	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
2	OBJETIVOS	25
2.1	Objetivo primário	25
2.2	Objetivo secundário	25
3	MATERIAL E MÉTODO	26
3.1	Procedimento Cirúrgico	31
3.2	Estudo Histológico	35
3.3	Processo de preparação das amostras	35
3.4	preparação dos cortes e confecção das lâminas	36
3.5	Análise Morfométrica	37
3.6	Análise Estatística	41
4	RESULTADOS	42
5	DISCUSSÃO	49
6	CONCLUSÃO	55
	REFERÊNCIAS	56
	APÊNDICE A	63

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O trauma de nervos é uma patologia freqüente. Desde 1873, quando a neurorrafia foi introduzida por Hueter (1873), um grande avanço foi conseguido no reparo destas lesões (CASTALDO; OCHOA, 1987). Relatos de Clarke e O'Malley (1968) afirmam que, já em 1210 – 1277, Salicileto realizava as primeiras suturas nervosas.

O nervo periférico é constituído de tecido nervoso e tecido não nervoso (KUCZYNSKI, 1974). O tecido nervoso tem origem ectodérmica. Já a porção não nervosa, com origem mesodérmica, tem papel de sustentação e nutrição não estando diretamente ligada à condução do impulso nervoso.

O nervo é formado por grupos de fascículos. O fascículo, por sua vez, é formado por grupos de axônios (FERREIRA, 1999). Envolvendo o axônio, encontra-se o endoneuro. O agrupamento dessas estruturas forma o fascículo, que é envolto pelo perineuro. Todas essas estruturas juntas são circundadas pelo epineuro.

Em 1850, Waller (1850) descreveu observações importantes sobre a degeneração nervosa após um trauma nervoso. Foi o pioneiro na identificação das alterações degenerativas que ocorriam no coto distal de nervo seccionado. Waller (1850) ao estudar nervos hipoglosso e glossofaríngeo em sapos, demonstrou a regeneração nervosa. Descreveu a degeneração centrífuga que ocorre no coto distal do nervo lesado e a degeneração axônica ou centrípeta que ocorre no coto proximal.

Como é de conhecimento geral, o trauma que atinge o nervo pode ter diferentes intensidades, o que desencadeia lesões mais ou menos destrutivas. Por esta razão existem várias classificações para diferenciar as lesões nervosas. Em

1945, na Austrália, Sunderland (MATTAR JUNIOR; AZZE, 2003) classificou as lesões nervosas em cinco grupos, variando de grau I à V.

Entretanto, a classificação mais usada é a proposta por Seddon: neuropraxia, axonotmese e neurotmese (SEDDON, 1943). Na neuropraxia, segundo Seddon, há um bloqueio da condução nervosa sem que haja uma perda de continuidade axonal. Nesses casos, a estrutura do nervo permanece intacta, havendo uma interrupção na condução axonal, sem haver degeneração walleriana. Assim, temporariamente, as funções nervosas estão paralisadas. A neuropraxia, segundo Seddon, equivale ao grau I de Sunderland. Já na axonotmese ocorre lesão de axônios de um feixe nervoso, mas as bainhas conjuntivas permanecem intactas. No entanto, ocorre degeneração walleriana com perda da função nervosa, embora, na maioria dos casos, haja recuperação, sendo essas situações com bom prognóstico. Sunderland subdividiu esse tipo de lesão nos graus II, III e IV. O grau II corresponde a lesão do axônio, o grau III a lesão da fibra nervosa (axônio e endoneuro) e o grau IV a lesão do fascículo (axônio, endoneuro e perineuro). Na neurotmese (Seddon) ou grau V (Sunderland) há perda de toda continuidade do tronco nervoso (axônio, endoneuro, perineuro e epineuro). Nestes casos a reparação é cirúrgica (MATTAR JUNIOR; AZZE, 2003), por se tratar de casos mais graves, com prognóstico mais reservado.

Em 1964, Smith (MATTAR JUNIOR; AZZE, 2003) permitiu um grande avanço nas cirurgias dos nervos periféricos ao introduzir técnicas microcirúrgicas. Em 1967, Millesi e col. (MATTAR JUNIOR; AZZE, 2003), ao utilizarem técnicas microcirúrgicas, realizaram enxertos interfasciculares com nervos cutâneos autólogos.

Em 1981, Jabaley afirmou que a reparação de nervos pode constituir a última fronteira em cirurgia de mão. Tal afirmação baseia-se no fato de que, por melhor que

seja realizada a neurografia, a recuperação nem sempre será tão satisfatória quanto o esperado se comparado ao lado contra-lateral não lesado (McCARTHY, 1990). É difícil saber com segurança se a recuperação, após uma neurografia, produzirá disestesia, atrofia, ou se ela será totalmente alcançada. Por essas razões, em traumas envolvendo múltiplas estruturas, como vasos, ossos ou tendões, é o tratamento da lesão nervosa o que, mais freqüentemente, gera insatisfação.

Matras (1973) refere a utilização de adesivo de fibrina nas reparações nervosas e estudam o uso do adesivo de fibrina humana (1990), do enxerto de membrana basal (1990) e do retalho de nervo vascularizado (1992) com vistas a recuperação de lesões dos nervos periféricos (MATTAR JUNIOR; AZZE, 2003).

Sabe-se que o material de sutura, por mais fino que seja, produz inevitavelmente uma reação de corpo estranho. Entre outras, essa é uma das razões pela qual os cirurgiões foram motivados a buscar algo que diminuísse tal reação, como procura-se demonstrar neste trabalho, a cola de fibrina. Contudo, o medo de infecções virais, como a AIDS ou hepatite, prejudicou o começo do seu uso em países de primeiro mundo.

Na medicina, o uso da cola de fibrina não é recente. Na década de 80, muitos trabalhos já haviam sido publicados, referindo seu uso em microcirurgia (VENTURA et al., 1980). Em 1980, Ventura R. et al realizaram um estudo experimental onde foram comparados três tipos diferentes de neurografia. Primeiramente, empregou-se o método de neurografia tradicional; em um segundo grupo, foi usada a placa de Vittalium com canaleta; e no terceiro grupo, utilizou-se a cola de fibrina. Após comparação entre os três grupos, os autores concluíram que a cola de fibrina resultou na união entre os cotos nervosos com mais rápida regeneração das fibras

nervosas periféricas. O uso da cola, combinada com a placa, foi preferida quando o trauma nervoso era mínimo (VENTURA; TORRI, 1980).

Em 1983, Egloff e Narakas (1983) relataram 56 casos de neurorafia em humanos, usando apenas cola de fibrina ou sutura com cola de fibrina; cabe destacar, nessa técnica, o ganho de tempo transoperatório, sem necessidade de precisão absoluta, além de hemostasia e estabilização precoce de pequenos enxertos.

Já em 1984, Becker, Gueuning e Graff (1984) descreveram que o metabolismo do músculo esquelético e células de Schwann não mostrou diferenças significativas quando comparada a anastomose por suturas microneurocirúrgicas com o uso de cola de fibrina em nervos isquiáticos de rato.

Num outro relato, também em 1984, Faldini et al. (1984) estudaram os resultados através de métodos neurofisiológicos, pela intensidade de contração isométrica muscular, demonstrando que nervos “colados” com fibrina exibiram melhor regeneração do que aqueles reparados por sutura.

Em 1985, Becker, Gueuning e Graff (1985), após comparar a anastomose com sutura epiperineural com o uso da técnica de fibrinogênio adesivo no nervo isquiático de ratos, concluíram que ambos os métodos apresentavam resultados semelhantes.

Já em 1986, Cruz, Debs e Fiol (1986) compararam a microneurorafia realizada de quatro formas diferentes. Num primeiro grupo, realizou-se a microneurorafia com seis pontos separados de nylon 10-0. No segundo grupo, foram feitos apenas dois pontos do mesmo fio em ângulos opostos. No terceiro grupo de ratos, repetiu-se o tipo de sutura do grupo dois, acrescentando a cola de fibrina para reforçar a microanastomose. E no quarto e último grupo, apenas a cola

de fibrina foi usada para a microneurorrafia. Neste último grupo, os autores perceberam que 80% das suturas evoluíram com deiscência, concluindo que a cola não deve ser usada isoladamente.

Smahel, Meyer e Bachem (1987) observaram a diferença entre o uso da cola de Tissucol® e a sutura epineural em nervos isquiáticos de ratos. Os autores compararam os grupos baseados no estudo histológico com medidas do exame eletrofisiológico. O uso da cola diminuiu o tempo da neurografia em comparação com a sutura do nervo. Não houve deiscência das anastomoses. Após a primeira semana pós-operatória, observou-se completa absorção da cola de fibrina, não sendo notado nenhum efeito negativo na regeneração nervosa. As medidas eletrofisiológicas entre os grupos não apresentaram resultados significativamente diferentes.

Feldman et al. (1987) também publicaram um estudo comparativo entre a neurografia com cola de fibrina e neurografia tradicional do nervo isquiático de coelhos. O uso da cola mostrou-se adequado, uma vez que diminuiu o tempo cirúrgico, proporcionando uma sutura de boa qualidade, sem tensão dos cotos nervosos. A evolução funcional e os resultados histológicos se mostraram tão satisfatórios quanto o grupo controle, porém, não melhores.

No mesmo ano Hamm, Beer e Pothe (1987) compararam sutura e cola de fibrina usando plasma humano diretamente como enxerto autólogo e em transplante homólogo de nervos. Para este estudo foram usados ratos Wistar. A evolução e os achados histológicos foram observados com 4, 6 e 12 semanas. Os autores relatam ter sido mais fácil a união nervosa com a cola de fibrina, eis que ambas as neurografias apresentaram boa regeneração. Com o uso da cola ocorreram, em alguns casos, deiscência; a melhor maneira de evitá-las foi reparar, com alguns pontos, as extremidades opostas. Histologicamente, em alguns casos onde a cola foi

usada, encontrou-se reação a corpo estranho. Por essa razão, os autores concluíram que os nervos suturados apresentaram regeneração muito melhor do que os colados. Por outro lado, o uso da cola de fibrina tem bons resultados em nervos transplantados.

Também em 1987, Boedts (1987) observou que apesar do uso do adesivo de fibrinogênio-trombina ser fácil, poupar tempo e proporcionar excelente coaptação com trauma mínimo, a proliferação de tecido conjuntivo é excessiva no local da junção. Também constataram a ocorrência de perda prematura da força tensional antes que a restauração nervosa apropriada tivesse ocorrido.

Hamm, Beer e Pothe (1987), provaram que os resultados entre o adesivo de fibrina e a microssutura para transplantes nervosos autólogos e homólogos mostraram igualdade; contudo, a regeneração foi bastante superior no grupo de sutura.

Smahel, Meyer e Bachem (1987), em 1988, fizeram um estudo mostrando que, após neurografia com cola de fibrina ou sutura em ratos, medidas eletrofisiológicas não demonstraram diferenças estatisticamente significativas; ademais a variabilidade histológica encontrada foi associada à forma com que o reparo nervoso foi efetuado. Além disso, a cola de fibrina mostrou-se um método mais simples, por requer menos tempo para a realização do procedimento.

Narakas (1988), afirmou que o método de cola de fibrina, quando aplicado corretamente, permite um considerável ganho de tempo operatório estimado em três vezes, se comparado com a sutura isoladamente.

Hamm et al. (1988) também apresentaram um estudo onde a associação de cola de fibrina com apenas uma sutura gerou deiscências freqüentes pela penetração do adesivo entre os terminais nervosos. O uso isolado da cola em

enxertos nervosos obteve sucesso e, ao contrário da sutura, não apresentou reações de corpo estranho, confirmando dados da literatura.

Em março de 1988, Moy et al. (1988) comparou cola de fibrina e microssutura em neurorafia de nervo tibial de coelhos. Constatou que a cola de fibrina requer menos tempo de aplicação, mas é menos efetiva quanto à condução elétrica e estabilização do reparo e também quanto ao critério histológico.

Em julho de 1988, Tuganowski, Wlodarczyk e Wojcik (1988) demonstrou haver potencial de ação mais de alta amplitude entre nervos de sapo ou coelho unidos por cola de fibrina.

