

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE BOTUCATU

FACULDADE DE MEDICINA

**JOSÉ SIDNEY ROQUE**

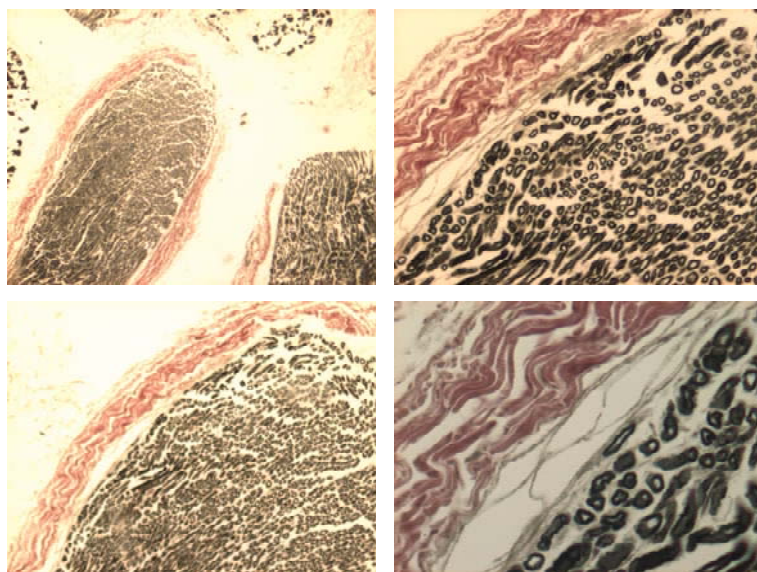
**ENXERTOS VENOSOS AO AVESSO E NORMAL, PREENCHIDOS COM  
PLASMA RICO EM PLAQUETAS EM NERVO MISTO DE RATO.**

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu-SP para obtenção do Título de Doutor em Bases Gerais da Cirurgia

Prof. Dr. FAUSTO VITERBO  
ORIENTADOR

**BOTUCATU**

2007



# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CAMPUS DE BOTUCATU  
FACULDADE DE MEDICINA

**JOSÉ SIDNEY ROQUE**

**ENXERTOS VENOSOS AO AVESSO E NORMAL, PREENCHIDOS COM  
PLASMA RICO EM PLAQUETAS EM NERVO MISTO DE RATO.**

Tese apresentada ao  
programa de Pós-  
Graduação da  
Faculdade de Medicina  
da Universidade  
Estadual Paulista “Julio  
de Mesquita Filho”,  
Campus de Botucatu-SP  
para obtenção do Título  
de Doutor em Bases  
Gerais da Cirurgia

**Prof. Dr. FAUSTO VITERBO**

ORIENTADOR

**BOTUCATU**

**2007**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO  
DA INFORMAÇÃO  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
*Bibliotecária responsável: Selma Maria de Jesus*

Roque, José Sidney.

Enxertos venosos ao avesso e normal, preenchidos com plasma rico em plaquetas em nervo misto de rato / José Sidney Roque. – Botucatu : [s.n.], 2007.

Isograph venous inside-out and standart filled with rich platelet plasm on mixed nerve of rat.

Tese (doutorado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2007.

Orientador: Fausto Viterbo  
Assunto CAPES: 40102017

1.Sistema nervoso periférico - Regeneração - Estudos experimentais 2.  
Nervos - Enxerto

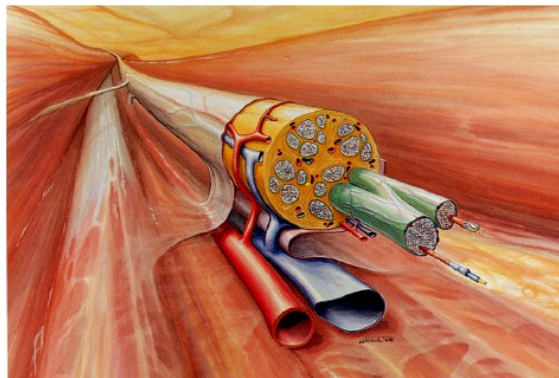
CDD 617.473

Palavras chave: Enxerto autólogo; Nervo ciático; Enxerto de veia jugular externa; Plasma rico em plaquetas; Ratos

**JOSÉ SIDNEY ROQUE**

**ENXERTOS VENOSOS AO AVESSO E NORMAL, PREENCHIDOS COM  
PLASMA RICO EM PLAQUETAS EM NERVO MISTO DE RATO.**

TESE PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR



*From McKinnon and Dellon*

**BOTUCATU**

**2007**

## **AGRADECIMENTOS**

Dedico este trabalho,

Aos meus pais, José e Etelvina, razão da minha existência, que me ensinaram os valores e me mostraram o sentido da vida.

À minha esposa, Fátima, minha parceira, companheira aguerrida, incentivadora em todos os momentos deste trabalho.

Aos meus filhos Vinícius, Tamíris e Jéssica, meus tesouros que me impulsionam à modernidade e me ensinam a ser mais tolerante.

Aos meus irmãos, Cida e Domingos, exemplos de companheirismo nos momentos difíceis de nossas vidas.

Meu carinho e agradecimento

### Agradecimentos Especiais,

Ao Prof. Dr. Jesus Carlos Andreo, pelo apoio e ombro amigo em todas as etapas no transcurso deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Antônio de Castro Rodrigues, por oferecer a condição de apreender e a inserir-me numa nova linha de pesquisa.

Ao Prof. Dr. Antônio José Maria Catâneo, por confiar e permitir nosso ingresso neste conceituado curso.

Ao Prof. Dr. Antônio Marcos Orsi, pelo auxílio em várias etapas deste trabalho, exemplo de professor e amigo afável.

Ao Prof. Dr. Élio Hitoshi Shinohara, pelo companheirismo e atenção dispensada nos nossos pedidos.

Ao Prof. Dr. Odair Francisco, pelo grande auxílio nas análises estatísticas.

Ao Prof. Dr. Fausto Viterbo, pela orientação dispensada neste trabalho.

Meu Eterno Agradecimento.



## Agradecimentos

À coordenação do Programa de Pós-graduação em Cirurgia, área de Concentração em Bases Gerais da Cirurgia – Faculdade de Medicina – UNESP de Botucatu-SP, Prof. Dr. Antônio José Maria Catâneo.

Aos Docentes do Programa de Pós-graduação em Cirurgia, área de Concentração em Bases Gerais da Cirurgia – Faculdade de Medicina – UNESP de Botucatu-SP

Aos Funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina – UNESP de Botucatu-SP, Janete Aparecida Herculano Nunes Silva, Nathanael Pinheiro Salles, Regina Célia Spadin.

À secretária do Programa de Pós-graduação em Cirurgia, área de Concentração em Bases Gerais da Cirurgia, Simone Barroso Corvino Camargo.

Aos funcionários da Biblioteca da universidade Estadual Paulista – UNESP Botucatu-SP, Rosemary Cristina da Silva,

A todos que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigado.

## Sumário

Resumo

Abstract

<b>1. Introdução.....</b>	<b>11</b>
Considerações Gerais.....	11
Indicações de cirurgia.....	13
Tipos de lesões nervosas periféricas.....	14
Anatomia do nervo periférico.....	16
Lesões nervosas periféricas.....	23
Fatores Neurotróficos.....	25
Fatores de Crescimento do PRP.....	28
Plaquetas.....	30
Regeneração nervosa periférica.....	31
Histórico da Cirurgia dos nervos periféricos.....	35
<b>2. Objetivo.....</b>	<b>40</b>
<b>3. Método.....</b>	<b>42</b>
Procedimentos cirúrgicos.....	43
Sacrifício e coleta das amostras.....	47
Análise quantitativa e tratamento estatístico.....	47
Estatística Descritiva.....	48
Estatística Analítica.....	48
<b>4. Resultados.....</b>	<b>51</b>
Análise macroscópica.....	51
Análise histomorfológica.....	52
Análise histomorfométrica.....	63
<b>5. Discussão.....</b>	<b>89</b>
<b>6. Conclusão.....</b>	<b>108</b>
<b>7. Referências.....</b>	<b>110</b>
<b>8. Anexos.....</b>	<b>134</b>
Certificados do Comitê de Ética.....	135
Lista de Abreviaturas.....	137

## RESUMO

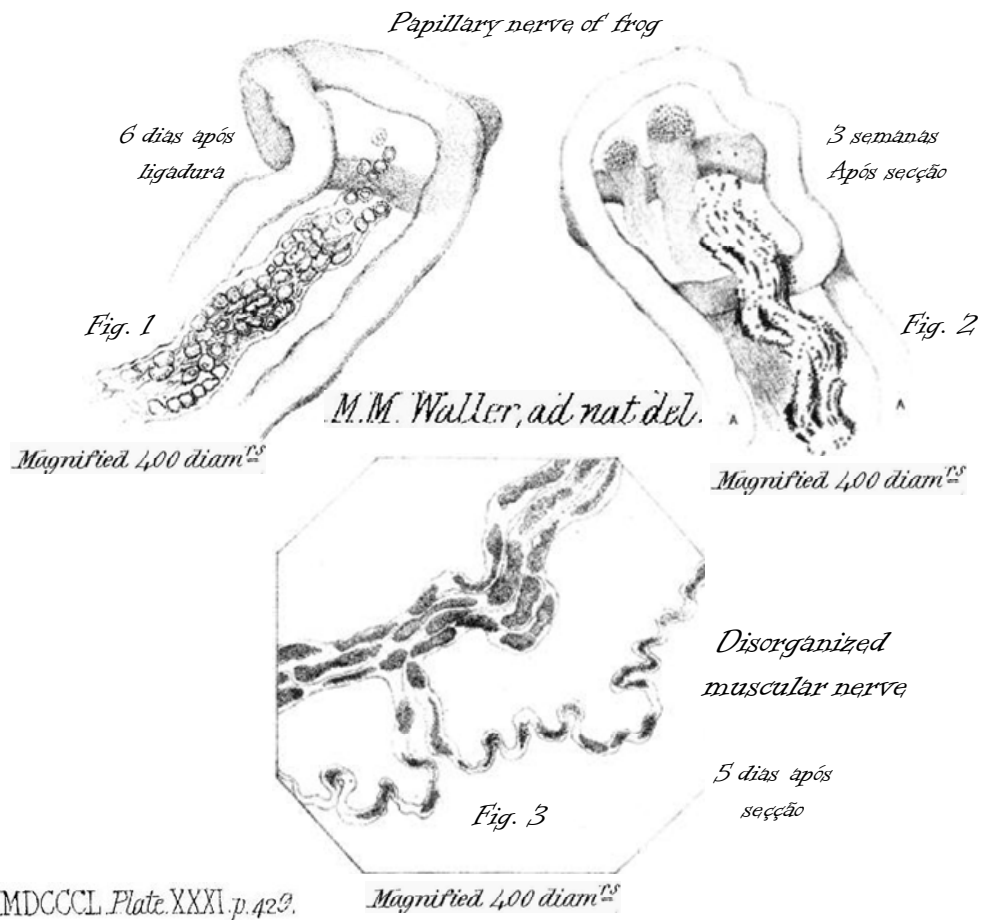
As lesões nervosas periféricas sempre ocasionam comprometimento da sensibilidade ou da motricidade, de partes ou segmentos do organismo. Algumas lesões leves podem evoluir para a cura completa em poucas semanas, se a integridade morfológica do axônio estiver preservada. Entretanto, as lesões com perda tecidual, se não foram tratadas adequadamente, podem evoluir com prejuízos na função muscular ou na sensibilidade cutânea. Assim sendo, este trabalho teve por objetivo estudar a possível regeneração axonal do nervo ciático de rato albino (*Rattus norvegicus albinus*) lesado experimentalmente, através do uso de enxerto venoso ao avesso e de enxerto venoso preenchido com plasma rico em plaquetas, sob o ponto de vista histomorfológico. Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais (G2, G3, G4 e G5) contendo 15 animais em cada grupo e um grupo com dez animais serviu como controle (G1). Em todos os grupos o nervo ciático direito foi utilizado para estudo experimental. Os Grupos G 2, G 3, G 4 e G 5 receberam enxerto venoso da veia jugular externa, do lado esquerdo, do mesmo animal. Em todas as técnicas utilizadas, os valores médios de morfometria foram maiores no enxerto do que no coto distal. As técnicas com veias preenchidas apresentaram melhores médias aritméticas quando comparadas com as veias não preenchidas.

Palavras-chave: Enxerto autólogo; Nervo ciático; Enxerto de veia jugular externa; Plasma rico em plaquetas; Ratos.

## ABSTRACT

Peripheral nerve lesions ever produce sensorial or motor consequences. Some lesions could have good evolution if the neural morphology integrity is preserved. Nevertheless, peripheral nerve gaps could have dramatic evolution. In the present study we tested neural regeneration of the sciatic nerve in albino laboratory rats submitted to experimental neural lesion and treatment with entubulization using venous jugular autologous grafts. Four experimental groups were used, with the vein graft replacing a sciatic gap. In two of them the veins were inverted. In a normal and inverted vein group, the veins were filled with blood plasma enriched by a pool of platelets. A “sham” group was used as control. The nerve fibers counting showed higher average in the graft stump compared to the vein graft. Both blood plasma enriched with platelets filled groups presented better results than non filled groups.

**Key words:** Autologous graft; Sciatic nerve; External jugular vein graft; Blood plasma enriched with platelets; Rats.



## INTRODUÇÃO

## INTRODUÇÃO

### Considerações Gerais

As lesões nervosas periféricas sempre ocasionam comprometimento da sensibilidade e ou da motricidade. Algumas lesões leves podem evoluir para a cura completa em poucas semanas, se a integridade morfológica do axônio estiver preservada. Entretanto, as lesões com perda tecidual, se não tratadas adequadamente, podem evoluir com prejuízos na forma e ou na função do órgão alvo.

As morbidades causam déficits importantes, não só da qualidade de vida dos pacientes, bem como do sistema estatal em casos de aposentadorias precoces devido à incapacidade funcional (Sunderland, 1978; Pachioni *et al.*, 2006).

Existem várias técnicas que tentam minimizar estas conseqüências, objetivando devolver a normalidade às estruturas comprometidas (Seddon, 1943; Fields *et al.*, 1989; Sunderland, 1978; Zochodne 2.000; Schmidt & Leach, 2003).

A lesão nervosa periférica mais freqüente ocorre por trauma contuso, por mísseis penetrantes ou outros objetos (Colohan, 1996). Os traumas e ressecções tumorais levam, com freqüência, a grandes perdas de tecido nervoso, impossibilitando a anastomose primária (Terzis *et al.*, 1975). Os nervos periféricos podem ser acometidos à lesão por esmagamento, secção, em uma variedade de circunstâncias, incluindo acidentes automobilísticos, de trabalho, fraturas, luxações, ressecções tumorais e iatrogênicas. Deficiências funcionais após lesão por esmagamento não estão relacionadas apenas com o impacto do esmagamento, mas incluem componentes importantes tais como isquemia, edema e permeabilidade vascular (Lundborg *et al.*, 1983; Pachioni *et al.*, 2006).

Diversos estudos experimentais têm demonstrado que o efeito combinado de lesão mecânica e isquemia é mais grave do que o efeito

mecânico ou isquêmico isoladamente (Schmelzer & Zochodne, 1989; Lundborg & Dahlin, 1996).

Para estes casos, o enxerto de nervo é considerado tratamento de escolha. Ele une as extremidades dos cotos proximais e distais, reduzindo a tensão na linha de sutura, pode guiar o crescimento axonal (Terzis *et al.*, 1975), e servir de ponte para a passagem de fatores neurotróficos (Lundborg *et al.*, 1982, Mackinnon & Dellon, 1990; Hentz *et al.*, 1991; Costa *et al.*, 2006).

Muitas técnicas de tratamento para as lesões nervosas são propostas, como mostra a literatura pertinente.

Pesquisas buscam soluções que permitam melhor recuperação funcional do nervo lesado. Assim, estudos são realizados nas mais variadas áreas do conhecimento científico como, a biologia molecular, auxologia, morfologia, enxertos, microcirurgia, laser de CO<sub>2</sub>, indutores de crescimento e imunossupressores (Williams *et al.*, 1983; Becher *et al.*, 1984; Faldini *et al.*, 1984; Hall, 1986; Neblett *et al.*, 1986; Fields *et al.*, 1989; Mackinnon & Dellon, 1990; Abernethy *et al.*, 1994; Madison & Archibald, 1994; Canpolat *et al.*, 1999; Lundborg, 2000; Oliveira *et al.*, 2000; Chen *et al.*, 2001; Karacaoglu *et al.*, 2001; Suri *et al.*, 2002; Rummeler & Gupta, 2004; Costa *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2007). E recentemente o uso de células tronco adultas da medula óssea associado ao plasma rico em plaquetas (PRP), com finalidade de induzir o crescimento axonal (Braga-Silva *et al.*, 2006). Tais estudos buscam recursos e técnicas para minimizar as morbidades.

Jaberi *et al.* (2003) afirmaram que sutura microcirurgica, término-terminal, ou término-lateral, com enxertos, deve ser indicada quando a distância (*gap*) entre os cotos nervosos for extensa. Relataram também que em enxertos de grande calibre, pode ocorrer atraso na vascularização, aparecimento de fibrose e até necrose em sua parte central (Jaberi *et al.*, 2003). Em decorrência desta constatação há atraso na revascularização e no aparecimento de fibrose “*in loco*” (Jaberi *et al.*, 2003). Outra possibilidade de reparo nervoso é a sutura término-lateral, embora mostre que alguns brotos axonais não atingem o órgão alvo, ela é importante para a neurotização do músculo (Tarasidis *et al.*, 1997; Viterbo *et al.*, 1992; Zhao *et al.*, 1997; Zhang

*et al.*, 1998; Yuksel *et al.*, 1999; Lutz *et al.*, 2000; Yamauchi *et al.*, 2001; Jaber *et al.*, 2003). Os estudos demonstraram que a intervenção cirúrgica para reparar danos nos nervos é bem sucedida, quando for realizada logo após a lesão ter ocorrido (Hupp, 2000). A compreensão sobre os vários tipos de lesão dos nervos é importante para permitir que se decida quando indicar a cirurgia de um nervo periférico lesado (Hupp, 2000).

### **INDICAÇÕES DE CIRURGIA**

Em injúrias fechadas, quando após três meses de acompanhamento os estudos eletrofisiológicos não se demonstrarem retorno funcional a cirurgia é recomendada. Em injúrias abertas, com laceração, a cirurgia exploratória é indicada, sempre que ocorrer perda sensitiva ou motora. Em lesões por esmagamento, o tratamento cirúrgico está indicado após algumas semanas. Entretanto, após três meses sem evidências de reinervação bioelétrica ou clínica, a cirurgia é indicada com a realização de reparos ou enxertos (Novak *et al.*, 2004). Quando um nervo é submetido a uma pressão externa, a lesão pode ser provocada tanto pela pressão como pela isquemia. Uma isquemia acontece quando a pressão do esmagamento exceder a pressão de perfusão capilar (Schmelzer *et al.*, 1989).

### **TIPOS DE LESÕES NERVOSAS PERIFÉRICAS**

Lesões nervosas periféricas experimentais, no nervo ciático, podem ser provocadas através de diversos procedimentos, tais como: esmagamento pela compressão, transecção, estiramento e congelamento. Diversos fatores como a magnitude, a duração e o mecanismo do trauma compressivo são importantes para a determinação do grau da lesão (Diao *et al.*, 2004).



Seddon (1943) classificou as injurias nervosas em três tipos, neuropraxia, axonotmese e neurotmese.

A **neuropraxia** é a forma leve e transitória de lesão do nervo periférico. É uma lesão temporária do nervo em que se mantém íntegra a continuidade da bainha endoneural e dos axônios. Nesta lesão não ocorre degeneração Walleriana. A neuropraxia pode ser provocada por trauma ou isquemia local do nervo. Como não houve perda na continuidade axonal, ocorre recuperação espontânea total da função nervosa, normalmente poucos dias ou semanas após a lesão.

A **axonotmese** ocorre quando a continuidade do axônio é interrompida, mas a bainha endoneural continua intacta. Esse tipo de lesão pode ser provocada por um forte trauma fechado, esmagamento do nervo ou da tração extrema do nervo. A axonotmese provoca degeneração Walleriana no nível da lesão e no coto distal e em um ou dois nodos de Ranvier no coto proximal (Novak, *et al.*, 2004). Como a bainha epineural continua intacta, a regeneração axonal pode ocorrer ao redor de um mm ao dia ou de uma polegada ao mês (Novak, *et al.*, 2004), com recuperação da função do nervo entre dois a seis meses.

A **neurotmese** é a forma mais grave de lesão do nervo. Envolve completa perda de continuidade do nervo. Pode ser provocada por fraturas com deslocamento desfavorável, rompimento do nervo por projéteis de arma de fogo ou ferimentos por arma branca. O prognóstico para recuperação espontânea para este tipo de lesão é pobre, exceto se as extremidades do nervo ficarem bem próximas e com orientação apropriada (Hupp, 2000).

Posteriormente Sunderland (1951) acrescentou à classificação de Seddon (1943), mais dois tipos de lesões. Assim ter-se-ia cinco tipos de lesão nervosa descritas a seguir.

A lesão tipo Sunderland I corresponderia a neuropraxia de Seddon; a Sunderland II corresponderia axonotmese de Seddon; a Sunderland III corresponderia neurotmese de Seddon; a Sunderland IV seria neurotmese com perda de continuidade do perineuro; e a lesão tipo Sunderland V seria neurotmese com perda de continuidade do epineuro.

Mackinnon & Novak em 1999 descreveram a lesão do tipo VI representada por injúria nervosa mista combinando vários graus de lesões de Sunderland. Este tipo poderia apresentar alguns fascículos íntegros, com atividade normal, e outros fascículos que necessitariam intervenção cirúrgica (Mackinnon, 1989).

Rummler & Gupta (2004) classificaram as injúrias nervosas em lesões agudas e crônicas. Nas lesões nervosas crônicas, tais como as síndromes dos túneis, carpal e cubital, e estenose da raiz nervosa espinhal, ocorrem dor, atrofia, e alterações sensitivas e motoras. Na fase precoce da lesão periférica crônica não aparece patologia axonal, diferentemente do que ocorre na lesão nervosa aguda (Gupta & Steward, 2003). Nestas lesões crônicas encontram-se apoptose e proliferação das células de Schwann, com um grau mínimo de patologia axonal (Gupta & Steward, 2003). O número de células de Schwann aumenta nas primeiras quatro semanas após a lesão crônica. Depois deste período o seu número diminui, porém se mantém mais alto do que no nervo sadio (Gupta *et al.*, 2003).

## **ANATOMIA DO NERVO PERIFÉRICO**

Cada nervo periférico é composto por tecido nervoso e tecido conjuntivo, ou seja, (envoltórios e células de Schwann), sendo revestido também por uma membrana conjuntiva externa, o epineuro. Esse é uma bainha flexível, de tecido conjuntivo denso não modelado, com fibras colágenas longitudinalmente orientadas e dotada de um plexo longitudinal de vasos sangüíneos (Leeson & Leeson, 1970; Bergman *et al.*, 1996; Gartner & Hiatt, 2003).

Nos nervos mielinizados cada fibra nervosa é envolvida pelo endoneuro. Grupos de fibras nervosas são envolvidos por outra membrana conjuntiva, o perineuro, formando os fascículos (Tupper *et al.*, 1988; Novak, *et al.*, 2004). O perineuro funciona como uma barreira semipermeável que pode apresentar uma ou mais camadas celulares que varia de acordo com a espessura do nervo (Ross & Romrel, 1993). O perineuro é constituído de

tecido conjuntivo denso e sua superfície interna é revestida por camadas de células epitelióides. Essa camada apresenta as células epitelióides ligadas por zônulas de oclusão e ligadas por uma lâmina basal que isola o ambiente neural (Gartner & Hiatt, 2003). Entre as camadas de células epitelióides existem fibras colágenas esparsas orientadas longitudinalmente e entrelaçadas com algumas poucas fibras elásticas (Leeson & Leeson, 1970; Gartner & Hiatt, 2003).

O nervo periférico possui um sistema microvascular bem desenvolvido no epineuro, perineuro e endoneuro. Seus vasos encontram-se distribuídos em várias camadas do nervo e são interligados através de inúmeras anastomoses (Bell & Weddell, 1984). O sistema microvascular possui uma grande capacidade de reserva para compensar a mobilização ou lesão de vasos deste microambiente (Rempel *et al.*, 1999; Reina *et al.*, 2000).

O suprimento sangüíneo do epineuro é relativamente rico e bem distribuído em todos os nervos (Tupper *et al.*, 1988; Midha, 2004).

No epineuro a distribuição dos vasos sangüíneos é de forma longitudinal com muitas anastomoses de vasos provindos de grandes artérias e veias perfurantes da musculatura adjacente e vasos do periósteo. Esses vasos, quando chegam ao epineuro, formam uma extensa rede de anastomoses entre arteríolas, entre vênulas, e entre arteríolas e vênulas, e se ramificam até atingirem o endoneuro (Leeson & Leeson, 1970; Bergman *et al.*, 1996). Existem também numerosas anastomoses entre as arteríolas das bainhas, do epineuro e do perineuro, e entre os capilares do endoneuro (Bergman *et al.*, 1996). Com os estudos sob microscopia eletrônica, observou-se que as junções das células endoteliais do epineuro aprestam aberturas variáveis que permitem passagem de macromoléculas proteicas. Diferentemente as células endoteliais do endoneuro apresentam essas junções compactas, que impedem passagem de macromoléculas de proteínas para dentro do espaço endoneural, constituindo assim barreira sangüínea nervosa (Bergman *et al.*, 1996). A importância da vascularização dos nervos periféricos se deve ao fato dos axônios serem vulneráveis à isquemia pela grande distância que existe entre o corpo neuronal e a extensão do axônio (Reina *et al.*, 2000).

O endoneuro é uma membrana conjuntiva, formada por fibras colágenas e reticulares, fibroblastos achatados, substância fundamental, células de Schwann, mastócitos e rede capilar endoneural (Leeson & Leeson, 1970; Bixby, *et al.* 1988; Bergman *et al.*, 1996). Os axônios amielínicos estão associados em íntima relação às células de Schwann. Revestindo os axônios mielínicos em seqüência apresentam-se, a bainha de mielina, o citoplasma da célula de Schwann, a lâmina basal da célula de Schwann e as fibras colágenas do endoneuro. Esses dois últimos componentes formam a parede neural, limitando externamente a fibra nervosa em conjuntos denominados de bandas de “Bügnner” (Sunderland, 1978; Lundborg, 1987; Da-Silva, 1995).

Os três compartimentos morfofuncionais do neurônio são o dendrítico, o axônico e o somático. O dendrítico é muito ramificado e possui extensa superfície de membrana objetivando realizar suas conexões sinápticas e recepção de mensagens. O compartimento axônico é alongado e tem grande número de botões sinápticos, permitindo a veiculação de impulsos nervosos. O compartimento somático localiza-se entre os dois primeiros e apresenta características receptoras como os dendritos, e emissoras, como o axônio (Schuartz & De Camilli, 2000; Lent *et al.*, 2005). Esse compartimento somático, também denominado corpo celular, contém um núcleo vesiculoso com um ou mais nucléolos evidentes. O citoplasma do corpo celular recebe o nome de pericário, termo que, às vezes, é usado como sinônimo de corpo celular (Machado, 2005). No pericário salienta-se a riqueza de ribossomos, retículo endoplasmático granular e aparelho de Golgi. Os ribossomos livres podem concentrar-se em pequenas áreas citoplasmáticas assim denominados de corpúsculo de Nissl, ou substância cromidial. Como também, os ribossomos podem aparecer aderidos às cisternas do retículo endoplasmático (Machado, 2005). No compartimento do corpo celular existe também, abundância de pequenas mitocôndrias, distribuídas por todo pericário, especialmente ao redor do corpúsculo de Nissl (Junqueira & Carneiro, 2004; Machado, 2005). Nos neurônios motores a quantidade de REG é maior que em outros neurônios (Junqueira & Carneiro, 2004). Os microtúbulos e os neurofilamentos aparecem nos três compartimentos do neurônio (Junqueira & Carneiro, 2004).

Em todas as células, assim como nos neurônios, a síntese protéica é codificada no DNA nuclear, porém, somente uma parte do genoma é ativada a cada momento sob o comando de fatores de transcrição sintetizados no citosol. O neurônio expressa uma parte maior do genoma do que as outras células. Isto é, ao redor de 200 mil seqüências de RNAm, cerca de 10 a 20 vezes mais que em células renais e hepáticas (Schuartz & De Camilli, 2000; Lent *et al.*, 2005). A intensa atividade de síntese protéica dos neurônios tem correlação com a sua microanatomia tais como ter o núcleo claro, grande e rico em eucromatina. Apresenta ainda numerosos polissomos agrupados em rosetas (grânulos de Nissl), e abundância de retículo endoplasmático rugoso, que indicam produção intensa de proteínas (Schuartz & De Camilli, 2000; Lent *et al.*, 2005). A quantidade de retículo endoplasmático rugoso varia com o tipo e o estado funcional dos neurônios. Eles são mais abundantes nos neurônios maiores, e particularmente nos neurônios motores (Junqueira & Carneiro, 2004).

Quando ocorre lesão no compartimento somático neuronal, o resultado é necrose e morte celular (Kornac & Rakic, 2001) embora haja evidências indicando ocorrência de neurogênese reativa, até mesmo ao nível do cérebro adulto (Gross, 2000; Shors *et al.*, 2001).

A grande maioria dos neurônios possui um único axônio. O axônio é um prolongamento longo e delgado que se origina do corpo celular, ou de um dendrito principal, em uma região denominada de cone de implantação (Machado, 2005). A região do cone de implantação é desprovida de corpúsculos de Nissl (Junqueira & Carneiro, 2004; Machado, 2005).

Estruturalmente o axônio, na espécie humana, apresenta comprimento muito variável, podendo ter desde alguns milímetros, a mais de 1 metro (Gartner & Hiatt, 2003; Junqueira & Carneiro, 2004). Ele é cilíndrico e apresenta além da membrana plasmática, ou axolema, o citoplasma axônico, ou axoplasma (Gartner & Hiatt, 2003). Contido no interior do axoplasma encontram-se poucas organelas como retículo endoplasmático agranular, mitocôndrias, vesículas, microtúbulos de 25 nm de espessura, neurofilamentos de 10 nm de espessura e microfilamentos de actina de 4 a 6 nm de espessura (Gartner & Hiatt, 2003; Junqueira & Carneiro, 2004; Machado, 2005).

Os axônios não possuem ribossomos, por isso são incapazes de sintetizarem proteínas. Portanto toda proteína necessária para sua manutenção e reparação é transportada através do fluxo axoplasmático do pericário (Machado, 2005). Por outro lado, as terminações axônicas também possuem organelas como mitocôndrias, retículo endoplasmático agranular e microtúbulos, recebendo o nome de telodendro. Da região do telodendro existe um fluxo axoplasmático contínuo de substâncias solúveis e organelas, até a região do pericário. Também ocorre um fluxo no sentido inverso, do pericário ao telodendro (Gartner & Hiatt, 2003; Junqueira & Carneiro, 2004; Machado, 2005).

Após ocorrer secção, o coto nervoso distal perde-se a comunicação com o centro trófico da célula ficando impossibilitada a manutenção de sua estrutura e integridade funcional. Este processo tem início logo após a lesão, ocorrendo desintegração do citoesqueleto axonal, envolvendo microtúbulos e neurofilamentos mediante a ação de proteases (Sunderland, 1978; Da-Silva, 1995). A bainha de mielina, no local da lesão, se fragmenta e é fagocitada, principalmente por ação dos macrófagos e pelas células de Schwann (Fernandez-Valle *et al.*, 1995). Para realizar a reparação do axônio, há o endereçamento de organelas e macromoléculas para a área lesada, o qual é um processo especializado denominado de fluxo axoplasmático (Burack *et al.*, 2000; Rubio, 2000). O fluxo axoplasmático apresenta dois sentidos, o anterógrado, acessando do soma para os terminais pré-sinápticos, ou retrógrado, que ocorre no sentido inverso. O fluxo axoplasmático apresenta também velocidades distintas sendo o fluxo lento menor de que 100 mm/dia. O fluxo rápido é de 100 a 400 mm/dia, porém em ambos os tipos de fluxos, os mesmos motores moleculares estão envolvidos (Shea & Flanagan, 2001; Shah & Cleveland, 2002). Como afirma Machado (2005), o fluxo axoplasmático rápido representa o transporte de organelas delimitadas por membranas como mitocôndrias, vesículas e elementos do retículo endoplasmático granular. Já o fluxo axoplasmático lento transporta proteínas do citoesqueleto e proteínas do pericário para o telodendro (Bergman *et al.*, 1996). As proteínas e organelas produzidas no corpo celular são movimentadas ao longo do eixo do axônio através de um sistema de

transporte mediadas por cinesinas e pelos trilhos formados pelos componentes do citoesqueleto axonal (Peters *et al.*, 1991).

A transmissão do impulso nervoso, bem como o transporte axonal, requer um suprimento de energia contínuo proporcionado pelos microvasos intraneurais (Lundborg & Dahlin, 1996; Rempel *et al.*, 1999).

