

## Regeneração de nervo periférico por meio da coaptação com cola de fibrina

Regeneration of peripheral nerve by using coaptation with fibrin glue

Eduardo José Danza Vicente<sup>1</sup>  
 Antonio de Castro Rodrigues<sup>2</sup>  
 Priscila Cadima Vicente<sup>3</sup>  
 Cláudia Helena Cerqueira Mármora<sup>1</sup>  
 Paula Silva de Carvalho Chagas<sup>1</sup>  
 Sueli Maria dos Reis Santos<sup>4</sup>

### RESUMO

#### palavras-chave

Regeneração nervosa

Nervo fibular

Cola de fibrina

Vários trabalhos têm sido realizados nas últimas décadas, com intuito de se obter uma técnica de reparo em lesões de nervos periféricos que traga como resultado uma melhor recuperação funcional das estruturas inervadas por tais nervos. O objetivo deste trabalho foi verificar a eficácia da coaptação com cola de fibrina derivada do veneno de serpente no reparo de lesões no nervo fibular. Foram utilizados dez ratos Wistar, que tiveram o nervo fibular esquerdo seccionado e reparado imediatamente pela cola e o nervo fibular direito serviu como controle. Após dez semanas, o nervo fibular foi coletado para análise morfológica. Pode-se observar nos nervos reparados pela cola fibras nervosas mielínicas e amielínicas regeneradas, com grande quantidade de tecido conjuntivo no meio extracelular. A coaptação nervosa pelo uso da cola de fibrina regenerou o nervo fibular lesado. Entretanto, o padrão morfológico da regeneração foi inferior quando comparado com o nervo fibular sem lesão.

### ABSTRACT

#### keywords

Nerve regeneration

Peroneal nerve

Fibrin glue

Many advances in the last decades have attempted to obtain a repair technique for lesions of peripheral nerves that results in better functional recovery of the structures innervated of such nerves. The main objective of this work is to compare the effectiveness of the coaptation with fibrin glue, derived from snake poison, in the repair of the peroneal nerve. Ten Wistar rats had their left peroneal nerve sectioned and repaired immediately with the glue, the right nerve serving as control. After ten weeks the peroneal nerve was collected for morphological analysis. In the nerves that were repaired with the glue, there were myelinated and unmyelinated regenerated nerve fibers, with a great amount of conjunctive tissue in the extracellular space. The nerve coaptation by the use of fibrin glue regenerated the lesion in the peroneal nerve, however the morphological pattern of the regeneration was compared to the peroneal nerve without lesion.

### INTRODUÇÃO

As fibras nervosas do sistema nervoso periférico (SNP) apresentam uma grande capacidade de regeneração quando comparadas com as fibras do sistema nervoso central (SNC) conforme Da-Silva, (1995) e Ide *et al.* (1990), sendo essa uma das principais características que distingue o SNP do SNC. Essa diferença na capacidade de regeneração das fibras, até certo ponto, pode ser atribuída à diferenciação na organização citológica dos dois sistemas (IDE *et al.*, 1990).

Após uma lesão, o equilíbrio do neurônio é quebrado e, como resposta, observa-se uma ação coordenada visando à sobrevivência e à restauração da função. Waller (1850) foi o primeiro a descrever essas ações, induzindo alterações nos mecanismos intracelulares, caracterizados por modificações na morfologia dos constituintes nervosos, tanto proximal quanto distal.

Diante deste quadro, vários trabalhos têm sido realizados nas últimas décadas, com intuito de se obter uma técnica de reparo em lesões de nervos periféricos que

1 Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Medicina. Departamento de Fisioterapia. E-mail: eduardo.vicente@ufjf.edu.br

2 Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia, Baurú.

3 Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu.

4 Universidade Federal de Juiz de Fora. Faculdade de Enfermagem. Departamento de Enfermagem Materno-Infantil e Saúde Pública.

traga como resultado uma melhor recuperação funcional das estruturas inervadas por tais nervos (SEDDON, 1943). Assim, técnicas envolvendo membrana cartilaginosa (BUNNELL; BOYES, 1939), enxerto arterial (RODRIGUES; SILVA, 2001), microssuturas, (YUKSEL *et al.*, 2000) e tubos de pericárdio bovino (VIRMOND; PEREIRA, 2000) são utilizadas em vários modelos experimentais.

Estudos com a utilização da técnica de adesivos para reparos teciduais remontam a 1940, quando se tentou utilizar plasma enriquecido com fibrinogênio heterólogo (YOUNG; MEDAWAR, 1940), sem a obtenção dos resultados esperados. Posteriormente, utilizou-se plasma enriquecido com fibrinogênio homólogo, porém os resultados permaneceram inalterados (TARLOV, 1944).