Nishihira (1988) comparou a sutura nervosa com nylon e a técnica do adesivo de fibrina, assim como Narakas (1988). Os autores concluíram que houve um ganho considerável no tempo cirúrgico com o uso da cola de fibrina, registrando uma melhoria nos resultados de 15%. Nesse mesmo ano, Herter (1988) relatou os problemas com a cola de fibrina, como deiscência na neurorafia e fibroses no local.

Concordando com ele, Moy et al. (1988) após estudarem 28 coelhos, onde realizaram a neurorafia no nervo tibial (14 com nylon monofilamentar 10-0, e 14 com cola de fibrina) concluíram que a cola apenas teve como vantagem o tempo menor para a neurorafia. A cola de fibrina também apresentou maior índice de deiscência. Moy et al ainda concluíram que a cola fibrina não se mostrou superior a neurorafia tradicional com mononylon 10-0. No mesmo ano de 1988, Hamm et al. (1988) realizaram um estudo diferentes dos demais. Os autores realizaram microanastomose nervosa nos nervos isquiáticos de ratos da seguinte maneira: num primeiro grupo, a aproximação foi realizada por primeira intenção; e num segundo grupo, utilizou-se o enxerto nervoso. No primeiro grupo, houve freqüente índice de deiscência, o que não ocorreu no segundo grupo. Histologicamente, comparando-se com a sutura tradicional não foram encontrados granulomas por corpo estranho no grupo onde foi realizado enxerto de nervo.

Em 1989, Modders, Mattox e Lyles. (1989) estudaram o uso da cola no nervo facial dos ratos no seu trajeto intratemporal. Num grupo controle, realizou-se o mesmo procedimento apenas através da coaptação dos cotos nervosos sem cola ou sutura. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos e os autores concluíram que poderia haver obstrução mecânica pela cola de fibrina.

Em 1989, Sterkers, Becherel e Sterkers (1989) relatou o uso de cola de fibrina em 56 casos de anastomose do nervo facial, concluindo ser esta uma técnica segura para reparo deste nervo.

Em 1989, Bento e Minitti (1989) comparou a microssutura, cola de fibrina e união natural no nervo facial intratemporal em gatos. Concluiu que a cola de fibrina promove uma velocidade de condução superior aos outros métodos, não havendo diferenças histológicas significativas entre cola de fibrina e microssutura. Esse estudo recomenda a cola de fibrina como técnica de escolha para anastomose nervosa intratemporal de nervo facial.

No mesmo ano, Nishihira e McCaffrey (1989) relataram, assim como em 1988 (NISHIHIRA, 1988), um estudo comparativo entre dois grupos de ratos onde no primeiro grupo, seccionaram-se os dois nervos isquiáticos do mesmo rato, realizando-se anastomose com cola e, no outro, com sutura. No segundo grupo, um *gap* de um centímetro de nervo foi retirado e usado como enxerto. Da mesma forma, em um lado usou-se a cola e no outro, a sutura com fio mononylon 10-0. Após 12 semanas, os autores observaram que houve regeneração nervosa em todos os grupos estudados, sem diferenças significativas. Entretanto, houve melhores parâmetros de potencial ativo no grupo de enxertos onde foi usado sutura com nylon. Ainda em no mesmo ano, Benfrech Alnot e Henin (1989) usou cola de fibrina

para realização de enxerto nervoso em ratos, não registrando maiores diferenças quando comparado com a sutura tradicional.

Sterkers, Becherel e Sterkers (1989), concluíram satisfeito o uso da cola de fibrina para anastomose do nervo facial com ou sem enxerto nervosos, foi sendo a técnica mais fácil e segura.

Em fevereiro do mesmo ano, Modders, Mattox e Lyler (1989) demonstrou que a obstrução mecânica causada pela cola de fibrina entre os cotos distais e proximais tem efeito insignificante na regeneração de nervo facial de rato.

Em outubro, Herter, Anagnostopoulos-Schleep e Bennefeld (1989) avaliou os fatores envolvidos na formação de fibrose, quando usada a cola de fibrina. Demonstrou que trombina, fator VIII e fibronectina são os fatores responsáveis pela formação de fibrose.

Zhou (1990), em 1990, após estudarem 80 microanastomoses de nervo isquiático em 40 ratos, concluíram que o uso de cola consiste em um método prático para o reparo nervoso. No mesmo ano, Maragh et al. (1990), testaram a eficiência da cola de fibrina em comparação com sutura nervosa tradicional. Esses autores procuravam um método mais simples para microanastomose, eis que, muitas vezes, encontraram um campo cirúrgico muito pequeno, como nos casos de pacientes pediátricos; ou, ainda, encontrarem reação de corpo estranho, prejudicando o resultado do reparo. Foram testadas eletrofisiologicamente múltiplas variáveis com prazos diferentes de tempo. Os autores concluíram que a sutura convencional apresentou uma velocidade de condução mais rápida, maior pico de amplitude e maior curva de amplitude do estímulo nervoso. O número de axônios, após a sutura, não apresentou diferença significativa.

Em 1990, Sterkers (1990) relatou o uso de cola de fibrina em 60 casos de reparo de nervo facial, demonstrando grau 3 de reinervação facial em 62 % dos casos observados após um ano de seguimento.

Também no mesmo ano, Jin et al. (1990), realizaram um estudo comparativo com o uso de Bioglue (Tissucol®) para microanastomose em nervos isquiáticos de ratos. Apesar de haver cinco casos de deiscência num total de 47, os autores concluíram que a cola trazia grandes vantagens, uma vez que não apresentava reação de corpo estranho nos estudos histopatológicos.

Em março de 1990, Moss (1990) descreve o uso de cola de fibrina na estabilização de coto distal, em que obteve satisfatória reinervação.

Em julho de 1990, Herter (1990), comparando cola de fibrina com microssutura, não recomenda o uso de corticoesteróides locais em nervos anastomosados com cola de fibrina.

Em outubro de 1990, Maragh et al. (1990) avaliou a morfologia e funcionalidade da cola de fibrina em relação a microssutura simples em nervos isquiáticos de ratos. Demonstrou-se haver uma tendência a reparos mais firmes, quando utilizado a microssutura, além de velocidade de condução mais alta. Números de axônios foram similares à microscopia eletrônica, ainda que haja, aparentemente, uma superioridade de fibras mielinizadas quando usada a microssutura.

Em novembro de 1990, Zhou (1990) demonstrou que a aplicação de cola de fibrina em nervos isquiáticos de 40 ratos é o método mais prático para reparo de nervos, tendo aferido os resultados por avaliação eletrofisiológica e peso do músculo gastrocnêmio.

Em 1991, Daunois e Sбилle (1991) demonstrou que a aplicação de cola de fibrina, enriquecida com fatores tróficos, aumenta significamente a regeneração e maturação axonal em nervos isquiáticos de ratos.

Em 1991, Włodarczyk (1991) comparou duas colas, a Tissucol® e a Histoacryl, quanto à atividade elétrica em nervo isolado. Verificou que a Histoacryl aboliu a atividade elétrica, enquanto a Tissucol aumentou a amplitude do potencial de ação.

Em fevereiro de 1993, Povlsen (1994) testou uma preparação de cola de fibrina, constatando não haver diferença significativa em relação a microssutura quanto à deiscência.

Em julho de 1993, Terris e Fee Jr. (1993) revisou técnicas de anastomose nervosa nas últimas 3 décadas, concluindo que não há benefício da cola de fibrina sobre as demais técnicas e que a microssutura ainda é o melhor método. Entretanto, em outubro de 1993, Bento e Minitti (1993) demonstrou que o uso da cola de fibrina é uma técnica efetiva na anastomose intratemporal de nervo facial.

Em 1993, Bertelli e Mira. (1993) usaram um método de congelamento e cola de fibrina para a sutura nervosa no epineuro ou perineuro concluindo que o alinhamento axonal obtido é melhor que a sutura convencional.

Povlsen (1994) descreveu que a cola de fibrina já tinha se tornado um método comum para enxerto nervoso em humanos, porém, era cedo para ser usado em reparos nervosos primários. Por isso, realizou um estudo prospectivo para obter o índice de insucesso na sutura nervosa primária, concluindo que tais índices eram muito semelhantes aos da sutura tradicional. A evolução eletrofisiológica também mostrou-se semelhante.

Em junho de 1994, Murray, Willins e Mountain (1994) não encontrou diferença histológica, fotográfica ou eletrofisiológica no uso da cola de fibrina ou colágeno na anastomose de nervo facial de ratos.

Em setembro de 1994, Vandertop et al. (1994) demonstrou que o uso da cola de fibrina, misturada à ACTH4-9, acelera a recuperação de fibras parassimpáticas no nervo oculomotor após lesão do mesmo.

Em 1995, Cheng et al. (1995) utilizou cola de fibrina como veículo na utilização de fator neurotrófico de células gliais. Constatou que a cola de fibrina é um meio único e seguro para permitir a implantação de moléculas de fatores tróficos no tecido nervoso central.

Em setembro de 1995, Zeng et al. (1995) demonstrou, em estudos *in vitro*, que a cola de fibrina suporta a sobrevivência celular; em vivo, utilizando nervos isquiáticos de ratos, ela acelera a regeneração de axônios durante a fase precoce em relação ao grupo controle, feita apenas com microssutura.

No mesmo ano, Palazzi, Vila-Torres e Lorenzo (1995) provaram que a cola de fibrina não é um selante e não impede o crescimento nervoso, pois estudaram o nervo poplíteo de coelhos e concluíram que em 70% dos casos houve crescimento nervoso.

Em 1997, Sames et al. (1997), após estudarem o uso da cola de fibrina em coelhos, concluíram que tanto a sutura com a cola, quanto a sutura tradicional obtiveram os mesmos resultados eletromiográficos, porém, o grupo onde foi usada a cola apresentou 20% de deiscência da anastomose nervosa.

Em novembro de 1998, de Vries et al. (1998) descreveram uma técnica de aplicação de uma fina camada de cola de fibrina em nervos adjacentes a zonas de risco em cirurgias de base de crânio. Concluíram que, essa técnica ofereceu mínimo

dano nervoso intraoperatório e pós-operatório, além de não terem sido notados déficits funcionais em nervos craneanos.

Em 1998, Zhang, Gu e Chen (1998) aprovaram o uso da cola de fibrina para reparo nervoso, após estudarem a microanastomose nervosa em ratos. Eles concluíram que, com o uso da cola de fibrina, a coaptação nervosa ocorreu mais rápido e o alinhamento axonal mostrou-se melhor que o do grupo onde foi realizada sutura com fio mononylon 10-0.

Em 1999, Menovsky e Bartels (1999) descrevem como realizar microanastomose nervosa com o uso da cola de fibrina, relatando que a aplicação de uma fina camada de cola de fibrina em nervos periféricos, antes da transecção, oferece melhor manipulação, mínimo dano tecidual ao nervo, e um corte plano e “limpo” ao nervo e concluem que trata-se de um método fácil, seguro, de mínima manipulação nos tecidos e muito mais rápido do que o método tradicional.

Em novembro de 1999, Isarangkura et al. (1999) relatou o uso, na Tailândia, da cola de fibrina em 145 pacientes, nas mais diversas aplicações. Concluiu que o emprego da cola de fibrina provou ser muito útil na minimização do uso de hemoderivados, redução dos custos médicos, com satisfatório poder de hemostasia e efeito selante.

Em dezembro do mesmo ano, Jou et al. (1999) estudou o atraso na fixação e uso de cola de fibrina em 32 nervos isquiáticos de ratos, aferindo os resultados por microscopia eletrônica e análise morfométrica. Concluiu que a aplicação de cola de fibrina, antes da divisão e imediatamente após a fixação do nervo, resulta em menor protrusão.

Em agosto de 2000, Robinson e Madison (2000) comparou o uso de sutura ou cola de fibrina na regeneração de nervo óptico de ratos. Demonstrou que o uso da

cola de fibrina, em comparação com a sutura, aumentou em nove vezes o número de células ganglionares da retina, concluindo, portanto, que a cola de fibrina é uma importante ferramenta no processo de reinervação.