Materiais exógenos à célula, como os endocitados em regiões distais do axônio compreendem, fatores neurotróficos ou partículas virais, seguem para o corpo celular por transporte retrógrado (Lent *et al.*, 2005). Este tipo de transporte retrógrado é muito importante para a reciclagem de proteínas intra-axonais, neurotransmissores e materiais exógenos (Bergman *et al.*, 1996; Gartner & Hiatt, 2003; Junqueira & Carneiro, 2004; Lent *et al.*, 2005; Machado, 2005). O fluxo axonal rápido ocorre nos dois sentidos, anterógrado e retrógrado, porém o fluxo axonal lento só ocorre no sentido anterógrado (Bergman *et al.*, 1996).

As fibras nervosas representam de 25% a 75% da área total de um corte transversal, do nervo, conforme o nervo estudado e sua localização (Gibbels, 1989; Bergman *et al.*, 1996). Nos nervos que apresentam pequenos fascículos a proporção de estroma conjuntivo é grande. Esse estroma confere resistência e elasticidade aos fascículos nervosos (Ross & Romrel, 1993; Bergman *et al.*, 1996). Eles podem ser mielinizados ou amielinizados. O diâmetro das fibras do nervo mielinizado varia de 2  $\mu\text{m}$  a 25  $\mu\text{m}$ , enquanto as fibras do nervo amielínico variam de 0,2  $\mu\text{m}$  a 3,0  $\mu\text{m}$  de diâmetro (Gibbels, 1989; Bergman *et al.*, 1996).

As fibras nervosas podem ser classificadas conforme seu diâmetro em três tipos A, B e C (Bergman *et al.*, 1996). As fibras nervosas do tipo A são subdivididas em  $A\alpha$  com diâmetro de 12-22  $\mu\text{m}$ ;  $A\beta$ , 5-12  $\mu\text{m}$ ;  $A\gamma$ , 2-8  $\mu\text{m}$  e  $A\delta$ , 1-5  $\mu\text{m}$  e todas apresentam bainha de mielina. As fibras nervosas do tipo B possuem diâmetro menor que 3  $\mu\text{m}$  e, também apresentam bainha de mielina. Nas fibras nervosas do tipo C o diâmetro varia de 0,1-3  $\mu\text{m}$ , mas não apresentam bainha de mielina (Bergman *et al.*, 1996). As fibras nervosas dos tipos  $A\alpha$  e  $A\beta$  apresentam velocidade de condução de 70-120 m/seg, as dos tipos  $A\gamma$  de 15-30 m/seg, as do tipo  $A\delta$  de 5-30 m/seg. Entretanto algumas fibras nervosas do tipo  $A\beta$  pode apresentar velocidade de 30-70 m/seg. As fibras do tipo B possuem velocidade de 3-15 m/seg,

enquanto as fibras do tipo C apresentam velocidade ao redor de 0,6-2 m/seg (Bergman *et al.*, 1996; Gartner & Hiatt, 2003).

Grupos de fibras nervosas formam “bandas”, que são denominados de fascículos. O perineuro reveste cada fascículo, o qual é composto por muitas fibras nervosas. O perineuro é delgado, sendo a menor membrana envoltória capaz de permitir sutura. O diâmetro dos fascículos varia de 0,04 mm a 3 mm (Sunderland, 1951). Os fascículos podem estar distribuídos individualmente ou em grupos, o que é característico, dos nervos longos (Midha, 2004).

Os nervos periféricos são classificados em monofasciculares, oligofasciculares ou polifasciculares (Urbaniak, 1982; Millesi, 1991). Os nervos monofasciculares são encontrados nos ramos dos nervos digitais e são compostos de um grande fascículo, contendo muitas fibras nervosas. Estes nervos normalmente possuem funções exclusivas, sensitiva ou motora. Os oligofasciculares, tendo como exemplo, o nervo ulnar acima do cotovelo, apresentam poucos fascículos e cada um pode ser puro, misto, ou com ambas as funções, sensitiva e motora. Já os nervos polifasciculares são compostos por muitos fascículos pequenos. A porção superior do nervo radial do braço é um exemplo deste tipo de nervo, contendo fibras que realizam ambas as funções neuronais: sensitiva e motora. Entretanto, a anatomia pode mudar em um mesmo nervo. Assim o nervo ulnar é classificado como polifascicular na região da axila e monofascicular ao nível mão (Wilgis, 1991; Midha, 2004).

## **LESÃO NERVOSA PERIFÉRICA**

Nos traumatismos nervosos periféricos a lesão mais comum é por trauma contundente por objetos penetrantes, como projéteis de arma de fogo, vidro e lâminas de metal (Colohan *et al.*, 1996). Nos membros superiores as injúrias por arma de fogo resultam em 50% de transecção completa do nervo (Ristic *et al.*, 2000). Nestes tipos de lesão, quando o ferimento apresentar-se limpo, é indicado o reparo primário do nervo periférico imediatamente após o trauma (Colohan *et al.*, 1996).



Quando a lesão nervosa está associada a traumas como fraturas e fraturas-luxações, que atingem partes do corpo que apresentam grande mobilidade como os membros, os danos no tecido nervoso são mais intensos (Ferreira *et al.*, 1974; Visser *et al.*, 1999; Cornwall & Radomisli *et al.*, 2000; Garg *et al.*, 2000). A formação de hematoma na região do trauma aumenta em até 4,4 vezes a probabilidade de dano ao tecido nervoso (Visser *et al.*, 1999). As lesões por luxação, que podem ocorrer no joelho, no quadril e no ombro, resultam em trauma do nervo por estiramento (Colohan *et al.*, 1996; Visser *et al.*, 1999; Garg *et al.*, 2000).

Grant *et al.* (1999) descreveram que nervo suporta estiramento de cerca de 10% a 20% do seu comprimento, até ocorrer dano estrutural. A etiologia das lesões nervosas periféricas, em fraturas fechadas no antebraço, pode ser de origem iatrogênica, ou por trauma, em cerca de 1% a 10% dos casos (Ristic *et al.*, 2000).

A secção completa de um nervo divide o axônio em dois segmentos, um segmento proximal que se mantém em contato com o corpo celular, e outro segmento distal, que é separado do restante da célula. Com a lesão, forma-se um espaço intersegmentar, que pode apresentar dimensões variáveis (Da-Silva, 1995). O extravasamento do plasma sanguíneo precede a formação de uma matriz disposta entre os dois segmentos, a qual é composta de fibrina e fibronectina. A matriz irá atuar como um substrato adequado para a migração celular de novos prolongamentos neuronais (Fields, *et al.*, 1989; Mathews & Frenchconstant, 1995). Muitos macrófagos invadem a região lesionada (Perry *et al.*, 1987), provenientes dos cotos proximal e distal. Ocorre ainda proliferação de fibroblastos, células endoteliais e células de Schwann, que migram para o espaço intersegmentar sobre a matriz de fibrina (Williams *et al.*, 1983).

Na região de recuperação neuronal as células de Schwann tornam-se fusiformes e, através da união de suas unidades, que passam a formar cordões lineares, são denominados bandas de Bügner (Cajal, 1991; Da-Silva, 1995). Ao mesmo tempo os fibroblastos iniciam a produção de colágeno ao redor das células de Schwann, constituindo uma ponte intersegmentar tendo capilares, fibras colágenas e macrófagos (Lundborg, 1987).

## FATORES NEUOTRÓFICOS

Os fatores de crescimento foram descritos pela primeira vez em experimentos, quando células de mamíferos foram cultivadas em coágulos sangüíneos (Alberts *et al.*, 1997).

Depois de muitos anos, o cultivo de células *in vitro* só foi possível quando os pesquisadores adicionaram ao meio de cultura o soro sangüíneo. Esse soro, que permanece fluído após a coagulação do sangue, fornece proteínas altamente específicas, denominadas fatores de crescimento (Alberts *et al.*, 1997).

A proliferação das células depende de uma combinação específica de diferentes fatores de crescimento. Portanto, um número pequeno de famílias de fatores de crescimento pode ser suficiente para modular a proliferação celular (Alberts *et al.*, 1997).

Alguns fatores de crescimento apresentam especificidade restrita, enquanto outros possuem ampla especificidade como os fatores de crescimento derivado das plaquetas (PDGF). Esse fator (PDGF) pode atuar em fibroblastos, células musculares lisas e células neurogliais (Alberts *et al.*, 1997).

Inicialmente os fatores de crescimento foram considerados agentes que atuavam sistemicamente, porém evidências recentes mostraram que eles agem como reguladores ou mediadores locais (Canalis *et al.*, 1988).

Compreendem um grupo heterogêneo de polipeptídeos que atuam em receptores específicos, modulando o desenvolvimento e a manutenção dos neurônios (Walsh, 1995; Yuen & Mobley, 1995). Inicialmente, os fatores de crescimento foram nomeados por atuarem em células alvo, ou por se originarem de certas células. Devido a esta

classificação, freqüentemente os resultados de ação dos fatores neuronais não espelham seus nomes (Rudkin & Miller, 1996). Como resultado daquela classificação, às vezes a descrição não é tão adequada quanto os nomes dados, pois os fatores de crescimento de fibroblastos (FGF) também são um potente fator de crescimento angiogênico. Portanto, a ação de cada fator de crescimento é complexa e cada fator pode ter diferentes efeitos em diferentes tecidos, e também os fatores de crescimento podem interagir com outros fatores (Hom & Maisel, 1992).

Os fatores de crescimento foram divididos em duas categorias: fator de crescimento angiogênico e fator BMP (*Bone Morphogenetic Protein*). As quatro famílias de fatores de crescimento angiogênico incluem: 1) fator de crescimento epidermal (EGF), (2) fator de crescimento fibroblástico (FGF), (3) fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) e (4) fator transformador de crescimento (TGF) (Rudkin & Miller, 1996).

Wang *et al.* (2007) sugerem que o fator BMP-2 (*Bone Morphogenetic Protein*) estimula as células a produzirem neurofilamentos, melhorando assim a regeneração nervosa periférica.

Recentemente muitos animais estudados permitiram sinalizar que ambos os fatores de crescimento dos fibroblastos, ácido e básico, estimulam a regeneração do nervo periférico (Danielsen *et al.*, 1988; Aebischer *et al.*, 1989; Cordeiro *et al.*, 1989).

O fator de crescimento derivado de plaquetas atua como um potente agente mitogênico de células mesenquimais, incluindo os fibroblastos e células musculares lisas, bem como promove a quimiotaxia de neutrófilos e macrófagos para o local da lesão (Hudson-Goodman, *et al.*, 1990). Assim estimula em vivo, a formação de colágeno e matriz tecidual (Grotendorst *et al.*, 1985).

Após a lesão, o coto proximal reinicia o processo de crescimento, sendo estimulado pela secreção de fatores tróficos produzidos pelos gliócitos (célula Schwann), que fornecem também apoio mecânico e químico para o crescimento ordenado do axônio. A chegada de células do sistema imunológico contribui com a secreção de citocinas e outros fatores

que favorecem o processo de reparação neuronal (Villegas-Perez *et al.*, 1988; Carter *et al.*, 1998).

Com a formação do cone de crescimento na extremidade do coto nervoso proximal, aumenta a transcrição e a tradução gênica para os elementos relacionados à regeneração, como receptores de fatores tróficos, moléculas do citoesqueleto e componentes da membrana plasmática (Da-Silva, 1995; Walsh, 1995; Yuen & Mobley, 1995; Lent *et al.*, 2005). As citocinas (IL-1, -2 e -6, TGB- $\beta$ , IFN- $\gamma$ ) e os fatores neurotróficos (NGF, BDNF, NT-3, FGF $\alpha$  e PDGF) são essenciais nesse momento, pois estimulam a multiplicação de glíócitos e favorecem o crescimento do axônio (Villegas-Perez *et al.*, 1988; Meyer *et al.*, 1992; Carter *et al.*, 1998).

O padrão de expressão de fatores tróficos, em nervos em degeneração, é distinto do encontrado em nervos intactos (Friedman *et al.*, 1992; Sendtner *et al.*, 1992; Curtis *et al.*, 1994; Friedman *et al.*, 1995). Os RNAs para NGF, BDNF e NT-4/5, se expressam em quantidades pequenas em nervos intactos, entretanto tem um aumento considerável em nervos em degeneração após o decurso de duas semanas do trauma (Heuman *et al.*, 1987; Funakoshi *et al.*, 1993).

O nível de RNAm para NGF aumenta rapidamente depois da secção do nervo ciático, decrescendo no terceiro dia após a lesão, e mantendo-se estável por até duas semanas (Heuman *et al.*, 1987; Date *et al.*, 1994). Contudo, o nível de RNAm para BDNF aparece apenas no terceiro dia, após a lesão do nervo, aumentando e estabilizando na segunda semana do trauma (Meyer *et al.*, 1992).

Outro fator responsável pela elevação da expressão de RNAm para NGF é a citocina interleucina 1 (IL-1), secretada por macrófagos que invadem o segmento nervoso em degeneração (Heuman *et al.*, 1987; Brown *et al.*, 1991; Da-Silva, 1995; Hopkins & Rockwell, 1995; Otten & Cadiant, 1995). O aumento do RNAm para BDNF é dependente da alteração da atividade elétrica no nervo em regeneração. O seu aumento coincide com a perda da capacidade de conduzir potenciais de ação nos axônios em degeneração (Friedman *et al.*, 1995). A diminuição do padrão temporal coincide com a expressão de RNAm para CNTF e para a proteína relacionada à mielina P0, indicando sobreposição de mecanismos que

regulam a manutenção de proteínas da mielina bem como da concentração de CNTF (Da-Silva, 1995; Friedman *et al.*, 1995).

Autores como Meyer *et al.* (1992); Funakoshi *et al.* (1993); Rudkin & Miller (1996) e Fu & Gordon (1997), procuraram evidenciar substâncias que poderiam atuar na sobrevivência dos axônios em regeneração, via células não neurais. Substâncias neurotróficas, como neurotrofina NT-4/5, interleucina IL-1, CNTF (*ciliary neurotrophic factor*), BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*), NGF (*nerve growth factor*) e PDGF (*platelet-derived growth factor*) estariam localizadas na interface entre a lâmina basal e a membrana celular das células de Schwann (Martini *et al.*, 1988; Meyer *et al.*, 1992). Graves & Cochran (1994) afirmaram que os fatores de crescimento são modificadores biológicos naturais que regulam os fenômenos do reparo tecidual, tais como síntese de DNA, quimiotaxia de células, diferenciação e síntese de matriz intersticial.

## **FATORES DE CRESCIMENTO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS**

O plasma rico em plaquetas (PRP) é um produto autógeno, derivado do sangue e é obtido por processo laboratorial. Colhido em período pré-operatório, é rico em fatores de crescimento, que provém dos grânulos  $\alpha$  plaquetários (Lynch *et al.*, 1991).

A obtenção do PRP é realizada em duas etapas após a colheita do sangue venoso periférico. Na primeira etapa centrifuga-se o sangue por um tempo de dez minutos utilizando-se a força de centrifugação de 300 gramas. E na segunda etapa usa-se também o tempo de dez minutos, porém com a força de centrifugação de 660 gramas (Vendramin *et al.*, 2006). Com este protocolo obtêm-se uma concentração média de plaquetas em torno de 4,96 ( $\pm$  0,36) vezes superior ao da amostra do sangue (Vendramin *et al.*, 2006; Wilson *et al.*, 2006).

Este composto também é denominado de plasma autógeno de plaquetas, plasma enriquecido com plaquetas, plasma rico em fatores de crescimento, concentrado de plaquetas ou gel de plaquetas (Lynch *et al.*, 1991; Whitman, 1997; Marx *et al.*, 1998; Anitua, 1999; Wilson *et al.*, 2006).

O plasma rico em plaquetas é um produto orgânico, atóxico, desprovido de ação imunorreativa, usado para acelerar as fases do processo do reparo tecidual em feridas cirúrgicas (Lynch *et al.*, 1991; Marx *et al.* 1998; Anitua, 1999). Os vários fatores de crescimento presentes em seus grânulos  $\alpha$  abreviam os tempos das fases da reparação tissular (Howel *et al.*, 1997; Whitman, 1997).

Os fatores de crescimento presentes no PRP são polipeptídeos da classe de mediadores biológicos naturais, que exercem efeitos sobre o reparo e a regeneração tecidual (Giannobile *et al.*, 1996). Esses fatores também regulam eventos celulares, que melhoram a regeneração tecidual (Giannobile *et al.*, 1996).

O plasma rico em plaquetas (PRP) é bastante estudado na odontologia, sendo empregado em pequenos enxertos ósseos na região dos alvéolos dentais para futuros implantes dentários e em cirurgias periodontais e maxilo-faciais (Whitman & Berry, 1998; Anitua, 2001; Lozada *et al.*, 2001; Marx, 2004; Oyama *et al.*, 2004; Vendramin *et al.*, 2006). O uso em medicina começa a difundir-se nas áreas de ortopedia, cirurgia plástica e neurocirurgia onde apresentaram bons resultados (Linkhart *et al.*, 1996; Man *et al.*, 2001; Bhanot & Alex, 2002; Freymiler & Aghaloo, 2004; Mazzucco *et al.*, 2004; Uebel *et al.*, 2006; Vendramin *et al.*, 2006). Nas especialidades médicas (cirurgia plástica e otorrinolaringologia) e em odontologia é usado para produzir hemostasia, estimular a cicatrização de tecidos moles e o osso, bem como na adesão de enxertos de pele e integração de enxertos ósseos (Marx *et al.*, 1998; Buckley *et al.*, 1999; Zechner *et al.*, 2003; Uebel *et al.*, 2006; Wilson *et al.*, 2006).

As plaquetas liberam diversos fatores de crescimento que estimulam a angiogênese, promovendo crescimento vascular e proliferação de fibroblastos com aumento da síntese de colágeno (Green & Klink, 1998; Henderson *et al.*, 2003; Marx, 2004; Vendramin *et al.*, 2006). Foram identificados pelo menos sete diferentes fatores de crescimento secretados ativamente pelas plaquetas que atuam na fase inicial da cicatrização. São três isômeros do fator de crescimento plaquetário, PDGF $\alpha\alpha$ , PDGF $\beta\beta$  e PDGF $\alpha\beta$ , dois fatores de crescimento transformadores, TGF $\beta$ 1 e TGF $\beta$ 2, o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e o fator de crescimento

epitelial (EGF) (Green & Klink, 1998; Robson, 1997; Freymiler & Aghaloo, 2004; Marx, 2004; Vendramin *et al.*, 2006). Os PDGF, associados ou não com os TGF, aumentam a vascularização tissular, estimulando a produção de tecido de granulação (Knox *et al.*, 1986; Vendramin *et al.*, 2006). O PRP possui também proteínas como a fibrina, fibronectina e vitronectina, importantes na adesão celular, favorecendo o processo de reparo tecidual (Knox *et al.*, 1986; Sandy *et al.*, 1998; Marx *et al.*, 2004).

## **PLAQUETAS**

As plaquetas são pequenos fragmentos celulares, anucleados, discóides, derivados dos megacariócitos da medula óssea vermelha. O tamanho das plaquetas varia de 2 a 4  $\mu\text{m}$  de diâmetro, nos esfregaços de sangue (Gartner & Hiatt, 2003). As plaquetas existem em torno de 200.000 a 400.000 unidades por microlitro cúbico de sangue, e esses fragmentos celulares vivem aproximadamente de 10 a 14 dias (Gartner & Hiatt, 2003; Junqueira & Carneiro, 2004). Ao microscópio óptico as plaquetas mostram uma região clara na periferia, chamada hialômero, e uma região central mais escura, o granulômero (Gartner & Hiatt, 2003).

Estudos específicos do PRP identificaram os três principais fatores de crescimento liberados pelos grânulos  $\alpha$  plaquetários: fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento similar à insulina (IGF-I) e fator transformador de crescimento beta (TGF- $\beta$ ) (Lynch, *et al.*, 1991; Ganio, *et al.*, 1993; Anitua, 1999; Marx, 1999).

## **REGENERAÇÃO NERVOSA PERIFÉRICA**

A regeneração nervosa depende do grau da lesão, da distância entre os cotos nervosos, bem como da perda, ou não, de tecido nervoso. Nas neurotmeses severas é fundamental a preservação no entanto da membrana basal, quanto do endoneuro, para melhorar a regeneração

axonal. Isso porque aqueles servem como guia para os neuritos em crescimento (Ide *et al.*, 1983).

Hall (1997) mostrou em roedores que distâncias superiores a dois centímetros necessitam de tratamento cirúrgico, com a utilização de algum tipo de material para direcionar os neuritos para o coto distal. Nesta mesma linha de raciocínio, Mackinnon & Dellon (1990) concluíram que distâncias acima de um centímetro em roedores e três centímetros em primatas necessitam técnicas com condutos para orientar a reparação tecidual nervosa. Por outro lado Seckel *et al.* (1986) afirmaram que pequenas distâncias entre os cotos da ordem de um a três centímetros, podem ser reparados sem necessidade de enxerto autógeno de nervo. Neste caso, promove-se somente uma regeneração tecidual guiada.

Biomateriais e materiais aloplásticos foram propostos para o favorecimento dos brotos axonais, como o uso de tubos de politetrafluoroetileno (Ruskin, *et al.*, 1990), ácido poliglicólico (Mackinnon & Dellon, 1990), e colágeno com gel de laminina (Colin, *et al.*, 1984; Eppley *et al.*, 1988; Dourado *et al.*, 2001). Todavia, Walton *et al.* (1989) e Chiu & Strauch (1990) propuseram a utilização de tecidos autógenos como os enxertos venosos, com o intuito de prevenir a formação de cicatrizes dentro da área em regeneração.

Waller (1850) estudando nervos de sapos, com microscópio óptico, foi o pioneiro na descrição da degeneração neuronal, logo após a secção nervosa. Até esta época pouco se sabia sobre a degeneração nervosa, e por isso, este fenômeno recebeu o seu nome, degeneração Walleriana.

Quando ocorre a degeneração Walleriana vários eventos ocorrem no axônio como, alterações no citoesqueleto, nas células de Schwann, na bainha de mielina e quebra nas barreiras hemato-nervosas com resposta mediada pelos macrófagos (Donat & Wisniewky, 1973; Malbouisson *et al.*, 1984).

A cicatrização do nervo obedece normalmente duas fases, degeneração Walleriana ou desmielinização segmentar e regeneração. Na degeneração por desmielinização segmentar ocorre a dissolução da bainha de mielina, em segmentos isolados. Essa desmielinização parcial causa a



diminuição na velocidade de condução nervosa e pode impedir a transmissão de alguns impulsos nervosos. A desmielinização segmentar pode ocorrer após lesões neuropráticas, ou com distúrbios dos tecidos vascular e conjuntivo (Waller, 1850; Hupp, 2000). A degeneração Walleriana ocorre após trauma no nervo, onde o axônio e a bainha de mielina do coto distal desintegram-se totalmente. No coto proximal, no local da lesão, também ocorre degeneração, e às vezes em todo o corpo axonal, ou em alguns nodos de Ranvier. A degeneração Walleriana bloqueia toda a condução entre os cotos proximal e distal (Lent *et al.*, 2005).

A degeneração Walleriana dos axônios isolados e das bainhas de mielina dos nervos periféricos lesados é pré-requisito para se estabelecer um meio de desenvolvimento adequado à regeneração dos axônios (Fu & Gordon, 1997).

Após a lesão nervosa ocorrer, num período de duas a três semanas, todos os axônios e bainhas de mielina do coto distal se desintegram e os remanescentes são geralmente removidos, via recrutamento de células mielomonocíticas. As células de Schwann se dividem e começam a alinhar-se em cordões celulares dispostos junto aos tubos da lâmina basal persistente, formando as bandas de Bügner (Griffin *et al.*, 1993).

A regeneração de um nervo periférico pode começar quase imediatamente após a lesão. Normalmente, o coto proximal forma um grupo de novas fibras, denominadas de cone de crescimento, sendo que as neo-fibras crescem em direção ao canal remanescente das células de Schwann. O crescimento progride em média de 1 a 1,5 mm por dia e continua até que o local inervado seja alcançado, ou que tenha o seu crescimento bloqueado por fibras de tecido conjuntivo frouxo ou por osso (Midha *et al.*, 2004). Durante a regeneração, novas bainhas de mielina podem se formar, e o axônio pode aumentar de diâmetro. Como são feitos contatos funcionais, o paciente sentirá sensações alteradas na área de sensibilidade lesada, as quais assumem a forma de parestesia ou de disestesia.

Durante a regeneração, podem ocorrer problemas que impedem a cicatrização normal do nervo. Assim a continuidade do canal de células de Schwann pode estar rompida, e o tecido conjuntivo pode entrar no canal enquanto este está parcialmente vazio. Quando o cone de crescimento

alcança a obstrução do tecido conjuntivo, pode encontrar um caminho ao redor do cone e continuar, ou pode formar-se uma massa de fibras nervosas sem função constituindo-se um neuroma traumático, sujeito à produção de dor quando estimulado (Hupp, 2000; Lent *et al.*, 2005).

Terzis *et al.* (1975) afirmaram que uma das principais razões do fracasso no reparo do nervo periférico pós-trauma, está na tensão produzida na linha de sutura, prejudicando a neo-vascularização.

Várias técnicas, e emprego de biomateriais e materiais não biológicos, têm sido estudados como prováveis soluções para o reparo de nervos periféricos, destacando-se o uso de transferência de nervos (Mackinnon & Novak, 1999), tubos colágeno, enxerto de artérias e veias, e de músculos, moléculas de adesão celular, tubos de silicone e polietileno (Fields *et al.*, 1989). Ademais o uso de conduto bioartificial, parece adequado já que pode ser manipulado antes do enxerto. Como, por exemplo, citam-se as esteiras de fibronectina, preenchidas com fatores neurotróficos ou as esponjas hidrofílicas infiltradas com células de Schwann (Plant *et al.*, 1995) e ou com fascículos nervosos (Scharpf *et al.*, 2003).

Walton *et al.* (1989) concordaram que a utilização de enxertos venosos pode ser útil apenas em secções nervosas de reduzido tamanho e em nervos monofasciculados. Porém, Wang *et al.* (1993) observaram em nervos mistos e principalmente em nervos motores, como o nervo ciático, que após enxerto venoso, ocorre uma grande melhora na capacidade regenerativa das fibras nervosas. Esta melhora na capacidade regenerativa neuronal seria explicada pela presença da laminina (Buettner & Pittman, 1991) e ao colágeno (Woolford & Toriumi, 1995), componentes das túnicas média e externa das veias (Lander *et al.*, 1985; Valentini *et al.*, 1987).

Ferrari *et al.* (1999) observaram que o enxerto venoso ao avesso, usado com a exposição da túnica adventícia em contato íntimo com os axônios seccionados do nervo safeno, torna-se um bom conduto de regeneração, pois expõe fatores tróficos como colágeno, laminina e fibronectina (Withworth *et al.*, 1996) em proporções ideais. Neste caso oferece um microambiente favorável à regeneração axonal.

Na camada adventícia dos vasos sangüíneos, abaixo da membrana basal estão presentes o colágeno tipo IV, a laminina, a

fibronectina, a elastina e as microfibrilas associadas (Packhan & Mustard, 1984). Afirmaram outros autores ser a laminina e o colágeno IV os principais componentes desta membrana endotelial (Grant & Kleinman, 1997), a qual possui uma lâmina basal rica em laminina e, a sua camada média muscular também rica em laminina. A adventícia por sua vez é muito rica em colágeno estrutural (Ferrari *et al.*, 1999).

### **Histórico da Cirurgia dos Nervos Periféricos**

Paul of Aegina (625-690) foi o primeiro a descrever a aproximação de feridas nervosas (*apud* Davis). Em 1850, Waller descreveu o processo da degeneração nervosa periférica em sapos. Philipeaux & Vulpein (1870) realizaram enxertos nervosos em cães, transplantando segmento de nervo óptico para o nervo hipoglosso entre um animal e outro, contudo não obtiveram sucesso. Em 1870 esses mesmos autores publicaram outro trabalho com o uso de enxerto autólogo, em cães, e obtiveram pequeno sucesso (Dourado *et al.*, 2001). Hueter (1871 - 1873) (*apud* Davis) introduziu e estudou o conceito primitivo da sutura epineural. Esta técnica, modificada, refinada, e aperfeiçoada, é utilizada desde então até a atualidade. Nelaton (1864) descreveu a reparação nervosa secundária, sendo esta realizada algumas semanas após o trauma, segundo Novak *et al.* (2004).

Em 1872 Letievant (*apud* Davis, 1934) foi um dos primeiros autores a descrever a anatomia da porção distal e proximal de um nervo. Albert (1876 - 1878) descreveu o uso clínico do enxerto nervoso, que foi raramente usado até Seddon (1943) iniciar a sua técnica de enxerto com a utilização de nervos cutâneos sensitivos transpostos a troncos nervosos maiores.

Desde Milkulicz (1882) a idéia de tração nervosa começa a ser descrita. Loebke (1884) descreveu o encurtamento ósseo em apêndices locomotores para evitar a tração de nervos periféricos lesados em grandes segmentos (Novack, 2004). Balance *et al.* (1903) descreveram a neurorrafia término-lateral para paralisia do nervo facial, com incisão no nervo doador. Viterbo *et al.* (1992) introduziram a neurorrafia término-lateral sem lesão no

nervo doador permitindo, portanto, que qualquer nervo possa servir como doador sem prejuízos ao mesmo ou às estruturas por ele inervadas.

Babcock (1927) preconizou o uso de três técnicas para o tratamento de lesões dos nervos periféricos: sutura direta, enxerto nervoso e neurólise.

Na década de 40, Young & Medawar (1940) foram os primeiros a publicar trabalho experimental em cão, usando adesivo biológico (cola de fibrina). Naquela época, os estudos de Seddon (1943 e 1947) com enxertos, também tiveram bons resultados. Edshage (1964) demonstrou que a sutura epineural podia causar deslocamento dos fascículos neuronais, apesar de sua boa coaptação. Bora (1967) realizou sutura interfascicular em nervos de gatos, também com bons resultados.

Brown (1972) afirmou que os principais fatores que influem na regeneração nervosa são a idade do paciente, a extensão da lesão (*gap*), a formação de neuromas, os fatores neurotróficos e a técnica empregada para a reparação.

Sunderland (1979) após vários estudos da anatomia interna dos nervos recomendou o uso de sutura individual dos fascículos. Millesi *et al.* (1972) afirmaram que a sutura interfascicular pode aumentar o volume de tecido conjuntivo (perineuro), provocando tensão na área da anastomose e prejudicando o suprimento vascular do nervo (Rodrigues, 1990).

Dentro daquela mesma linha de raciocínio Terzis *et al.* (1975) e Sunderland (1978) preconizaram evitar tensão na área da sutura, visando prevenir a isquemia e a fibrose.

A reparação de lesões nervosas periféricas pode ser primária ou secundária. Sempre que possível e as condições locais e gerais permitirem, deverá ser realizada imediatamente (primária) a fim de evitar a retração do nervo. Já a reparação secundária, ou seja, realizada após algumas semanas, estará indicada quando não se conhece com exatidão os danos causados ao nervo e suas estruturas, podendo indicar-se a utilização de enxertos nervosos (Grabb, 1970; Brown, 1972; Tupper *et al.*, 1988).

Hems & Glasby (1992) preconizaram que em lesões limpas, em que ocorreu secção de nervo por arma branca ou vidro, se houver condições técnicas apropriadas, a sutura deverá ser realizada dentro das

primeiras vinte e quatro horas. Nesta fase os tubos endoneurais são de tamanho normal e a anastomose pode ser realizada sem tensão (Rodrigues *et al.*, 1990). A neurografia término-terminal apresenta prognóstico favorável, porque não há retração e nem necessidade de interposição de enxerto. Este reparo nervoso primário é vantajoso nas lesões do plexo braquial e naquelas da região proximal do nervo ciático (Hems *et al.*, 1992). Entretanto, traumas graves e ressecções tumorais, sempre levam à grande perda de tecido neural, impossibilitando muitas vezes a neurografia primária. Para esses casos, o enxerto nervoso é considerado o tratamento de escolha (Costa *et al.*, 2006). As extensas perdas de tecido nervoso demandam grande quantidade de enxerto de nervo o que às vezes não é possível devido à indisponibilidade de nervo doador em tamanho suficiente (Jenq & Coggeshall, 1987a; Kelley *et al.*, 1991; Brunelli *et al.*, 1994). Além disto, sempre ocorrerá certa morbidade na área de retirada dos enxertos de nervos autólogos (Fawcett & Keynes, 1990; Kelley *et al.*, 1991; Brunelli *et al.*, 1994).

A técnica de enxertos venosos oferece bons resultados (Chiu *et al.*, 1982; Risitano *et al.*, 1989; Hentz *et al.*, 1991; Nicolino *et al.*, 2003; Tos *et al.*, 2007) porque guia e permite a comunicação bioquímica entre os cotos nervosos reparados (Wang *et al.*, 1993), reduzindo inclusive a tensão entre os cotos nervosos.

Baseados nas vantagens da tubulização com enxerto de veia autóloga, decidimos acrescentar à mesma o PRP, imaginando que, talvez, o mesmo pudesse trazer melhor resultado na regeneração dos axônios.

## **OBJETIVO**

## **OBJETIVO**

Este trabalho teve por objetivo estudar a influência do plasma rico em plaquetas na regeneração axonal de nervo periférico seccionado e reparado mediante tubulização com enxerto de veia normal e ao avesso.