A partir de 1970, o adesivo de fibrina passou a ser estudado, sendo que em sua composição encontram-se: fibrinogênio, fator XIII, aprotinina, fibronectina, plasminogênio, trombina seca e cloridrato de cálcio (ELLIS; PELAUSA, 1988).

O objetivo deste trabalho foi verificar a eficácia de um novo adesivo biológico, a cola de fibrina derivada do veneno de serpente (*Crotalus durissus terrificus*), desenvolvido no Centro de Estudos de Veneno e Animais Peçonhentos (CEVAP), Universidade do Estado de São Paulo (UNESP)-Botucatu, no reparo de lesões no nervo fibular.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados dez ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), fêmeas, com peso entre 200g e 250g, provenientes do Biotério Central da UNESP - Campus de Botucatu/SP.

Os animais foram previamente pesados e anestesiados com pentobarbital intraperitonealmente (30mg/kg). O nervo fibular esquerdo foi exposto, individualizado, seccionado e reparado logo em seguida, pela aplicação de uma gota de cola de fibrina entre as extremidades seccionadas do nervo. Com o término da cirurgia, a musculatura foi reposicionada e a pele foi suturada com fios de nylon 4-0. O nervo fibular direito do mesmo animal serviu como controle.

Os animais foram mantidos em caixas com água e ração “*ad libitum*”, respeitando-se ciclos de 12 horas de luz. Decorridas dez semanas pós-cirurgia, os animais foram sacrificados por inalação de éter etílico.

Para as observações morfológicas, os nervos fibulares foram coletados sempre distalmente ao local das intervenções cirúrgicas e fixados com glutaraldeído a 2,5% em tampão fosfato de sódio, 0,1 molar, em pH 7,38, por quatro horas, e pós-fixados em tetróxido de ósmio 1%, diluído em tampão fosfato de sódio, 0,1 molar, em pH 7,38, por duas horas. Em seguida, as peças foram desidratadas em séries de concentração crescentes de acetona e incluídas em resina (araldite 506).

Cortes com 0,5µm de espessura foram então submetidos a colorações com azul de toluidina e azul II. Os cortes semifinos foram analisados e fotografados em microscópio de luz (ML) Olympus BH-2 (Micronal-Metter do Brasil). Os mesmos blocos foram então preparados

para cortes transversais ultrafinos, 50-80nm (Micrótomo Leica Ultracut UCT) equipado com navalha de diamante, e corados com acetato de uranila e citrato de chumbo. A análise e fotodocumentação dos cortes ultrafinos foram realizadas em microscópio eletrônico de transmissão (MET) Phillips EM 301.

## RESULTADOS

Os nervos fibulares controle, analisados em secções transversais, com ML, apresentaram os fascículos nervosos bem delimitados, com fibras nervosas agrupadas e uma pequena quantidade de tecido conjuntivo no meio extracelular (Figura 1).

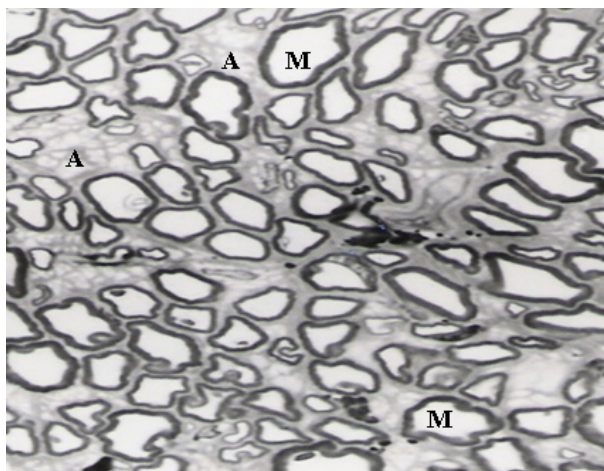


Figura 1 - Secção transversal semi-fina para ML do nervo fibular controle (Azul de toluidina e azul II). Fibras nervosas mielínicas (M) e amielínicas agrupadas, pequena quantidade de tecido conjuntivo (TC) no meio extracelular, 400X.

No MET, os nervos apresentaram tanto axônios mielínicos quanto amielínicos, dispostos internamente aos fascículos. Contrariamente aos axônios mielínicos, os amielínicos foram encontrados agrupados. Entre eles, fibrilas de colágeno dispostas paralelamente entre si e ao eixo longitudinal do nervo (Figura 2).