Iwakawa et al. (2001), demonstrou que o uso da cola de fibrina associada ao fator neurotrófico derivado de células gliais na anastomose de raízes dosais do plexo lombar de ratos aumentou a regeneração nervosa e o estabelecimento de sinapses do que a cola isoladamente.

Em Março do mesmo ano, Yin et al. (2001) demonstrou que o uso de neurotrofina-4 (NT-4), um agente neurotrófico, misturado à cola de fibrina, é um potente fator na estimulação da regeneração de nervos de ratos. Por análise morfométrica, foi demonstrada melhora significativa no número de axônios regenerados, assim como uma melhora do diâmetro axonal e da espessura de mielina.

Em outubro de 2001, Menovsky e Beek (2001) comparou o uso de laser de CO₂, cola de fibrina e microssutura simples no reparo de nervos isquiáticos em modelos de ratos, segundo aferição por estudo morfométrico. Concluiu que o uso de laser iguala-se quanto à efetividade no reparo de nervos de roedores, à cola de fibrina ou sutura.

Em junho de 2001, Chuang et al. (2002) estudaram 18 ratos que tiveram suas raízes ventrais seccionadas da medula espinhal e foram divididos igualmente em grupo controle (G1), anastomose com nervo intercostal e cola de fibrina (G2) e a mesma técnica do G2 com a adição de fator de crescimento ácido de fibroblastos (G3). Após 6 meses, foram evidenciados potenciais de fibrilação profundos, eletrofisiologicamente, além de maior probabilidade significativa de unidades motoras presentes nos exemplares de G2 e G3 em comparação com G1.

Em março de 2002, Suri, Mehta e Sarkar (2002) comparou a anastomose de nervo isquiático de ratos concluindo não haver diferença apreciável quanto à regeneração nervosa

após a sutura ou cola. Contudo, inflamação e formação de granuloma foram mais visíveis no local de sutura, que apresentou um obstáculo focal à regeneração do axônio e da mielina.

Em junho de 2002, Vries et al. (2002) demonstraram que a aplicação intracranial de cola de fibrina em modelos de ratos não induz a dano extra-cerebral, dano a nervo intracranial ou formação de cicatriz tecidual. Em um estudo de segurança sobre os efeitos histológicos da cola de fibrina sobre tecidos nervosos, a instilação de uma gota de cola diretamente em tecidos cerebrais e em um par craniano (nervo trigêmeo) não demonstrou qualquer dano morfológico ou formação de tecido cicatricial.

Em 2002, Tetik et al. (2002) realizaram um estudo onde três métodos de reparo nervoso envolvendo a técnica epineural (sutura, cola de fibrina, cola mais sutura) foram comparados com o reparo nervoso convencional, utilizando o modelo de transecção do nervo isquiático. Ocorreu melhor recuperação funcional, bem como um maior número de fibras mielinizadas, nos grupos que usaram a técnica do pânículo epineural. A adição da cola de fibrina, contudo, não exerceu qualquer diferença significativa.

Em outubro de 2002, Hashimoto et al. (2002) demonstraram que o alginato gel tem boa compatibilidade para regeneração de axônio e migração de células de Schwann em direção ao coto distal, e que fibras regeneradas podem ter um diâmetro tão espesso quanto fibras normais ao longo do tempo. A regeneração é muito melhor do que a encontrada com o uso de esponja de colágeno e cola de fibrina, 2 meses após a cirurgia.

Em janeiro de 2003, Wiekwn et al. (2003) testaram uma cola sintética (a 2-cianoacrilato) em modelos de ratos. O principal achado foi uma reação inflamatória de corpo estranho e fibrose retrátil, além de redução do diâmetro do nervo de 1 a 2/3. Não recomenda o uso de cianoacrilato em reparo de nervos periféricos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo primário

Quantificar a espessura da bainha de mielina e o número de axônios em crescimento, em nervos isquiáticos de ratos, seccionados e anastomosados com cola de fibrina (grupo A).

2.2 Objetivo secundário

Comparar os achados do grupo A com outros grupos experimentais: cola com sutura (grupo B) e sutura (grupo C).

3 MATERIAL E MÉTODO

Para realização deste trabalho foi usada uma amostra de 35 ratos da raça Wistar provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS. O peso dos ratos foi de 200 a 300 gramas e o sexo foi escolhido ao acaso.

Calculou-se o tamanho da amostra a partir da fórmula sugerida por Kirkwood, em 1989, com o propósito de estimar a espessura média da bainha de mielina e o número médio de axônios reinervados. Com 95% de confiança e 80% de poder, admitindo um erro de 50%, dada a grande variabilidade dessas medidas (coeficiente de variação: 0,85 e 0,83 respectivamente), o cálculo foi estimado em 23 casos.

Escolheu-se o nervo isquiático para a anastomose nervosa, pela facilidade de acesso cirúrgico e por suas características anatômicas, como constância, espessura e microanatomia.

Os animais foram mantidos no biotério da Faculdade de Medicina da UFRGS, acondicionados em gaiolas individuais, alimentados com ração comercial para ratos (Nuvilab CR1 – Nuvital Nutrientes Ltda) e água filtrada *ad libitum*, período claro/escuro de 12/12 horas e temperatura ambiente de 23° C. (Figura 1).



Figura 1 – acondicionamento dos animais

Todos os animais, após ingressarem no laboratório do Hospital de Clínicas, passaram por um período de quarentena para adaptação. Durante esse período todos os animais foram gradativamente separados em gaiolas individuais e tiveram suas medidas, como o peso, anotadas diariamente. Sempre houve um monitoramento dos mesmos pelos tratadores e veterinários que também controlaram as reações de cada animal e contribuíram para seu conforto. A temperatura do ar condicionado, controle rigoroso da umidade, controle do período claro-escuro e cuidados gerais foram continuamente avaliados para o bem estar dos animais. No encaminhamento para o procedimento cirúrgico cada animal, era separado dos demais e levado a uma nova sala de indução anestésica, onde o preparo com o procedimento era realizado. Após cada cirurgia, o animal se recuperava em outra sala, com ambiente previamente aquecido e com cuidados analgésicos. Neste período, um tratador mantinha o acompanhamento constante. Para aqueles animais que apresentavam tendência de autocanibalismo no membro operado, era utilizada uma coleira cervical.

O selante de fibrina Beriplast P® constitui um sistema de fibrina adesiva que simula a fase final do processo de coagulação sanguínea. A fibrina é formada a

partir do fibrinogênio pela ação da trombina. A fibrina, assim formada, é ligada de forma cruzada ao fator XIII, criando uma rede firme e mecanicamente estável com boas propriedades adesivas. A aprotinina é adicionada ao adesivo de fibrina para evitar uma fibrinólise excessivamente rápida (Figura 2).



Figura 2 - Cola de Fibrina Beriplast P

Os animais do estudo foram divididos em três grupos A, B e C. No primeiro grupo (A), foi utilizada a cola de fibrina para realização da anastomose nervosa. No segundo grupo (B), a microneurrafia foi realizada com dois pontos opostos com mononylon 9-0 e utilizada a cola de fibrina entre os cotos nervosos. E no terceiro e último grupo (C), foi realizada microneurrafia no nervo isquiático através da sutura tradicional. O fio utilizado é o mononylon 9-0 com agulha redonda BV 130-5 (Ethicon). Nessa técnica realiza-se em torno de 6 a 8 pontos em cada anastomose. Para realização deste procedimento, foi utilizado um microscópio da marca Vasconcelos, com 24 aumentos. O mesmo microscópio foi utilizado para todos os procedimentos.

Em todas as microanastomoses nervosas onde foram utilizados suturas o tipo de ponto foi o epineural, observando-se os princípios da técnica microcirúrgica (BENFRECH; ALNOT; HENIN, 1989).

Todos os procedimentos foram realizados pela mesma equipe. Os ratos foram imobilizados numa placa de isopor com cortiça em decúbito ventral e então realizada tricotomia de um dos membros inferiores. Foi realizada antissepsia com álcool iodado e iniciado o procedimento (Figura 3).



Figura 3: preparo pré-operatório

Os animais foram anestesiados com tiopental sódico (50mg/Kg) intraperitoneal (Figura 4).



Figura 4 – anestesia intraperitoneal

Todos os princípios éticos prescritos para o tratamento dos animais foram rigorosamente seguidos a fim de evitar qualquer tipo de desconforto dos animais. O protocolo de utilização dos animais está de acordo com as Normas de Utilização de Animais em Projetos de Pesquisa da Comissão de Ética em Saúde / GPPG / HCPA Resolução Normativa 04/97.

Foi realizada uma dissecação sob microscópio cirúrgico Vasconcelos, com o aumento em 16 vezes do nervo isquiático. Todos os procedimentos foram realizados com acompanhamento simultâneo de uma televisão acoplada ao microscópio; isso tornou possível o acompanhamento cirúrgico pelo preceptor, a fim de controlar a qualidade do procedimento, assim como permitir o aprendizado da equipe que acompanhou o trabalho e as cirurgias (Figura 5).



Figura 5 – Cirurgia microscópica sob acompanhamento de televisão

3.1 Procedimento cirúrgico

Após preparo do animal, anestesia, tricotomia e fixação na placa de isopor o procedimento foi iniciado. Foi realizada uma incisão de 03 cm na face dorsal da perna esquerda. Foram colocados afastadores para fixação do campo operatório. Com a utilização de material microcirúrgico, foram dissecadas as estruturas e realizada a identificação do nervo isquiático do animal (figura 6).

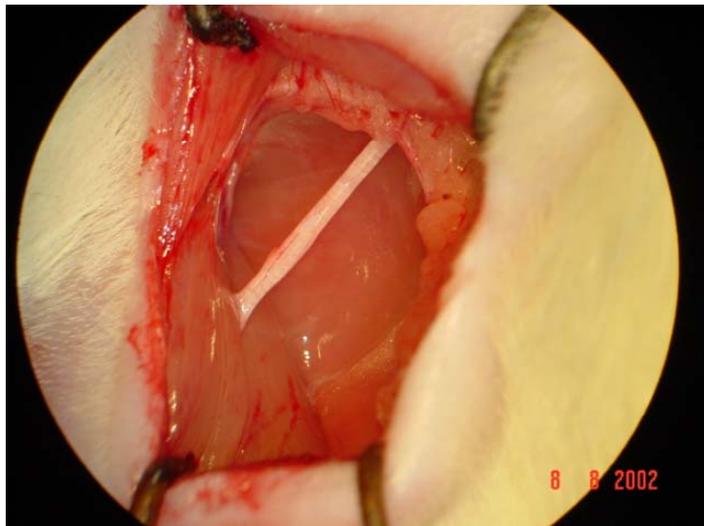


Figura 6 - nervo isquiático dissecado

O nervo foi seccionado com lâmina 15 de bisturi (figura 7). No momento da secção, observou-se um afastamento dos cotos nervosos.

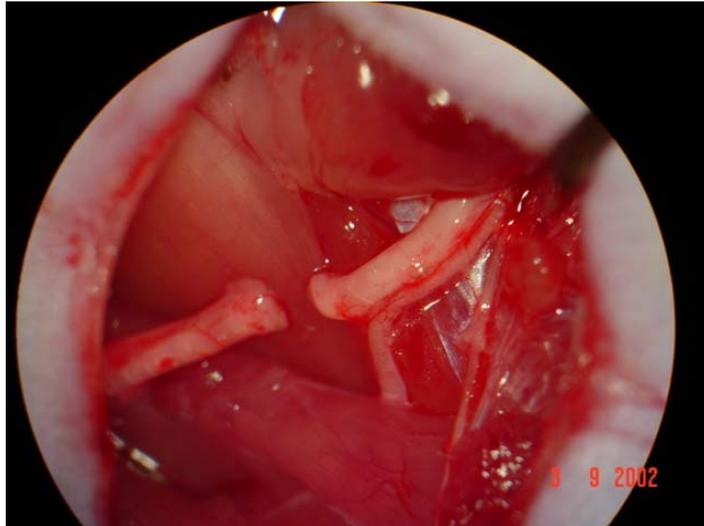


Figura 7- nervo isquiático seccionado

Neste momento foi realizada a anastomose nervosa através de técnicas nos diferentes grupos analisados (A, B, C).