## MÉTODO



## MÉTODO

### DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foram utilizados 70 ratos machos adultos (*Rattus norvegicus albinus*) da variedade *Wistar* tendo peso corpóreo médio variando de 180 a 200 gramas e aproximadamente dois meses de idade, fornecidos pelo Biotério Central do Campus da UNESP em Botucatu.

Os animais foram distribuídos por sorteio em cinco grupos descrito a seguir:

G 1 - grupo controle (**Sham**). n=10

G 2 - grupo com enxerto venoso ao avesso sem preenchimento (**VASP**). n=15

G 3 - grupo com enxerto venoso ao avesso preenchido com plasma rico em plaquetas (**VAPRP**). n=15

G 4 - grupo com enxerto venoso normal sem preenchimento (**VNSP**). n=15

G 5 – grupo com enxerto venoso preenchido com plasma rico em plaquetas (**VNPRP**). n=15

Em todos os grupos o nervo ciático direito foi utilizado para o estudo experimental. Os Grupos **G 2**, **G 3**, **G 4** e **G 5** receberam enxerto venoso da veia jugular externa do lado esquerdo do mesmo animal.

Nos grupos 3 e 5, após as suturas das extremidades da veia nos cotos proximal e distal, as veias foram preenchidas com o plasma rico em plaquetas (PRP) que foi previamente ativado com solução de tromboplastina cálcica na concentração de 12,5 mol/ml\*.

---

\**Soluplastin®*, Wiener Laboratórios

O PRP foi colocado no interior da veia com o uso de agulha e seringa tipo *Luer-Looock*, em uma das extremidades do enxerto, após a outra extremidade já estar previamente suturada (Fig. 4).

## PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Os animais foram anestesiados com injeção intramuscular de 50% de tiletamina e 50% de zolazepam na dose de 3 mg/kg de peso\*. A anestesia foi aplicada intramuscular no músculo glúteo do antímero esquerdo, para não interferir nos resultados do lado operado.

Após serem adotadas as técnicas de assepsia para procedimentos cirúrgicos, os animais foram colocados em mesa de madeira revestida de cortiça. Foram fixados à mesa operatória, posicionados em decúbito dorsal e suas patas dianteiras e traseiras em completa abdução. A seguir os animais receberam epilação na região lateral esquerda no pescoço, seguida de degermação. Com uma incisão da pele do pescoço, no antímero esquerdo, procedeu-se a divulsão dos tecidos por planos para expor a veia jugular externa esquerda, promovendo o seu isolamento. Nos animais que receberam enxertos venosos preenchidos com PRP, coletou-se um 0,8 ml de sangue da veia jugular externa, sendo este colocado em tubo de ensaio contendo solução de citrato de sódio a 10%. A seguir o tubo de ensaio foi centrifugado numa velocidade de 700-800 rotações por minuto por seis minutos, à temperatura ambiente, resultando três faixas (bandas) de componentes. Para obtenção do PRP, coletou-se o componente da banda intermediária do tubo de ensaio, que obedeceu ao protocolo preconizado por Anitua (1999).

---

\* *Telazol; Fort Dodge Laboratories, Fort Dodge®*

No passo seguinte, introduziu-se uma sonda periodontal de aço inox na luz da veia e realizou-se a ligadura de seus segmentos, cranial e caudal, e posteriormente seccionou-se suas duas extremidades. Este segmento de aproximadamente 12 mm de veia foi mantido em soro fisiológico até o momento de sua colocação como enxerto entre os cotos nervosos lesados no nervo ciático direito (Fig. 1).



Figura 1 – Coleta da veia jugular externa esquerda.

Na segunda fase os animais foram posicionados e fixados em decúbito ventral com suas patas dianteiras e traseiras em completa abdução. Realizou-se a epilação da região posterior da coxa direita e “degermação” para incisão e acesso, plano a plano, do nervo ciático direito. Fig. 2.

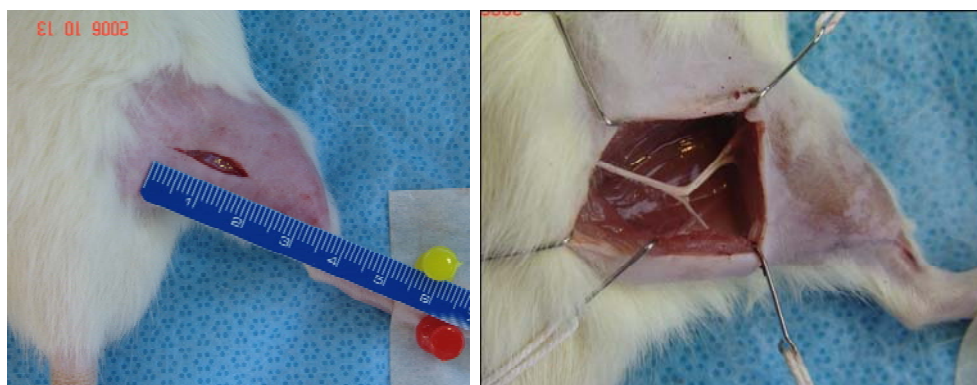


Figura 2 – Exposição do nervo ciático direito

O grupo 1 (grupo controle) recebeu a cirurgia somente para exposição do nervo ciático e teve a incisão suturada com pontos simples, plano a plano, com fio monofilamentar de náilon 5-0.

O grupo 2 (VASP), após secção e retirada de um segmento de aproximadamente 10 mm do nervo ciático direito, recebeu o enxerto de veia jugular externa ao avesso sem preenchimento. Foram aplicados dois pontos simples em cada extremidade com fio monofilamentar de náilon 10-0 fixando as extremidades da veia ao epineuro, distante dois milímetros das extremidades dos cotos nervosos. Estas suturas foram realizadas em ambas extremidades da veia (Fig. 3).

O grupo 3 (VAPRP) recebeu enxerto de veia jugular externa ao avesso, preenchida com PRP em seu interior, sendo suturada como os animais do grupo 2 (Fig. 4).

O grupo 4 (VNSP) foi semelhante ao grupo 2, porém o enxerto de veia não foi colocado ao avesso (Fig.5).

O grupo 5 (VNPRP) foi semelhante ao grupo 3, porém o enxerto de veia não foi colocado ao avesso.

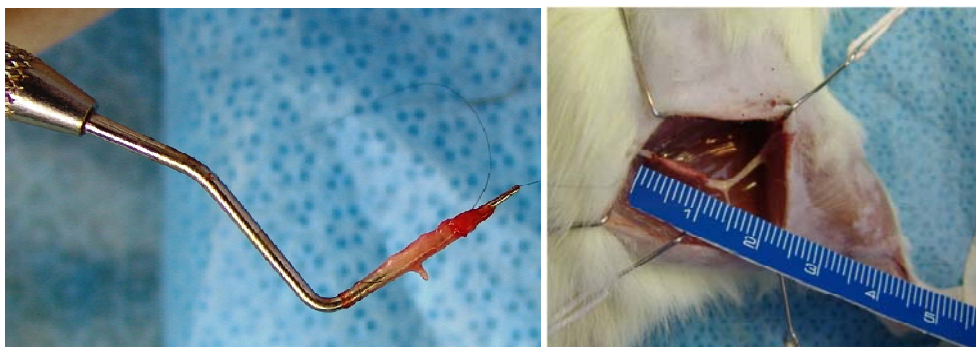


Figura 3 - Sutura do enxerto venoso ao avesso (VASP).

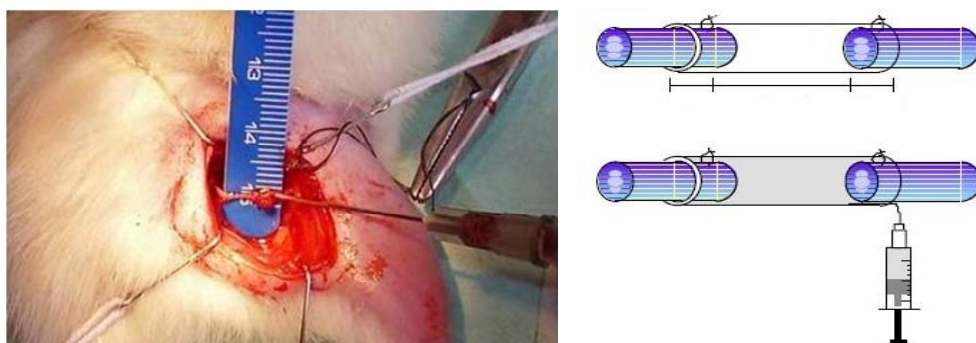


Figura 4 – Sutura do enxerto venoso ao avesso preenchido com PRP (VAPRP).

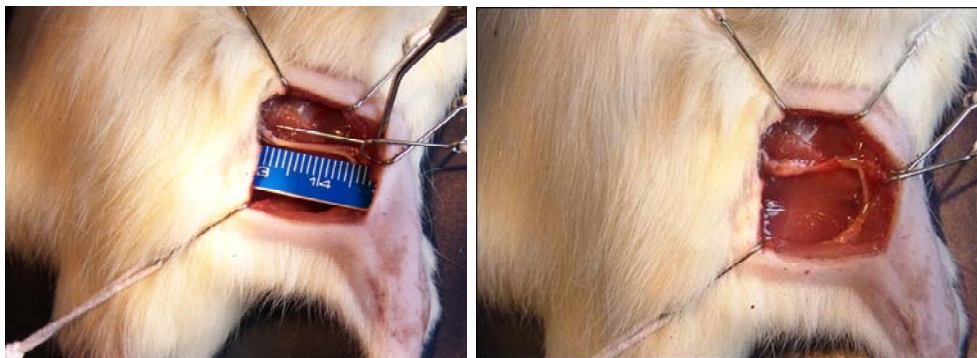


Figura 5 – Sutura da veia normal sem preenchimento (VNSP).

Os ratos após as cirurgias foram mantidos em gaiolas individuais, em temperatura ambiente de 24°C ( $\pm$  0,5), receberam alimentação e água *ad libidum*, respeitando-se o ciclo circadiano de 12 horas de luz e com observação periódica.

Todas as fases cirúrgicas foram realizadas por apenas um operador, previamente treinado, utilizando-se de microscópio cirúrgico.

Todas as etapas da realização do trabalho, bem como os procedimentos, obedeceram aos princípios bioéticos preconizados pelo COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal), e aprovados previamente pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Marília, datado de 29 de outubro de 2004 e apostilado em 30 de novembro de 2006.

### **Sacrifício e Coleta das Amostras**

Os animais foram sacrificados no decorrer de 12 semanas após as cirurgias através de dose elevada de pentobarbital sódico, 150 a 200 mg por kg de peso corpóreo. Os nervos ciáticos foram retirados e fixados em glutaraldeído a 2,5%, em tampão fosfato de sódio pH 7,2, 0,1 M, para processamento de rotina em microscopia óptica (Fig. 6).

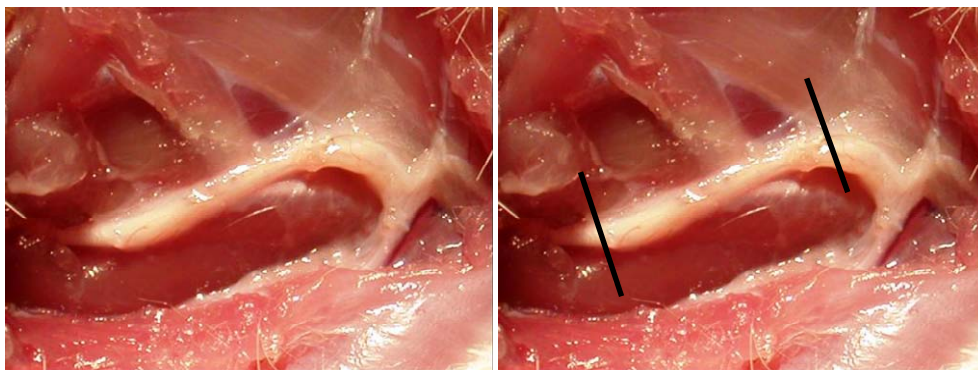


Figura 6 – Coleta de segmento nervoso

### **Análise Quantitativa e Tratamento Estatístico**

Para análise morfométrica utilizou-se, em média, 200 fibras nervosas por animal visualizadas em cortes transversais semifinos com espessura de 0,5  $\mu\text{m}$ , e aferiram-se 100 fibras para o terço médio do enxerto e 100 fibras para o coto distal. As observações foram feitas através da escolha de um campo “randomizado”.

As imagens dos cortes histológicos foram capturadas através de microscópio óptico Olympus BX 50, acoplado a um sistema de captura de imagens e a um microcomputador *Pentium III*, com interface para o programa *Image Pro Plus*, versão 4.5, pertencente ao Laboratório de Morfologia da Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo.

As aferições dos diâmetros das fibras nervosas, dos axônios e das espessuras das bainhas de mielina, foram realizadas através de fotografias de escala micrométrica. Com o emprego de um paquímetro Mitutoyo com precisão de 0,05 mm e da fórmula  $X=Y \cdot 10^6 / A^2$  (onde o X= valor em  $\mu\text{m}^2$  e A= ampliação), permitiu-se as conversões das medidas de  $\text{mm}^2$  para  $\mu\text{m}^2$ .

### **ESTATÍSTICA DESCRITIVA**

Com os resultados numéricos quantitativos obtidos, foram calculadas as médias aritméticas, os desvios padrões das médias e os coeficientes de variação (Pearson), de cada animal e de cada grupo. Foi feito



estudo comparativo das áreas e dos diâmetros dos axônios e da espessura e área da bainha de mielina. Com estes dados avaliaram-se as medidas de tendência central, ou seja, os “escores” do centro do conjunto.

### ESTATÍSTICA ANALÍTICA

A análise estatística destes resultados foi feita pela *One-way analysis of variance* (ANOVA) para testar a hipótese de nulidade contra a hipótese alternativa.

Utilizou-se para análise comparativa entre os cinco grupos o teste F, que permite calcular a soma e as médias dos quadrados, e os graus de liberdade para se obter o valor de F. Com o valor de F calculado, localizou-se na tabela de Fischer o valor de P.

Para o estudo das correlações lineares intra-grupos e entre-grupos, utilizou-se o método de Scheffé que testa 2 grupos (Vieira, 1980; Wang *et al.*, 1993 e 1995, Campana *et al.*, 2001; Dória Filho, 2001, Karacaoglu *et al.*, 2001; Suchmacher & Geller, 2005), adotando-se o nível de significância de 5% ( $p=0,05$ ). Foi utilizado o programa *Minitab* 11.0 para a formação do banco de dados, a realização da análise de variância ANOVA (*one-way*) e a construção dos gráficos, apresentadas nos resultados.

Depois, foi aplicado método de *Scheffé*, onde foram comparados os grupos dois a dois entre si, perfazendo assim seis comparações para o enxerto e seis comparações para o coto distal, entre as quatro técnicas utilizadas, objetivando verificar a diferença mínima significativa ao nível de 5% ( $p=0,05$ ).

## **RESULTADOS**



## RESULTADOS

### Análise Macroscópica

Na inspeção dos animais, à vista desarmada, observou-se que os animais tiveram dificuldade na marcha e realizaram automutilação (autofagia) dos dedos do membro operado. Porém, ao curso de mais ou menos quatro semanas a atividade de automutilação não persistiu e foi diferente entre os grupos operados, como mostra a Fig. 7 e Tab. 1.

O grupo G3 apresentou o menor número de dedos mutilados, seguido do grupo G5, ambos com preenchimento de PRP, por sua vez seguidos pelo grupo G4. Em último lugar, e portanto com pior resultado, ficou o grupo G2.

Grupos	Dedos I	Dedos II	Dedos III	Dedos IV	Dedos V
G2 (VASP) Animais	-	-	5	6	6
G3 (VAPRP) Animais	-	-	-	-	1
G4 (VNSP) Animais	-	-	-	4	4
G5 (VNPRP) Animais	-	-	-	2	2

Tabela 1 - Números de dedos em que os animais realizaram autofagia do membro operado.

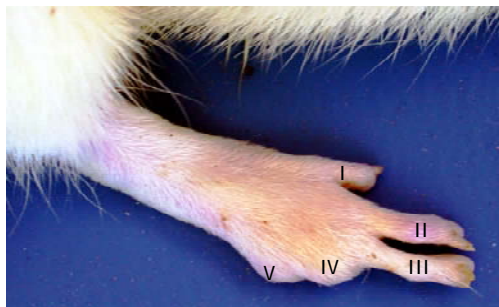


Figura 7 – Animal do grupo VNSP (automutilação)

## ANÁLISE HISTOMORFOLÓGICA

### MICROSCOPIA ÓPTICA

Para o estudo da morfologia dos cotos nervosos utilizaram-se cortes transversais semifinos contrastados com tetróxido de ósmio e contra-corados por eosina e azul de toluidina. Os cortes foram analisados primeiramente em um aumento pequeno de 40 vezes (objetiva 4X) a fim de observar-se o conjunto das estruturas. Em seqüência passou-se para aumentos maiores de 100 vezes (objetiva 10X), 200 vezes (objetiva 20X) e por último ao aumento de 400 vezes (objetiva 40X).

A morfologia das estruturas foi descrita evidenciando o epineuro, o perineuro, o tecido adiposo, os vasos sangüíneos e as bainhas de mielina.

### Características morfológicas do grupo G1 (*sham*)

O grupo G1 (*Sham*) apresentou as bainhas de mielina bem nítidas e de tamanhos variados. O epineuro era delgado, com fibras colágenas

bem organizadas e paralelas entre si. Apresentou-se nítido e revestido externamente por uma camada de tecido adiposo. A camada interna do epineuro emitia septos para o interior das fibras, constituindo assim o perineuro, que formava os fascículos. O perineuro era também delgado e nítido, e observavam-se alguns vasos sanguíneos que transitavam neste pequeno espaço. Os fascículos apresentaram-se com pouco tecido conjuntivo envolvente e eram bem compactados entre si. As bainhas de mielina que eram mais espessas e nítidas, sempre estavam posicionadas próximas aos vasos sanguíneos (Fig. 8 e 9).

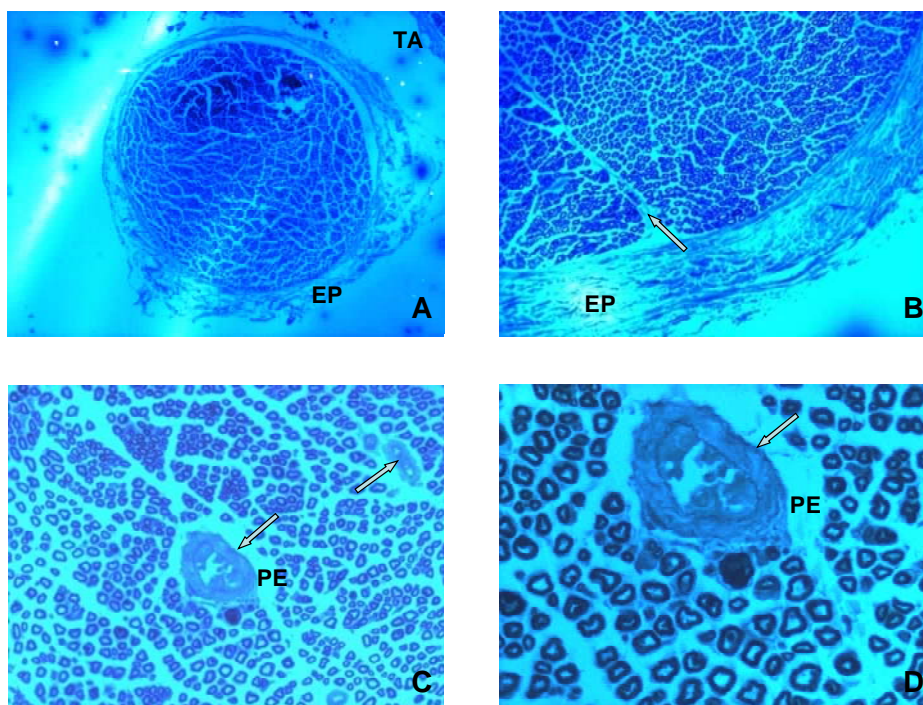


Figura 8 – Grupo *Sham*. Coloração por tetróxido de ósmio e contra coloração por azul de toluidina. **A** - epineuro (EP) e tecido adiposo (TA) (4X), **B** - vaso sanguíneo (seta) e epineuro (EP) (10X), **C** - vasos sanguíneos (setas) e perineuro (PE) (20X) e **D** - vaso sanguíneo (seta) e perineuro (PE) (40X).

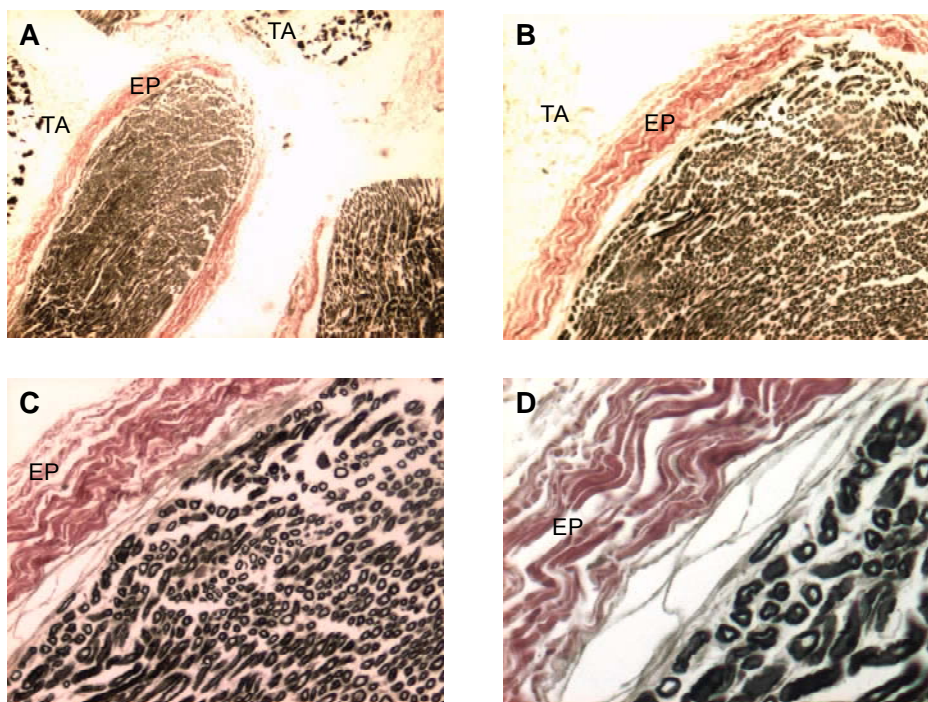


Figura 9 – Grupo *Sham*. Coloração por tetróxido de ósmio e contra coloração por eosina. **A** - epineuro (EP) e tecido adiposo (TA) (4X), **B** - epineuro (EP) e tecido adiposo (TA) (10X), **C** - epineuro (EP) (20X) e **D** - epineuro (EP) (40X).

## Características morfológicas do grupo G2 (VASP)

### Região do enxerto

Os cortes transversais do terço médio da região dos enxertos nos animais do grupo veia ao avesso sem preenchimento (VASP), apresentaram o nervo bastante fasciculado, com epineuro bem delimitado, espesso e às vezes irregular. Foi observada a presença de vasos sanguíneos no centro e na periferia dos fascículos que eram envolvidos pelo perineuro e também epineuro. O epineuro se apresentou fibroso, mais espesso e irregular que o observado no grupo G1 (*Sham*). Foram encontrados vários microfascículos no epineuro, próximo a uma camada de tecido adiposo. A espessura das bainhas de mielina era de tamanhos variados, porém nítidas, com os diâmetros das fibras de tamanhos diferentes. As maiores ladeavam os vasos sanguíneos (Fig.10).

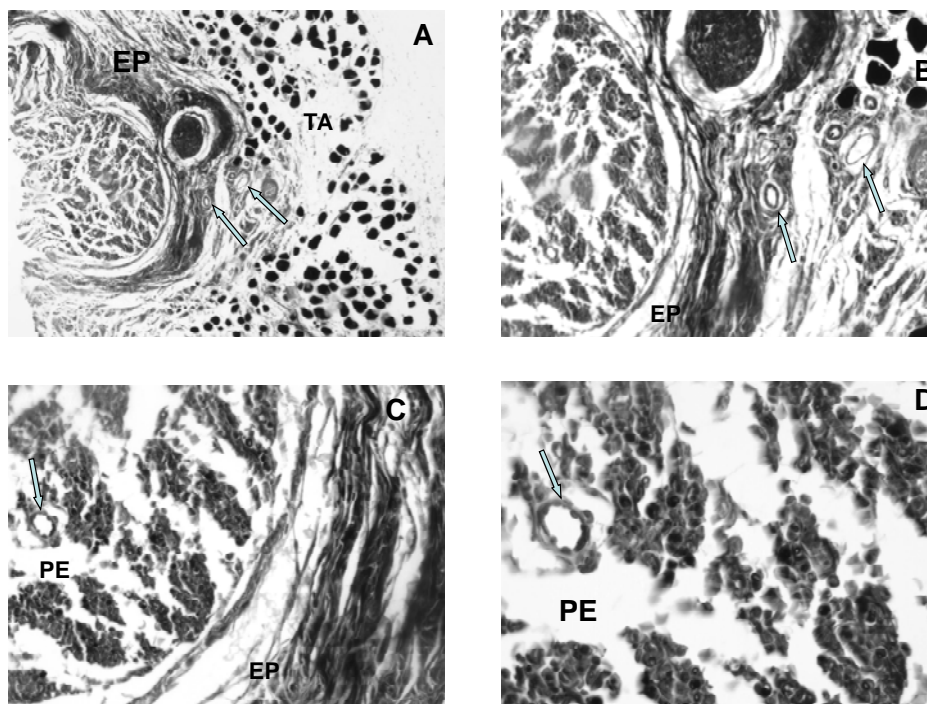


Figura 10 – Veia ao avesso sem preenchimento (enxerto). Coloração por tetróxido de ósmio. **A** - vasos sangüíneos (setas), epineuro (EP) e tecido adiposo (TA) (4X), **B** - epineuro (EP) e vasos sangüíneos (setas) (10X), **C** - vaso sangüíneo (seta), epineuro (EP) e perineuro (PE) (20X) e **D** - vaso sangüíneo (seta) e perineuro (PE) (40X).

### Região do coto distal

Observou-se o nervo muito fasciculado com epineuro e perineuro bem nítidos e bem delimitados, havendo a presença de vasos sangüíneos no centro e na periferia dos fascículos. Externamente, envolvendo o epineuro, encontrou-se uma camada de tecido adiposo. Alguns microfascículos encontravam-se próximos da camada de tecido adiposo, com a presença de vasos sanguíneos entre o tecido adiposo e os microfascículos. As bainhas de mielina estavam com espessuras menores que as correspondentes do enxerto, entretanto eram mais compactadas entre si, nítidas e mostravam-se pouco homogêneas (Fig. 11).



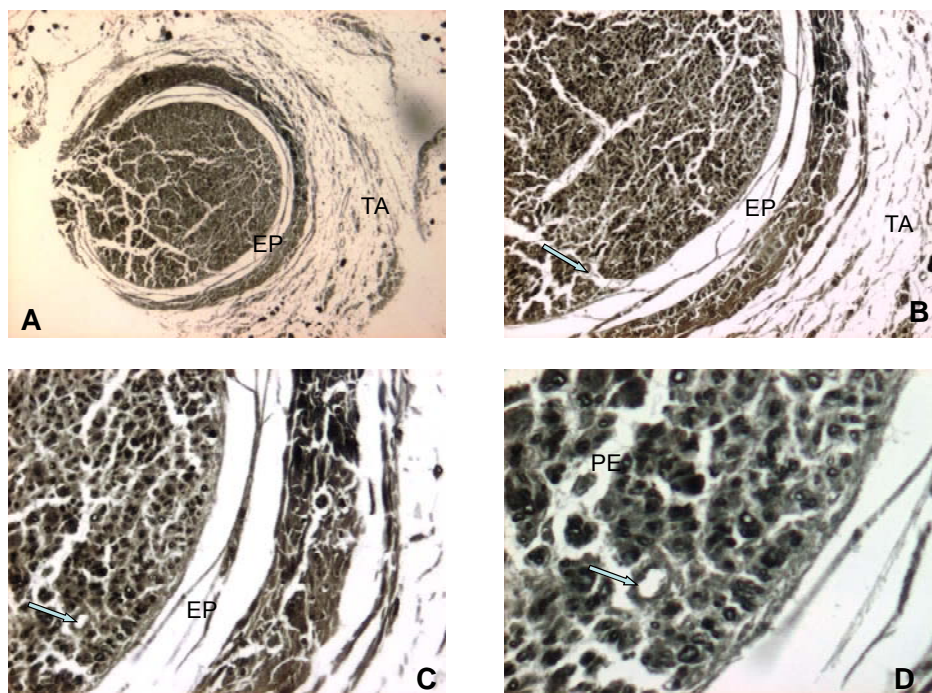


Figura 11 – Veia ao avesso sem preenchimento (coto distal). Coloração por tetróxido de ósmio. **A** - epineuro (EP) e tecido adiposo (TA) (4x), **B** - vaso sangüíneo (seta), epineuro (EP) e tecido adiposo (TA) (10X), **C** - vaso sangüíneo (seta) e epineuro (EP) (20X) e **D** - vaso sangüíneo (seta) e perineuro (PE) (40X).

## Características morfológicas do grupo G3 (VAPRP)

### Região do enxerto

Os cortes transversais do terço médio da região do enxerto nos animais do grupo veia ao avesso preenchida com plasma rico em plaquetas G 3 (VAPRP) apresentaram-se muito fasciculados, com os seus fascículos nervosos de tamanhos diferentes e pouco delimitados. O epineuro mostrou-se irregular e sua superfície externa era revestida por camada de tecido adiposo, também irregular. O perineuro era espesso, irregular e fibroso. Observou-se a presença de vasos sangüíneos somente na periferia do fascículo maior, com poucas fibras na sua porção central, que era preenchida por tecido conjuntivo fibroso. Na periferia dos fascículos as bainhas de mielina eram de tamanhos homogêneos, enquanto no centro elas eram menores e de tamanhos heterogêneos. Um microfascículo foi observado entre o epineuro e a camada de tecido adiposo, próximo a vasos sangüíneos, que exibia bainha de mielina homogênea e nítida (Fig.12).

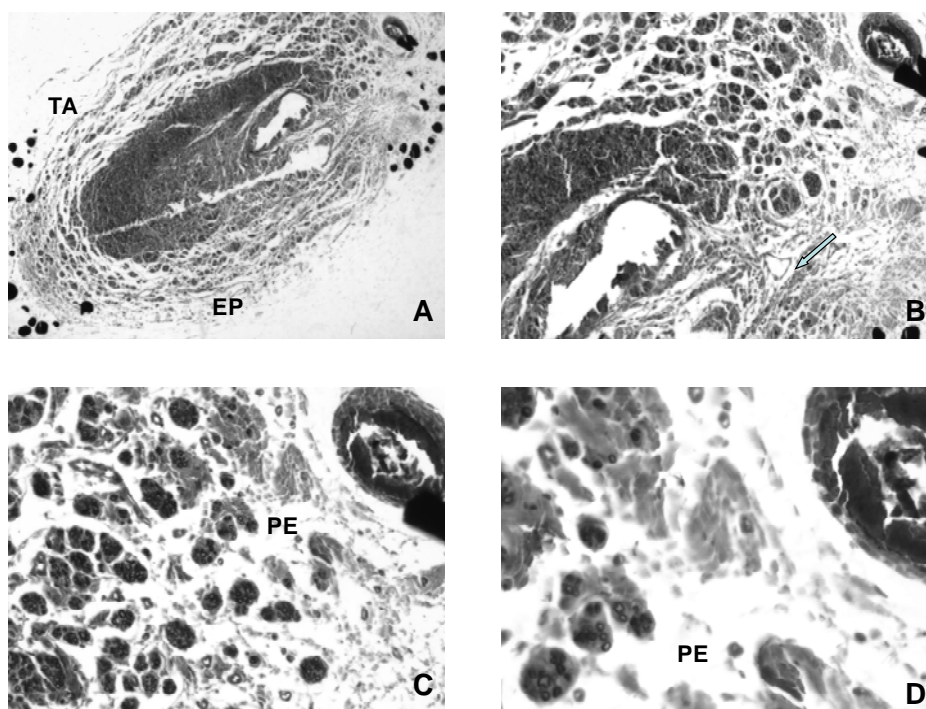


Figura 12 – Veia ao avesso preenchida com plasma rico em plaquetas (enxerto). Coloração por tetróxido de ósmio. **A** - epineuro (EP) e tecido adiposo (TA) (4X), **B** - vaso sangüíneo (seta) (10X), **C** - perineuro (PE) (20X) e **D** - perineuro (PE) (40X).

### Região do coto distal

O coto distal apresentou fascículos de tamanhos diferentes, tendo epineuro e perineuro bem delimitados e nítidos. O epineuro era revestido externamente por uma camada de tecido adiposo, por onde transitavam alguns vasos sangüíneos. O perineuro apresentou-se ora espesso, ora delgado, formando fascículos bem compactados. Também mostrou microfascículos entre o epineuro e a camada de tecido adiposo. As bainhas de mielina eram nítidas, pouco heterogêneas e bem compactadas entre si (Fig.13).