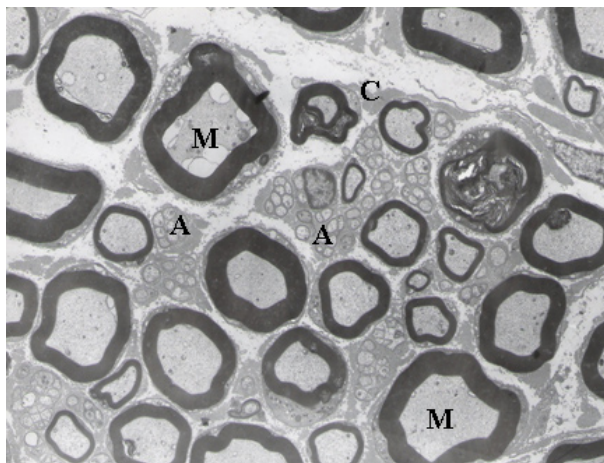


Figura 2 - MET do nervo fibular controle. Fibras nervosas mielínicas (M) e amielínicas (A) agrupadas, presença de fibrilas de colágeno organizadas de forma compacta (C), 13.000X.

Os cortes transversais feitos nos nervos fibulares reparados pela cola, em ML, mostraram uma fascicularização completa tanto nas áreas centrais como nas periféricas do nervo. As fibras mielínicas apresentavam-se menos compactadas, separadas por maior quantidade de tecido conjuntivo. Essas fibras possuíam claramente diâmetro axonal e espessura de bainha de mielina menor do que aquelas encontradas no controle (Figura 3).

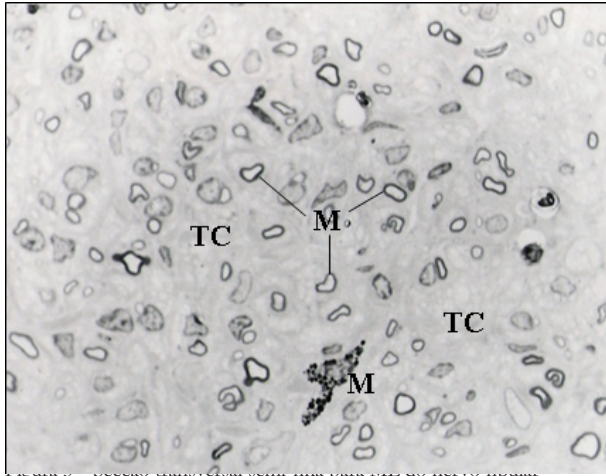


Figura 3 - Secção transversal com microscópio para luz do nervo fibular reparado pela cola de fibrina (Azul de toluidina e azul II). Poucas fibras nervosas mielínicas (M) separadas por grande quantidade de tecido conjuntivo (TC) no meio extracelular. Pode-se observar um mastócito (M), 400X.

Na MET, a microfascicularização também foi nítida, envolvendo conjuntos de fibras nervosas. As fibrilas de colágeno, presentes no meio extracelular, separavam os axônios mielínicos e amielínicos (Figura 4).



Figura 4 - MET do nervo fibular reparado pela cola de fibrina. Fibras nervosas mielínicas (M) e algumas amielínicas (A), presença de fibrilas de colágeno organizadas de forma compacta (C). Microfascicularização (MF) envolvendo algumas fibras nervosas. 14.500X.

## DISCUSSÃO

Morandini e Ortiz (1992) defendem o uso do adesivo de fibrina, destacando como suas vantagens: a síntese tecidual mais rápida e eficiente; a boa aderência e a reprodução das

reações finais do processo normal de coagulação. Todas essas vantagens foram confirmadas no presente estudo, embora utilizando outro adesivo. O tempo de cirurgia gasto para o reparo nervoso, usando a técnica de coaptação com o adesivo, é mais rápido do que a técnica de sutura epineural. Para alguns autores (SMAHEL *et al.* 1987; MOY *et al.*, 1988), o tempo de cirurgia diminuído constitui um fator importante em termos da qualidade da regeneração nervosa.

Foi possível observar uma fascicularização nítida, tanto em áreas centrais como em áreas periféricas, nos nervos fibulares reparados pela cola, que se assemelhou muito com os nervos fibulares controle. De acordo com Stoll *et al.* (1989), os nervos regenerados apresentam fibras mielínicas e amielínicas agrupadas de forma a constituir microfascículos. Morris *et al.* (1972) descreveram esse fato como um possível processo de compartimentalização, que visa o restabelecimento da homeostase do ambiente de regeneração nervoso. Nesse aspecto, a reorganização da região lesada em tempo hábil é feita por células não neurais do nervo, proporcionando, portanto, um microambiente adequado para o crescimento axonal, o que é fundamental para a regeneração axonal (FAWCETT; KEYNES, 1990).