No grupo A, 25 ratos foram operados com a utilização da cola de fibrina para anastomose nervosa. A dissecação do nervo foi realizada sob microscopia. Imediatamente, o nervo isquiático foi seccionado com a utilização de bisturi lâmina número 15. Observou-se afastamento dos cotos nervosos e com o auxílio de pinças de microcirurgia, esses cotos foram aproximados e alinhados corretamente por um auxiliar. Nesse momento, foi utilizado a cola de fibrina (Beriplast P®) cedida pelo laboratório Aventis. Utilizaram-se 3 gotas da solução da cola de fibrina.

Para facilitar a segunda cirurgia, em que o nervo seria ressecado para estudo, foi dado um ponto com mononylon 9-0 envolvendo apenas o perineuro próxima à rafia nervosa. Sua finalidade foi unicamente servir como guia para o segundo procedimento, uma vez que a completa cicatrização da zona operada e a ausência de corpos estranhos dificultariam encontrar com exatidão a zona da anastomose. Cabe chamar a atenção para o fato de que tal ponto não tem nenhuma finalidade de

união de cotos nervosos, servindo apenas como guia de identificação. Após a união nervosa, as demais estruturas, musculatura e pele, foram suturadas por planos.

No grupo B, 05 ratos foram operados. Nesta situação, entretanto, foram dados dois pontos opostos com mononyon 9-0, na exata zona de anastomose, com a finalidade de auxílio no processo da coaptação. Após, foi realizado um procedimento idêntico ao grupo A, com a colocação de cola na zona do interstício.

No grupo C, 05 ratos foram operados, utilizando-se somente sutura convencional com mononyon 9-0 para união dos cotos nervosos. Nesse grupo foram realizados cerca de 6 à 8 pontos em sutura epineural.

Após os procedimentos, os animais foram mantidos separadamente em gaiolas, onde todas suas necessidades foram supridas, com base no “Guide for the care and use of laboratory animals” (National Academy Press. Washington, D.C. 1996). A Lei de Crimes Ambientais (lei N° 9605/98) e as Normas para Prática Didática Científica da Vivisseção de Animais (lei 6638) foram respeitadas. O trabalho também está de acordo com as “Normas de Utilização de Animais em Projetos de Pesquisa da Comissão de ética em Saúde” / GPPG / HCPA resolução normativa 04/97.

Após um período de 90 dias de pós-operatório, os ratos foram sacrificados. Para tanto, foi utilizando uma dosagem letal de pentobarbital sódico. Após o sacrifício, os animais foram submetidos a nova intervenção cirúrgica, realizada nas mesmas condições descritas anteriormente. Foi realizada a mesma incisão na face posterior da coxa, identificando-se o nervo isquiático operado previamente e ressecado. O nervo ressecado foi então preparado para o estudo posterior.

Essas peças cirúrgicas foram cuidadosamente identificadas, catalogadas e guardadas para trabalho futuro.

Na ocasião do corte, teve-se especial cuidado na identificação do coto proximal e do coto distal do espécime.

A partir da zona do interstício, entre o coto proximal e o coto distal, foi medido 5 mm em direção ao coto distal e a partir desta zona iniciavam-se os cortes transversais para a preparação das lâminas.

3.2 Estudo Histopatológico

Para o estudo histológico foram obtidos espécimes de 5mm em distâncias pré-estabelecidos para biópsias nervosa distal a microneurorrafia. Nos três grupos estudados, a biópsia foi realizada na mesma zona. Foram utilizadas secções ultrafinas para análise sob microscopia óptica.

Após a ressecção do nervo a ser examinado, este foi fixado em suas extremidades a um palito e imediatamente colocado imerso na solução fixadora.

3.3 Processo de Preparação das Amostras

Os nervos isquiáticos coletados *in vivo* foram imediatamente armazenados em uma solução fixadora formada por glutaraldeído à concentração de 2,5%, paraformaldeído a 2% e tampão fosfato 0,12M.

Na fase inicial de preparação, foram realizadas três lavagens (processo em que a amostra é submersa e mantida em repouso, também chamado de banho), consecutivas de 30 minutos, com tampão fosfato 0,1M. Subseqüentemente, foi executada uma lavagem mais prolongada, de 45 minutos, composta por tetróxido de ósmio a 2% e tampão fosfato 0,2M, na proporção de 1:1, chamada de pós-fixação. A seqüência de três banhos consecutivos de 30 minutos em tampão fosfato 0,1M foi repetida nesse momento.

O processo continuou com a etapa de desidratação, realizada com lavagens em concentrações crescentes de acetona em tempos determinados, conforme ilustrado na tabela abaixo:

Tabela 1 – Preparação das lâminas

Concentração de acetona	Tempo (minutos)
30%	10
50%	10
70%	10
90%	10
90%	20
100%	10
100%	20

Fonte: Elaborado pelo autor

A pré-embebição foi feita com três banhos de duas horas cada. O primeiro em solução obtida através da mistura de 2 partes de desidratante (acetona) para 1 de resina, seguido por um banho de 1 parte de desidratante para 1 de resina e outro de 1 parte de desidratante para 2 de resina.

Em seguida, na fase de embebição, a amostra foi submersa em resina pura e acoplada a um Rotater, dispositivo circular de 15 centímetros de diâmetro que gira na velocidade de uma rotação a cada dez segundos, permanecendo por um período de 24 horas.

Finalmente, a inclusão dos nervos foi feita em moldes de silicone com resina pura e armazenada em estufa com temperatura constante de 60° C por 72 horas.

3.4 preparação dos cortes e confecção das lâminas

Utilizando-se ultramicrótomo, foram obtidos cortes semifinos com espessura de 800 nm cada. Para tanto, na preparação das amostras, antes de sua inclusão definitiva em resina pura, os cotos distais foram aparados cerca de 2 mm, em média, distalmente à anastomose, perfeitamente visível nas amostras de sutura e cola com sutura e, nas amostras em que foi utilizado cola, marcada previamente com um ponto simples para que sua visualização fosse permitida *a posteriori*.

Então, os blocos de resina, com a mostra inclusa, foram posicionados de maneira que o coto distal ficasse em contato íntimo com a periferia do bloco. Eram trimados (processo de lapidação com estilete, ao microscópio, que expõe o máximo possível da amostra) e, enfim, preparados para cortes semifinos no ultramicrótomo.

Foram feitos cortes até que fosse possível a captação de cortes factíveis de serem analisados, e, a partir desse ponto, 10 (dez) cortes eram obtidos consecutivamente e dispostos em seqüência à lâmina, para que fosse possível sua orientação de proximal à distal no coto.

Terminada essa etapa, as lâminas passavam imediatamente à fase de coloração. Nesse momento, foram utilizados os corantes: azul de toluidina, fucsina e borato de sódio. Para esse processo, a lâmina era aquecida em aparelho próprio e corada com azul de toluidina que permanecia por 30 (trinta) segundos. Após era lavada com água destilada até que todo o excesso de corante fosse retirado. Em seguida, a lâmina era novamente aquecida e, então, corada com solução de 1:1 de fucsina e borato de sódio, que permanecia por 30 (trinta) segundos, sendo lavada da mesma maneira com água destilada até a saída de todo o excesso de corantes. Terminado o processo de coloração, a lâmina era secada e encaminhada para o processo de análise morfométrica.

3.5 Análise Morfométrica

A avaliação da espessura média da bainha de mielina de todos os casos e controles, e o estabelecimento do número médio de fibras mielinizadas por milímetro quadrado, foram realizadas por análise de imagem digital. Para tanto, cortes semi-finos de todos os casos, corados pelo azul de toluidina foram digitalizados. Utilizou-se uma câmera digital, modelo Sony SSC DC14 (Sony Corporation, Japão), acoplada a um microscópio marca Zeiss (modelo Axiostar). Esse conjunto foi conectado a um computador por intermédio de uma placa de captura de imagens. As imagens foram adquiridas no aumento original de 400X (objetiva de 40X), obtendo-se uma visão geral de todo o corte.