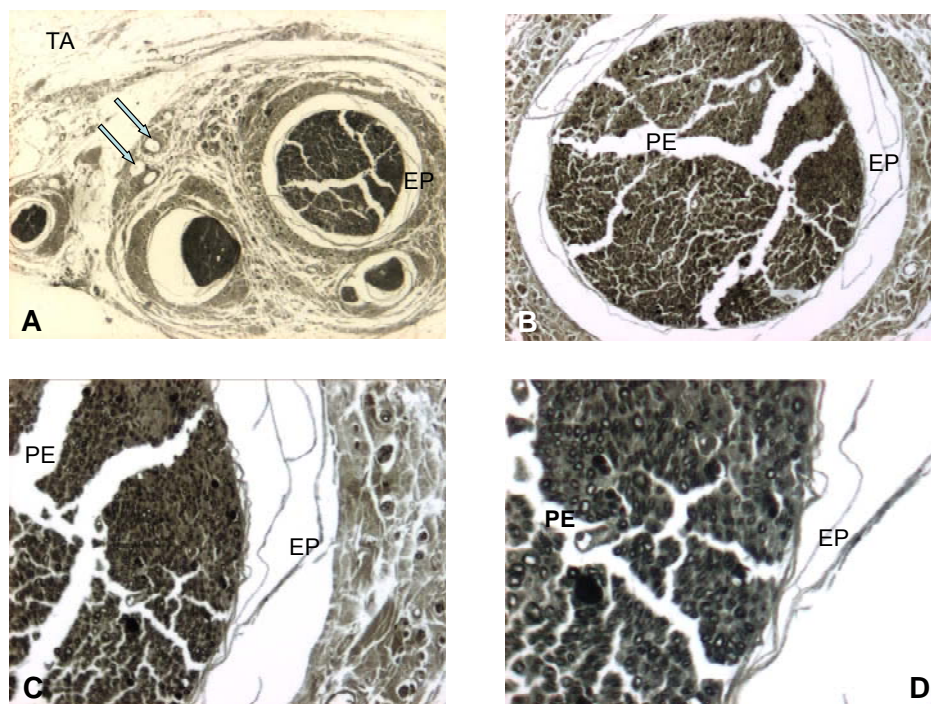


Figura 13 – Veia ao avesso preenchida com plasma rico em plaquetas (Coto Distal). Coloração por tetróxido de ósmio. **A** - vasos sangüíneos (setas), epineuro (EP) e tecido adiposo (TA) (4X), **B** - epineuro (EP) e perineuro (PE) (10X), **C** - epineuro (EP) e perineuro (PE) (20X) e **D** - epineuro (EP) e perineuro (PE) (40X).

## Características morfológicas do grupo G4 (VNSP)

### Região do enxerto

Nos animais do grupo veia normal sem preenchimento G 4 (VNSP), os cortes transversais do terço médio da região dos enxertos de nervo ciático apresentaram-se com poucos e irregulares minifascículos nervosos. Observou-se os perineuros fibrosos, irregulares e sem limites nítidos, com epineuro também irregular. As bainhas de mielina eram de espessura com tamanhos variados, porém apareciam nítidas. Foram encontrados vários microfascículos no epineuro próximo à camada de tecido adiposo, com a presença de vasos sangüíneos no perineuro e tecido adiposo (Fig.14).



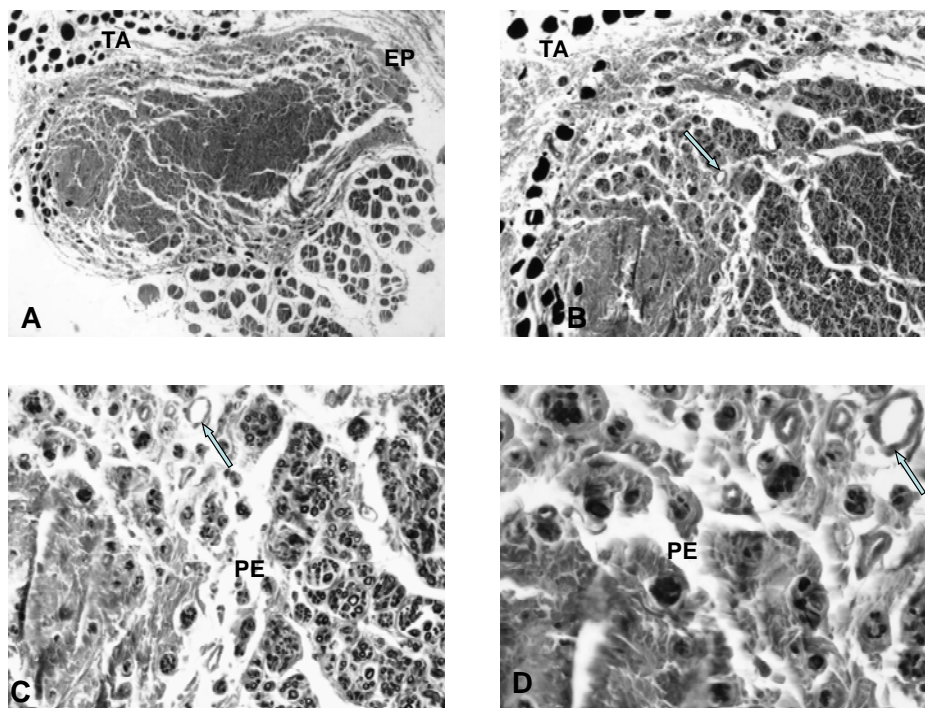


Figura 14 – Veia normal sem preenchimento (enxerto). Coloração por tetróxido de ósmio. **A** - tecido adiposo (TA) e epineuro (EP) (4X), **B** - tecido adiposo (TA) e vaso sanguíneo (seta) (10X), **C** - vaso sanguíneo (seta) e perineuro (PE) (20X) e **D** - vaso sanguíneo (seta) e perineuro (PE) (40X).

### Região do coto distal

No coto distal foi observado o epineuro e o perineuro bem delimitados e nítidos, com a presença de tecido adiposo localizado externamente ao epineuro. Os vasos sanguíneos estavam entre a camada de tecido adiposo e o epineuro, que apresentou-se mais fibroso. Foram observados também alguns microfascículos dispostos entre o perineuro e epineuro. As bainhas de mielina eram nítidas e de espessura menor e pouco heterogêneas. Também observou-se vasos sanguíneos na periferia e no centro do nervo. Os diâmetros das fibras eram de tamanhos diferentes e menores do que os correspondentes no enxerto (Fig.15).

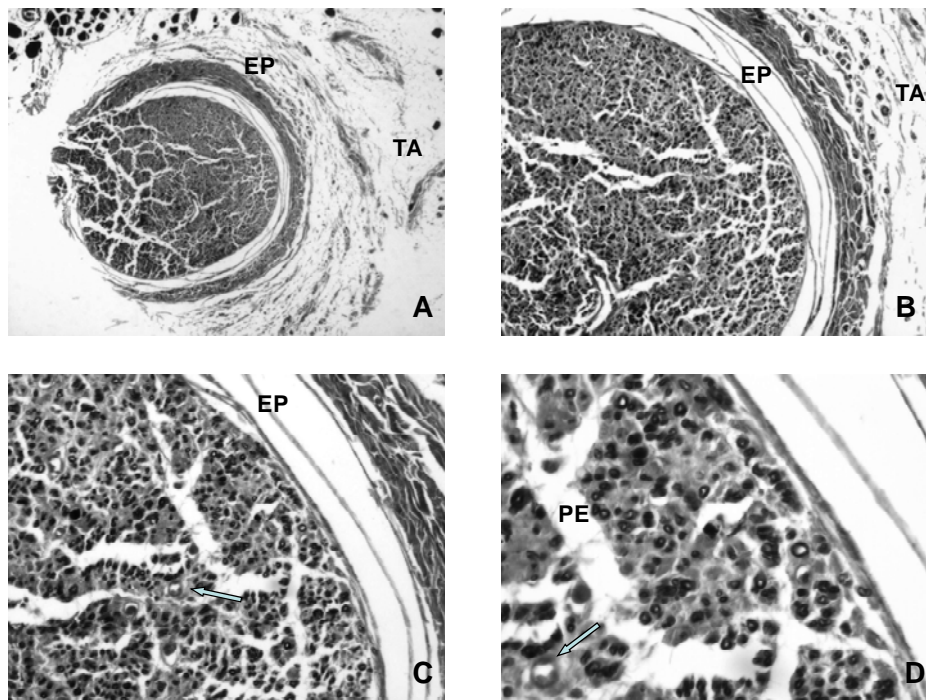


Figura 15 – Veia normal sem preenchimento (coto distal). Coloração por tetróxido de ósmio. **A** - tecido adiposo (TA) e epineuro (EP) (4X), **B** - tecido adiposo (TA) e epineuro (EP) (10X), **C** - vaso sanguíneo (seta) e epineuro (EP) (20X) e **D** - vaso sanguíneo (seta) e perineuro (PE) (40X).

## Características morfológicas do grupo G5 (VNPRP)

### Região do enxerto

No terço médio da região do enxerto nervoso do grupo G5 (VNPRP) observou-se fascículos maiores, de tamanhos variados, e muitos microfascículos dispostos ao redor dos fascículos. Nos fascículos maiores o epineuro e o perineuro eram bem delimitados e nítidos, havendo vasos sanguíneos no centro e na periferia neuronal. Também em alguns espécimes notou-se entre o epineuro e perineuro presença de tecido adiposo, onde observavam-se vasos sanguíneos presentes em suas interfaces. As bainhas de mielina tinham aspecto homogêneo, eram nítidas e bem organizadas. Já nos microfascículos as bainhas de mielina exibiam espessura heterogênea, porém nítidas, e próximas a vasos sanguíneos (Fig.16).

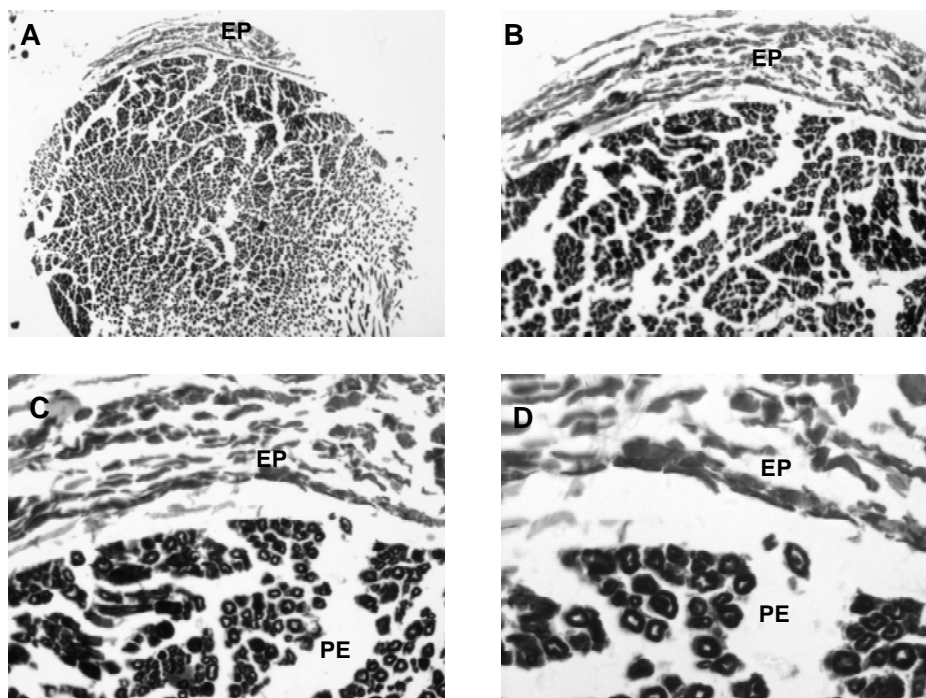


Figura 16 – Veia normal preenchida com plasma rico em plaquetas (enxerto). Coloração por tetróxido de ósmio. **A** - epineuro (EP) (4X), **B** - epineuro (EP) (10X), **C** - epineuro (EP) e perineuro (PE) (20X) e **D** - epineuro (EP) e perineuro (PE) (40X) .

### Região do coto distal

Os fascículos se apresentaram de tamanhos diferentes e havia vários microfascículos nas interfaces entre o perineuro e o epineuro. Os fascículos maiores apresentaram perineuro bem delimitado e presença de vasos sangüíneos. Observou-se tecido adiposo entre o epineuro e perineuro, por onde passavam vasos sangüíneos que exibiam ao seu redor microfascículos. Nos fascículos maiores a espessura das bainhas de mielina era homogênea e bem nítida, enquanto nos microfascículos ela era heterogênea, porém nítida. As bainhas de mielina se apresentaram com espessura menor que as suas correspondentes na região do enxerto (Fig.17).

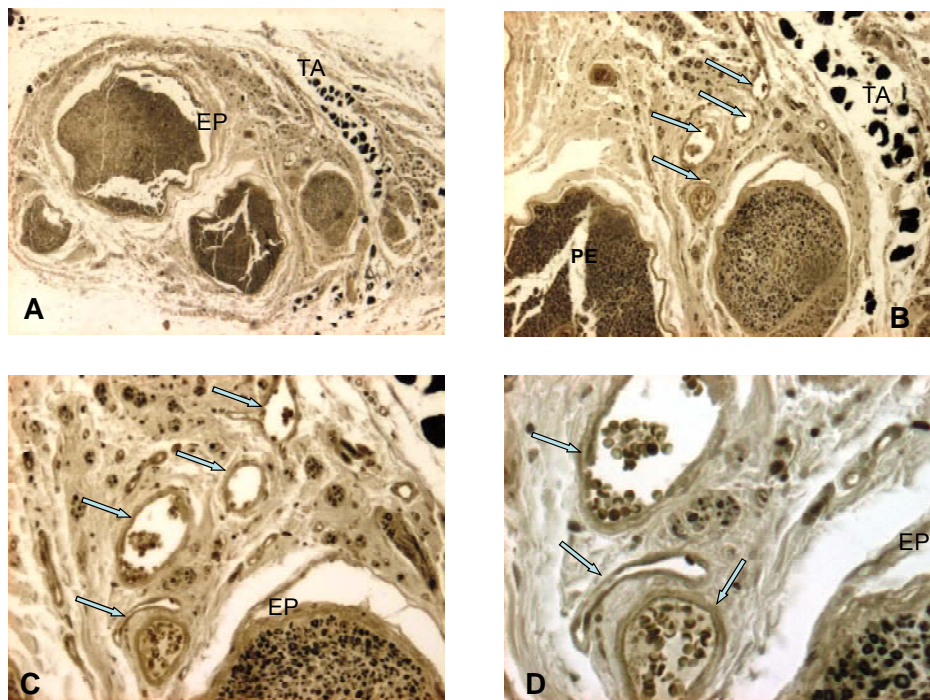


Figura 17 – Veia normal preenchida com plasma rico em plaquetas (coto distal). Coloração por tetróxido de ósmio. **A** - epineuro (EP) e tecido adiposo (TA) (4X), **B** - vasos sanguíneos (setas), perineuro (PE) e tecido adiposo (TA) (10X), **C** - vasos sanguíneos (setas) e epineuro (EP) (20X) e **D** - vasos sanguíneos (setas) e epineuro (EP) (40X).

Quanto ao aspecto histológico do coto distal, observou-se que os vasos sanguíneos transitavam entre o epineuro e a camada de tecido adiposo dos grupos G2 a G5. Também observaram-se alguns vasos localizados próximos aos microfascículos dos grupos G4 e G5. O epineuro e o perineuro mostravam-se nítidos nos grupos G2 e G5, e bem delimitados nos grupos G4 e G5, entretanto no grupo G4 eles apresentaram-se mais fibrosos.

Os fascículos eram de tamanhos diferentes nos grupos G2 a G5, porém no grupo G3 eles eram mais compactos.

A bainha de mielina no coto distal mostrou-se nítida e homogênea nos grupos G2 e G5, enquanto nos grupos G3 e G4 eram heterogêneas. Já no grupo G2 e G3 elas apareceram mais compactas.

### Análise Histomorfométrica

Os resultados das médias aritméticas das variáveis da **área da fibra**, do **diâmetro da fibra**, da **área da bainha**, da **espessura da bainha de**

mielina, da área do axônio e do diâmetro do axônio, estão nas tabelas de número dois a dezenove.

### Área da fibra nervosa na região do enxerto

As áreas, em micrômetros quadrados, foram aferidas em quatro campos por lâmina.

No grupo G1 (*sham*) a média geral foi de 42,81 ( $\pm$  2,80)  $\mu\text{m}^2$ , no grupo G2 (VASP) a média geral foi de 16,97 ( $\pm$  1,00)  $\mu\text{m}^2$ , no grupo G3 (VAPRP), a média geral foi de 22,14 ( $\pm$  0,98)  $\mu\text{m}^2$ , no grupo G4 (VNSP), a média geral foi de 15,53 ( $\pm$  0,58)  $\mu\text{m}^2$  e no grupo G5 (VNPRP) foi de 23,47 ( $\pm$  0,65)  $\mu\text{m}^2$  (Fig. 18 e tabela 2).

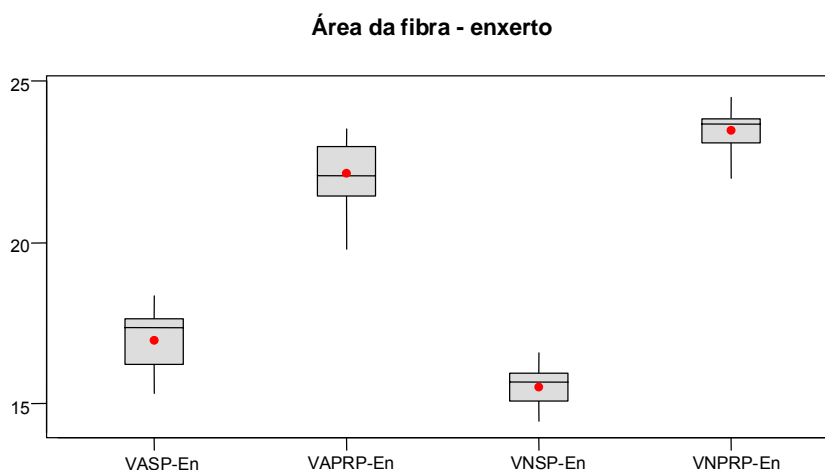


Figura 18 - Média da área da fibra ( $\mu\text{m}^2$ ) no enxerto (En).

Tabela 2 - Resultados morfométricos da área da fibra ( $\mu\text{m}^2$ ) no enxerto (En).

Grupos	N	Média	Desv. Pad.
VASP-En	15	16.979	1.005
VAPRP-En	15	22.140	0.982
VNSP-En	15	15.534	0.586
VNPRP-En	15	23.479	0.653



### ÁREA DA FIBRA - ENXERTO

Comparações/Grupos	Iguais(=) ou diferentes(≠)	Valor de p	Melhor técnica
VASP X VAPRP	≠	< 0,001	VAPRP
VASP X VNSP	≠	< 0,001	VASP
VASP X VNPRP	≠	< 0,001	VNPRP
VAPRP X VNSP	≠	< 0,001	VAPRP
VAPRP x VNPRP	≠	< 0,001	VNPRP
VNSP x VNPRP	≠	< 0,001	VNPRP

Quando confrontadas com o grupo G1 (*sham*) ( $42,81 \pm 2,80 \mu\text{m}^2$ ), o grupo que apresentou a maior média aritmética foi o grupo G5 (VNPRP) ( $23,47 \pm 0,65 \mu\text{m}^2$ ), (Fig. 19 e tabela 3).

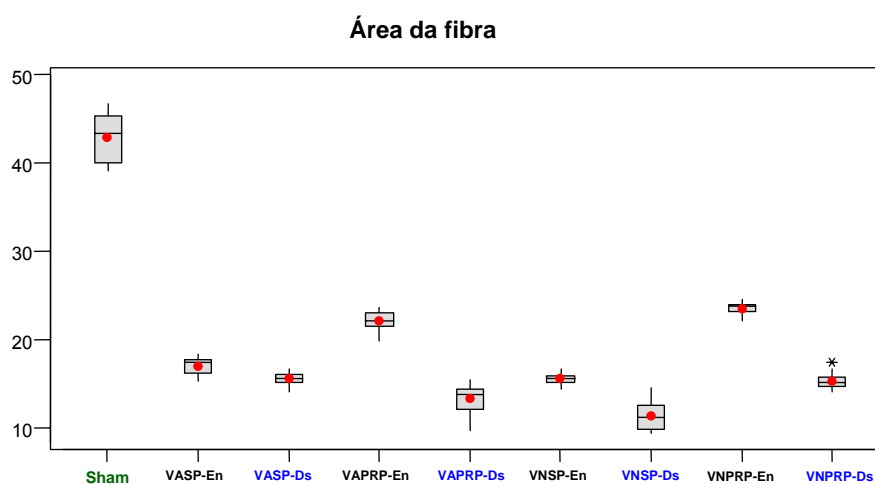


Figura 19 - Média da área da fibra ( $\mu\text{m}^2$ ) no enxerto (En) e no coto distal (Ds).

Tabela 3 - Resultados morfométricos da Área da Fibra ( $\mu\text{m}^2$ )

Grupos	N	Média	Desv. Pad.	CV
Sham	9	42.814	2.801	6.541
VASP-En	15	16.979	1.005	5.917
VASP-Ds	15	15.543	0.666	4.287
VAPRP-En	15	22.140	0.982	4.437
VAPRP-Ds	15	13.280	1.689	12.718
VNSP-En	15	15.534	0.586	3.773
VNSP-Ds	15	11.390	1.702	14.944
VNPRP-En	15	23.479	0.653	2.782
VNPRP-Ds	15	15.279	1.029	6.732

### Área da fibra nervosa na região do coto distal.

No grupo G 1 (*sham*) a média geral foi de 42,81 ( $\pm$  2,80)  $\mu\text{m}^2$ , no grupo G2 (VASP) a média geral foi de 15,54 ( $\pm$  0,66)  $\mu\text{m}^2$ , no grupo G3 (VAPRP), a média geral foi de 13,28 ( $\pm$  1,68)  $\mu\text{m}^2$ , no grupo G4 (VNSP), a média geral foi de 11,39 ( $\pm$  1,70)  $\mu\text{m}^2$  e no grupo G5 (VNPRP) foi de 15,27 ( $\pm$  1,02)  $\mu\text{m}^2$  (Fig. 20 e tabela 4).

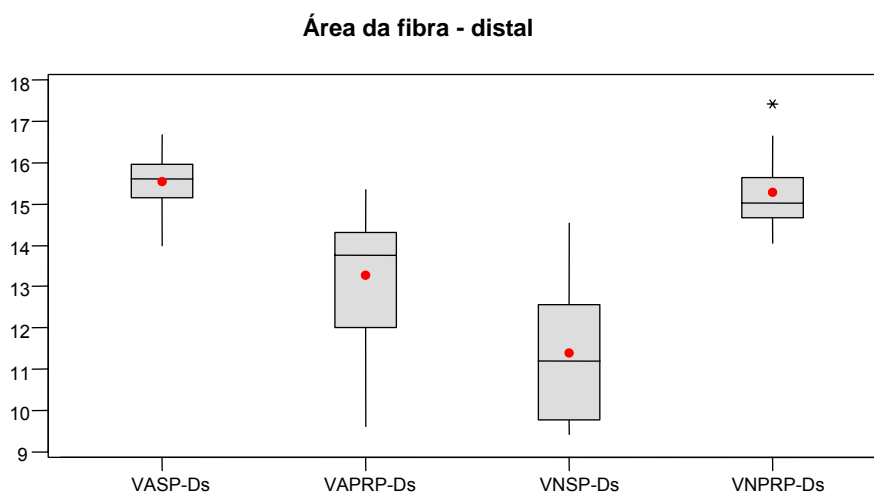


Figura 20 - Média da área da fibra ( $\mu\text{m}^2$ ) no coto distal (Ds).

Tabela 4 - Resultados morfométricos da área da fibra ( $\mu\text{m}^2$ ) no coto distal (Ds).

Grupos	N	Média	Desv. Pad.
VASP-Ds	15	15.543	0.666
VAPRP-Ds	15	13.280	1.689
VNSP-Ds	15	11.390	1.702
VNPRP-Ds	15	15.279	1.029

### ÁREA DA FIBRA – COTO DISTAL

Comparações/Grupos	Iguais(=) ou diferentes(≠)	Valor de p	Melhor técnica
VASP x VAPRP	≠	< 0,001	VASP
VASP x VNSP	≠	< 0,001	VASP
VASP x VNPRP	=	= 0,445	
VAPRP x VNSP	≠	= 0,008	VAPRP
VAPRP x VNPRP	≠	= 0,002	VNPRP
VNSP x VNPRP	≠	< 0,001	VNPRP

Quando confrontadas com o grupo G1 (*sham*) ( $42,81 \pm 2,80 \mu\text{m}^2$ ), o grupo que apresentou a maior média aritmética foi o grupo G2 (VASP) ( $15,54 \pm 0,66 \mu\text{m}^2$ ). Vide figura 19 e tabela 3 (com *sham*).

### Diâmetro mínimo da fibra nervosa na região do enxerto

Nos ratos do grupo G2 (VASP) a média do diâmetro mínimo das fibras nervosas em micrômetros, de quatro campos por lâmina, na região do enxerto, a média geral obtida foi de  $5,14 (\pm 1,51) \mu\text{m}$ .

Nos animais do grupo G3 (VAPRP) a média do diâmetro mínimo das fibras nervosas em micrômetros, de quatro campos por lâmina, foi de  $4,44 (\pm 0,37) \mu\text{m}$ .

Nos ratos do grupo G4 (VNSP) a média do diâmetro mínimo das fibras nervosas em micrômetros, de quatro campos por lâmina, a média geral foi de  $3,55 (\pm 1,55) \mu\text{m}$ .

Nos animais do grupo G5 (VNPRP) a média do diâmetro mínimo das fibras nervosas em micrômetros, de quatro campos por lâmina, foi de  $4,56 (\pm 0,81) \mu\text{m}$ . (Fig. 21 e tabela 5).



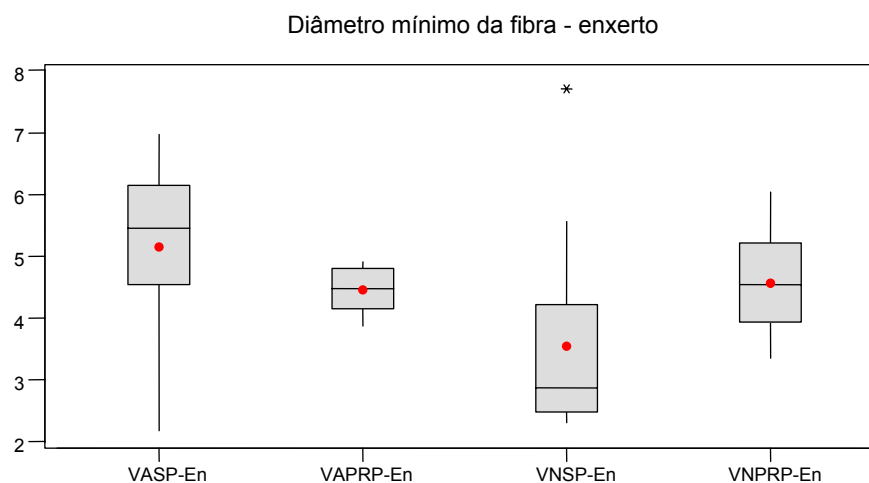


Figura 21 - Média do diâmetro mínimo da fibra ( $\mu\text{m}$ ) no enxerto (En).

Tabela 5 - Resultados morfométricos do diâmetro mínimo da fibra ( $\mu\text{m}$ ) no enxerto (En).

Grupos	N	Média	Desv. Pad.
VASP-En	15	5.145	1.519
VAPRP-En	15	4.447	0.371
VNSP-En	15	3.554	1.558
VNPRP-En	15	4.560	0.810

#### DIÂMETRO MÍNIMO DA FIBRA – ENXERTO

Comparações/Grupos	Iguais(=) ou diferentes(≠)	Valor de p	Melhor técnica
VASP x VAPRP	=	= 0,107	
VASP x VNSP	≠	= 0,011	VASP
VASP x VNPRP	=	= 0,215	
VAPRP x VNSP	≠	=0,047	VAPRP
VAPRP x VNPRP	=	= 0,639	
VNSP x VNPRP	≠	=0,042	VNPRP

Quando os grupos foram confrontados com o G1 (*sham*) ( $6,23 \pm 0,90 \mu\text{m}$ ), o grupo que apresentou a maior média aritmética foi o grupo G2 (VASP) ( $5,14 \pm 1,51 \mu\text{m}$ ) (Fig. 22 e tabela 6).

### Diâmetro mínimo da fibra

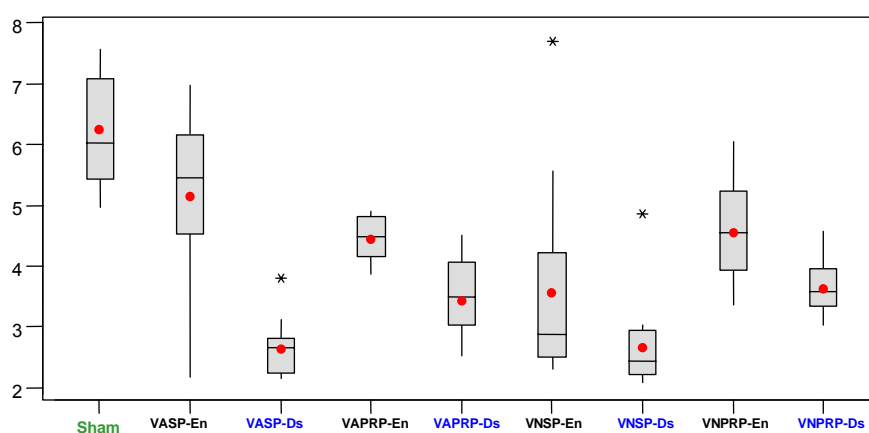


Figura 22 - Média do diâmetro mínimo da fibra ( $\mu\text{m}$ ) no enxerto (En) e no coto distal (Ds).

Tabela 6 - Resultados morfométricos do diâmetro mínimo da fibra ( $\mu\text{m}$ )

Grupos	N	Média	Desv. Pad.	CV
Sham	9	6.2369	0.9061	14.527
VASP-En	15	5.1450	1.5193	29.530
VASP-Ds	15	2.6294	0.4527	17.218
VAPRP-En	15	4.4470	0.3711	8.345
VAPRP-Ds	15	3.4289	0.6021	17.579
VNSP-En	15	3.5539	1.5584	43.850
VNSP-Ds	15	2.6527	0.7640	28.801
VNPRP-En	15	4.5600	0.8097	17.757
VNPRP-Ds	15	3.6342	0.4228	11.634

### Diâmetro mínimo da fibra nervosa na região do coto distal.

Nos ratos do grupo G2 (VASP), a média dos diâmetros mínimos das fibras nervosas em micrômetros de quatro campos por lâmina, na região do coto distal, foi de  $2,62 (\pm 0,45) \mu\text{m}$ .

Nos animais do grupo G3 (VAPRP), a média dos diâmetros mínimos das fibras nervosas em micrômetros, de quatro campos por lâmina, foi de  $3,42 (\pm 0,60) \mu\text{m}$ .

Nos roedores do grupo G4 (VNSP) a média aritmética do diâmetro mínimo das fibras nervosas em micrômetros, de quatro campos por lâmina, foi de  $2,65 (\pm 0,76) \mu\text{m}$ .

Nos animais do grupo G5 (VNPRP), a média dos diâmetros mínimos das fibras nervosas em micrômetros, de quatro campos por lâmina, foi de  $3,63 (\pm 0,42) \mu\text{m}$  (Fig. 23 e tabela 7).

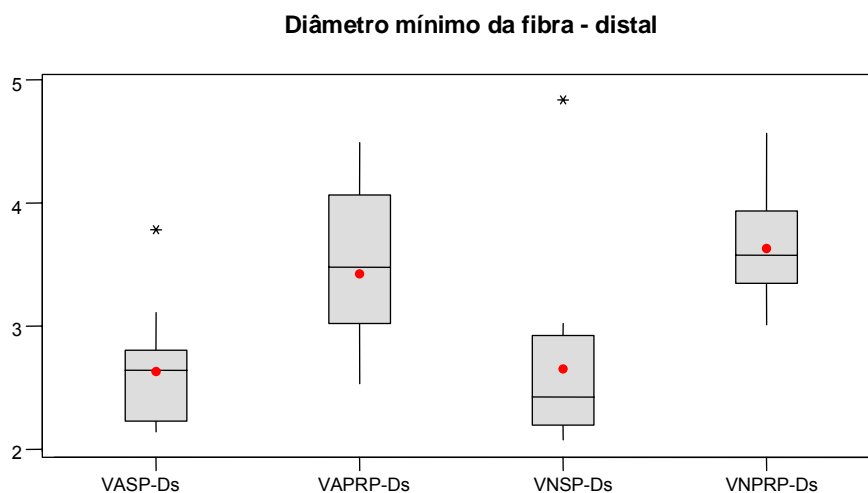


Figura 23 - Média do diâmetro mínimo da fibra ( $\mu\text{m}$ ) no coto distal (Ds).