Fields *et al.* (1989) descreveram que uma fascicularização completa, envolvendo todas as fibras nervosas, somente se faz presente em nervos com 5 a 6 semanas de regeneração. De acordo com Langone (1991), a formação dos fascículos está diretamente relacionada com as condições em que ocorreu a regeneração axonal.

## CONCLUSÃO

A técnica de coaptação nervosa pelo uso da cola de fibrina derivada de veneno de serpente regenerou o nervo fibular lesado. Entretanto, o padrão morfológico da regeneração foi inferior quando comparado com o nervo fibular sem lesão.

## REFERÊNCIAS

- BUNNELL, S.; BOYES, J. H. Nerve grafts. *Am J Surg*, v.44, suppl.1, p.64-75, 1939.
- DA-SILVA, C.F. Regeneração do sistema nervoso central. *Atual Neurociênc* v.1, p.1-16, 1995
- ELLIS, D. A. F.; PELAUSA, E. O. Fibrin glue in fascial plastic and reconstructive surgery. *J Otolaryngol*, Toronto, v.17, p.74-7, 1988.
- FAWCETT, J. W.; KEYNES, R. J. Peripheral nerve regeneration. *Ann Rev Neurosc*, v.13, p.43-60, 1990.
- FIELDS, R. D.; LE BEAU, J. M.; LONGO, F. M.; ELLISMAN, M.H. Nerve regeneration through artificial tubular implants. *Progr Neurobiol*, v.33, p.87-137, 1989.



- IDE, C.; OSAWA, T.; TOHYAMA, K. Nerve regeneration through allogeneic nerve graft, with special reference to the role of the Schwann cell basal lamina. **Progr Neurobiol**, v.34, p.1-38, 1990.
- LANGONE, F. **Estudo ultra-estrutural e morfométrico dos nervos regenerados no interior de próteses tubulares**. São Paulo, 1991. 201p. Tese (Doutorado)-Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.
- MORANDINI, W., ORTIZ, V. Adesivos biológicos em cirurgia. **Acta Cir bras**, São Paulo, v.7, p.81-5, 1992.
- MORRIS, J. H.; HUDSON, A. R., WEDDELL, G. A. Study of degeneration and regeneration in the divided rat sciatic nerve based on electron microscopy. II. The development of the "regenerating units". **Z Zellforsch Mikrosk Anat**, v.124, p.103-30, 1972
- MOY, O. J.; PEIMER, C. A.; KONIUCH, M. P.; HOWARD, C., ZIELEZNY, M.; KATIKANENI, D. R. Fibrin seal adhesive versus nonabsorbable microsuture in peripheral nerve repair. **J hand surg**, v.13, p. 273-8, 1988.
- RODRIGUES, A. C.; SILVA, M. D. Inside-out versus standard artery graft to repair a sensory nerve in rats. **Microsurgery**, New York, v. 21, p.102-107, 2001.
- SEDDON, H. J. Three types of nerve injury. **Brain**, v.66, p.237-88, 1943.
- SMAHEL, J.; MEYER, V. E.; BACHEM, U. Glueing of peripheral nerves with fibrin: experimental studies. **J reconstr Microsurg**, New York, v..3, p.211-20, 1987.
- STOLL, C.; GRIFFIN, J. W.; LI, C. Y.; TRAPP, B. D. Wallerian degeneration in the peripheral nervous system: participation of both Schwann cells and macrophages in myelin degradation. **J neurocytol**, London, v.18, p.671-83, 1989.
- TARLOV, I. M. Plasma clot of nerves: illustrated technique. **Surgery**, v.15, p.257-69, 1944.
- VIRMOND, M.; PEREIRA, H. R. Tubular repair of the sciatic nerve in the rat with preserved bovine pericardium. In: WORKSHOP INTERNACIONAL DE MICROCIRURGIA E CIURGIA DE MÃO, 5., 2000, Botucatu. **Anais...** Botucatu, 2000. p.27.
- WALLER, A. V. Experiments on the section of glossopharyngeal and hypoglossal nerves of the frog, and observations of the alterations produced thereby in the structure of their primitive fibers. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci**, v.140, p.423-9, 1850.
- YOUNG, J. Z.; MEDAWAR, P. B. Fibrin suture of peripheral nerves. **Lancet**, v.19, p.132-3, 1940.
- YUKSEL, F.; KARACAOGLU, M. E.; GULER, M. Nerve regeneration through side neurotomy sites in a rat model: a new concept in peripheral nerve surgery. In: WORKSHOP INTERNACIONAL DE MICROCIRURGIA E CIRURGIA DE MÃO, 5., 2000, Botucatu. **Anais...** Botucatu, 2000b. p.33.

Enviado em 04/10/2007

Aprovado em 18/12/2007