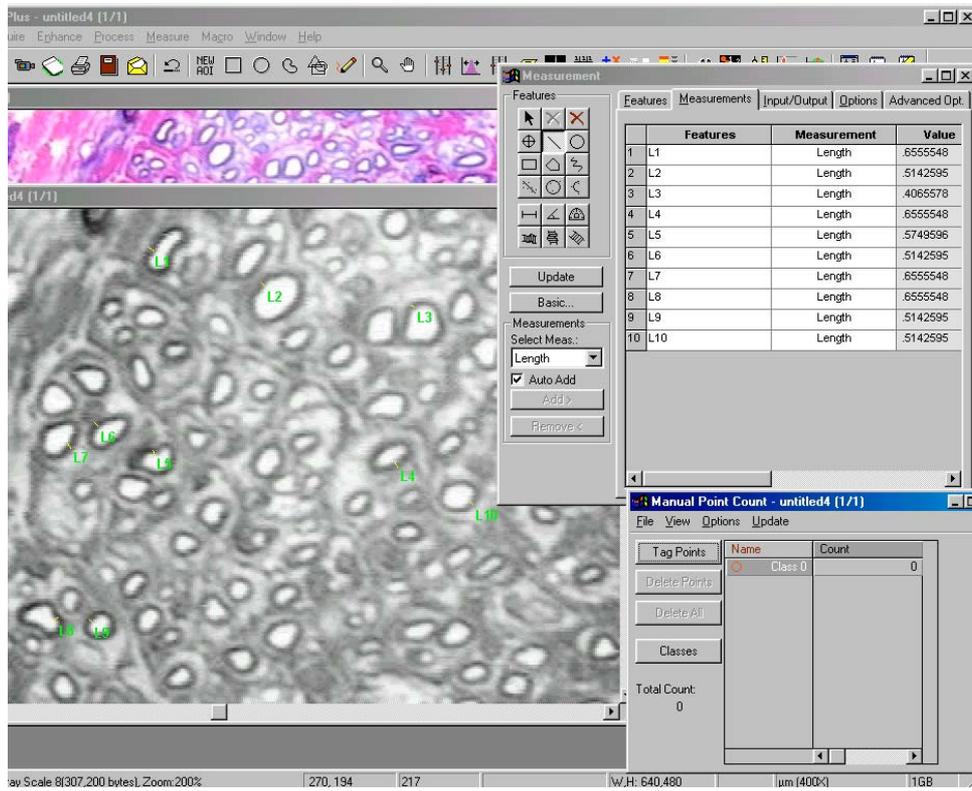


Figura 8 - Tela de Medida

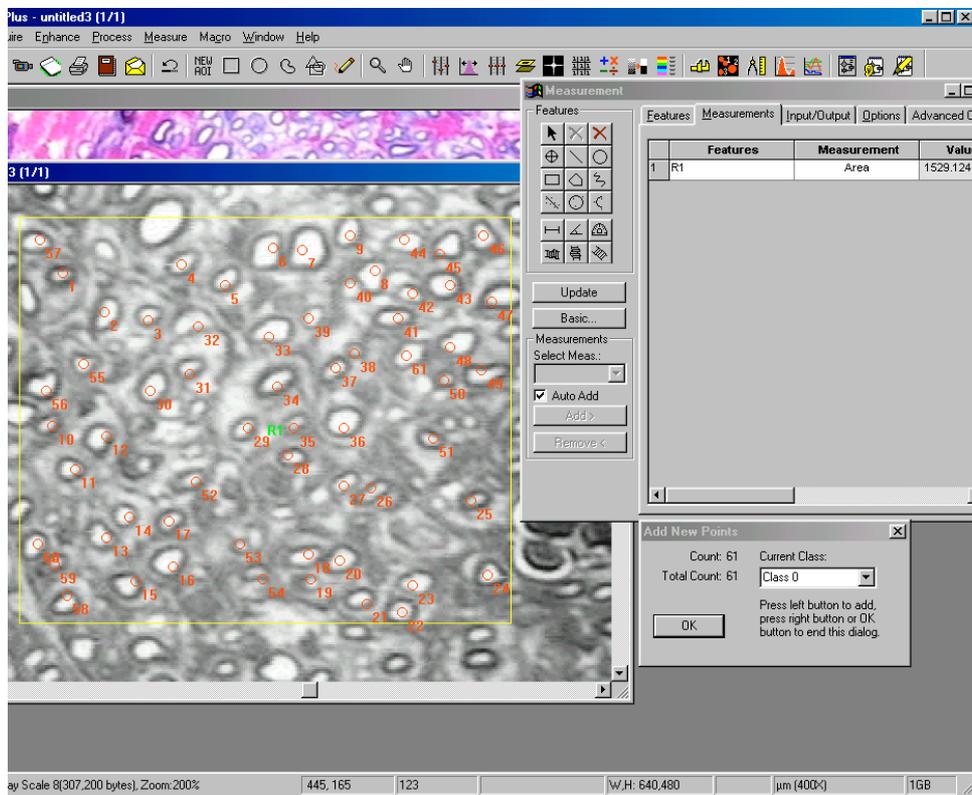


Figura 9 - Tela de Contagem

A quantidade de imagens obtida por caso variou de 2 a 9, de acordo com a superfície a ser examinada. As imagens foram armazenadas no formato de intercâmbio de arquivos (*.jpg; *.jpeg) no disco rígido do computador, e, posteriormente, gravadas em “compact disc” (CD). Utilizando o programa Image Pro Plus, versão 4.1 (Media Cybernetics), as imagens foram convertidas para tons de cinza, permitindo melhor diferenciação das estruturas de interesse. De cada uma das imagens, foi selecionada uma área retangular aleatória. Determinado o tamanho dessa área definida, o dado era gravado em um arquivo separado. Dentro da área retangular, foi efetuada a medida da espessura das bainhas de mielina, em micrômetros, com a utilização do mesmo software (Image Pro Plus). O passo seguinte consistiu na contagem das fibras mielinizadas contidas na área retangular marcada. Dessa maneira, utilizando o tamanho da área marcada e o número de fibras mielinizadas nela encontrado, foi possível determinar a quantidade de fibras mielinizadas por milímetro quadrado.

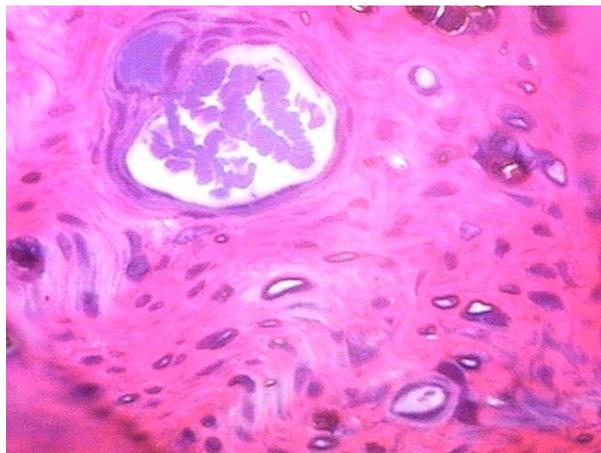


Figura 10 - Imagem com pouca regeneração onde foi usado cola

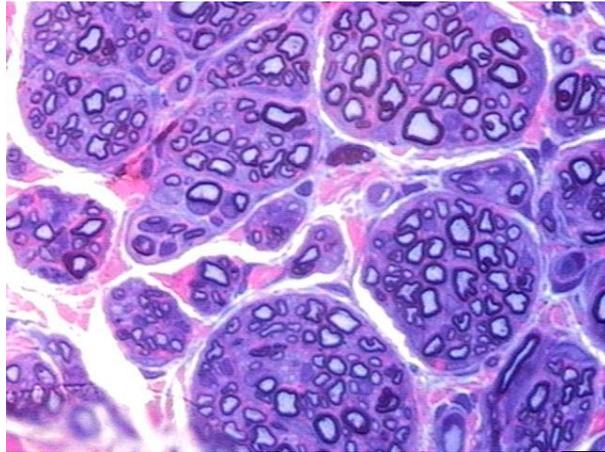


Figura 11 - Imagem com ótima regeneração onde foi usada a cola

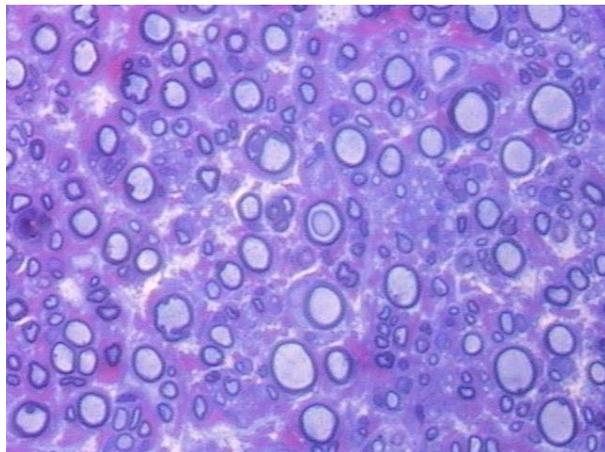


Figura 12 - Imagem com ótima regeneração onde foi usado sutura

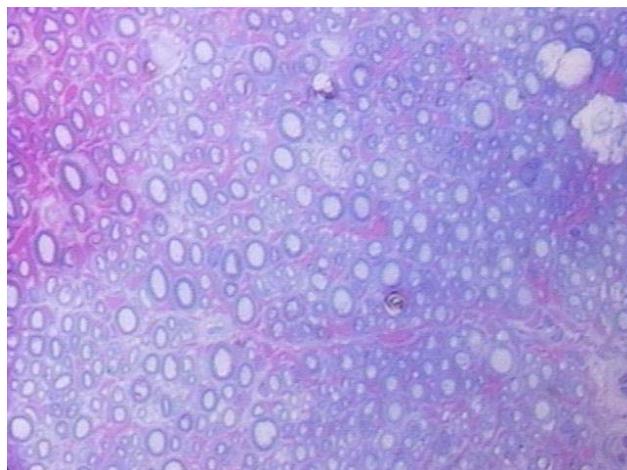


Figura 13 - Imagem com ótima regeneração onde foi usado cola mais sutura

3.6 Análise Estatística

A comparação entre os grupos foi realizada através do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, considerando as variáveis: contagem número de médio de axônios por milímetro quadrado e a espessura da bainha de mielina. As variáveis foram descritas sob a forma de medianas e intervalos interquartis 25 e 75, além de médias e desvios-padrão. Foram elaborados diagramas de caixas (“boxplot”) para demonstração gráfica das diferenças entre medianas. Utilizou-se o teste Mann-Whitney para evidenciar a diferença entre cada grupo. Considerou-se como nível de significância $p < 0,05$

4 RESULTADOS

Para a quantificação da reinervação de cada grupo de ratos foram usadas duas variáveis. Primeiramente, utilizou-se a mensuração da espessura da bainha de mielina. A segunda variável quantificada foi o número médio de axônios reinervados por milímetro quadrado.

Na avaliação dos dados da espessura da bainha mielínica de cada axônio foi encontrada uma distribuição sugestivamente Gaussiana (curva normal), o que definiu o uso da média como indicador de mielinização de cada rato como fatos indicativos de reinervação.

A partir dessa média, foram calculadas estatísticas descritivas para representar os grupos, como média, desvio-padrão, mínimo e máximo. Veja-se a tabela abaixo:

Tabela 2 – Valores de espessura média da bainha de mielina, desvio-padrão, mínimo e máximo dos grupos

Grupo	Média	Desvio-Padrão	Mínimo	Máximo
Cola (A)	0,4417	0,3775	0,0000	1,7153
Cola e Sutura (B)	0,5452	0,0505	0,5011	0,6148
Sutura (C)	0,8510	0,2007	0,6435	1,1566

Fonte: Elaborado pelo autor
* em micras

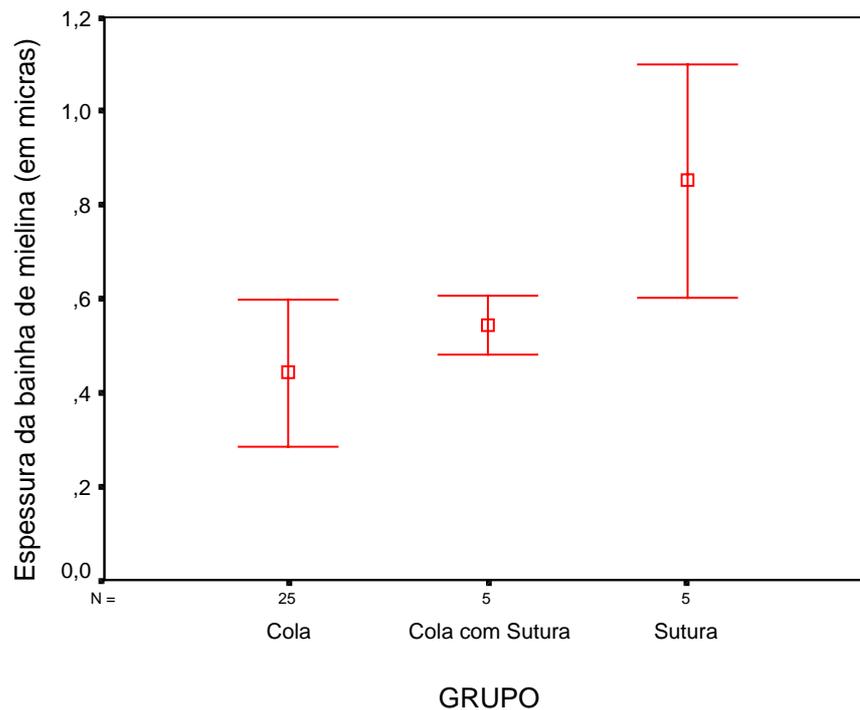


Gráfico 1 – Valores médios e intervalos de confiança para espessura da bainha mielina dos grupos

Para representar os grupos, entretanto, a média não se revelou como um indicador consistente, eis que os dados da espessura da bainha de mielina não se distribuíam de forma gaussiana. Foi, então, utilizada a mediana como valor representante de cada grupo, e a amplitude interquartílica como medida de variabilidade no lugar da média e do desvio-padrão. Houve também a necessidade de se fazer uso de testes não-paramétricos para comparação entre os grupos. Veja-se a tabela abaixo.

Tabela 3 – Valores de espessura mediana da bainha de mielina e intervalos e amplitudes interquartílicos dos grupos.

Grupo	Mediana	Intervalo Interquartílico	Amplitude Interquartílica
Cola	0,5455	0,0000-0,5455	0,5455
Cola e Sutura	0,5191	0,5048-0,5985	0,0937
Sutura	0,8378	0,6750-1,0336	0,3586

Fonte: Elaborado pelo autor

* Diferença significativa encontrada entre os grupos pelo teste Kruskal-Wallis.