Tabela 7 - Resultados morfométricos do diâmetro mínimo da fibra ( $\mu\text{m}$ ) no coto distal (Ds).

Grupos	N	Média	Desv. Pad.
VASP-Ds	15	2.6294	0.4527
VAPRP-Ds	15	3.4289	0.6021
VNSP-Ds	15	2.6527	0.7640
VNPRP-Ds	15	3.6342	0.4228

#### DIÂMETRO MÍNIMO DA FIBRA – COTO DISTAL

Comparações/Grupos	Iguais(=) ou diferentes(≠)	Valor de p	Melhor técnica
VASP x VAPRP	≠	< 0,001	VAPRP
VASP x VNSP	=	= 0,924	
VASP x VNPRP	≠	< 0,001	VNPRP
VAPRP x VNSP	≠	= 0,007	VAPRP
VAPRP x VNPRP	=	= 0,343	
VNSP x VNPRP	≠	= 0,001	VNPRP

Quando os grupos foram confrontados com o G1 (*sham*) ( $6,23 \pm 0,90 \mu\text{m}$ ), o grupo que apresentou a maior média aritmética foi o G5 (VNPRP) ( $3,63 \pm 0,42 \mu\text{m}$ ). Vide figura 22 e tabela 6.

### Área da bainha de mielina na região do enxerto

Nos roedores do grupo G2 (VASP), a média das áreas da bainha de mielina em micrômetros quadrados, de quatro campos por lâmina, foi de  $11,97 (\pm 1,36) \mu\text{m}^2$ .

Nos ratos do grupo3 (VAPRP), a média das áreas da bainha de mielina em micrômetros quadrados, de quatro campos por lâmina, foi de  $16,76 (\pm 1,05) \mu\text{m}^2$ .

Nos animais do grupo G4 (VNSP) a média das áreas da bainha de mielina em micrômetros quadrados, de quatro campos por lâmina, foi  $12,76 (\pm 1,32) \mu\text{m}^2$ .

Nos ratos do grupo G5 (VNPRP) a média das áreas da bainha de mielina em micrômetros quadrados, de quatro campos por lâmina, foi de  $18,36 (\pm 1,69) \mu\text{m}^2$  (Fig. 24 e tabela 8).

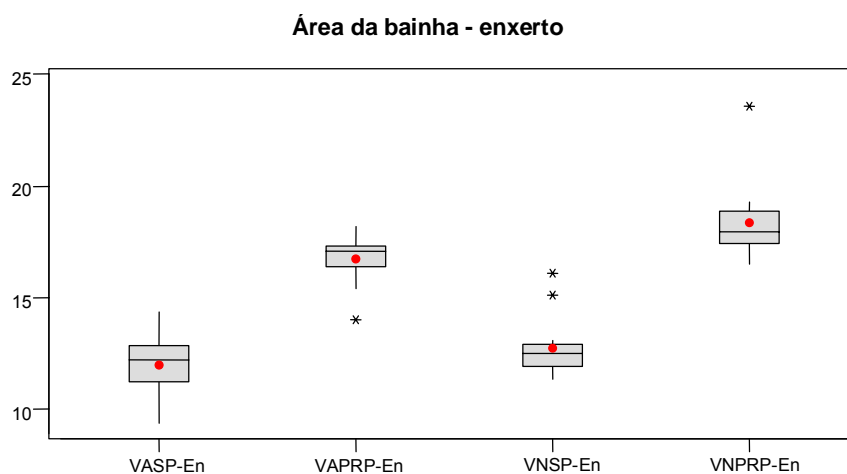


Figura 24 - Média da área da bainha ( $\mu\text{m}^2$ ) no enxerto (En).

Tabela 8 - Resultados morfométricos da área da bainha ( $\mu\text{m}^2$ ) no enxerto (En).

Grupos	N	Média	Desv.Pad.
VASP-En	15	11.974	1.363
VAPRP-En	15	16.767	1.058

VNSP-En	15	12.765	1.329
VNPRP-En	15	18.365	1.694

### ÁREA DA BAINHA – ENXERTO

Comparações/Grupos	Iguais(=) ou diferentes(≠)	Valor de p	Melhor técnica
VASP x VAPRP	≠	< 0,001	VAPRP
VASP x VNSP	=	= 0,132	
VASP x VNPRP	≠	< 0,001	VNPRP
VAPRP x VNSP	≠	< 0,001	VAPRP
VAPRP x VNPRP	≠	= 0,006	VNPRP
VNSP x VNPRP	≠	< 0,001	VNPRP

Quando os grupos foram confrontados com o G1 (*sham*) ( $33,05 \pm 2,20 \mu\text{m}^2$ ), o grupo que apresentou a maior média aritmética foi o grupo G5 (VNPRP) ( $18,36 \pm 1,69 \mu\text{m}^2$ ) (Fig. 25 e tabela 9).

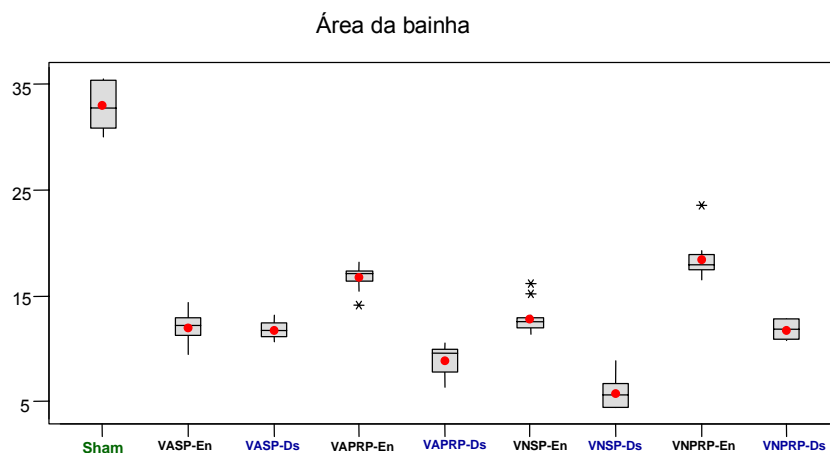


Figura 25 - Média da área da bainha ( $\mu\text{m}^2$ ) no enxerto (En) e no coto distal (Ds).

Tabela 9 - Resultados morfométricos da Área da Bainha de mielina ( $\mu\text{m}^2$ )

Grupos	N	Média	Desv. Pad.	CV
Sham	9	33.053	2.206	6.673
VASP-En	15	11.974	1.363	11.385
VASP-Ds	15	11.678	0.745	6.383
VAPRP-En	15	16.767	1.058	6.309
VAPRP-Ds	15	8.887	1.359	15.295

VNSP-En	15	12.765	1.329	10.409
VNSP-Ds	15	5.765	1.389	24.099
VNPRP-En	15	18.365	1.694	9.221
VNPRP-Ds	15	11.699	0.835	7.139

### Área da bainha de mielina na região do coto distal

Nos ratos do grupo G2 (VASP), a média aritmética das áreas da bainha de mielina, em micrômetros quadrados, de quatro campos por lâmina, foi de  $11,67 (\pm 0,74) \mu\text{m}^2$ .

Nos animais do grupo G3 (VAPRP), a média das áreas da bainha de mielina, em micrômetros quadrados, de quatro campos por lâmina, foi de  $8,88 (\pm 1,35) \mu\text{m}^2$ .

Nos animais do grupo G4 (VNSP), a média das áreas da bainha de mielina, em micrômetros quadrados, de quatro campos por lâmina, foi de  $5,76 (\pm 1,38) \mu\text{m}^2$ .

Nos roedores do grupo G5 (VNPRP), a média aritmética das áreas da bainha de mielina, em micrômetros quadrados, de quatro campos por lâmina, foi de  $11,69 (\pm 0,83) \mu\text{m}^2$  (Fig. 26 e tabela 10).

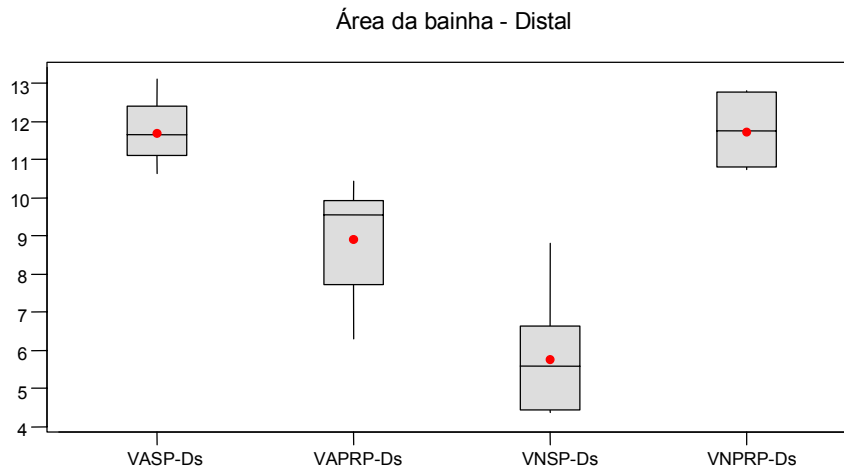


Figura 26 - Média da área da bainha ( $\mu\text{m}^2$ ) no coto distal (Ds).

Tabela 10 - Resultados morfométricos da área da bainha ( $\mu\text{m}^2$ ) no coto distal (Ds).

Grupos	N	Média	Desv. Pad.
VASP-Ds	15	11.678	0.745
VAPRP-Ds	15	8.887	1.359
VNSP-Ds	15	5.765	1.389

**ÁREA DA BAINHA – COTO DISTAL**

Comparações/Grupos	Iguais(=) ou diferentes(≠)	Valor de p	Melhor técnica
VASP x VAPRP	≠	< 0,001	VASP
VASP x VNSP	≠	< 0,001	VASP
VASP x VNPRP	=	= 0,947	
VAPRP x VNSP	≠	< 0,001	VAPRP
VAPRP x VNPRP	≠	< 0,001	VNPRP
VNSP x VNPRP	≠	< 0,001	VNPRP

Quando os grupos foram confrontados com o G1 (*sham*) ( $33,05 \pm 2,20 \mu\text{m}^2$ ), o grupo que apresentou a maior média aritmética foi o grupo G5 (VNPRP) ( $11,69 \pm 0,83 \mu\text{m}^2$ ). Vide figura 25 e tabela 9.

**Espessura da bainha de mielina na região do enxerto.**

Nos ratos do grupo G2 (VASP) a média da espessura da bainha de mielina, em micrômetros, de quatro campos por lâmina, na região do enxerto foi de  $1,43 (\pm 0,58) \mu\text{m}$ .

Nos animais do grupo G3 (VAPRP), a média da espessura da bainha de mielina em micrômetros, de quatro campos por lâmina, foi de  $1,26 (\pm 0,04) \mu\text{m}$ .

Nos roedores do grupo G4 (VNSP), a média da espessura da bainha de mielina, em micrômetros, de quatro campos por lâmina, foi  $0,97 (\pm 0,55) \mu\text{m}$ .

Nos animais do grupo G5 (VNPRP), a média da espessura da bainha de mielina, em micrômetros, de quatro campos por lâmina, foi de  $1,05 (\pm 0,37) \mu\text{m}$ . (Fig. 27 e tabela 11).

### Espessura da bainha - enxerto

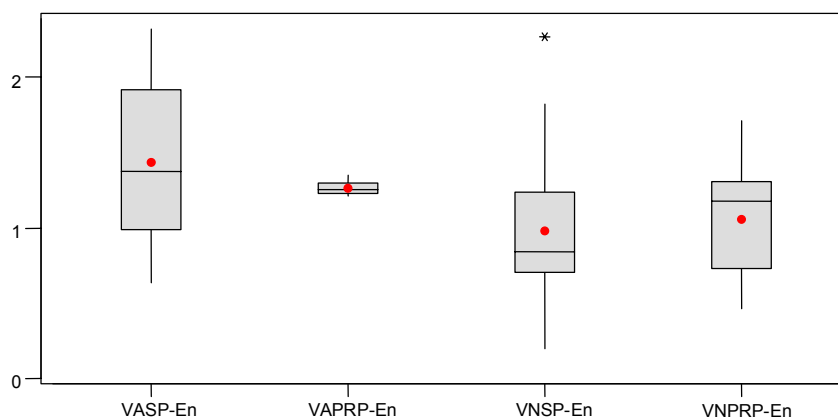


Figura 27 - Média da espessura da bainha ( $\mu\text{m}$ ) no enxerto (En).

Tabela 11 - Resultados morfométricos da espessura da bainha ( $\mu\text{m}$ ) no enxerto (En).

Grupos	N	Média	Desv. Pad.
VASP-En	15	1.4344	0.5800
VAPRP-En	15	1.2642	0.0453
VNSP-En	15	0.9787	0.5597
VNPRP-En	15	1.0573	0.3740

### ESPESSURA DA BAINHA – ENXERTO

Comparações/Grupos	Iguais(=) ou diferentes( $\neq$ )	Valor de p	Melhor técnica
VASP x VAPRP	=	= 0,284	
VASP x VNSP	$\neq$	= 0,044	VASP
VASP x VNPRP	=	= 0,051	
VAPRP x VNSP	=	= 0,069	
VAPRP x VNPRP	$\neq$	= 0,050	VAPRP
VNSP x VNPRP	=	= 0,666	

Quando os grupos foram confrontados com o G1 (*sham*) ( $1,76 \pm 0,07 \mu\text{m}$ ) o grupo que apresentou a maior média aritmética foi o grupo G2 (VASP) ( $1,43 \pm 0,58 \mu\text{m}$ ) (Fig. 28 e tabela 12).

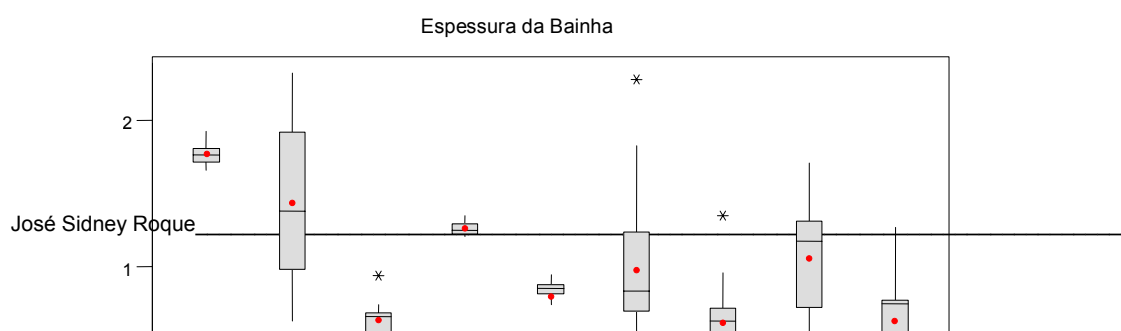




Figura 28 - Média da espessura da bainha ( $\mu\text{m}$ ) no enxerto (En) e no coto distal (Ds).

Tabela 12 - Resultados morfométricos da Espessura da Bainha ( $\mu\text{m}$ )

Grupos	N	Média	Desv. Pad.	CV
Sham	9	1.7677	0.0750	4.242
VASP-En	15	1.4344	0.5800	40.432
VASP-Ds	15	0.6385	0.1253	19.622
VAPRP-En	15	1.2642	0.0453	3.581
VAPRP-Ds	15	0.8018	0.1865	23.256
VNSP-En	15	0.9787	0.5597	57.189
VNSP-Ds	15	0.6210	0.3208	51.657
VNPRP-En	15	1.0573	0.3740	35.370
VNPRP-Ds	15	0.6316	0.3211	50.844

### **Espessura da bainha de mielina na região do coto distal**

Nos ratos do grupo veia G2 (VASP), a média aritmética da espessura da bainha de mielina, em micrômetros, de quatro campos por lâmina, foi de  $0,63 (\pm 0,12) \mu\text{m}$ .

Nos animais do grupo G3 (VAPRP), a média da espessura da bainha de mielina, em micrômetros, de quatro campos por lâmina, foi de  $0,80 (\pm 0,18) \mu\text{m}$ .

Nos roedores do grupo G4 (VNSP), a média aritmética da espessura da bainha de mielina, em micrômetros, de quatro campos por lâmina, foi de  $0,62 (\pm 0,32) \mu\text{m}$ .

Nos animais do grupo G5 (VNPRP), a média da espessura da bainha de mielina em micrômetros, de quatro campos por lâmina, foi de  $0,63 (\pm 0,32) \mu\text{m}$ . (Fig. 29 e tabela 13).

### Espessura da bainha - distal

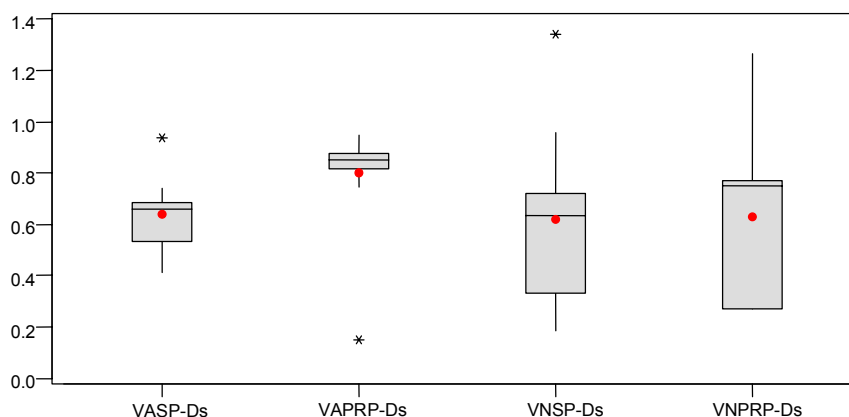


Figura 29 - Média da espessura da bainha ( $\mu\text{m}$ ) no coto distal (Ds).

Tabela 13 - Resultados morfométricos da espessura da bainha ( $\mu\text{m}$ ) no coto distal (Ds).

Grupos	N	Média	Desv. Pad.
VASP-Ds	15	0.6385	0.1253
VAPRP-Ds	15	0.8018	0.1865
VNSP-Ds	15	0.6210	0.3208
VNPRP-Ds	15	0.6316	0.3211

### ESPESSURA DA BAINHA – COTO DISTAL

Comparações/Grupos	Iguais(=) ou diferentes( $\neq$ )	Valor de p	Melhor técnica
VASP x VAPRP	$\neq$	= 0,011	VAPRP
VASP x VNSP	=	= 0,852	
VASP x VNPRP	=	= 0,942	
VAPRP x VNSP	=	= 0,078	
VAPRP x VNPRP	=	= 0,101	
VNSP x VNPRP	=	= 0,937	

Quando os grupos foram confrontados com o G1 (*sham*) ( $1,76 \pm 0,07 \mu\text{m}$ ), o grupo que apresentou a maior média aritmética foi o grupo G3 (VAPRP) ( $0,80 \pm 0,18 \mu\text{m}$ ). Vide figura 28 e tabela 12.

### Área do axônio na região do enxerto

Nos animais do grupo G2 (VASP), a média aritmética das áreas dos axônios em micrômetros quadrados, de quatro campos por lâmina, foi de  $5,00 (\pm 1,03) \mu\text{m}^2$ .

Nos ratos do grupo G3 (VAPRP), a média das áreas do axônio em micrômetros quadrados, de quatro campos por lâmina, foi de  $5,37 (\pm 0,72) \mu\text{m}^2$ .

Nos animais do grupo G4 (VNSP), a média das áreas do axônio em micrômetros quadrados, de quatro campos por lâmina, foi de  $5,56 (\pm 0,65) \mu\text{m}^2$ .

Nos roedores do grupo G5 (VNPRP), a média das áreas do axônio em micrômetros quadrados, de quatro campos por lâmina, foi de  $5,52 (\pm 0,48) \mu\text{m}^2$  (Fig. 30 e tabela 14).

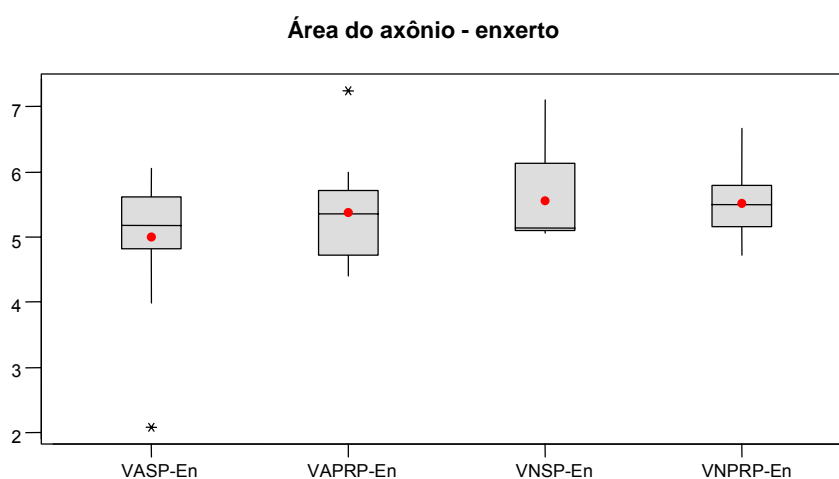


Figura 30 - Média da área do axônio ( $\mu\text{m}^2$ ) no enxerto (En).

Tabela 14 - Resultados morfométricos da área do axônio ( $\mu\text{m}^2$ ) no enxerto (En).

Grupos	N	Média	Desv.Pad.
VASP-En	15	5.0053	1.0356
VAPRP-En	15	5.3723	0.7239
VNSP-En	15	5.5603	0.6504
VNPRP-En	15	5.5207	0.4807

#### ÁREA DO AXÔNIO – ENXERTO

Comparações/Grupos	Iguais(=) ou diferentes(≠)	Valor de p	Melhor técnica
VASP x VAPRP	=	= 0,287	
VASP x VNSP	=	= 0,101	
VASP x VNPRP	=	= 0,103	
VAPRP x VNSP	=	= 0,476	
VAPRP x VNPRP	=	= 0,528	
VNSP x VNPRP	=	= 0,856	

Quando os grupos foram confrontados com o G1 (*sham*) ( $9,76 \pm 1,75 \mu\text{m}^2$ ), o grupo que apresentou a maior média aritmética foi o grupo G4 (VNSP) ( $5,56 \pm 0,65 \mu\text{m}^2$ ) (Fig. 31 e tabela 15).

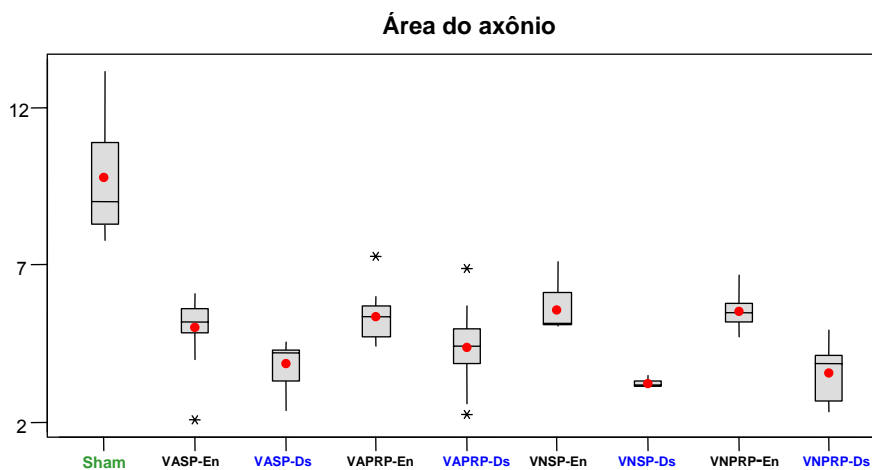


Figura 31 - Média da área do axônio ( $\mu\text{m}^2$ ) no enxerto (En) e no coto distal (Ds).

Tabela 15 - Resultados morfométricos da Área do axônio ( $\mu\text{m}^2$ )

Grupos	N	Média	Desv. Pad.	CV
Sham	9	9.760	1.752	17.947
VASP-En	15	5.005	1.036	20.690
VASP-Ds	15	3.865	0.650	16.822
VAPRP-En	15	5.372	0.724	13.473
VAPRP-Ds	15	4.393	1.163	26.470
VNSP-En	15	5.560	0.650	11.696
VNSP-Ds	15	3.231	0.131	4.061
VNPRP-En	15	5.521	0.481	8.706
VNPRP-Ds	15	3.580	0.841	23.511

### Área do axônio na região do coto distal

Nos ratos do grupo G2 (VASP), a média das áreas do axônio, em micrômetros quadrados, de quatro campos por lâmina, foi de 3,86 ( $\pm 0,65$ )  $\mu\text{m}^2$ .

Nos animais do grupo G3 (VAPRP), a média aritmética das áreas do axônio, em micrômetros quadrados, de quatro campos por lâmina, foi de 4,39 ( $\pm 1,16$ )  $\mu\text{m}^2$ .

Nos roedores do grupo G4 (VNSP), a média das áreas do axônio, em micrômetros quadrados, de quatro campos por lâmina, foi de 3,23 ( $\pm 0,13$ )  $\mu\text{m}^2$ .

Nos animais do grupo G5 (VNPRP), a média das áreas do axônio, em micrômetros quadrados, de quatro campos por lâmina, foi de 3,58 ( $\pm 0,84$ )  $\mu\text{m}^2$  (Fig. 32 e tabela16).

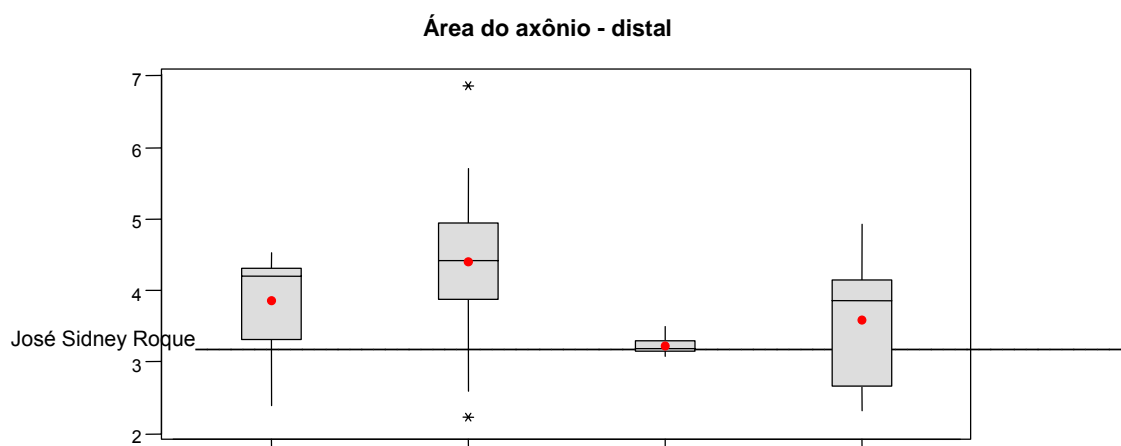


Figura 32 - Média da área do axônio ( $\mu\text{m}^2$ ) no coto distal (Ds).

Tabela 16 - Resultados morfométricos da área do axônio ( $\mu\text{m}^2$ ) no coto distal (Ds).

Grupos	N	Média	Desv. Pad.
VASP-Ds	15	3.8652	0.6502
VAPRP-Ds	15	4.3932	1.1629
VNSP-Ds	15	3.2312	0.1312
VNPRP-Ds	15	3.5801	0.8417

#### ÁREA DO AXÔNIO – COTO DISTAL

Comparações/Grupos	Iguais(=) ou diferentes(≠)	Valor de p	Melhor técnica
VASP x VAPRP	=	= 0,147	
VASP x VNSP	≠	= 0,003	VASP
VASP x VNPRP	=	= 0,349	
VAPRP x VNSP	≠	= 0,002	VAPRP
VAPRP x VNPRP	=	= 0,061	
VNSP x VNPRP	=	= 0,170	

Quando os grupos foram confrontados com o G1 (*sham*) ( $9,76 \pm 1,75 \mu\text{m}^2$ ), o grupo que apresentou a maior média aritmética foi o grupo G3 (VAPRP) ( $4,39 \pm 1,16 \mu\text{m}^2$ ). Vide figura 31 e tabela 15.

#### Diâmetro mínimo do axônio na região do enxerto

Nos ratos do grupo G2 (VASP), a média aritmética dos diâmetros mínimos do axônio, em micrômetros, de quatro campos por lâmina, foi de  $2,27 (\pm 0,76) \mu\text{m}$ .

Nos animais do grupo G3 (VAPRP), a média aritmética dos diâmetros mínimos do axônio em micrômetros, de quatro campos por lâmina, foi de  $1,91 (\pm 0,32) \mu\text{m}$ .

Nos roedores do grupo G4 (VNSP), a média aritmética dos diâmetros mínimos do axônio em micrômetros, de quatro campos por lâmina, foi de  $1,59 (\pm 0,59) \mu\text{m}$ .

Nos animais do grupo G5 (VNPRP), a média aritmética dos diâmetros mínimos do axônio, em micrômetros, de quatro campos por lâmina, foi de  $2,44 (\pm 0,45) \mu\text{m}$  (Fig. 33 e tabela 17).

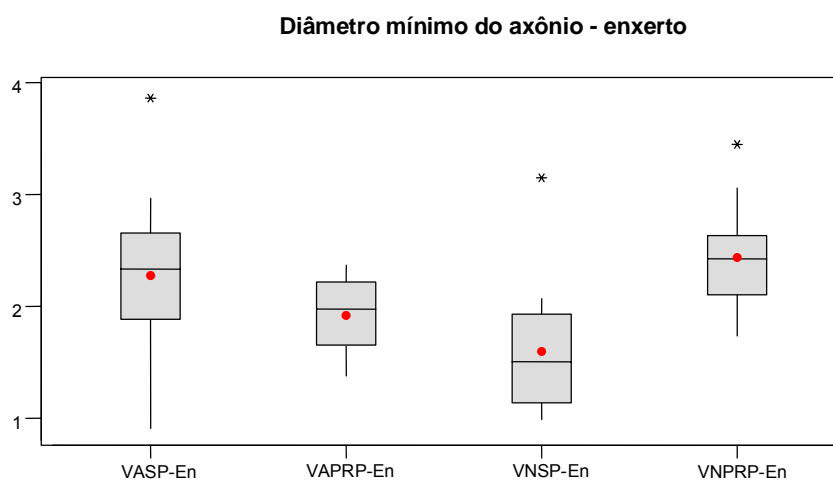


Figura 33 - Média do diâmetro mínimo do axônio ( $\mu\text{m}$ ) no enxerto (En).

Tabela 17 - Resultados morfométricos do diâmetro mínimo do axônio ( $\mu\text{m}$ ) no enxerto (En).

Grupos	N	Média	Desv. Pad.
VASP-En	15	2.2761	0.7655
VAPRP-En	15	1.9186	0.3276
VNSP-En	15	1.5966	0.5951
VNPRP-En	15	2.4453	0.4566

### DIÂMETRO MÍNIMO DO AXÔNIO – ENXERTO

Comparações/Grupos	Iguais(=) ou diferentes(≠)	Valor de p	Melhor técnica
VASP x VAPRP	=	= 0,120	
VASP x VNSP	≠	= 0,014	VASP
VASP x VNPRP	=	= 0,484	
VAPRP x VNSP	=	= 0,088	
VAPRP x VNPRP	≠	= 0,002	VNPRP
VNSP x VNPRP	≠	< 0,001	VNPRP

Quando os grupos foram confrontados com o G1 (*sham*) ( $2,70 \pm 0,83 \mu\text{m}$ ), o grupo que apresentou a maior média aritmética foi o grupo G5 (VNPRP) ( $2,44 \pm 0,45 \mu\text{m}$ ) (Fig. 34 e tabela 18).

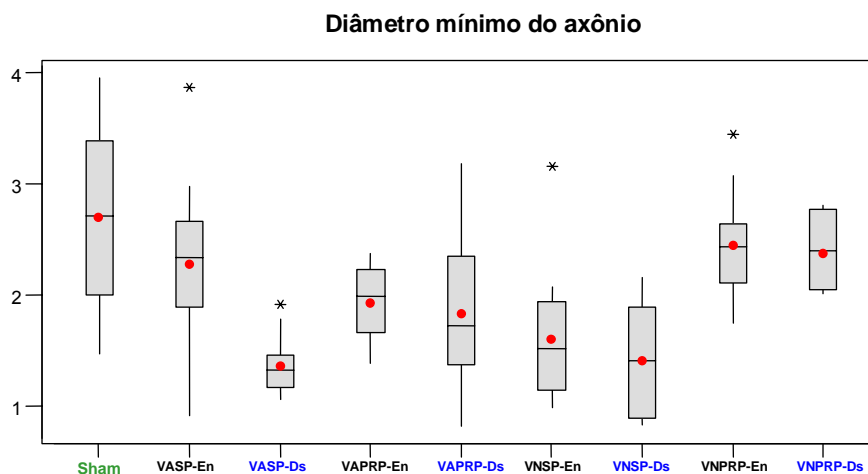


Figura 34 - Média do diâmetro mínimo do axônio ( $\mu\text{m}$ ) no enxerto (En) e no coto distal (Ds).



Tabela 18 - Resultados morfométricos do diâmetro mínimo do axônio ( $\mu\text{m}$ )

Grupos	N	Média	Desv. Pad.	CV
SHAM	9	2.7015	0.8306	30.746
VASP-En	15	2.2761	0.7655	33.634
VASP-Ds	15	1.3524	0.2487	18.387
VAPRP-En	15	1.9186	0.3276	17.075
VAPRP-Ds	15	1.8253	0.6786	37.177
VNSP-En	15	1.5966	0.5951	37.274
VNSP-Ds	15	1.4107	0.5150	36.505
VNPRP-En	15	2.4453	0.4566	18.673
VNPRP-Ds	15	2.3710	0.3127	13.187

### Diâmetro mínimo do axônio na região do coto distal.

Nos ratos do grupo G2 (VASP), a média aritmética dos diâmetros mínimos do axônio, em micrômetros, de quatro campos por lâmina, foi de  $1,35 (\pm 0,24) \mu\text{m}$ .

Nos animais do grupo G3 (VAPRP), a média aritmética do diâmetro mínimo do axônio, em micrômetros, de quatro campos por lâmina, foi de  $1,82 (\pm 0,67) \mu\text{m}$ .

Nos roedores do grupo G4 (VNSP), a média aritmética dos diâmetros mínimos do axônio, em micrômetros, de quatro campos por lâmina, foi de  $1,41 (\pm 0,51) \mu\text{m}$ .

Nos animais do grupo G5 (VNPRP), a média aritmética dos diâmetros mínimos do axônio, em micrômetros, de quatro campos por lâmina, foi de  $2,37 (\pm 0,31) \mu\text{m}$  (Fig. 35 e tabela 19).

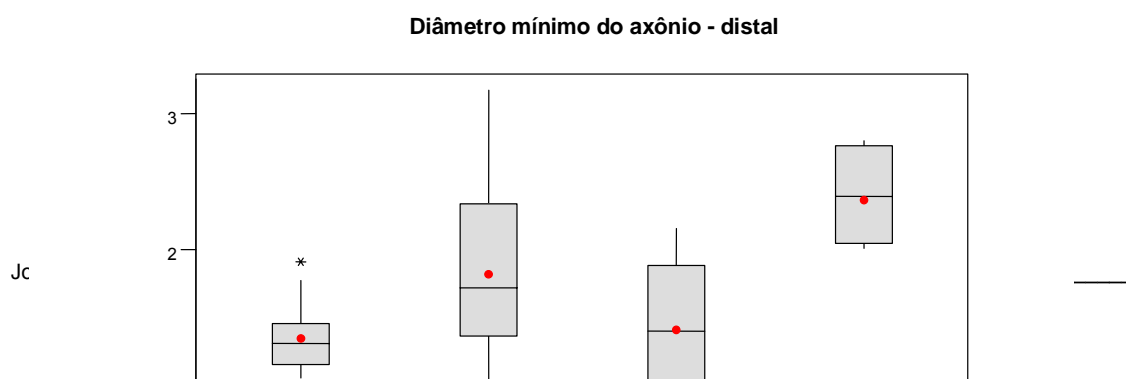


Figura 35 - Média do diâmetro mínimo do axônio ( $\mu\text{m}$ ) no coto distal (Ds).

Tabela 19 - Resultados morfométricos do diâmetro mínimo do axônio ( $\mu\text{m}$ ) no coto distal (Ds).

Grupos	N	Média	Desv. Pad.
VASP-Ds	15	1.3524	0.2487
VAPRP-Ds	15	1.8253	0.6786
VNSP-Ds	15	1.4107	0.5150
VNPRP-Ds	15	2.3710	0.3127

#### DIÂMETRO MÍNIMO DO AXÔNIO – COTO DISTAL

Comparações/Grupos	Iguais(=) ou diferentes( $\neq$ )	Valor de p	Melhor técnica
VASP x VAPRP	$\neq$	= 0,021	VAPRP
VASP x VNSP	=	= 0,710	
VASP x VNPRP	$\neq$	< 0,001	VNPRP
VAPRP x VNSP	=	= 0,093	
VAPRP x VNPRP	$\neq$	= 0,021	VNPRP
VNSP x VNPRP	$\neq$	< 0,001	VNPRP

Quando os grupos foram confrontados com o G1 (*sham*) ( $2,70 \pm 0,83 \mu\text{m}$ ), a melhor média aritmética foi a do grupo G5 (VNPRP) ( $2,37 \pm 0,31 \mu\text{m}$ ). Vide figura 34 e tabela 18.

No enxerto, analisando conjuntamente os atributos, o grupo que melhor resultado teve foi o G5 (VNPRP), exceto na variável espessura da bainha de mielina. Enquanto o pior resultado em quase todos os atributos, foi o grupo 4 (VNSP).

No coto distal, o grupo que obteve o melhor resultado foi G5 (VNPRP), exceto nas variáveis, espessura da bainha de mielina e área do

axônio. Enquanto o pior resultado em quase todos os atributos foi o grupo G4 (VNSP).

Sob o aspecto histomorfométrico, o melhor grupo foi o G5 (VNPRP), seguido do grupo G3 (VAPRP) e G2 (VASP), e por último, e pior, o grupo G4 (VNSP). Demonstrando assim, que as veias quando preenchidas com PRP promoveram melhores resultados do que as veias não preenchidas.

Nos grupos G2 a G5, os valores numéricos das médias aritméticas referentes aos enxertos, sempre foram maiores que as médias de valores numéricos referente aos cotos distais.

## **DISCUSSÃO**

## DISCUSSÃO

### DISCUSSÃO DO MÉTODO

O rato foi escolhido neste trabalho por apresentar a anatomia e o processo de degeneração e regeneração dos nervos periféricos semelhantes com a dos humanos (Ferreira & Ferreira, 2003). E por ser animais de pequeno porte e fácil acomodação, possibilitou a utilização de um “n” grande, fundamental para a confiabilidade, haja vista que o processo de reparo nervoso é variável. No contexto atual, de Ciências Biomédicas, a utilização de modelos experimentais tem sido muito importante para o aperfeiçoamento e comprovação das técnicas utilizadas (Ferreira *et al.*, 2005).

O rato foi usado como modelo animal para a experimentação neste trabalho, e permitiu a manipulação adequada em todas as fases do experimento. Este animal é muito utilizado em estudos de lesões, reparação e regeneração de nervos periféricos (Viterbo *et al.*, 1994a, 1994b; Mackinon *et al.*, 1995; Foidart-Dessalle *et al.*, 1997; Ferrari *et al.*, 1999; Sondell *et al.*, 1999; Battiston *et al.*, 2000; Kelleher *et al.*, 2001; Rodrigues & Silva, 2001; Costa *et al.*, 2006). Logo, neste experimento utilizaram-se, ratos da linhagem

*Wistar*, por serem animais resistentes, de fácil manejo e com baixo custo de manutenção (Bertelli *et al.* 1996; Ferreira & Ferreira, 2003).

Tratando-se de modelos experimentais, torna-se importante conhecer a histologia do animal, a qual deve ser similar a da espécie humana, ou seja, existir certa histocompatibilidade, usual dentro das diferentes classes de vertebrados.

O modelo animal, deve obrigatoriamente permitir a avaliação dos fenômenos biológicos naturais; induzidos ou comportamentais. Permite-se assim, serem comparados aos fenômenos de biologia humana quando posta em questão (Ferreira & Ferreira, 2003; Fagundes & Taha, 2004).

Os pesquisadores preconizam que esses modelos animais reúnam condições ideais, e que sejam mantidos em ambiente controlado. E ainda, que atendam aos parâmetros de qualidades sanitária e genética, uma vez que são “reagentes biológicos”, e os resultados dos experimentos podem ser afetados em razão das condições biológicas de cada espécie (Ferreira *et al.*, 2005).

Neste trabalho escolheu-se o rato porque, dada a uniformidade das amostras, se aceita um número menor de indivíduos por variáveis. Permite melhor controle, com menor volume anestésico, sendo menores o custo e o espaço físico disponibilizado em biotério (Ferreira *et al.*, 2005; Nahas & Ferreira, 2005).

O porte do animal utilizado tem relação direta com o custo do experimento. Animais de pequeno porte como os roedores: camundongo, cobaia e rato, exigem menor espaço. A anestesia pode ser intraperitoneal ou

intramuscular, e tais espécies são menos agressivas (Nahas & Ferreira, 2005).

No rato, o tecido celular subcutâneo é mínimo, e geralmente está localizado na região inguinal (Nahas & Ferreira, 2005), sendo uma das razões do uso de rato albino neste estudo, o que facilitou os acessos cirúrgicos às áreas operadas.

Os animais usados eram todos machos, adultos, jovens, e no dia da cirurgia todos apresentavam pesos similares. Optou-se ainda por ratos da mesma espécie, linhagem e do sexo masculino, com o intuito de anular as variáveis dos ritmos hormonais que ocorrem, com frequência, nas fêmeas (Lincoln, 1980; Carandente *et al.*, 1989; Fraher *et al.*, 1990).

Devido às variações do peso inicial e para a formação dos grupos experimentais, os animais foram sorteados, e operados, permitindo uma distribuição teoricamente igual (Vieira & Hossne, 2001).

Foram utilizados animais adultos-jovens (180 a 250 gramas), pois como mostra a literatura, com o avançar da idade, os aspectos envolvidos em reparação são mais demorados (Önne, 1962; Lundborg, 1987; Pestronk *et al.*, 1987; Navarro *et al.*, 1988; Fraher *et al.*, 1990; Sunderland, 1991; Vaughan, 1992; Canpolat *et al.*, 1999; Battiston *et al.*, 2000b; Tos *et al.*, 2000; Rodrigues & Silva, 2001; Barcelos *et al.*, 2003; Ferreira *et al.*, 2005).

Como modelo experimental, o rato é hoje o animal mais utilizado em pesquisas envolvendo cicatrização de tecidos e de órgãos ou nos processos de regeneração tecidual (Fagundes & Taha, 2004).

O período pós-operatório designado para o sacrifício dos roedores foi de 12 semanas. Haja visto que vários autores demonstraram que

em ratos da linhagem *Wistar* os maiores “escores” funcionais e histomorfométricos medidos são alcançados entre a 8ª a 12ª semanas (Fraher *et al.*, 1990; Wang *et al.*, 1993 e 1995; Foidart-Dessalle *et al.*, 1997; Canpolat *et al.*, 1999; Battiston *et al.*, 2000b; Tos *et al.*, 2000, Karacaoglu *et al.*, 2001, Rodrigues & Silva, 2001; Barcelos *et al.*, 2003; Walker *et al.*, 2004; Farrag *et al.*, 2007).

A variabilidade de resultados em regeneração nervosa periférica é grande e heterogênea (Karnes, *et al.*, 1977; Kanaya *et al.*, 1996; Caplan *et al.*, 1999), por isso houve a necessidade de uso de muitos animais para cada variável testada.

O tamanho da amostra foi de n=15 animais para cada grupo experimental, e de 10 para o grupo controle (*sham*) sendo suficiente em termos probabilísticos. Isso porque o teste ocorreu apenas em um momento, ou seja, às 12 semanas pós-operatória (Vieira & Hossne, 2001; Ferreira *et al.*, 2005; Nahas & Ferreira, 2005). Ocorreu óbito de um animal no grupo *sham*.

A anestesia usada foi com uso de uma solução de 50% de tiletamina e 50% de zolazepan a 3 mg/kg de peso administrada por via intramuscular\*, como foi descrito por Sheehan *et al.*, (1996); Nicolino *et al.*, (2003) e Tos *et al.*, (2007). Embora muitos autores utilizaram outras drogas e técnicas anestésicas como, por exemplo; uso de injeções intraperitoneal de pentobarbital sódico (Wang *et al.*, 1993 e 1995; Verdú *et al.*, 1995; Ferrari *et al.*, 1999; Rodrigues & Silva, 2001; Suri *et al.*, 2002; Barcelos *et al.*, 2003), intraperitoneal de cetamina (Karacaoglu *et al.*, 2001), intraperitoneal de hidrato de cloral (Di Benedetto *et al.*, 1998), intramuscular de cetamina (Battiston *et al.*, 2000b; Fornaro *et al.*, 2001) e intramuscular de



“*kylasina/cetamina*” (Farrag *et al.*, 2007). E também por entubação orotraqueal com halotano (Heath & Rutkowski, 1998; Canpolat *et al.*, 1999; Tos *et al.*, 2000; Kelleher *et al.*, 2001; Nishio *et al.*, 2002).

O nervo ciático do rato foi uma escolha para este estudo, devido ao fato que os vasos intraneurais são semelhantes aos dos nervos periféricos humanos. O nervo ciático é o maior nervo do corpo, facilmente acessível e tem grande irrigação sanguínea (Reina *et al.*, 2000; Pachioni *et al.*, 2006).

O tamanho do espaço criado cirurgicamente entre os cotos proximal e distal (*gap*), em ratos, varia de acordo com o nervo enfocado, e com os autores estudados.

O espaço (*gap*) de 10 mm foi realizado neste trabalho, corroborando com os estudos de Wang *et al.* (1993 e 1995), Heath & Rutkowski (1998), Canpolat *et al.* (1999), Ferrari *et al.* (1999), Karacaoglu *et al.* (2001), Rodrigues & Silva (2001), Kelleher *et al.* (2001), Nishio *et al.* (2002) e Barcelos *et al.* (2003). Entretanto, outros experimentos utilizaram “*gaps*” de 20 mm (Hadlock *et al.*, 1998; Ülkür *et al.*, 2003), de 15 a 30 mm (Foidart-Dessale *et al.*, 1997), de 8 mm (Sondell *et al.*, 1999) e de 5 mm (Tos *et al.*, 2000; Fornaro *et al.*, 2001; Costa *et al.*, 2006).

---

\* *Telazol*; Fort Dodge Laboratories, Fort Dodge®

Quando há grandes distâncias entre os cotos nervosos (*gaps*) os resultados exibidos na literatura são precários (Foidart-Dessale *et al.*, 1997). E quando se realiza o enxerto da veia vazia, ela tende a colabar (Battiston *et al.*, 2000b), e apresenta resultados inferiores aos dos enxertos venosos preenchidos (Smith & Browne, 1998; Sondell *et al.*, 1999; Canpolat *et al.*, 1999; Battiston *et al.*, 2000b; Rutkowski & Heath, 2002), como também ocorreu, ligeiramente, neste experimento. Neste trabalho os enxertos nervosos quando a veia foi preenchida, os resultados obtidos também foram melhores.

Na literatura consultada, os trabalhos não tiveram consenso quanto ao comprimento máximo do “*gap*” que o enxerto pode cobrir e ser viável. “*Gaps*” variavam de 5 mm a 10 mm (Tos *et al.*, 2000; Fornaro *et al.*, 2001; Karacaoglu *et al.*, 2001; Costa *et al.*, 2006), de 30 mm (Foidart-Dessale *et al.*, 1997) e de até 45 mm em pesquisa de nervos em camundongos (Verdú *et al.*, 1995). Baseando-se na maioria dos experimentos utilizados, a extensão do “*gap*” aqui usada foi de 10 mm, como foi descrito anteriormente.

Nesta pesquisa optou-se por utilizar dois pontos de sutura no epineuro em cada extremidade, com emprego de fio monofilamentar de náilon 10-0, dois colocados na extremidade do coto proximal e dois na extremidade do coto distal, visando permitir melhor adaptação da veia enxertada aos cotos nervosos, de acordo com os trabalhos de Wang *et al.* (1993 e 1995) e Foidart-Dessale *et al.* (1997). Diferindo de Mackinnon (1989), Lundborg *et al.* (1994), Di Benedetto *et al.* (1998), Suri *et al.* (2002) e Nicolino *et al.* (2003),

que utilizaram três pontos, enquanto Guda *et al.* (1993), Karacaoglu *et al.* (2001) e Tos *et al.* (2007) que usaram quatro pontos.

A escolha da veia jugular externa ocorreu por ser fácil o seu acesso e manipulação. Nesta mesma linha de raciocínio Wang *et al.* (1993 e 1995), Ülkür *et al.* (2003) e Ferrari *et al.* (1999) tiveram resultados semelhantes aos deste estudo. O uso da veia jugular externa autóloga como enxertia, nesta pesquisa, foi escolhida com base no acesso cirúrgico e na pouca morbidade causada ao segmento anatômico doador do animal (Ferrari *et al.*, 1999; Karacaoglu *et al.*, 2001; Kelleher *et al.*, 2001; Ülkür *et al.*, 2003). Foidart-Dessale *et al.* (1997) utilizaram a veia cava inferior heteróloga de animais doadores, que foram sacrificados. Entretanto, alguns autores usaram segmentos de vasos arteriais, como artéria aorta, normais e ao avesso (Rodrigues & Silva, 2001); de veia jugular externa ao avesso e de artéria (aorta abdominal) heteróloga usada ao avesso (Barcelos *et al.*, 2003) e de veia epigástrica (Tos *et al.*, 2007) obtendo resultados estatísticos similares.

Outros autores também utilizaram veias como enxertos para reparação nervosa periférica, em humanos, com várias distâncias entre os cotos nervosos (Battiston *et al.*, 2000a; Pogrel & Maghen, 2001; Rodrigues *et al.*, 2004).

O uso de veias utilizadas como conduto na reparação de enxertos nervosos periféricos, permitiu o seu preenchimento com substâncias e fatores que estimulam o processo de reparação tecidual (Lundborg *et al.*, 1994; Ferrara & Davis-Smith, 1977; Foidart-Dessalle *et al.*, 1997; Di Benedetto *et al.*, 1998; Smith & Browne, 1998; Sondell *et al.*, 1998; Neufeld *et al.*, 1999; Battiston *et al.*, 2000b; Fornaro *et al.*, 2001; Ülkür *et al.*, 2003;

Braga-Silva *et al.*, 2006; Luis *et al.*, 2007; Tos *et al.*, 2007). Neste trabalho utilizou-se o PRP como material de preenchimento dos condutos venosos, visando avaliar as técnicas. Notou-se que quando as veias eram preenchidas com PRP, obtivemos as melhores médias. Coincidindo com alguns autores que utilizaram outros tipos de preenchimentos. Os grupos experimentais que apresentaram as melhores médias foram aqueles das veias preenchidas, como também o foram nos estudos de Jenq & Coggehall (1987), Doolabh *et al.* (1996) e Foidart-Dessalle *et al.* (1997).

O enxerto autólogo de nervo periférico provoca morbidade na área doadora, já com enxerto venoso este déficit é menor (Ducker & Hayes, 1968; Battiston *et al.*, 2000a). Aliado a este fato, nos casos de perdas nervosas teciduais extensas, a técnica exige enxertos de diâmetro e comprimento que às vezes são incompatíveis com os da área doadora (Keeley & Nguyen, 1991; Brunelli *et al.*, 1994; Karacaoglu *et al.*, 2001; Kelleher *et al.*, 2001; Barcelos *et al.*, 2003; Costa *et al.*, 2006). A técnica aqui utilizada permitiu boa adaptação ao diâmetro do nervo, e também na distância entre os cotos nervosos, proximal e distal promovendo a união entre os mesmos sem tensão. A tensão sabidamente prejudica a regeneração nervosa (Terzis *et al.*, 1975; Millesi, 1991; Grant *et al.*, 1999). Neste trabalho tomamos este cuidado e após o enxerto de nervo e aplicação da sutura, não havia nenhuma tensão.

Na pesquisa médica, os estudos com modelos animais permitem melhorar o conhecimento da fisiologia, da etiopatogenia das doenças, da ação de medicamentos ou de efeitos das intervenções cirúrgicas (Hochman *et al.*, 2004). O delineamento e a realização dos procedimentos

cirúrgicos foram padronizados, e obedeceram às normas de manejo de animais preconizadas pelos devidos Comitês de Ética em pesquisa, e COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal).

## **Discussão dos Resultados**

### **Aspectos macroscópicos**

As dificuldades na marcha e a ocorrência de automutilação logo após a secção de nervo e reparação com tubulização com veia, foram também observadas por Guda *et al.* (1993) e Di Benedetto *et al.* (1998). Esse fato demonstrou já inicialmente a efetiva falta de comunicação entre os cotos nervosos seccionados. Entretanto ao curso de mais ou menos 4 semanas a automutilação cessou, sendo provável o início da comunicação entre os cotos nervosos. O restabelecimento físico da conexão entre os cotos nervosos ocorreu em todos os animais neste trabalho, concordando com Ülkür *et al.* (2003), Wang *et al.* (1993 e 1995), Foidart-Dessalle *et al.* (1997), Karacaoglu *et al.* (2001), Canpolat *et al.* (1999), diferente dos achados de Guda *et al.* (1993) e Kelleher *et al.* (2001) que não observaram o cessar deste fenômeno em todos os animais. Da mesma forma a autofagia não cessou em três de oito animais estudados por Barcelos *et al.* (2003) e em dois de sete animais estudados por Di Benedetto *et al.* (1998) porém este último autor usou a distância (*gap*) de 25 mm entre os cotos nervosos.

Os resultados da automutilação evidenciam a desnervação, especialmente na área sensitiva. Embora não tenha sido feita a análise estatística, chama a atenção o baixo número de animais do grupo G3 (VAPRP) que praticaram a autofagia, seguido pelos animais do grupo G5 (VNPRP). Nestes dois grupos o enxerto de veia foi preenchido com PRP. Talvez esta substância tenha permitido alguma comunicação entre o coto proximal e o coto distal, até que ocorresse a regeneração axonal. Este fato, que nos passou despercebido, é da maior importância, merecendo estudos posteriores com outras substâncias. Se comprovada a eficiência de algumas delas, isto levará a

resultados cirúrgicos mais precoces, permitindo reinervação muscular também mais precoce, diminuindo-se assim, os períodos de desnervação. Isto poderá mudar para melhor os resultados das correções de paralisia facial e outras reinerações musculares de membros.

### **Discussão dos aspectos Histológicos**

Na porção do enxerto nervoso, as fibras se encontravam dispersas e mais concentradas na periferia. O nervo apresentou-se multifasciculado, com alguns microfascículos fora do lúmen do conduto, como também observado por Wang *et al.* (1993 e 1995), Di Benedetto *et al.* (1998), Karacaoglu *et al.* (2001), Barcelos *et al.* (2003) e Ülkür *et al.* (2003).

O segmento do enxerto nos grupos operados apresentou tecido conjuntivo rico em fibras colágenas, mais concentradas no seu interior do que na periferia, como foi relatado por Canpolat *et al.* (1999), Di Benedetto *et al.* (1998) e Karacaoglu *et al.* (2001).

Em todos os grupos experimentais, os perineuros na região do enxerto se apresentavam irregulares e delimitados, mas exibiam vasos sanguíneos no centro e na periferia, concordando com os achados de Di Benedetto *et al.* (1998). Entretanto, no coto distal, os microfascículos eram bem delimitados pelo perineuro, tendo vasos sanguíneos no centro e na periferia, como foi descrito por Ülkür *et al.* (2003). Os fascículos nervosos presentes no coto distal eram menores do que os correspondentes da porção do terço médio do enxerto, como fora encontrado por Canpolat *et al.* (1999).

As bainhas de mielina no terço médio do enxerto eram de espessura e tamanhos variados, como na descrição de Wang *et al.* (1993 e 1995), Faidart-Dessalle *et al.* (1997), Canpolat *et al.* (1999), Karacaoglu *et al.* (2001) e Barcelos *et al.*, (2003). Neste experimento, todos os grupos apresentavam as bainhas de mielina mais dispersas na região do enxerto do que no coto distal como citado pelos autores Wang *et al.*, (1993 e 1995), Faidart-Dessalle *et al.* (1997), Di Benedetto *et al.* (1998) e Canpolat *et al.* (1999). No coto distal as bainhas também eram mais concentradas e menores

e tinham pouca ou nenhuma fibra nervosa, fora de seus respectivos envoltórios.

Os microfascículos foram encontrados próximo aos vasos sangüíneos do epineuro-perineuro, junto à camada de tecido adiposo, tendo bainhas compactas e nítidas, fato este também observado por Wang *et al.* (1993 e 1995), Foidart-Dessalle *et al.* (1997), Canpolat *et al.* (1999) e Karacaoglu *et al.* (2001). E também Ferrari *et al.* (1999) que trabalharam com o nervo safeno.

A arquitetura tissular mostrou-se diferente entre os segmentos do enxerto e do coto distal. Na região do terço médio do enxerto as estruturas eram mais dispersas, enquanto no coto distal estas estruturas se apresentavam mais compactas, e, por conseguinte menos espessas. Talvez este fato, explique as diferenças macroscópicas dos diâmetros observadas neste trabalho, ou seja, o coto distal menor que o segmento do enxerto.

## **ASPECTOS HISTOMORFOMÉTRICOS**

A discussão dos resultados histomorfométricos foi realizada principalmente quanto às médias aritméticas obtidas dos cotos distais, por ser o principal objetivo do tratamento cirúrgico. Isto ocorreu porque a maioria dos autores que usaram veia em enxertos nervosos avaliaram este segmento distal da área enxertada. Optamos por realizar a discussão por variáveis visando tornar a discussão mais didática. Neste trabalho não utilizou outras variáveis como o peso dos músculos, eletromiografia e o teste da caminhada que são variáveis importantes, porém fogem do escopo deste trabalho.

Para a análise morfométrica, o banco de dados foi construído com medidas obtidas a partir de cortes transversais da região mediana do enxerto e da região mediana do coto distal, como foi descrito em resultados, para melhor padronização e repetição em trabalhos futuros.

Iniciamos a discussão pelo diâmetro mínimo do axônio porque esta variável foi a mais enfocada entre os autores que estudaram enxertos venosos, normal, e ao avesso e/ou preenchidos. As dimensões do diâmetro mínimo nos cortes histológicos é pouco variável, por esta razão centralizou-se

a discussão em torno desta medida por ser mais fidedigna. Realizamos praticamente toda a discussão em torno do coto distal devido ser este parâmetro o mais estudado entre os pesquisadores. E também por ser a região do coto distal mais importante no resultado final. Discutimos ainda a região do enxerto cujos resultados sobre ela foram também obtidos aqui.

Como nos estudos de Wang *et al.* (1993 e 1995) a porção proximal do enxerto apresentou-se diferente do coto distal, que era mais delgado do que o segmento proximal, fato este também observado neste trabalho.

### DIÂMETRO MÍNIMO DO AXÔNIO NO COTO DISTAL

Quanto ao grupo G1 *sham* apresentou média de 2,70 ( $\pm$  0,83)  $\mu\text{m}$  e a nossa melhor média obtida foi o grupo G5 (VNPRP), com 2,37 ( $\pm$  0,31)  $\mu\text{m}$ . Foidart-Dessalle *et al.* (1997) encontraram no controle (lado contralateral) o diâmetro de 3,24  $\mu\text{m}$  e no grupo operado 2,48  $\mu\text{m}$ , entretanto essa avaliação ocorreu no período pós-operatório de 6 meses. Di Benedetto *et al.* (1998) obtiveram a média no grupo controle de 3,67 ( $\pm$  1,37)  $\mu\text{m}$  e no grupo experimental de 1,74 ( $\pm$  0,91)  $\mu\text{m}$ , com 12 semanas de pós-operatório, tendo usado também o lado contralateral como seu controle. Entretanto, Kelleher *et al.* (2001) descreveram valores de 8,39 ( $\pm$  0,21)  $\mu\text{m}$  no grupo controle e de 3,21 ( $\pm$  0,05)  $\mu\text{m}$  no grupo de operados com veia normal sem preenchimento, enquanto a nossa melhor média nessa variável G4 (VNSP), no coto distal, foi de 1,41 ( $\pm$  0,51)  $\mu\text{m}$ . Para a veia ao avesso, esses mesmos autores encontraram 3,35 ( $\pm$  0,05)  $\mu\text{m}$ , enquanto nós encontramos no grupo G2 (VASP) a média de 1,35 ( $\pm$  0,24)  $\mu\text{m}$ . Karacaoglu *et al.* (2001) encontraram 0,46 ( $\pm$  0,67)  $\mu\text{m}$  nos operados com 12 semanas de pós-operatório, não tendo realizado grupo controle para esta variável. Nas veias preenchidas, o grupo G5 (VNPRP) o resultado foi superior ao grupo G3 (VAPRP), talvez houve prejuízo do PRP em contato com a camada adventícia da veia. Este fato é positivo do ponto de vista cirúrgico, pois facilita o trabalho porque não há necessidade de virar a veia ao avesso. Como na literatura não há trabalhos similares com o PRP, não há como comparar com outros autores.



## DIÂMETRO MÍNIMO DA FIBRA NERVOSA NO COTO DISTAL

Neste estudo a média do diâmetro mínimo do grupo controle G1 (*sham*) foi de 6,23 ( $\pm 0,90$ )  $\mu\text{m}$  e a melhor técnica foi o grupo G5 (VNPRP), com média de 3,63 ( $\pm 0,42$ )  $\mu\text{m}$ . Foidart-Dessalle *et al.* 1997 encontraram para este parâmetro, no grupo controle 6,08  $\mu\text{m}$  e em seu grupo operado com veia normal, após seis meses, a média de 3,82  $\mu\text{m}$ , ou seja houve resultados similares a este experimento. Os valores encontrados por Di Benedetto *et al.* (1998), após 12 semanas de pós-operatório mostrou as médias de 6,79 ( $\pm 2,0$ )  $\mu\text{m}$  no grupo controle e de 3,01 ( $\pm 1,01$ )  $\mu\text{m}$  no grupo de operados. Barcelos *et al.* (2003), obtiveram médias de 9,15 ( $\pm 0,73$ )  $\mu\text{m}$  no controle e de 4,89 ( $\pm 0,69$ )  $\mu\text{m}$  com veia ao avesso, mostrando em seu trabalho desvio padrão maior no grupo controle, do que o desvio padrão do grupo dos animais operados, concordando portanto com os dados deste estudo e com os de Di Benedetto *et al.* (1998).

As médias aritméticas alcançadas no trabalho de Kelleher *et al.* (2001) foram: para o grupo controle foi de 13,34 ( $\pm 0,29$ )  $\mu\text{m}$  e para os operados com veia normal sem preenchimento foi de 5,65 ( $\pm 0,06$ )  $\mu\text{m}$  e para veia ao avesso 6,25 ( $\pm 0,06$ )  $\mu\text{m}$ , diferindo de nossos resultados. Isso tanto no grupo controle quanto no grupo de animais operados, e um desvio padrão muito baixo, que não é comum nas fibras nervosas normais e em reparação.

## ÁREA DA FIBRA NERVOSA NO COTO DISTAL

A média obtida no grupo G1 (*sham*) foi de 42,81 ( $\pm 2,80$ )  $\mu\text{m}^2$  e a melhor média ocorreu no grupo G2 (VASP) com 15,54 ( $\pm 0,66$ )  $\mu\text{m}^2$ . Foidart-Dessalle *et al.* (1997) mediram no grupo controle 32,06  $\mu\text{m}^2$ , e com seis meses de pós-operatório obtiveram 12,35  $\mu\text{m}^2$ . Neste quesito em nosso grupo controle (G1) (*sham*) a média foi distante, entretanto, a média do grupo operado G2 (VASP) foi mais próxima.

## ÁREA DO AXÔNIO NO COTO DISTAL

No grupo G1 (*sham*) encontrou-se a média aritmética de 9,76 ( $\pm 1,75$ )  $\mu\text{m}^2$  e na melhor técnica observou-se as do grupo G3 (VAPRP), com 4,39 ( $\pm 1,16$ )  $\mu\text{m}^2$ . Foidart-Dessalle *et al.* (1997), encontraram no grupo controle a média de 9,26  $\mu\text{m}^2$ , e após seis meses de pós-operatórios 5,48  $\mu\text{m}^2$ . Embora num tempo pós-operatório maior, as suas médias ficaram bem próximas daquelas obtidas em nosso estudo, em que se trabalhou com 12 semanas de pós-operatório.

## ESPESSURA DA BAINHA DE MIELINA NO COTO DISTAL

No grupo G1 (*sham*) obtivemos a média de 1,76 ( $\pm 0,07$ )  $\mu\text{m}$  e a melhor média conseguida foi no grupo G3 (VAPRP) com 0,80 ( $\pm 0,18$ )  $\mu\text{m}$ . Foidart-Dessalle *et al.* (1997), encontraram no grupo controle a média de 1,43  $\mu\text{m}$  e de 0,67  $\mu\text{m}$  no grupo operado, com seis meses pós-operatório, parecido portanto com nossos resultados, apesar da diferença nos períodos experimentais. No trabalho de Barcelos *et al.* (2003) eles obtiveram uma média aritmética no grupo controle de 1,81 ( $\pm 0,22$ )  $\mu\text{m}$  e de 0,80 ( $\pm 0,10$ )  $\mu\text{m}$  no grupo operado com veia ao avesso, sendo tais resultados muito próximos dos encontrados neste estudo e com o mesmo tempo pós-operatório. Entretanto, Kelleher *et al.* (2001) encontraram médias diferentes tanto no grupo controle que foi de 2,47 ( $\pm 0,05$ )  $\mu\text{m}$ , como no grupo operado, com veia ao avesso tendo média de 1,44 ( $\pm 0,02$ )  $\mu\text{m}$  e no grupo da veia normal obteve-se a média de 1,22 ( $\pm 0,01$ )  $\mu\text{m}$ , também com 12 semanas de pós-operatório.