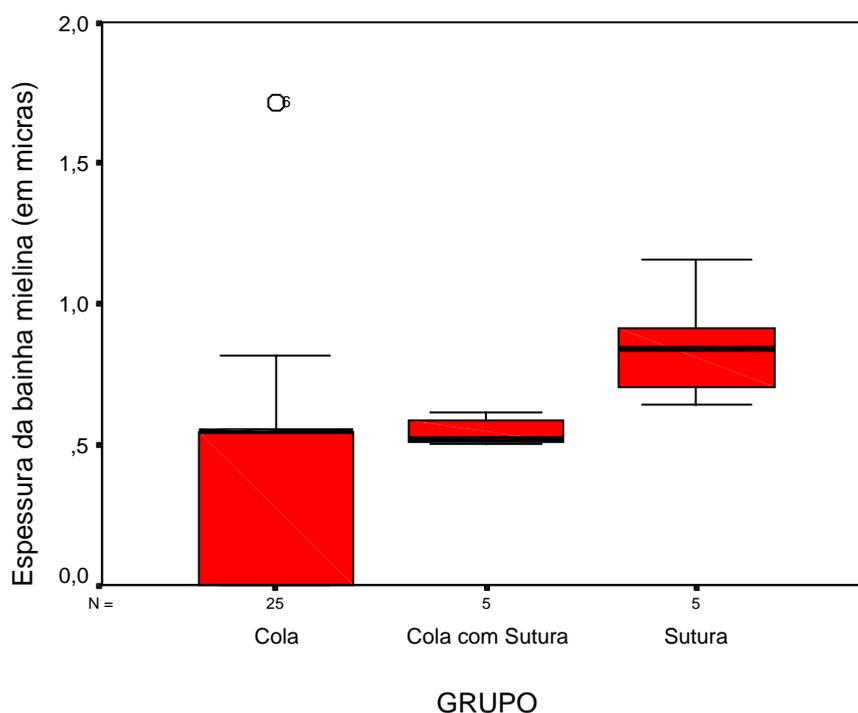


Gráfico 2 – BOXPLOT apresentando valores mediano e quartis para espessura da bainha mielina dos grupos

Tanto quanto a média, mas de maneira mais consistente, a mediana apresentou diferença entre os grupos quanto à mielinização.

O grupo que realizou microneurografia com sutura revelou maiores espessuras da bainha de mielina após 90 dias (mediana: 0,8378). O grupo que realizou microneurografia com cola, ou cola com sutura, apresentou valores de espessura da bainha mielina muito semelhantes, 0,5455 e 0,5191 respectivamente. Foi identificada diferença significativa entre os grupos através do teste Kruskal-Wallis. Veja-se a tabela abaixo:

Tabela 4 – Comparação entre os grupos da espessura média da bainha de mielina

Comparação	Mediana (A)	Mediana (B)	p
Cola(A) vs. Cola com Sutura(B)	0,5455	0,5191	0,445
Cola(A) vs. Sutura(B)	0,5455	0,8378	0,004
Cola com Sutura(A) vs. Sutura(B)	0,5191	0,8378	0,009

Fonte: Elaborado pelo autor

* Valores p calculados a partir do teste Mann-Whitney.;

** Diferença estatisticamente significativa considerando o nível alpha de 0,05.

Utilizamos o teste Mann-Whitney para evidenciar a diferença entre cada grupo. Quando o grupo que utilizou cola foi comparado com o que utilizou cola com sutura, não foi encontrada significância estatística para diferença. Não obstante, o grupo que realizou microneurografia com sutura foi diferente dos demais significativamente como pode ser observado na tabela acima.

O outro fator avaliado foi a quantificação do número médio de axônios reinervados por milímetro quadrado. Com o objetivo de quantificação dessa variável, foi realizado e é apresentado, a seguir, uma avaliação estatística. Considerando-se que a distribuição nesta situação também não é guassiana, será realizado um estudo não paramétrico. Veja-se a tabela:

Tabela 5 – Número médio de axônios reinervados por milímetro quadrado, desvio-padrão, mínimo e máximo dos grupos

Grupo	Média	Desvio-Padrão	Mínimo	Máximo
Cola	12,95	10,74	0,00	32,79
Cola e Sutura	25,07	5,57	17,09	30,80
Sutura	21,17	6,83	13,05	30,30

Fonte: Elaborado pelo autor

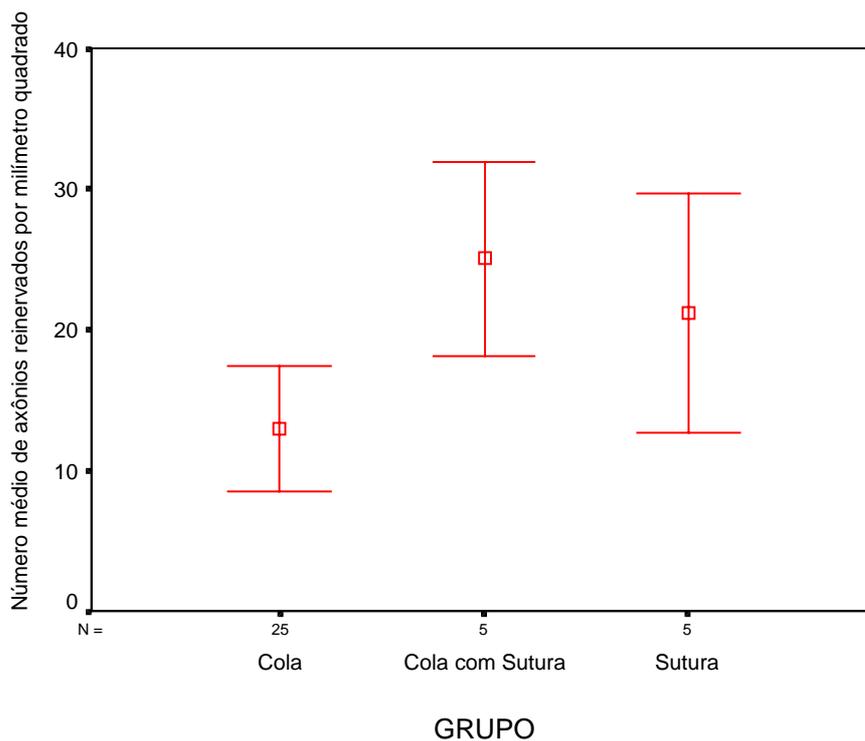


Gráfico 3 – Valores médios e intervalos de confiança para número médio de axônios reinervados por milímetro quadrado dos grupos.

Tabela 6 – Medianas de número médio de axônios reinervados por milímetro quadrado e intervalos e amplitudes interquartílicos dos grupos.

Grupo	Mediana	Intervalo Interquartílico	Amplitude Interquartílica
Cola	14	0-21	21
Cola e Sutura	27	20-30	10
Sutura	22	15-27	13

Fonte: Elaborado pelo autor

* Diferença significativa encontrada entre os grupos pelo teste Kruskal-Wallis.

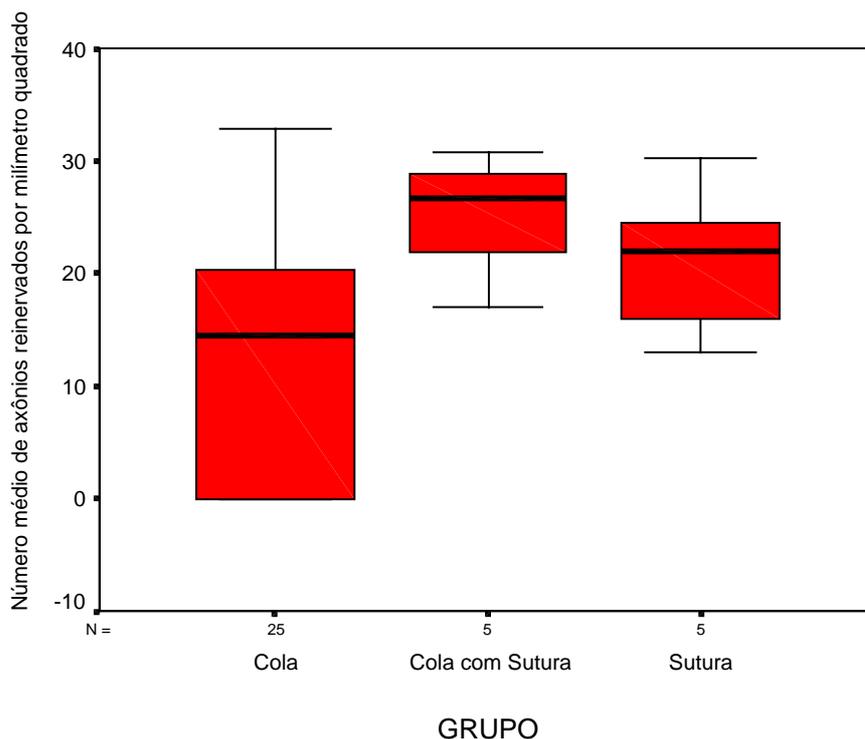


Gráfico 4 – BOXPLOT apresentando valores mediano e quartis para número médio de axônios reinervados por milímetro quadrado dos grupos

Tanto quanto a média, mas de maneira mais consistente, a mediana apresentou diferença entre os grupos quanto ao número de axônios reinervados.

O grupo que realizou microneurorrafia com cola mais sutura (B) revelou maior número de axônios reinervados, com uma mediana igual a 26,65. O grupo que realizou microneurorrafia com cola (A) percebeu uma mediana igual a 14,42; e o grupo que realizou com sutura (C), uma mediana igual a 22,03. Foi identificada diferença significativa entre os grupos através do teste Kruskal-Wallis.($p=0,035$). Veja-se a tabela:

Tabela 7 – Comparação entre os grupos do número médio de axônios reinervados por milímetro quadrado.

Comparação	Mediana (A)	Mediana (B)	p
Cola(A) vs. Cola com Sutura(B)	14	27	0,023
Cola(A) vs. Sutura(B)	14	22	0,124
Cola com Sutura(A) vs. Sutura(B)	27	22	0,421

Fonte: Elabora pelo autor

O grupo A (cola) quando comparado com o grupo B (cola mais sutura) apresentou diferença significativa. ($p=0,023$). Apesar da diferença observada entre as medianas do grupo A (cola) em relação ao grupo C (sutura), não houve diferença estatisticamente significativa.

5 DISCUSSÃO

A grande dúvida que surge ao término de uma anastomose nervosa diz respeito à qualidade de coaptação dos cotos possível de ser estabelecido com a nossa, mais ou menos apurada, técnica cirúrgica.

Na realidade, o processo regenerativo depende exclusivamente do crescimento de brotos nervosos, que avançam do território nervoso proximal, ultrapassam um espaço intermediário e penetram no território nervoso distal, iniciando um demorado mecanismo de preenchimento de canalículos conjuntivos, orientadores do caminho axonal a ser seguido.

Todo o conjunto de discussões sobre técnicas operatórias mais ou menos complexas, que permitam essa ou aquela coaptação, nada mais é do que uma reavaliação da necessidade de reorganização da arquitetura neural que, de alguma maneira e por alguma razão, está desestruturada.

Qual o melhor método para se conseguir esse objetivo? Ainda não sabemos. O número de trabalhos hoje disponíveis encontrados sobre o assunto é enorme, o que causa angústia naqueles que se propõem a reavaliar o tema. Isso deixa claro que, com relação a esse campo, as dúvidas persistem e não temos ainda nenhum consenso.

Portanto, de maneira simplista, podemos afirmar que, na neurografia, pretende-se a coaptação entre os cotos nervosos para permitir a regeneração. Diferentes métodos utilizados têm exata e rigorosamente esse objetivo de obter uma melhor coaptação.

Durante muito tempo, a única maneira utilizada para conseguir-se essa coaptação era a sutura tradicional. Nos últimos anos, o advento de métodos mais elaborados, como o uso da cola de fibrina, estabeleceu dúvidas sobre qual seria o método mais adequado para a obtenção de um melhor resultado.

Em última análise, os objetivos do uso da cola são:

- a) sustentação adequada da coaptação entre os cotos neurais;
- b) redução da necessidade de treinamento microcirúrgico.

Surge, nesse momento, a dificuldade na escolha do melhor método de quantificação de resultados que permita uma resposta confiável para essa série de dúvidas.

A mensuração do processo de regeneração neural é extremamente difícil e controversa. A literatura tem mostrado que a medida da espessura da bainha de mielina é um indicador adequado (VRIES, 2002). Por outro lado, o cálculo do número de brotos de axônios em crescimento em uma determinada superfície estabelecida também é uma variável capaz de ser medida, apresentando resultados dignos de confiança.

Esse estudo foi estruturado com o objetivo de comparação entre o uso da cola de fibrina e a técnica convencional de sutura nervosa com um fio microcirúrgico, e com associação entre a sutura e a cola.

Como variáveis mensuráveis foram escolhidas: a espessura da bainha de mielina e a quantificação do número de brotos axônicos.