Nesta mesma variável testada, ao nível do enxerto, o nosso estudo encontrou a melhor média no grupo G2 (VASP) (1,43  $\pm 0,58$   $\mu\text{m}$ ), e Barcelos *et al.* (2003) também no enxerto, obtiveram a média de 1,10 ( $\pm 0,34$ )  $\mu\text{m}$  com uso da técnica do enxerto venoso heterólogo ao avesso, que foi similar aos dados de nosso trabalho. No estudo de Barcelos *et al.* (2003), que também

trabalharam com o segmento do enxerto e o coto distal, as médias numéricas do enxerto sempre foram maiores do que aquelas obtidas no coto distal, como ocorreu neste estudo.

### ÁREA DA BAINHA DE MIELINA NO COTO DISTAL

A média aritmética da área da bainha de mielina obtida no coto distal, no grupo G1 (*sham*), mostrou valores de 33,05 ( $\pm$  2,20)  $\mu\text{m}^2$  e a melhor média no grupo experimental no coto distal ocorreu no G5 (VNPRP) com 11,69 ( $\pm$  0,83)  $\mu\text{m}^2$ . Entretanto, Foidart-Dessalle *et al.* (1997), tiveram no grupo controle a média de 22,80  $\mu\text{m}^2$  e no grupo experimental a média de 6,88  $\mu\text{m}^2$ , com seis meses de pós-operatório e 10,31  $\mu\text{m}^2$  com um ano de pós-operatório.

Embora alguns estudos avaliaram tempos pós-operatórios diferentes, Di Benedetto *et al.* (1998), com 12 semanas e n=5, Foidart-Dessalle *et al.* (1997) de 90 a 360 dias e n=3; Barcelos *et al.* (2003); com 12 semanas e n=8, Karacaoglu *et al.* (2001) de 2 a 28 semanas e n=10 e Kelleher *et al.* (2001), com 12 semanas e n=5, eles são concordantes em seus resultados, quando, o experimento alcança ao redor 120 a 150 dias, de pós-operatórios. Esses estudos concluem que quando o experimento atingiu o período de 12 semanas, as médias aritméticas das variáveis testadas, se estabilizaram, não sofrendo acréscimo substantivo após determinado espaço de tempo.

O uso do PRP está sendo usado na odontologia para incrementar os enxertos ósseos previamente a colocação de implantes, na regeneração tecidual guiada (Anitua, 2001; Marx, 2004; Wilson *et al.*, 2006). O uso em cirurgia reconstrutiva acelera a neovascularização otimizando o processo de reparação das lesões (Lucarelli *et al.*, 2005).

Na cirurgia plástica o PRP tem sido utilizado para tratar mal perfurante plantar em pacientes diabéticos, como apósitos sobre as feridas, e

associados aos enxertos parciais de pele com resultados animadores (Vendrami *et al.*, 2006).

Farrag *et al.* (2007), que trabalharam com neurografia do nervo facial associado ao PRP, concluíram que ocorreram aumentos no número de axônios, na área dos axônios, na mielinização e melhora nos testes eletrofisiológicos. Estes dados coincidem com os encontrados em neste trabalho quanto aos aspectos histomorfológicos.

Nos atributos, área da bainha, área da fibra, diâmetro mínimo da fibra, diâmetro mínimo do axônio as veias preenchidas apresentaram melhores resultados tanto na região do enxerto como no coto distal. Talvez o preenchimento da veia impediu o colapamento da sua luz, e permitiu uma boa comunicação bioquímica entre os cotos nervosos, favorecendo assim a reparação. E o bom resultado pode ser devido ao não colapamento da veia promovido pelo PRP e/ou devido as características do PRP.

Os resultados encontrados no presente trabalho aumentam as perspectivas de recuperação nervosa. O PRP é de fácil obtenção, acessível economicamente, autólogo e isento de reações antigênicas, assim como os enxertos venosos. Isto encoraja-nos a prosseguir nesta de linha de pesquisa.

Embora os resultados aqui encontrados mostrem a superioridade dos grupos com veias preenchidas com PRP, não podemos afirmar que tal resultado deveu-se a esta substância especificamente. Trabalhos futuros esclarecerão este aspecto.

## **CONCLUSÃO**

## CONCLUSÃO

Com o modelo experimental utilizado e o tipo de lesão provocada, pudemos concluir que:

- Em todas as técnicas utilizadas os resultados foram superiores no enxerto do que no coto distal.
- O nervo em regeneração apresentou-se microfasciculado.
- Os resultados com veias preenchidas com plasma rico em plaquetas apresentaram-se superiores do que as veias não preenchidas.
- As veias normais preenchidas os resultados foram superiores às veias ao avesso preenchidas.

## REFERÊNCIAS

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABERNETHY, D. A.; THOMAS, P. K.; KING, R. H. M. Mutual attraction between emigrant cells from transected denervated nerve. **Journal of Anatomy**, v. 184(2), p.239-249, 1994.

AEBISCHER, P.; SALESIOTIS, A. N. ; WINN, S. R. Basic fibroblastic growth factor released from synthetic guidance channels facilitates peripheral nerve regeneration across long nerve gaps. **J. Neurosc. Res.** v. 23(3), 282, 1989.

ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAAFF, M.; ROBERTS, K.; WATSON, J. D. *Biologia molecular da célula.*, 3ª Ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997.1125p.

ANITUA, E. A. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in preparation of future site for implants. **Int. J. Oral Maxillofac. Impl.**, Lombard, v.14(4), p.529-535, 1999.

ANITUA, E. A. The use of plasma-rich growth factors (PRGF) in oral surgery. **Pract. Proced. Aesthet. Dent.** v. 13(6), p. 487-493, 2001.

BABCOCK, W. W. Standard technique for operation of peripheral nerve with especial reference for closure of large gaps. **Surg. Gynecol. Obst.** Chicago, v. 45, 364-378, 1927.

BALANCE, C. A.; BALANCE, H. A.; STEWART, P. Remarks on the operative treatment of chronic facial palsy of peripheral origin. **Br. J. Med.**, v. 2, p. 1009-1013, 1903.

BARCELOS, A.S.; RODRIGUES, A.C.; DAL PAI SILVA, M.; PADOVANI, C.R. Inside-out vein graft and inside-out artery graft in rat sciatic nerve repair. **Microsurgery**, 23: 66 – 71, 2003.

BATTISTON, B.; TOS, P.; CUSHWAY, T. R.; GEUNA, S. Nerve repair by means of vein filled with muscle grafts I. Clinical Results. **Microsurgery.** v. 20(6), p. 32-36, 2000a.

BATTISTON, B.; TOS, P.; GEUNA, S.; GIACOBINI-ROBECHI, M. G.; GUGLIEMONE, R. Nerve repair by means of vein filled with muscle grafts



II. Morphological Analysis of Regeneration. **Microsurgery**. v. 20(6), p. 37-41, 2000b.

BECKER, C. M.; GUEUNING, C.O.; GRAF, G.L. Sutures of fibrin glue for divided rat nerves. **Journal of Reconstructive Microsurgery**. Vol. 1, n.2, p.139-45 October, 1984.

BELL, M. A. & WEDDELL, A. G. A morphometric study of intrafascicular vessels of mammalian sciatic nerve. **Muscle Nerve**. v. 7, p.524-534, 1984.

BERGMAN, A. R.; AFIFI, A. K. & HEIDGER JR, P. M. Histology. Philadelphia, Pennsylvania. Editora W.B. Saunders Company, p. 111-132, 1996.

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

BHANOT, S. & ALEX, J. C. Current applications of platelet gels in facial plastic surgery. **Facial Plast. Surg.** v. 18(1), p.27-33, 2002.

BIXBY, J.L.; LILIEN, J.; REICHARDT, L. F. Identification of the major proteins that promote neuronal process outgrowth on Schwann cells in vitro. **The J. Cell. Biol.** v. 107, p. 353-361, 1988.

BORA, F.W. Peripheral nerve in cats: the fascicules stitch. **J. Bone Joint Surg. Am.** v. 49, p. 659-666, 1967.

BRAGA-SILVA, J.; GEHLEN, D.; ROMAN, J. A.; MENTA, C.; ATKINSON, E. A.; MACHADO, D. C.; VIEZZER, C.; BARBOSA, G. L.; BAES, C.V. W.; SILVA, V. D.; COSTA, J. C. Efeitos das células tronco adultas de medula óssea e do plasma rico em plaquetas na regeneração e recuperação funcional nervosa em um modelo de defeito agudo em nervo periférico de rato. **Acta. Ortopédica Brasileira**. v.14(5), p. 273-275, 2006.

BROWN, M. C.; PERRY, V. H.; LUNN, R. F.; GORDON, S. & HEUMANN, R. Macrophage dependence of peripheral sensory nerve regeneration: possible involvement of nerve growth factor. **Neuron**. v. 6(3), p. 359-370, 1991.

BROWN, P. W. Factores que influyen en el buen éxito de la reparación quirúrgica de nervios periféricos. In: Bogdanoff, B. M.; Brown, B. N. A.; Buncke, H. J.; Campbell, J. B.; Clarck, W. K. e col. (eds). Lesiones quirúrgicas de nervios periféricos. Clínicas Quirúrgicas de Norteamérica. Mexico DF: Interamericana, 1972, p.1137-1155.

BRUNELLI, G. A.; VIGASIO, A.; BRUNELLI, G. R. Different conduits in peripheral nerve surgery. **Microsurgery**. v. 15(3), p.176-178, 1994.

BUCKLEY, R. C.; BREAZEALE, E. E.; EDMOND, J. A. BRZEZIENSKI, M, A. A simple preparation of autologous fibrin glue for skin-graft fixation. **Plast. Rec. Surg.** v. 103, p.202-206, 1999.

BUETTNER, H.; PITTMAN, R. Quantitative effects of laminin concentration on neurite outgrowth in vitro. **Dev. Biol.** v.145(2)p.266-276, 1991.

BURACK, M. A.; SILVERMAN, M. A. & BANKER, G. The role of selective transport in neuronal protein sorting. **Neuron.**, v. 26, p. 465-472, 2000.

CAJAL, S. R. Cajal's degeneration and regeneration of the nervous system. Translated by R.M. May and edited by J. DeFelipe & E.C. Jones. Oxford University, Press, London, 1991.

CAMPANA, A. O; PADOVANI, C. R.; FREITAS, C. B. D.; PAIVA, S. A. R.; HOSSNE, W. S. Investigação Científica na  rea Médica. São Paulo. 1a. Ed. Manole, p.239, 2001.

CANALIS, E.; McCARTHY, T.; CENTRELLA, M. Growth factors and the regulation of bone remodeling. **J. Clin. Invest.**, New York, v.81, p.277-281, 1988.

CANPOLAT, L.; K KNER, A.; CANPOLAT, I.; OZAN, E. Ultrastructural and Morphometric Analysis of Peripheral Nerve Repair Regeneration Within Silicone Tubes. **Tr. J. of Medical Sciences.** v. 29, p. 203-209, 1999.

CAPLAN, J.; TIANGCO, D.A.; TERZIS, J.K. Effects of IGF-H in new end-to-side model. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.15, p. 351-358, 1999.

CARANDENTE, F.; ANGELI, A.; CANDIANI, G. B.; CROSIGNANI, P. G.; DAMACO, F. Rhythms in the ovulatory cycle. LH, FSH, estradiol and progesterone. **Chronobiologia.** Milano, v. 16, p.353-363, 1989.

CARTER, D. A.; BRAY, G. M.; & AGUAYO, A. J. Regenerated retinal ganglion cell axons form normal numbers of boutons but fail to expand their arbors in the superior colliculus. **J. Neurocytol.** v. 27, p. 187-196, 1998.

CHEN, Z. W.; WANG, M. S. Topical GM1ganglioside to promote crushed rat sciatic nerve regeneration. **Microsurgery.** v.16 (8), p. 542-6, 1995

CHIU, D.T. & STRAUCH, B. A prospective clinical evaluation of autogenous vein grafts used as a nerve conduit for distal sensory nerve defects of 3 cm or less. **Plast Reconstr Surg.** v.86(5), p. 928-34, 1990.

COLIN. W. & DONOFF, R.B. Nerve regeneration through collagen tubes. **J. Dent. Res.** v. 63(7), p. 987-993, 1984.

COLOHAN, A. R.; PITTS, L. H. ROSEGAY, H. Injury to the peripheral nerves. In FELICIANO, D. V.; MOORE, E. E.; MATTOX, K. L. (Eds.) Trauma 3<sup>rd</sup> ed. Stamford, Conn: Appleton & Lange, p.853-862, 1996.

CORDEIRO, P. G.; SECKEL, B. R.; LIPTON, S. A.; D'AMORE, P.A.; WAGNER, J.; MADISON, R. Acidic fibroblast growth enhances peripheral nerve regeneration in vivo. **Plastic. Reconstr. Surg.** v. 83, p. 1013, 1989.

CORNWALL, R. & RADOMISLI, T. E. Nerve injury in traumatic dislocation of de hip. **Clin. Orthop.** v. 377, p. 84-91, 2000.

COSTA, M. P; CUNHA, A. S.; DA-SILVA, C. F.; BARROS FILHO, T. E. P.; FERREIRA, M. C. A utilização do tubo de ácido poliglicólico e FK506 na regeneração de nervos periféricos. **Acta Ortop. Bras.** v.11(1), p.25-29, 2006.

CURTIS,R.; SHERER, B.R.; SOMOGIY, R.; ADRYAN, K. M.; IP, N. Y.; ZHU, Y.; LINDSAY, R. M. E DISTEFANO, P. S. Retrograde axonal transport of LIF is increased by peripheral nerve injury: correlation with increased LIF expression in distal nerve. **Neuron.** v. 12(1), p. 191-204, 1994.

DANIEL, R. K. & TERZIS, J. K. **Reconstructive Microsurgery** Boston: Little Brown, 1977.

DANIELSEN, N.; PETTMAN, B. VAHLSING, H. L.; MANTHORPE, M. & VARON. S. Fibroblast growth effects on peripheral nerve regeneration in a silicone chamber model. **J. Neurosci. Res.** v. 20, p. 320, 1988.

DA-SILVA, C. Biologia Celular e Molecular da Regeneração do Sistema Nervoso Periférico. **Atualização em Neurociências.** v. 1(03), p. 1-16,1995.

DATE, I.; FURUKAWA, S. & OHMOTO, T. Increased nerve growth factor level in the distal stump of transected sciatic nerve in relation to aging and its application for neural grafting. **Exp. Neurol.** v. 130, p. 168-171, 1994.

DAVIS, L. & CLEVELAND, D.A. Experimental studies in nerve transplants. **Ann. Surg.** v. 99, p. 271-283, 1934.

DIAO, E.; ANDREWS, A.; DIAO, J. Animal models of peripheral nerve injury. **Op. Techn. Orthop.** v. 14, p.153-162, 2004.

DI BENEDETTO, G.; ZURA, G.; MAZZUCHELLI, R.; SANTINELLI, A.; SCARPELLI, M.; BERTANI, A. Nerve regeneration through a combined autologous conduit (vein plus acellular muscle grafts). **Biomaterials,** v.19(1-3), p.173-181, 1998.

DONAT, J. R. & WISNIEWSKI, H. M. The spatio-temporal pattern of Wallerian degeneration in mammalian peripheral nerves. **Brain Research**. v. 53 (1), p. 41-53, 1973.

DOOLABH, V. B.; HERTI, M C.; MACKINNON, S. E. The role of conduits in nerve repair: a Review. **Rev. Neurosci**. v.7, p.47-84, 1996.

DORIA FILHO, U. Introdução à Bioestatística para Simples Mortais. São Paulo, 5ª. Ed. Negócio, p. 158, 2001.

DOURADO, E.; Dias, E.; CAUBI, A. F.; LAGO, C.; CAUÁS, M. Neurorrafia de Nervos Periféricos com Adesivo Biológico. **Rev. de Cir. Buco-maxilo-facial**. v. 1, n.1, p. 41-45, 2001.

DUCKER, T. B. & HAYES, G.J. Experimental improvements in the use of Silastic cuff for peripheral nerve repair. **J. Neurosurg**.v.28,p.217-221, 1968.

EDSHAGE, S. Peripheral nerve suture: a technique for improved intraneural topography. Evolution of some material. **Acta Chir. Scand. Suppl**.v. 331, p 02-04, 1964.

ELEUTÉRIO, M.L. Reparo do nervo fibular comum através de diferentes técnicas de reinervação e suas implicações na interação mioneural em ratos. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências, 122 p. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1999.

EPPLEY, B. L. & DELFINO, J.J. Collagen tube repair of mandibular nerve: A preliminary investigation in the rat. **J. Oral Maxillofacial Surg.**, v. 46, p. 41, 1988.

FAGUNDES, D. J. & TAHA, M. O. Animal disease model: choice's criteria and current animals specimens. **Acta Cir. Bras.**, v.19 (1), p. 59-65, 2004.

FALDINI, A.; PUNTONI, P.; MAGHERINI, P. C. Comparative neurophysiological assessments of nerve sutures performed by microsurgical methods and with fibrin glue: experimental study. **Ital. Jnl Orthop. Traumatol**. v. 10, p. 527-32, 1984.

FARRAG, T. Y.; LEHAR, M.; VERHAEGEN, P.; CARSON, K. A.; BYRNE, P. J. Effect of Platelet Rich Plasma an Fibrin Sealant on Facial Nerve Regeneration in a Rat Model. **Laryngoscope** v. 117, p. 157-165, 2007.

FAWCETT, J. W. & KEYNES, R. J. Peripheral nerve regeneration. **Ann. Rev. Neurosc.** Palo Alto, v.13, p. 43-60, 1990.

FERNANDEZ-VALLE, C.; BUNGE, R. P.; BUNGE, M. B. Schwann cells degrade myelin and proliferate in the absence of macrophages: evidence from in vitro studies of Wallerian degeneration. **J. Neurocytol.** v. 24, 667-679, 1995.

FERRARA, N. & DAVIS-SMYTH, T. The biology of vascular endothelial growth factor. **Endocr. Rev.** v. 18, p. 4-25, 1997.

FERRARI, F.; RODRIGUES, A. C.; MALVEZZI, C.K.; SILVA, M. D. P.; PADOVANI, C.R. Inside-out vs. Standard Vein Graft to repair a Sensory Nerve in Rats. **The Anatomical Record**, v. 256, p. 227-232, 1999.

FERREIRA, L. M. & FERREIRA, L. R. K. Experimental model: historic and conceptual revision. **Acta Cir. Bras.** V.18, p.1-3, 2003

FERREIRA, L. M.; HOCHMAN, B.; BARBOSA, M. V.J. Modelos experimentais em pesquisa. **Acta Cirurg. Bras.** V.20(Supl.), p.28-34 2005.

FERREIRA, M. C.; ERHART, E. A.; TEDESCO-MARCHESE, A.; AZZE, R. J. Microcirurgia de nervos periféricos: nova técnica. **Rev. Paul. Med.**, São Paulo, v. 84, p. 520-532, 1974.

FIELDS, R.D.; LE BEAU, J.M.; LONGO, F.M.; ELLISMAN, M.P.H. Nerve regeneration through artificial tubular implants. **Prog. Neurobiol.**, v. 33(2), p. 87-134, 1989.

FOIDART-DESSALE, M.; DUBUISSON, A.; LEJEUNE, A.; SEVERYNS, A.; MANASSIS, Y.; DELREE, P.; CRIELAARD, J. M.; BASSLEER, R. AND LEJEUNE, G. Sciatic Nerve Regeneration through Venous or Nervous Grafts in the Rat. **Experimental Neurology**, v. 148, p.236-246, 1997.

FORNARO, M.; TOS, P.; GEUNA, S.; GIACOBINI-ROBECCHI, M.A. G.; BATTISTON, B. Confocal imaging of Schwann-cell migration along muscle-vein combined grafts used to bridge nerve defects in the rat. **Microsurgery**, New York, v.21, p. 153-155, 2001.

FRAHER, J.P.; O'LEARY, D.; MORAN, M. A.; COLE, M.; KING, R. H.; THOMAS, P.K. Relative growth and maturation of axon size and myelin thicknesses in the tibial nerve of the rat. I. Normal animals. **Acta Neuropathol.** v. 79, p.364-374, 1990.

FREYMILER, E. G. & AGHALOO, T. L. Platelet-rich plasma: ready or not? **J. Oral Maxillofac. Surg.** v. 62(4), p.484-488, 2004.

FRIEDMAN, B.; SCHERER, S.S.; RUDGE, J. S.; HELGREN, M.; MORRISEY, D.; McCLAIN, J.; WANG, D. Y.; WIEGAND, S. J.; FURTH, M. F.; LINDSAY, R. M.; NANCY Y. Regulation of ciliary neurotrophic factor expression in myelin-related Schwann cell in vivo. **Neuron.** v. 9, p. 295-305, 1992.

FRIEDMAN, B.; WONG, V. & LINDSAY, R. M. Axons, Schwann cells, and neurotrophic factors. **The Neuroscientist.** V. 1, p. 192-199, 1995.

FU, S.Y.; GORDON, T. The cellular and molecular basis of peripheral nerve regeneration. **Molecular Neurobiology**, v. 14 (1), p. 67-116, 1997.

FUNAKOSHI, H.; FRISEN, J.; BARBANY, C.; TUMMUSK, T.; ZACHRISSON, O.; VERGE, V. M.; PERSSON, H.; Differential expression of mRNAs for neurotrophins and their receptors after axotomy of the sciatic nerve. **J. Cell. Biol.** v.123, p. 455-465, 1993.

GANIO, C.; TENEWITZ, F. E.; WILSON, R. C.; MOYLES, B. G. The treatment of chronic nonhealing wounds using autologous platelet-derived growth factors. **The J. of Foot and Ankle Surgery**, v.32(3), p.263-267, 1993.

GARG, A.; McQUEEN, M.M.; COURT-BROWN, C. M. Nerve injury after greater tuberosity fracture dislocation. **J. Orthop. Trauma**, v. 14(2), p. 117-118, 2000.

GARTNER, L. P. & HIATT, J. L. Tratado de Histologia. 2ª. Ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 149-178, 2003.

GEUNA, S.; TOS, P.; GUGLIEMONE, R.; BATTISTON, B.; GIACOBINI-ROBECCHI, M. G. Methodological issues in size estimation of myelinated nerve fibers in peripheral nerve. **Anat. Embryol.** v. 204(1), p.1-10, 2001.

GIANNOBILE, W. V. Periodontal tissue regeneration by polypeptide growth factor and gene transfer. In LYNCH, S. E.; GENCO, R. J.; MARX, R. E. Tissue engineering. Applications in maxillofacial surgery and periodontics. Carol Stream, Quintessence, 1999. Cap. 14, p. 231-244.

GIBBELS E. Morphometry of unmyelinated nerve fibers. **Clin Neuropathol.** v.8(4), p.179-87, 1989.

GRABB, W. C.; BEMENT, S. L.; KOEPKE, G. H.; GREEN, R. A. Comparison of methods of peripheral nerve suturing in monkeys. **Plast. Reconstr. Surg.** v. 46(1), p.31-38, 1970.

GRANT, D. S.; & KLEINMAN, H. K. Regulation of capillary formation by laminin and other components of the extracellular matrix. **Exs.** v. 79, p. 317-33, 1997.

GRANT, G. A.; GOODKIN, R.; KLIOT, M. Evaluation and surgical management of peripheral nerve problems. **Neurosurgery**, v. 44(4), p. 825-839, 1999.

GRAVES, D.T.; & COCHRAN, D.L.; Periodontal regeneration with polypeptide growth factors. **Curr. Opin. Periodont.**v. p.178-186, 1994.

GREEN, D. M. & KLINK, B. Platelet gel as an intraoperatively procured platelet-based alternative to fibrin glue. **Plast. Reconstr. Surg.** v. 101(4), p. 1161-1162, 1998.

GRIFFIN, J.W.; KIDD, G.; TRAPP, B. Interaction between axons and Schwann cells. In **Peripheral Neuropathy**, Philadelphia: W. B. Saunders, p. 317-330, 1993.

GROSS, C. G. "Neurogenesis in the adult brain: death of a dogma". **Nature Rev. Neurosci.** V.1, p. 67-73, 2000.

GROTENDORST, G. R.; MARTIN, G. R.; PENCEV, D.; SODEK, J.; & HARVEY, A. K. Stimulation of granulation tissue formation by platelet-derived growth in normal and diabetic rats. **J. Clin. Invest.**, v. 76, p. 2323, 1985.

GUDA, C.M.H.; PIETER, J.K. & RICHARD, P.D. Vein graft conduits versus conventional suturing in peripheral nerve reconstructions. **Microsurgery**, New York, v.14, p.584-588, 1993.

GUPTA, R.; LIN, Y. M.; BUI, P.; PRESTON, C.; MOZAFFAR, T. Macrophage recruitment follows the pattern of inducible nitric oxide synthase expression in a model for carpal tunnel syndrome. **J. Neurotrauma.**, v. 20, p. 671-680, 2003.

GUPTA, R. & STEWARD, O. Chronic Nerve Compression Induces Concurrent Apoptosis and Proliferation of Schwann cells. **J. Comp. Neurol.**, 461, p. 174-186, 2003.

GUPTA, R.; ROWSHAN, K.; CHAO, T.; MOZAFFAR, T.; STEWARD, O. Chronic nerve compression induces local demyelination and remyelination in a rat model of carpal tunnel syndrome. **Exp. Neurol.** v. 187(2), p. 500-508, 2004.

HADLOCK, T.; ELISSEFF, J.; LANGER, R.; VACANTI, J.; CHENEY, M. A Tissue-Engineered Conduit for Peripheral Nerve Repair. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg.** v.124, p.1081-1086, 1998.

HALL, S. M. Regeneration in cellular and acellular autografts in the peripheral nervous system. **Neuropathology and Applied Neurobiology.**, v. 12(1), p. 27-46, 1986.

HALL, S. Axonal regeneration through acellular muscle grafts. **J. Anat.**, v. 190, p. 57-71, 1997.

HEATH, C. A. & RUTKOWSKI, G. E. The development of bioartificial nerve grafts for peripheral-nerve regeneration. **Trends Biotechnol.** v. 16(4) p. 163-168, 1998.

HEMS, T.E.J.; GLASBY, M.A. Comparison of different methods of repair of long peripheral nerve defects: an experimental study. **Br. J. Plast. Surg.**, Edinburgh, v.45, p.497-502, 1992.

HENTZ, V. R.; ROSEN, J. M.; XIAO, S. J.; MCGILL, K. C.; ABRAHAM, G. A. A comparison of suture and tubulization nerve repair technique in a primate. **J. Hand. Surg. Am.** v. 169(2), p.251-261, 1991.

HERDERSON, J. L.; CUPP, C. L.; ROSS, E. V.; SHICK, P. C.; KEEFE, M. A.; WESTER, D. C.; HANNON, T.; McCONNELL, D. The effects of autologous platelet gel on wound healing. **Ear Nose Throat. J.** v. 82(8), p. 598-602, 2003.

HEUMAN, R.; KORCHING, S.; BANDTLOW, C. & THOENEN, H. Changes of nerve growth factor synthesis in nonneuronal cells in response to sciatic nerve transection. **J. Cell. Biol.** V. 104, p. 1623-1631, 1987.

HOCMAN, B.; FERREIRA, L. M.; VILAS BOAS, F. C.; MARIANO, M. Experimental model in hamster (*Mesocricetus auratus*) to study heterologous graft of scars and cutaneous diseases in plastic surgery. **Acta Cir. Bras.** v. 19(supl).1,p.69-78, 2004.

HOM, D.B.; & MAISEL, R.H. Angiogenic growth factors: Their effects and potential in soft tissue wound healing. **Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.** v. 101, p. 349, 1992.

HOPKINS, S. J. & ROCKWELL, N. J. Cytokines and the nervous system. I. Expression and recognition. **Trends Neurosci.** v. 18(2), p. 83-88, 1995.

HOWELL, T. L.; FIORELLINI, J. P.; LYNCH, S. E.; PAQUETTE, D. W.; OFFENBACHER, S. A phase I/II clinical trial to evaluate a combination of recombinant human platelet-derived growth factor-BB and insulin-like growth factor-I in patient with periodontal disease. **J. Periodont.**, v. 68(12), p. 1186-1193, 1997.

HUDSON-GOODMAN, P.; GIRARD, N.; & JONES, M. B. Wound repair and the potential use of growth factors. **Heart. Lung.**, v. 19, p.379, 1990.

HUPP, J.R. Neuropatologia Facial. In **Cirurgia Maxilofacial Contemporânea**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 678-691, 2000.

IDE, C.; TOHYAMA, K.; YOKOTA, R.; NITATORI, T.; ONODERA, S. Schwann cell basal lamina and nerve regeneration. **Brain Res.**, v. 228, p.61-75, 1983.

JABERI, F.M.; ABBAS, B.P.; NEZHAD, S. T.; TANIDEH, N. End-to-side neurotomy: an experimental study in rabbits. **Microsurgery**, v. 23(4), p. 359-362, 2003.

JENQ, C. B. & COGGEHALL, R. E. Effects of Sciatic nerve regeneration after autologous sural nerve transplantation in rat. **Brain Res.** Amsterdã v. 406(1), p.52-61, 1987a.



JENQ, C. B. & COGGEHALL, R. E. Permeable tubes increase the length of the gap regenerating axon can Span. **Brain Res.** v.409(1-2), p. 239-242, 1987b.

JUNQUEIRA, L. C. & CARNEIRO, J. *Histologia Básica*. 10ª. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.154-183, 2004

KANAYA, F. FIRRELL, J. C.; BREIDENBACH, W. C. Sciatic function index, nerve conduction tests, muscle contraction, and axon morphometry as indicators of regeneration. **Plast. Reconstr. Surg.** v. 98(7), p.1264-1271, 1996.

KARACAOGLU, E.; YÜKSEL, F.; PEKER, F.; GÜLER, M. Nerve regeneration through an epineural sheath: its functional aspect compared with nerve and vein grafts. **Microsurgery**, v. 21(5), p. 196-201, 2001.

KARNES, J.; ROBB, R.; O'BRIEN, P.C.; LAMBERT, E.H.; DYCK, P.J. Computerized image recognition for morphometry of nerve attribute of shape of sampled transverse sections of myelinated fibers which best estimates their average diameter. **J. Neurol. Sci.** v.34(1), p.43-51, 1977.

KELLEHER, M.O.; AL-ABRI, R.K.; ELEUTÉRIO, M.L.; MYLES, L.M.; LENIHAN, D.V.; GLASBY, M.A. The use of conventional and invaginated autologous vein grafts for nerve repair by means of entubulation. **Brit. J. of Plast. Surgery**, v.54, p.53-57, 2001.

KELLEY, R. D.; NGUYEN, K. D.; STEPHANIDES M. J.; PADILHA, J.; ROSEN, J. M. The artificial nerve graft, a comparison of blended elastomer-hydrogel with polyglycolic acid conduits. **J. Reconstr. Microsurg.** v.7(2), p.93-100, 1991.

KNOX, P.; CROOKS, S.; RIMMER, C. S. Role of fibronectin in the migration of fibroblasts into plasma clots. **J. Cell. Biol.** v. 102(1), p.2318-2323, 1986.

KORNAC, D. R. & RAKIC, P. Cell Proliferation Without Neurogenesis in Adult Primate Neocortex". **Science.** v. 294, p. 2127-30, 2001.

LANDER, A. D.; FUJII, D. K.; REICHARDT, L.F. Laminin is associated with the "neurite outgrowth-promoting factors" found in conditioned media. **Proc. Natl. Sci. USA.** v. 82, p. 2183-2187, 1985.

LEE, J. M.; TOS, P.; RAIMONDO, S.; FORNARO, M.; PAPALAI, I.; GEUNA, S.; GIACOBINI-ROBECCHI, M. G. Lack of topographic specificity in nerve fiber regeneration of rat forelimb mixed nerves. **Neuroscience.** v. 144, p. 985-990, 2007.

LENT, R.; UZIEL, D.; FURTADO, A. D. Neurônios. In *Células Uma Abordagem Multidisciplinar*. São Paulo: Ed. Manole, p. 226-277, 2005.

LEESON, T. S. & LEESON, C. R. Histologia. 2ª. Edição, Atheneu, São Paulo, p. 177-212, 1970.

LINCOLN, G.A.; SHORT, R.V. Seasonal breeding nature's contraceptive. **Rent. Prog. Horm. Res.**, New York, v.36, p. 1-52, 1980.

LINKHART, T. A.; MOHAN, S.; BAYLINK, D.J. Growth factors for bone growth and repair: IGF, TGF beta and BMP. **Bone**. v.19 (1Suppl),p.1-12.1996.

LOZADA, J. L.; CAPLANIS, N.; PROUSSAEFS P.; Willardsen, j.; Kammeyer, G. Platelet-rich plasma application in sinus grafo surgery: Part I – Background and processing techniques. **J. Oral Implantol**. v. 27(1), p. 38-42, 2001.

LUCARELLI, E.; FINI, M.; BECEHERONI, A.; GIAVARESI, G.; DIBELLA, C.; ALDINI, N. N.; Guzzardella, G.; Martini, L.; Cenacchi, A S.; Di Maggio, N.; Sangiorgi, L.; Fornasari, P. M.; Mercuri, M.; Giardino, R.; Donati, D. Stromal stem cells and platelet-rich plasma improve bone allograft integration. **Clin. Orthop. Relat. Res**. v. 435, p.62-68, 2005.