Pode-se indagar o porquê da medição da espessura da bainha de mielina? A medida da espessura do broto axônico em crescimento é extremamente difícil, pois está sujeita a um viés importante: é praticamente impossível fazer-se um corte perpendicular ao broto axônico em crescimento. Se este corte fosse rigorosamente

perpendicular, a mensuração permitiria dados confiáveis. Entretanto, com a obliquidade do mesmo, fato que ocorre na maioria das vezes, a dimensão obtida não é fidedigna.

Por outro lado, quando se mede a espessura da bainha de mielina, a média dessa medida não se altera com a constante obliquidade do corte, tornando essa variável confiável.

Por tal razão a maioria dos trabalhos sobre esse tema utiliza a variável espessura da bainha de mielina como um parâmetro fidedigno.

Da mesma maneira, a outra variável quantificada foi o número de brotos axônicos em crescimento, medidos por milímetros quadrados. Esse fenômeno mostra a capacidade de crescimento do axônio que, do coto proximal, atravessando o espaço intersticial, e penetrando no canalículo conjuntivo distal, pode ser encontrado no coto distal do nervo e quantificado de maneira confiável.

Uma vez definidas as variáveis a mensurar, o primeiro item a ser desenvolvido é: qual a qualidade de coaptação que pode ser conseguida com a utilização da cola de fibrina?

O trabalho de Hamm et al. (1988), pode ser considerado um marco nesse parâmetro. Naquela ocasião foi afirmado que o elemento mais importante na manutenção da coaptação, quando da utilização da cola, era a ausência de tensão entre os cotos nervosos. Se não houvesse tensão, o índice de coaptação poderia ser considerado bom. Sempre que alguma tensão estivesse manifesta na zona de aproximação entre os cotos, deveria ser tomada alguma medida de contenção. O enxerto de nervo pode ser considerado uma solução adequada. Antes de Hamm, em 1986, Cruz, Debs e Fiol (1986) chegaram a um espantoso número de 80% de deiscências em casos de uso exclusivo de cola. Jin (1990) encontra 16% de

deiscência em um experimento que usa a cola de fibrina na coaptação de cotos nervosos. Já em 1997, Sames (1997) obteve 20% de deiscências em sua série experimental, mostrando que a tendência se repete em diferentes experimentos.

Comparativamente com o nosso experimento, chega-se à conclusão de que foram obtidos resultados com similaridade. Na nossa série, encontrou-se um índice de deiscência de 20%, com a utilização de cola. Se for considerada a liberdade permitida ao animal do experimento, no pós-operatório, pode ser entendido o alto índice de deiscência. Entretanto, este fator não é comparável ao cuidado que obviamente será estabelecido numa situação clínica, onde a imobilização da zona operatória permitiria esperar uma coaptação mais adequada.

Por outro lado, um elemento que corrobora esta conclusão encontra-se em nossa série, quando define que o maior número de axônios em crescimento foi encontrado no grupo B (cola mais sutura). É lógico esperar uma maior coaptação em extremidades fixadas com pontos e com a adesão estabelecida pela cola de fibrina.

Nos 6 casos do grupo A (coaptação mediante a utilização exclusiva de cola de fibrina) em que houve deiscência de aproximação, não ocorreu nenhum tipo de regeneração no coto distal. Esse achado histológico era previsível e de fácil entendimento. Provavelmente, no coto proximal houve uma intensa formação de neuroma. Entretanto, esse é o objeto de outro estudo a ser devidamente documentado e apresentado em outra apropriada ocasião.

Em relação a qualidade de coaptação e não impedimento de crescimento dos brotos axônicos no território do interstício, o trabalho de Modders, Mattox e Lyles (1989), já tenta administrar o problema. Os resultados publicados na época provam que a cola não é agente impermeabilizante. Várias outras publicações corroboram este fato. Entretanto, Zhou (1990) publica um trabalho clássico no qual, comparando

cola com sutura, conclui que a sutura à eletrocondução dá uma melhor resposta, entretanto quando se quantifica o número de axônios regenerados, não há uma diferença significativa nos resultados. A dúvida que persiste a partir desse momento é saber se a cola seria, ou não, o elemento responsável pela dificuldade de passagem do broto em crescimento.

Retornando à nossa pesquisa, cabe registrar que o grupo C (sutura) apresentou espessura da bainha de mielina significativamente maior do que os demais grupos. Tendo-se em vista que a espessura da bainha de mielina é um dos nossos parâmetros para indicar reinervação, poder-se-ia afirmar que no grupo C (sutura) houve maior regeneração, tanto na avaliação da média como da mediana.

Entretanto, quando foi estudada a variável número médio de axônios reinervados por milímetro quadrado, o grupo B (cola mais sutura) apresentou maior reinervação que os demais. Não obstante, essa diferença foi significativa apenas em relação ao grupo A (cola).

Podemos ainda afirmar que o tempo gasto para o procedimento com cola (A), apesar de não ser mensurado neste experimento, é muito menor e capaz de ser realizado sem o treinamento de micromanipulação, fator exigido na sutura convencional miocirúrgica, grupos B e C. Narakas (1988), havia quantificado esse tempo em 3 vezes menor quando da utilização só da cola (A), comparativamente com a sutura (C). O fato de se poder usar a cola, sem o desgastante e minucioso treinamento necessário para a microcirurgia neural pode ser considerado um fator importante.

Talvez o que podemos esperar em termos de evolução em todo esse processo é a interposição no espaço intersticial, junto com a cola, de fatores neurotróficos que permitiriam a aceleração do brotamento. Os experimentos atuais de Iwakawa (2001),

Yin (2001) e Chuang (2002), em 2001, permitem essa afirmativa. Fatores neurotróficos estão sendo pesquisados e espera-se, para um futuro próximo, sua produção industrial e sua utilização rotineira.

Para avaliar a correlação entre as duas variáveis utilizadas para mensurar a reinervação foi utilizado o coeficiente de correlação não-paramétrico de Spearman. Foi encontrada uma correlação média entre a espessura da bainha de mielina e o número médio de axônios reinervados, $r=0,44$. O coeficiente de determinação observado foi $r^2=0,1936$. Esses resultados nos permitem afirmar que apenas 19,4% das variações da espessura média da bainha de mielina podem ser explicadas pelo número médio de axônios reinervados. Considerando-se que, no processo de brotamento, um grande número de axônios que inicialmente penetraram no espaço intersticial e chegaram no coto distal, não sofrerá a adequada mielinização e continuidade de crescimento. Por isso a contagem do número médio desses axônios, apesar de ser considerável, não configura medida consistente de reinervação. Os coeficientes encontrados têm, portanto, uma absoluta coerência com os nossos achados e os da literatura.

6 CONCLUSÃO

A mediana da espessura da bainha de mielina encontrada em nervos do grupo A (cola) foi de 0,5455 e a mediana do número médio de axônios reinervados por milímetro quadrado foi de 14.

Quando comparados os resultados acima apresentados com o grupo B (cola mais sutura) e o grupo C (sutura), identificou-se que o grupo A (cola) apresentou menor reinervação.

REFERÊNCIAS

ALAZZI, S.; VILA-TORRES, J.; LORENZO, J. C. Fibrin Glue is a sealant and not a nerve barrier. **Journal of Reconstructive Microsurgery**, New York, v. 11, n. 2, p. 135-139, Mar.1995.

BECKER, C. M.; GUEUNING, C. O.; GRAFF, G. L. Sutures of fibrin glue for divided rat nerves: schwann cell and muscle metabolism. **Journal of reconstructive microsurgery**, New York, v. 1, n. 2, p. 139-145, Oct. 1984.

_____. Sutures or fibrin glue for divided rat nerves: Schwann cell and muscle metabolism. **Microsurgery**, New York, v. 6, n. 1, p. 1-10, 1985.

BENFRECH, E.; ALNOT, J. Y.; HENIN, D. [An experimental study of nerve sutures and grafts of the sciatic nerve in the rat using fibrin glue]. **Annales de chirurgie de la main: organe officiel des societes de chirurgie de la main**, v. 8, n. 4, p. 296-269, 1989.

BENTO, R. F.; MINITI, A. Anastomosis of the intratemporal facial nerve using fibrin tissue adhesive. **Ear, Nose, & Throat Journal**, Chicago v. 72, n. 10, p. 663, Oct. 1993.

_____. Comparison between fibrin tissue adhesive, epineural suture and natural union in intratemporal facial nerve of cats. **Acta oto-laryngologica. Supplementum**, v. 465, p. 1-36, 1989.

BERTELLI, J. A.; MIRA, J. C. Nerve repair using freezing and fibrin glue: immediate histologic improvement of axonal coaptation. **Microsurgery**, New York, v. 14, n. 2, p. 135-140, 1993.

BOEDTS, D. A comparative experimental study on nerve repair. **Archives of oto-rhino-laryngology**, Germany, v. 244, n. 1, p. 1-6, 1987.

CASTALDO, J. E.; OCHOA, J. L. Mechanical injury of peripheral nerves: fine structure and dysfunction. In: Terzis, J. K. **Microreconstruction of nerve injuries**. Philadelphia, W.B. Saunders, 1987. p. 15-31.

CHENG, H. et al. The effect of glial cell line-derived neurotrophic factor in fibrin glue on developing dopamine neurons. **Experimental Brain Research**, New York, v. 104, n. 2, p. 199-206, 1995.

CHUANG, T. Y. et al. Forelimb muscle activity following nerve graft repair of ventral roots in the rat cervical spinal cord. **Life Science**, Elmsford, v. 71, n. 5, p. 487-496, 21 June 2002.

CLARKE, E.; O'MALLEY, C. D. **The human brain and spinal cord**: a historical study. Berkeley: University of California, 1968.

CRUZ, N. I.; DEBS, N.; FIOL, R. E. Evaluation of fibrin glue in rat sciatic repairs. **Plastic and reconstructive surgery**, Baltimore, v. 78, n. 3, p. 369-373, Sept. 1986.

DAUNOIS, O.; SEBILLE, A. [Improvement of muscular re-innervation by using an enriched biological glue in the rat]. **Annales de chirurgie de la main et du membre superieur**, Paris, v. 10, n. 2, p. 113-117, discussion 117- 118, 1991.

de VRIES, J. Protective coating of cranial nerves with fibrin glue (Tissucol) during cranial base surgery: technical note. **Neurosurgery**, Baltimore, v. 43, n. 5, p. 1242-1246, Nov. 1998.

EGLOFF, D. V.; NARAKAS, A. Nerve anastomoses with human fibrin. Preliminary clinical report (56 cases). **Annales de chirurgie de la main**, Paris, v. 2, n. 2, p. 101-115, 1983.

FALDINI, A. et al. Comparative neurophysiological assessments of nerve sutures performed by microsurgical methods and with fibrin glue: experimental study. **Italian Journal of Orthopaedics and Traumatology**, Bologna, v. 10, n. 4, p. 527-532, Dec. 1984.

FELDMAN, M. D. et al. Autologous fibrin tissue adhesive for peripheral nerve anastomosis. **Archives of otolaryngology - head & neck surgery**, Chicago, v. 113, n. 9, p. 963-967, Sept. 1987.

FERREIRA, A. S. Fisiopatologia das lesões nervosas periféricas. In: FERREIRA, A. S. Lesões nervosas periféricas diagnóstico e tratamento. Porto Alegre: Santos, 1999. p. 1-9.

HAMM, K. D et al. Experimental studies in animals on the use of a fibrin glue from the human plasma fraction Cohn I in nerve reconstruction. **Folia Haematologica** (Leipzig, Germany: 1928), Leipzig v. 115, n. 1-2, p. 208-212, 1988.

HAMM K. D.; BEER, R.; POTHE, H. [Microsurgical suture and fibrin gluing of nerve anastomoses: animal experiment study using Cohn I Human plasma fraction]. **Zentralblatt fur Neurochirurgie**, Germany, v. 48, n. 3, p. 206-218, 1987.

HASHIMOTO, T. et al. Peripheral nerve regeneration through alginate gel: analysis of early outgrowth and late increase in diameter of regenerating axons. **Experimental Brain Research = Experimentelle Hirnforschung**, New York, v. 146, n. 3, p. 356-368, Oct. 2002.