LUIS, A. L.; RODRIGUES, J. M.; AMADO, S.; VELOSO, A. P.; ARMADA-SILVA, P. A. S.; RAIMONDO, S.; FREGNAN, F.; FERREIRA, A. J.; LOPES, M. A.; SANTOS, J. D.; GEUNA, S.; VAREJÃO, A. S. P.; MAURÍCIO, A. C. PLGA 90/10 an Caprolactone Biodegradable Nerve Guides for the Reconstruction of the Rat Sciatic Nerve. **Microsurgery**. v. 27, p.125-137, 2007.

LUNDBORG, G.; GELBERMAN, R. H.; LONGO, R. M.; POWELL, H. C.; VARON, S. In vivo regeneration of cut nerves encased in silicone tubes: Growth across a six milimeter gap. **J. Neuropathol. Exp. Neurol**. v.41(4), p.412-422, 1982.

LUNDBORG, G.; MYERS, R.; POWEL, H. Nerve compression injury and increased endoneurial fluid pressure: a "miniature compartment syndrome". **J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry**. v. 46, p.1119-1124, 1983.

LUNDBORG, G. Nerve regeneration an repair: A review. **Acta Orthop. Scand**. v. 58, p. 145-169, 1987.

LUNDBORG, G.; DAHLIN, L.B.; DANIELSEN, N.; ZHAO, Q. Trophism, tropism, and specificity in nerve regeneration. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.10, n.5, p.345-354, 1994.

LUNDBORG, G. & DAHLIN, L. B. Anatomy, function and pathophysiology of peripheral nerves and nerve compression. **Hand. Clin**. v. 12, p. 185-193, 1996.

LUNDBORG, G. "A 25-Year perspective of peripheral nerve surgery: Evolving neuroscientific concepts and clinical significance". **J. Hand. Surg.** v. 25-A, p. 391-414, 2000.

LUTZ, B. S.; CHUANG, D. C.; HSU, J. C.; MA, S. F.; WEI, F. C. Selection of donor nerves – an important factor in end-to-side neurotaphy. **Br. J. Plast. Surg.**, Edimburgo, v. 53, n.2, p. 149-154, 2000.

LYNCH, S. E.; BUSER, D.; HERNANDEZ, R. A.; WEBER, H. P.; STICH, H.; FOX, C. H.; WILLIAMS, R. C. Effects of platelet-derived and insulin-like growth factor-1 combination on bone regeneration around titanium dental implants. Results of a pilot study in beagle dogs. **J. Periodontol.** Chicago, v. 62, p.710-716, 1991.

MACHADO, A. B.M. Neuroanatomia Funcional. 2ª. Ed. São Paulo: Editora Atheneu, p. 17-22, 2005.

MADISON, R. D.; ARCHIBALD, R.J. Point sources of Schwann cells result in growth into a nerve entubulation repair site in the absence of axons: effects of freeze-thawing. **Exp. Neurol.** v. 128, p. 266-233, 1994.

MACKINNON, S. E.; HUDSON, A. R.; HUNTER, D. A. Histologic assessment of nerve regeneration in the rat. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v. 75, p.384-388, 1985.

MACKINNON, S. E. New directions in peripheral nerve surgery. **Ann. Plas. Surg.**, Boston, v. 22 (3), p. 257-273, 1989.

MACKINNON, S. E. & DELLON, A. L. Clinical nerve reconstruction with a bioabsorbable polyglycolic acid tube. **Plast Reconstr. Surg.**, v. 85(3), p. 419-424, 1990.

MACKINNON, S. E. & NOVAK, C. B. Nerve transfers. New options for reconstruction following nerve injury. **Hand Clin.** v. 15, p.643-666, 1999.

MALBOUISSON, A.M.B.; GHABRIEL, M.M.; ALLT, G. The non-directional pattern of axonal changes in Wallerian degeneration: a computer-aided morphometric analysis. **J. Anat.**, v.139, n.1, p.159-174, 1984.

MAN, D.; PLOSKER, H.; WINLAND-BROWN, J. The Use of Autologous Platelet-Rich Plasma (Platelet Gel) and Autologous Platelet-Poor Plasma (Fibrin Glue) in Cosmetic Surgery. **Plastic & Reconstructive Surgery.** v.107(1), p. 229-237, 2001.

MARTINI, R.; BOLLENSEN, E.; SCHACHENER, M. Immunocytological localization of the major peripheral nervous system glycoprotein PO and the L2/HNK-1 and L3 carbohydrate structures in developing and adult mouse sciatic nerve. **Develop. Biol.**, v. 129(2), p. 330-338, 1988.

MARX, R. E.; CARLSON, E. R.; EICHSTAEDT, R. M.; SCHIMMELE, S. R.; STRAUS, J. E.; GEORGEFF, K. R. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.** Sanit Louis, v. 85(6), p.638-646, 1998.

MARX, R. E. Platelet-rich plasm: evidence to support its use. **J. Oral Maxillofac. Surg.** v. 62(4), p. 489-496, 2004.

MATHEWS, C.A. & FFRENCHCONSTANT, C. Embryonic fibronectins are up-regulated following peripheral nerve injury in rats. **J. Neurobiol.** v. 26, p. 171-188, 1995.

MAZZUCCO, L.; MEDICI, D.; SERRA, M. *et al.* The use of autologous platelet gel to trata difficult-to-heal wounds: a pilot study. **Transfusion.** v. 44(7), p. 1013-1018, 2004.

MEYER, M; MATSUOKA, I; WETMORE, C; OLSON, L; THOENEN, H. Enhanced synthesis of brain-derived neurotrophic factor in the lesioned peripheral nerve: different mechanisms are responsible for regulation of BDNF and NGF mRNA. **J. Cell Biol.**, 119, 45-54, 1992.

MIDHA, R. Nerve transfers for severe brachial plexus injuries: a review. **R. Neurosurg. Focus.** v. 16(5), p.1-10, 2004.

MILLES, H.; MEISSEL, G. BERGER, A. The interfascicular nerve grafting of the ulnar nerves. **J. Bone. Joint. Surg. Am.** V. 54-A, p. 727-750, 1972.

MILLES, H. Indications and techniques of nerve grafting. In GELBERMAN, R.H. (ed): Operative nerve repair and reconstruction. Philadelphia, J.B. Lippincott Company, 525-543, 1991.

NAHAS, F. X. & FERREIRA, L.M. Análise dos itens de um trabalho científico. **Acta Cir. Bras.** v.20(Supl.), p.13-16, 2005

NAVARRO, X.; KAMEI, H.; KENNEDY, W. R. Effect of age and maturation on sudomotor nerve regeneration in mice. **Brain Res.** v. 447, p.133-140, 1988.

NEBLETT, C. R.; MORRIS, J. R.; THONSEN, S. Laser assisted microsurgical anastomosis. **Neurosurgery.** v.19, p.914-934,1986.

NEUFELD, G.; COHEN, T.; GENGRINOVITCH, S.; POLTORAK, Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. **FASEB J.** v. 13, p. 9-22, 1999.

NICOLINO, S.; RAIMONDO, S.; TOS, P.; BATTISTON, B.; FORNARO, M.; GEUNA, S.; PERROTEAU, I. Expression of (alpha)2a-2b neuregulin-1 is associated with early peripheral nerve repair along muscle-enriched tubes. **Neuroreport.** v. 14(11), p.1541-1545, 2003.

NISHIO, Y.; NISHIHARA, J.; ISHIBASHI, T.; KATO, H.; MINAMI, A. Role of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in peripheral nerve regeneration: Anti-MIF antibody induces delay of nerve regeneration and the apoptosis of Schwann Cells. **Molecular Medicine**. v. 8(9),p.509-520, 2002.

NOVAK, C. B.; MACKINNON, S. E.; WILLIAMS, J. I. Establishment of reliability in the evaluation of hand sensibility. **Plast. Reconstr. Surg.** v. 92(2), p. 311-322, 1993.

NOVAK, C. B.; MACKINNON, S. E.; BARATZ, M. E. Peripheral Nerves Injuries. **Plast. Reconstr. Surg.** 114(7),p.1802-1814 and discussion -1815-1817, 2004.

OLIVEIRA, E. F.; MAZZER, N.; BARBIERI, C. H. Use of a skeletal muscle basal membrane graft to treat segmentary nerve lesions experimental study in the sciatic nerve of rats. In: WORKSHOP INTERNACIONAL DE MICROCIURURGIA E CIRURGIA DE MÃO, 5., Botucatu. **Anais...** Botucatu, 2000, p.6.

ÖNNE, L. Recovery of sensibility and sudomotor activity in the hand after suture. **Acta Chirur. Scand.** v. 300,p. 1-69, 1962.

OTTEN, U. & GADIENT, R. A. Neurotrophins and cytoxines – intermediaries between the immune and nervous system. **Int. J. Develop. Neurosci.** V. 13. p.147-151, 1995.

OYAMA, T.; NISHIMOTO, S.; TSUGAWA, T.; et al. Efficacy of platelet-rich plasma in alveolar bone grafting. **J. Oral Maxillofac. Surg.** v. 62(5), p. 555-558, 2004.

PACHIONI, C. A. S.; MAZZER, N.; BARBIERI, C. H.; FAZAN, V. P. S.; PADOVANI, C. R.; MORO, C. A.; SILVA, C. A. A. Lesão por esmagamento do nervo isquiático de ratos: estudo da vascularização. **Acta Ortopédica Brasileira**. v. 14(4), p.203-207, 2006.

PACKHAM, M. A.; MUSTARD, J.F. Platelet adhesion. **Prog. Hemost. Tromb.** v. 7, p. 211-88, 1984.

PERRY, V. H.; BROWN, M. C.; GORDON, S. The macrophage response to central and peripheral nerve injury; a possible role for macrophages in regeneration. **J. Exp.** New York, v. 165, 1218-1223, 1987.

PESTRONK, A.; DRACHMAN, D. B.; GRIFFIN, J. W. Effects of aging on nerve sprouting and regeneration. **Exp. Neurol.** v. 70(1), p.65-82, 1980.

PETERS, A.; PALAY, S. L.; WEBSTER, H. F. The fine structure of the nervous system – Neurons and their supporting cells. 3ª. Ed. Oxford, p. 212-272, 1991.

PHILYPEAUX, J. M. & VULPIAN, A. Note sur des essais de greffe d'un tronçon du nerf lingual entre les deux bouts du nerf hypoglose, après excision d'un segment de ce dernier nerf. **Arch. Physiol. Norm. Pathol.** V. 3, p.618-620, 1870.

PLANT, G.H.; HARVEY, A. R.; CHIRILA, T. V. Axonal growth within poly sponges infiltrated with Schwann cells and implanted into the lesioned rat optic nerve. **Brain Research**, v. 671(1), p. 119-30, 1995.

POGREL, M.A.; MAGHEN, A. The use of autogenous vein grafts for inferior alveolar and lingual nerve reconstruction. **J. Oral maxillof. Surg.**, v.59, n.9, p.985-988, 2001.

REINA, M. A.; VILLANUEVA, M. C.; DE ANDRES, J. A.; LEON, G. L. Morphology of peripheral nerves, their sheaths, and their vascularization. **Rev. Esp. Anesthesiol. Reanim.** v. 47, p.464-475, 2000.

REMPEL, D.; DAHLIN, L.; LUNDBORG, G. Pathophysiology of nerve compression syndromes: response of peripheral nerves to loading. **J. Bone Joint Surg. Am.** v. 81, p. 1600-1610, 1999.

RISITANO, G.; CAVALLARO, G.; LENTINI, M. Autogenous vein and nerve grafts: a comparative study of nerve regeneration in rat. **J. Hand. Surg.** v.14(1), p.102-104, 1989.

RISTIC, S.; STRAUCH, R.J.; ROSENWASSER, M. P. The assessment and treatment of nerve dysfunction after trauma around the elbow. **Clin. Orthop.** v. 370, p. 138-153, 2000.

ROBSON, M.C. The role growth factors in the healing of chronic wounds. **Wound Repair Regen.** v. 5(1), p. 12-17, 1997.

RODRIGUES, F. F. Traumatismo dos Nervos periféricos. Aspectos Cirúrgicos. **Rev. Eras Neural.** V. 26, p. 90-116, 1990.

RODRIGUES, A.C.; SILVA, M.D.P. Inside-out versus standart artery graft to repair a sensory nerve in rats. **Microsurgery**, New York, v.21, p.102-107, 2001.

RODRIGUES, F. F.; LEMOS, A. J. M.; KALLAS, J. L.; TEMPONI, G. Tratamento Cirúrgico dos Nervos Periféricos. Experiência de 114 pacientes. disponível em [www.medstudents.com.br/original/original/nervoper.htm](http://www.medstudents.com.br/original/original/nervoper.htm) acesso em 18/11/2004.

ROSEN, J. M.; HENTZ, V.R.; KAPLAN, E. N. Fascicular tubulization: a cellular approach to peripheral nerve repair. **Ann. Plast. Surg.** v.11, p. 397, 1983.

ROSS, M. H. & ROMREL, L. J. Histologia – Texto e Atlas, 2ª. Edição, Editora Médica Panamericana, São Paulo, p. 241-280, 1993.

RUBIO, M. E. Seletive targeting of glutamate receptors in neurons. **Mol. Neurobiol.**, v. 21, p. 1-20, 2000.

RUDKIN, G. H.; MILLER, T. A. Growth Factor In Surgery. **Plastic and reconstructive Surgery**. v. 97, february, no. 2 , p. 469-476, 1996.

RUMMLER, L. S. & GUPTA, R. Peripheral nerve repair: a review. **Curr. Opin. Orthop.**, v. 15, p. 215-219, 2004.

RUSKIN, J.D.; MARKIN, R.; DAVIS, L. F. Evaluation of polytetrafluoroethylene (Gore-Tex) tubes for use as synthetic nerve grafts. **American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons, Poster Session, Annual Scientific Session, Anaheim, CA Sept, 18, 1987.**

SANDY, J.; DAVIES, M.; PRIME, S.; FARNDAL, R. Signal pathways that transducer growth factor-stimulated mitogenesis in bone cells. **Bone**. v.23(1), p.17-26, 1998.

SCHARPF, J.; MEIRER, R.; ZIELINSKI, M.; UNSAL, M.; RAMINENI, P.B.S.; NAIR, D.; SIEMINOW, M. A novel technique for peripheral nerve repair. **Laryngoscope**, v. 113, january, p. 95-101, 2003.

SCHMELZER, J. D.; ZOCHODNE, D.W.; LOW, P. A. Ischemic and reperfusion injury of rat peripheral nerve. **Med. Sci**. v. 86, p.1639-1642, 1989.

SCHMIDT, C. E. & LEACH, J. B. Neural Tissue Engineering: Strategies for Repair in Regeneration. **Ann. Review of Biomedical Engineering**. v. 5, p. 293-347, 2003.

SCHWARTZ, J. H. & DE CAMILLI, P. "Synthesis and trafficking of neuronal proteins". In KANDEL, E. R. et al. (eds.) Principles of Neuronal Science. McGraw-Hill, New York, p. 88-104, 2000.

SECKEL, B.R.; RYAN, S. E.; GAUGUE, R. C.; CHIU, T. H.; WATKINS, E. Target-specific nerve regeneration through a nerve guide in rat. **Plast. Reconstr. Surg**. Baltimore, v. 78, p.793, 1986.

SEDDON, H. J. Three types of nerve injury. **Brain**, v. 66, p. 237-88, 1943.

SEDDON, H. J. The use of autogenous grafts for repair of large nerve gaps in peripheral nerves. **Br. J. Surg**. Bristol, v. 35, p. 151-167, 1947.

SENDTNER, M.; STOCKLI, K. A.; & THOENEN, H. Synthesis and localization of ciliary neurotrophic factor in the sciatic nerve of adult rat after lesion and during regeneration. **J. Cell. Biol**. v. 118, p. 139-148, 1992.

SHAH, J. & CLEVELAND, D.W. Slow axonal transport: fast motors in the slow lane. **Curr. Op. Cell. Biol.**, v. 14, p. 58-62, 2002.

SHEA, T. B. & FLANAGAN, L. A. Kinesin, dynein and neurofilament transport. **Trends Neurosci.** v. 24, p. 644-648, 2001.

SHEEHAN, J. P.; KALLMES, D. F.; SHEEHAN, J. M.; JANE –JR, J. A.; FERGUS, A. H.; DIPIERRO, C. G.; SIMMONS, N. E.; MAKEL, D. D. & HELM, G. A. Molecular methods of enhancing lumbar spine fusion. **Neurosurgery**, v. 39, p. 548-554, september, 1996.

SHORS, T. J.; MIESEGAES, G.; BEYLIN, A.; I ZHAO, M.; RYDEL, T.; GOULD, E. "Neurogenesis in the adult is involved in the formation of trace memories". **Nature**, v. 410, p. 372-6, 2001.

SMITH, M. S. & BROWNE, J. D. The effect of endothelial cell growth factor on peripheral nerve regeneration. **Otolaryngol. Head Neck Surg.** v. 118(2), p.178-182, 1998.

SONDELL, M.; LUNDBORG, G. KANJE, M. Vascular endothelial growth factor (VEGF) has neurotrophic activity and stimulates axonal outgrowth, enhancing cell survival and Schwann cell proliferation in the peripheral nervous system. **J. Neurosci.** v. 19, p. 5731-5740, 1999.

SONDELL, M.; LUNDBORG, G. KANJE, M. Vascular endothelial growth factor stimulates Schwann cell invasion and neovascularization of acellular nerve grafts. **Brain Research.** v. 846, p. 219-228, 1999.

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.** v.18, p. 671-683, 1989.

SUCHMACHER, M. & GELLER, M. Bioestatística Passo a Passo. Rio de Janeiro: Revinter, p.67, 2005.

SUNDERLAND, S. A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. **Brain.** Vol. 74, p. 491-516, 1951.

SUNDERLAND, S. Nerves and nerves injuries. 2ª Ed. New York, NY. Churchill Livingstone. 1978.

SUNDERLAND, S. The pros and cons of funicular nerve repair. **J. Hand. Surg.** v. 4, p. 201-211, 1979.

SURI, A.; MEHTA, V. S.; SARKAR, C. Microneural anastomosis with fibrin glue: an experimental study. **Neurol. India** vol. 50, p. 23-6, 2002.

TARASIDIS, G.; WATANABE, O.; MACKINON, S. E.; STRASBERG, S. R.; HAUGHEY, B. H.; HUNTER, D. A. End-to-side neurorrhaphy resulting in



limited sensory axonal regeneration in a rat model. **Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.**, Saint Louis, v. 106, p. 506-512, 1997.

TERZIS, J.; FAIBISOFF, B.; WILLIAMS, B. The nerve gap: suture under tension versus graft. **Plastic and Reconstr. Surgery**, v. 56(2), p. 166-70, 1975.

TOS, P.; BATTISTON, M. D.; NICOLINO, S.; RAIMONDO, S.; FORNARO, M.; LEE, J. M.; CHIRILA, M. D.; GEUNA, S.; PERROTEAU, I. Comparison of fresh and predegenerated muscle-vein-combined guides for the repair of rat median nerve. **Microsurgery**. v.27(jan), p. 48-55, 2007.

TUPPER, J. W.; CRICK, J. C.; MATTECK, L. R. Fascicular nerve repairs: a comparative study of epineural and fascicular (perineural) techniques. **Orthopedic Clinics of North America**. v.19(1), p. 57-69, 1988.

UEBEL, C. O.; DA SILVA, J. B.; CANTARELLI, D.; MARTINS, P. The role of platelet plasma growth factors in male pattern baldness surgery. **Plast. Reconstr. Surg.** v.118(6) p.1458-66; discussion 1467 2006.

ÜLKÜR, E.; YÜKSEL, F.; ACIKEL, C.; OKAR, I.; CELIKÖZ, B. Comparison of functional results of nerve graft, vein graft, and vein filled with muscle graft in end-to-side neurorrhaphy. **Microsurgery**, New York, v.23, p.40-48, 2003.

URBANIAK, J. R. Fascicular nerve suture. **Clinical Orthopaedics in Related Research**. v. 163, p. 57-64, 1982.

VALENTINI, R.F.; AEBISCHER, P.; WINN, S.R.; GALLETI, P.M. Collagen- and laminin-containing gels impede peripheral nerve regeneration through semipermeable nerve guidance channels. **Exp. Neurol.**, v. 98, p. 350-6. 1987.

VAUGHAN, D. W. The effects of advancing age on peripheral nerve regeneration. **J. Comp. Neurol.** v. 323, p.219-237, 1992.

VENDRAMIN, F. S.; FRANCO, D.; NOGUEIRA, C. M.; PEREIRA, M. S.; FRANCO, T. R. Plasma rico em plaquetas e fatores de crescimento: Técnica de preparo e utilização em cirurgia plástica. **Rev. Col. Bras. Cir.** v. 33(1), p. 24-28, 2006.

VERDÚ, E.; BUTI, M.; NAVARRO, X. The effect of aging on efferent nerve regeneration in mice. **Brain Res.**, Amsterdam, v.696, p.76-82, 1995.

VIEIRA, S. Introdução à Bioestatística. Rio de Janeiro. 3ª. Ed. Campus, p.196, 1980.

VIEIRA, S. & HOSSNE, W.S. Metodologia Científica para a Área de Saúde. Rio de Janeiro: Campus, p. 27-48, 2002.

VILEGAS-PEREZ, M.P.; VIDAL-SANZ, M.; BRAY, G. M. & AGUAYO, A. J. Influences of peripheral nerve grafts on the survival and regrowth of axotomized retinal ganglion cells in adult rats. **J. Neurosci.** v. 8, p. 265-280, 1988.

VISSER, C. P.; COENE, L. N.; BRAND, R.; Tavy, D.J. The incidence of nerve injury in anterior dislocation of the shoulder and its influence on functional recovery. A prospective clinical and EMG study. **J. Bone Joint Surg. Br.** v. 81(4), p. 679-685, 1999.

VITERBO, F.; TRINDADE, J.C.; HOSHINO, K.; NETO, A.M. Latero-terminal neurorrhaphy without removal of the epineural sheath. Experimental study in rats. **Rev. Paul. Med.**, São Paulo, v.110, p.267-275, 1992.

VITERBO, F.; TRINDADE, J.C.; HOSHINO, K.; NETO, A.M. End-to-side neurorrhaphy with removal of epineural sheath, na experimental study in rats. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v. 94, p. 1038-1047, 1994a.

VITERBO, F.; TRINDADE, J.C.; HOSHINO, K.; NETO, A.M. Two end-to-side neurorrhaphies and nerve graft with removal of the epineural sheath: experimental study in rats. **Br. J. Plast. Surg.** , Edinburgh, v. 47, p. 75-80, 1994b.

VITERBO, F.; FRANCIOSI, L. F.; PALHARES, A. Nerve graftings and end-to-side neurorrhaphies connecting the phrenic-nerve to the brachial-plexus. **Plast. Reconstr. Surg.** Baltimore, v. 96, p. 494-495, 1995

WALKER, J. C.; BRENNER, M. J.; MACKINON, S. E.; WINOGRAD, J. M.; HUNTER, D. A. Effect of peripheral Window Size on Nerve Regeneration, Blood-Nerve Barrier Integrity, and Functional Recovery. **Journal of Neurotrauma**, v. 21, p. 217-227, 2004.

WALLER, A. Experiments on the section of the glossopharyngeal and hypoglossal nerves of frog, and observations of the alteractions produced thereby in the structure of their primitive fibers. **Phil Trans. Roy. Soc. (Lond.)**. v. 140, p. 423-9, 1850.

WALSH, G. Nervous excitement over neurotrophic factors. **Biol. Technology**. v. 13(11), p. 1167-1171, 1995.

WALTON, R.L.; BROWN, R.E.; MATORY, W.E.; BORAH, G.L.; DOLPH, J.L. Autogenous vein graft repair of digital nerve defects in the finger: a retrospective clinical study. **Plast. Reconstr.Surg.** , v.84, p. 944-52, 1989.

WANG, K.K.; COSTAS, P.D.; BRYAN, D.J.; JONES, D.S.; SECKEL, B.R. Inside-out vein graft promotes improved nerve regeneration in rats. **Microsurgery**, v. 14, p. 608-618, 1993.

WANG, K.K.; COSTAS, P.D.; BRYAN, D.J.; EBY, P. L.; SECKEL, B.R. Inside-out vein graft repair compared with nerve grafting for nerve regeneration in rats. **Microsurgery**, v. 16, p. 65-70, 1995.

WANG, Y. L.; WANG, D. Z.; NIE, X.; LEI, D. L.; LIU, Y. P.; ZHANG, Y. J.; SUWA, F. TAMADA, Y.; FANG, Y. R.; JIN, Y. The role of bone morphogenetic protein-2 in vivo in regeneration of peripheral nerves. **Brith. J. Oral MaxilloFac. Surg.** v.45(3), p. 197-202, 2007.

WHITMAN, D. H. & BERRY, R. L. A technique for improving the handling of particulate cancellous bone an marrow grafts using platelet gel. **J. Oral Maxillofac. Surg.** v. 56(10), p. 1217-1218, 1998.

WHITMAN, M. Smads and early developmental signaling by the TGF $\beta$  superfamily. **Genes Dev.** vol. 12, No. 16, pp. 2445-2462, August 15, 1998

WILGIS, E. F. S. Techniques of epidemal and group fascicular repair, In Gelberman R.H. (ed.): Operative nerve repair and reconstruction. Philadelphia, J. B. Lippincott Company, p. 287-293, 1991.

WITHWORTH, I.H.; BROWN, R. A.; DORE, C. J.; ANAND, P.; GREN, C. J.; TERENCEHI, G. Nerve growth factor enhances nerve regeneration thorough fibronectin grafts. **J. Hand. Surg. (Br)**, v. 21(4), p.514-522, 1996.

WILLIAMS, L. R.; LONGO, F. M.; POWELL, H. C.; LUNDBORG, C.; VÁRON. S. Spatial-temporal progress of peripheral nerve regeneration within a silicone chamber: parameters for a bioassay. **J. Comp. Neurol.** v. 218(4), p. 469-470, 1983.

WILSON, E. M. K.; BARBIERI, C. H.; MAZZER, N. Estimulação da cicatrização óssea pelo plasma autógeno rico em plaquetas. Estudo experimental em coelhos. **Acta Ortopédica Brasileira.** v. 14(4),p.208-212, 2006.

WOOLFORD, T. J. & TORIUMI, D. M. Peripheral nerve regeneration in the presence of collagen fibers: Effect of removal of the distal nerve stump. **J. Long. Term. Eff. Med. Implant.** v. 5(1) p.19-26, 1995.

YAMAUCHI, T.; YAJIMA, H.; TAMAI, S.; Neurohistochemical analysis of regeneration in rat peripheral nerve after end-to-side neurorrhaphy. **J. Ortho. Sci.**, Tokyo, v. 6, p. 82-87, 2001.

YUEN, E. C. & MOBLEY. W. C. Therapeutic applications of neurotrophic factors in disorders of motor neurons and peripheral nerves. **Molecular Medicine Today.** v. 1(6), p. 278-286, 1995.

YUKSEL, F.; KARACAOGLU, M. E.; GULER, M. Nerve regeneration through side-to-side neurorrhaphy sites in a rat model: a new concept in peripheral nerve surgery. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v. 104, p. 2092-2099, 1999.

ZHANG, F.; CHEN G, C.; CHIN, B. T.; HO, P.R.; WEIBEL, T. J. LINEAWEAVER, W. C.; BUNCKLE, H. J. Results of termino-lateral neurorrhaphy to original and adjacent nerves. **Microsurgery**, New York, v. 18, p. 276-281, 1998

ZHAO, J.; CHEN, Z.; CHEN, T. Nerve regeneration after terminolateral neurorrhaphy: experimental study in rats. **J. Reconstr. Microsurg.** New York, v. 13, p. 31-37, 1997.

ZECHNER, W.; TANGL, S.; TEPPER, G.; FÜRST, G.; BERNHART, T.; HAAS, R.; MAILATH, G.; WATZEK, G. Influence of Platelet-rich Plasma on Osseous Healing of Dental Implants: A Histologic and Histomorphometric Study in Minipigs. **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants.** v. 18(1), p.15-22, 2003

ZOCHODNE, D. The microenvironment of injured and regenerating peripheral nerves. **Muscle & Nerve**, v. 23 (S9), p. S33–S38, 2000.

## **ANEXOS**

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA  
UNIVERSIDADE DE MARILIA - UNIMAR

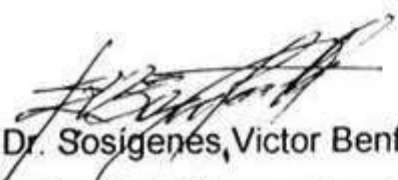
PARECER

O grupo do trabalho indicado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, aprovou o protocolo de pesquisa "**Avaliação entre as técnicas do enxerto venoso ao avesso e o enxerto venoso preenchido com plasma rico em plaquetas em nervo periférico misto de rato seccionado experimentalmente**", do aluno José Sidney Roque, do Programa de Pós-Graduação (nível Doutorado), da Universidade Estadual Paulista UNESP/Botucatu-SP sob orientação do Professor Dr. Fausto Viterbo de Oliveira Neto.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios referentes ao andamento da pesquisa e ao seu término cópia do trabalho desenvolvido.

A pesquisa em laboratório está sendo desenvolvida no Biotério da Universidade de Marília.

Marília, 29 de outubro de 2004.



Prof. Dr. Sosígenes Victor Benfatti

Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa da UNIMAR

Marília, 30 de novembro de 2006.

**DE:** Comitê de Ética em Pesquisa em Humanos e Animais da Universidade de Marília – CEPHA – UNIMAR

**PARA:** Prof. Dr. José Sidney Roque

Prezado Senhor

Vimos comunicar que o projeto de pesquisa de V.S. intitulado **“ENXERTO VENOSO AO AVESSO E NORMAL PREENCHIDOS COM PLASMA RICO EM PLAQUETAS EM NERVO MISTO DE RATO”**, do Curso de Pós-Graduação em Cirurgia, orientado pelo Prof. Dr. Fausto Viterbo, aprovado em 29/10/2004, pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNIMAR, recebeu do Comitê de Ética em Pesquisa em Humanos e Animais - CEPHA - UNIMAR, de acordo com seu artigo 9º, alínea a, parecer:

**APROVADO**

Sendo o que tínhamos a informar, subscrevemo-nos.

Atenciosamente,



Prof. Dr. Wandercy Bergamo  
Presidente do CEPHA-UNIMAR

## LISTA DE ABREVIATURAS

°C= grau centígrado

10X= cem vezes

20X= duzentas vezes

40X= quatrocentas vezes

4X= quarenta vezes

ANOVA= *One-way analysis of variance*

*Apud* = citado por

A $\alpha$ = a alfa

A $\beta$ = a beta

A $\gamma$ = a gama

A $\delta$ = a ômega

BDNF= fator neurotrófico derivado do cérebro

BMP= proteína morfogenética óssea

cm= centímetros

CNTF= fator neurotrófico ciliar

COBEA= Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

Desv.Pad.= desvio padrão

DNA= ácido desoxirribonucléico

EGF= fator de crescimento epidermal

EGF= fator de crescimento epitelial

FGF= fator de crescimento de fibroblastos

FGF $\alpha$ = fator de crescimento de fibroblastos alfa

FGF- $\beta$ = fator de crescimento de fibroblastos beta

G 1= grupo um

G 2= grupo dois

G 3= grupo três

G 4= grupo quatro

G 5= grupo cinco

IFN- $\gamma$ = fator de crescimento homólogo à insulina gama

IL-1= interleucina um



IL-2= interleucina dois

IL-6= interleucina seis

m/seg= metros por segundo

M= molis

mg/kg= miligramas por quilo

mm/dia= milímetro por dia

mm= milímetros

mol/ml= moléculas por mililitro

N= numero de animais

nm= nanômetro

NGF= fator de crescimento nervoso

NT-3= neurotrofina três

NT-4= neurotrofina quatro

NT-5= neurotrofina cinco

P= percentual

PDGF= fator de crescimento derivado das plaquetas

PDGF $\alpha\alpha$ = fator de crescimento derivado das plaquetas alfa dois

PDGF $\alpha\beta$ = fator de crescimento derivado das plaquetas alfa-beta

PDGF $\beta\beta$ = fator de crescimento derivado das plaquetas beta dois

pH= potencial hidrogênio iônico

PRP= plasma rico em plaquetas

REG= retículo endoplasmático granular

RNA<sub>m</sub> = ácido ribonucléico mensageiro

StDev= desvio-padrão

TGF= fator transformador de crescimento

TGF $\beta$ 1= fator transformador de crescimento beta um

TGF $\beta$ 2= fator transformador de crescimento beta dois

VAPRP= veia ao avesso preenchida com plasma rico em plaquetas

VAPRP-Ds= veia ao avesso preenchida com PRP - coto distal

VAPRP-En= veia ao avesso preenchida com PRP - enxerto

VASP= veia ao avesso sem preenchimento

VASP-Ds= veia ao avesso sem preenchimento - coto distal

VASP-En= veia ao avesso sem preenchimento - enxerto

VEGF = fator de crescimento endotelial vascular

VNPRP= veia normal preenchida com plasma rico em plaquetas

VNPRP-Ds= veia normal preenchida com PRP - coto distal

VNPRP-En= veia normal preenchida com PRP - enxerto

VNSP= veia normal sem preenchimento

VNSP-Ds= veia normal sem preenchimento - coto distal

VNSP-En= veia normal sem preenchimento - enxerto

$\mu\text{m}$ = micrômetro

$\mu\text{m}^2$ = micrômetro quadrado

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)