HERTER, T. [Modifying regeneration success of glued nerve anastomosis by local corticoid administration]. **Unfallchirurgie**, Germany, v. 16, n. 3, p. 144-150, June 1990.

_____. Problems of fibrin adhesion of the nerves. **Neurosurgical review**, Berlin, v. 11, n. 3-4, p. 249-258, 1988.

HERTER, T.; ANAGNOSTOPOULOS-SCHLEEP, J.; BENNEFELD, H. The effect of fibrin gluing and its important components on fibrosis of nerve anastomoses], **Unfallchirurgie**, Germany, v. 15, n. 5, p. 221-229, Oct. 1989.

HUETER, K. **Die algemeine**: chirurgie. [S.I.]: Vogel Verlag, 1873.

ISARANGKURA, P. et al. Low cost locally prepared fibrin glue for clinical applications: reported of 145 cases. Committee of Bangkok International Hemophilia Training Center. **Journal of the Medical Association of Thailand**, Bangkok, v. 82 Suppl 1, p. S49-56, Nov. 1999.

IWAKAWA, M. et al. Intraspinal implants of fibrin glue containing glial cell line-derived neurotrophic factor promote dorsal root regeneration into spinal cord. Intraspinal implants of fibrin glue containing glial cell line-derived neurotrophic factor promote dorsal root regeneration into spinal cord. **Journal of Neurologic Rehabilitation**, New York, v. 15, n. 3, p. 173-182, 2001.

JABALEY, M. E. Nervos periféricos. In: McCARTHY, M. L. **Cirurgia Plástica**. Argentina: Panamericana, 1990. v. 1, p. 529.

JIN, Y. Comparative experimental study of nerve repairs by classical suture or biological adhesive. **Neuro-Chirurgie**, Paris, v. 36, n. 6, p. 378-382, 1990.

JOU, I. M. et al. The influence of delay and the effect of fibrin sealant on the cut surface of the peripheral nerve: an experimental study in the rat. **The Journal of Hand Surgery**, Edinburgh, v. 24, n. 6, p. 707-711, Dec. 1999.

KUCZYNSKI, K. Functional Micro-anatomy of the peripheral nerve trunks. **The Hand**, England, v. 6, n. 1, p. 1-10, Feb. 1974.

MARAGH, H. et al. Morfhofunctional evaluation of fibrin glue versus microsuture nerve repairs. **Journal of reconstructive microsurgery**, New York, v. 6, n. 4, p. 331-337. Oct. 1990.

MATTAR JUNIOR, R.; AZZE, R. J. **Lesão dos nervos periféricos**. Disponível em: [http://<http://www.cirurgiadamao.org.br/corso%20traumatologia/modulo3/modulo3.htm>](http://www.cirurgiadamao.org.br/corso%20traumatologia/modulo3/modulo3.htm). Acesso em: 10 out. 2003.

McCARTHY, M. L. **Cirurgia Plástica**. Argentina: Panamericana, 1990. v. 1

MENOVSKY, T.; BARTELS, R. H. Stabilization and accurate trimming of nerve ends: practical use of fibrin glue: technical note. **Neurosurgery**, Baltimore, v. 44, n. 1, p. 224-225, Jan. 1999.

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.

MODDERS, G.; MATTOX, D. E.; LYLES, A. Effects of fibrin glue on rat facial nerve regeneration. **Otolaryngology and head and neck surgery**, Rochester, v. 100, n. 2, p. 106-109, Feb. 1989.

MOSS, A. L. The preparation of divided nerve ends. **British journal of plastic surgery**, Edinburgh, v. 43, n. 2, p. 247-249, Mar. 1990.

MOY, O. J. et al. Fibrin seal adhesive versus nonabsorbable microsuture in peripheral nerverepair. **The Journal of hand surgery**, Saint Louis, v. 13, n. 2, p. 273-278, Mar. 1988.

MURRAY, J. A.; WILLINS, M.; MOUNTAIN, R. E. A comparison of glue and a tube as an anastomotic agent to repair the divided buccal branch of the rat facial nerve. **Clinical Otolaryngology and Allied Sciences**, Oxford, v. 19, n. 3, p. 190-192, June 1994.

NARAKAS, A. The use of fibrin glue in repair of peripheral nerves. **The Orthopedic Clinics of North America**, Philadelphia, p. 187-199, Jan. 1988.

NISHIHARA, S. [Experimental study of motor nerve repair: comparison of nylon suture and two component fibrin adhesive techniques]. **Nippon Jibiinkoka Gakkai kaiho**, Japan, v. 91, n. 8, p. 1208-1212, Aug. 1988.

NISHIHARA, S.; McCaffrey, T. V. Repair of motor nerve defects: comparison of suture and fibrin adhesive techniques. **Otolaryngology and head and neck surgery**, Rochester, v. 100, n. 1, p. 17-21, Jan. 1989.

PALAZZI, S.; VILA-TORRES, J.; LORENZO, J. C. Fibrin Glue is a sealant and not a nerve barrier. **Journal of Reconstructive Microsurgery**, New York, v. 11, n. 2, p. 135-139, Mar.1995.

POVLSEN, B. A new fibrin seal in primary repair of peripheral nerves. **The Journal of hand surgery**, Edinburgh, v. 19, n. 1, p. 43-47, Feb. 1994.

ROBINSON, G. A.; MADISON, R. D. Survival of adult rat retinal ganglion cells with regrown axons in peripheral nerve grafts: a comparison of graft attachment with suture of fibrin glue. **Journal Of Neurosurgery**, Charlottesville, v. 93, n. 2, p. 275-278, Aug. 2000.

SAMES, M. et al. Comparison of microsurgical suture with fibrin glue connection of the sciatic nerve in rabbits. **Physiological research**, Praha, v. 46, n. 4, p. 303-306, 1997.

SEDDON, H. J. Three types of nerve injury. **Brain: a journal of neurology**, Oxford, v. 66, p. 237-288, 1943.

SMAHEL, J.; MEYER, V. E.; BACHEM, U. Glueing of peripheral nerves with fibrin: experimental studies. **Journal of reconstructive microsurgery**, New York, v. 3, n. 3, p. 211-220, Apr. 1987.

STERKERS, O. [Anastomosis of the facial nerve using fibrin glue, apropos of 60 cases]. **Revue de laryngologie - otologie - rhinologie**, Paris, v. 111, n. 5, p. 433-435, 1990.

STERKERS, O.; BECHEREL, P.; STERKERS, J. M. [Repair of the facial nerve exclusively by fibrin glue: 56 cases]. **Annales d'oto-laryngologie et de chirurgie cervico faciale** : bulletin de la Societe d'oto-laryngologie des hopitaux de Paris, Paris, v. 106, n. 3, p. 176-81, 1989.

SURI, A.; MEHTA, V. S.; SARKAR, C. Microneural anastomosis with fibrin glue: an experimental study. **Neurology India**, Madras, v. 50, n. 1, p. 23-26, Mar. 2002.

TERRIS, D. J.; FEE JR., W. E. Current issues in nerve repair. **Archives of otolaryngology - head & neck surgery**, Chicago, v. 119, n. 7, p. 725-31, July 1993.

TETIK, C. et al. Conventional versus epineural sleeve neurorrhaphy technique: functional and histomorphometric analysis. **Annals of Plastic Surgery**, Boston, v. 49, n. 4, p. 397-403, Oct. 2002.

TUGANOWSKI, W.; WLODARCZYK, J.; WOJCIK, B. Use of fibrin glue in sucrose gap method. **Acta physiologica Polonica**, Warszawa, v. 39, n. 4, p. 307-310, July/Aug. 1988.

VANDERTOP, W. P. et al. Experimentally-induced autonomic neuropathy: beneficial effect of a topical ACTH4-9 analogue on oculomotor nerve regeneration. **Neurosurgery**, Baltimore, v. 35, n. 3, p. 457-461; discussion 462, Sept. 1994.

VENTURA, R.; TORRI, G. Camparia, Giandomenico A, Peretti G. – Experimental suture of the peripheral nerves with “fibrin glue” – **Italian Journal of Orthopaedics and Traumatology**, Bologna, v. 6, n. 3, p. 407-414, Dec. 1980.

VRIES, J. et al. Histological effects of fibrin glue on nervous tissue: a safety study in rats. **Surgical Neurology**, New York, v. 57, n. 6, p. 415-422, discussion 422, June 2002.

WALLER, A. Experiments on the section of the glossopharyngeal and hypoglossal nerves of the frog and observations of the alterations produced thereby in the structure of their primitive fibres. **Philosophical transactions of the Royal Society of London**, London, v. 140, p. 423-425, 1850.

WIEKEN, K. et al. Nerve anastomosis with glue: comparative histologic study of fibrin and cyanoacrylate glue. **Journal of Reconstructive Microsurgery**, New York, v. 19, n. 1, p. 17-20, Jan. 2003.

WŁODARCZYK, J. Effects of tissue glues on electrical activity in isolated nerve. **Polimery w medycynie**, Praga, v. 21, n. 3-4, p. 37-41, 1991.

YIN, Q. et al. Neurotrophin-4 delivered by fibrin glue promotes peripheral nerve regeneration. **Muscle & Nerve**, New York, v. 24, n. 3, p. 345-351, Mar. 2001.

ZENG, L. et al. Fibrin sealant matrix supports outgrowth of peripheral sensory axons. **Scandinavian journal of plastic and reconstructive surgery and hand surgery**, Stockholm, v. 29, n. 3, p. 199-204, Sept. 1995.

ZHANG, C.; GU, Y.; CHEN, L. Experimental study of fibrin glue adhesion with epineural anchor suture to repair peripheral nerves. **Chung Kuo Hsiu Fu Chung Chien Wai Ko Tsa Chin**, Japão, v. 12, n. 3, p. 129-32, May 1998.

ZHOU, S. [Anastomosis of peripheral nerves by fibrin glue. An experimental study]. **Zhonghua wai ke za zhi**, China, v. 28, n. 11, p. 689-692, 704, Nov. 1990.

APÊNDICE A

Tabela geral do todos os ratos

Número	Espessura da bainha de mielina	Número médio de axônios reinervados por mm ²	Área total medida (em micras quadradas)	Total de fibras mielinizadas na área total	GRUPO
1	0,5455	32,79	4422,6439	145	Cola
2	0,0000	0,00			Cola
3	0,5750	30,88	4370,7765	135	Cola
4	0,5455	19,25	7463,1070	143	Cola
5	0,5455	24,68	2957,6200	73	Cola
6	1,7153	14,42	8874,9420	128	Cola
7	0,7273	20,23	2669,3550	54	Cola
8	0,7497	17,91	2344,6280	42	Cola
9	0,3636	19,02	3575,7021	68	Cola
10	0,4066	16,31	1839,6694	30	Cola
11	0,5455	8,78	10936,8260	96	Cola
12	0,4066	23,16	4015,3719	93	Cola
13	0,4066	9,67	7135,5730	69	Cola
14	0,5455	11,14	12567,3714	140	Cola
15	0,5455	20,89	8617,1900	180	Cola
16	0,5455	28,25	4530,3800	128	Cola
17	0,8131	15,39	12412,1969	191	Cola
18	0,5143	9,15	4372,0994	40	Cola
19	0,5455	1,86	5928,4630	11	Cola
20	0,0000	0,00			Cola
21	0,0000	0,00			Cola
22	0,0000	0,00			Cola
23	0,0000	0,00			Cola
24	0,0000	0,00			Cola
25	0,0000	0,00			Cola
1	0,5011	26,65	6304,9910	168	Cola+Sutura
2	0,5822	17,09	5325,0249	91	Cola+Sutura
3	0,5191	28,93	5634,3801	163	Cola+Sutura
4	0,5085	30,80	6236,3963	242	Cola+Sutura
5	0,6148	21,87	2560,8599	56	Cola+Sutura
1	0,9106	16,04	10659,4720	171	Sutura
2	1,1566	13,05	9345,7850	122	Sutura
3	0,6435	22,03	7761,8178	171	Sutura
4	0,7063	30,30	2640,7269	80	Sutura
5	0,8378	24,41	3482,9094	85	Sutura

Fonte: Estudo histopatológico efetuado pelo autor