

SUSANA FABÍOLA MUELLER

**Regeneração axonal proveniente de
nervo intacto para nervo parcialmente lesado
utilizando neurorrafia término-lateral –
trabalho experimental no plexo braquial de ratos**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Julio de
Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para
obtenção do título de Doutor em Bases
Gerais da Cirurgia

Orientador: Prof. Dr. Fausto Viterbo

Botucatu

2008

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

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

Mueller, Susana Fabíola.

Regeneração axonal proveniente de nervo intacto para nervo parcialmente lesado utilizando neurografia término-lateral: tratamento experimental no plexo branquial de ratos / Susana Fabíola Mueller. – Botucatu : [s.n.], 2008
Axonal regeneration from a intact nerve to a partially injury nerve using end-to-side neurography – experimental study in rats brachial plexus.

Tese (doutorado) – Faculdade Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2008.

Orientador: Prof. Dr. Fausto Viterbo

Assunto CAPES: 40102009

1. Cirurgia. 2. Rato como animal de laboratório. 3. Regeneração.

CDD 617.96

Palavras-chave: Enxerto autólogo; Nervo sural; Neurografia término-lateral; Plexo branquial; Rato.

Key words: brachial plexus; graft; Sural nerve; end-to-side; rat

Agradecimentos Especiais

Aos meus pais, IVÊNIO e NELSI,

Obrigada por vocês existirem e por serem quem são: mais que apenas pais biológicos.

Obrigada pela dedicação, pela amizade, pelo companheirismo.

Obrigada pela vida e pelo orgulho que é ter nascido de vocês.

Obrigada pelos ensinamentos, pelos sermões, pelos castigos, pelas palmadas e, principalmente pelos exemplos. Eles são valiosíssimos.

Obrigada pelos agrados e principalmente pelos desagradados. Assim, eu pude ver que na vida nem tudo é como a gente quer. Aprendi a ter limites a ser mais "gente".

Obrigada pelas preocupações sei que muitas vezes fui (e ainda sou) causa de inapetência e insônia.

Obrigada pela caminhada, pela luta, pela lida. Aprendi com vocês a ter coragem, a não desanimar, a saborear a vitória.

Obrigada pelas mãos entrelaçadas na minha, doando-me confiança, na certeza de estar indo por caminhos seguros e na certeza de que terei sempre onde amparar caso eu tropece.

Obrigada por tudo que vocês planejaram e fizeram, por tudo que planejaram e não fizeram e pelo o que fizeram sem planejar.

Obrigado pelas renúncias...

Perdão por tudo que fiz, por tudo que não fiz e pelo que pensei em fazer.

Deus abençoe vocês E me abençoe também

Dando-me a alegria de tê-los por muito tempo ainda.

Adoro vocês!

Carla Cavellucci Landi

Ao mestre, Fausto Viterbo pela competente orientação, amizade, compreensão e paciência dispensada na realização deste trabalho.

“Às vezes pedimos coisas para a vida que ela não tem como nos oferecer; Mas às vezes ela nos dá coisas que não sabemos como agradecer...”

(Desconhecido)

Meu carinho e gratidão

Agradecimientos

À Coordenação do programa de Pós-Graduação em Cirurgia, área de Concentração em Bases da Cirurgia - Faculdade de Medicina - UNESP Botucatu-SP, professor Dr. Antônio José Maria Catâneo.

Aos Docentes do programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Medicina de Botucatu.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina de Botucatu, Nathanael Pinheiro Salles, Janete Aparecida Herculano Nunes Silva e, em especial, à Regina Célia Spadín pela atenção, mesmo de longe, dedicação e auxílio em todos os momentos.

À secretária do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia, Simone Barroso Corvino Camargo.

À grande amiga Elisângela Stipp pela disposição, auxílio, orientação sempre incansável quando necessitei.

Aos funcionários do Laboratório de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia e Ortopedia, em especial à Irene Spago e ao Danilinho, pelo auxílio nas cirurgias.

Ao funcionário do Laboratório Experimental de Urologia do Departamento de Urologia da FMB-UNESP, Sr. José Lucas de Carvalho, pelo processamento histológico das amostras e atenção.

Ao estatístico do NUPES - UNISC Renato Michel, pela análise estatística.

Às funcionárias da Clínica Dr. Fausto Viterbo, Jucélia, Rose, Yeda, Cláudia, Giedri pelo carinho, amizade, disposição, valores impagáveis.

Aos amigos do curso de Pós-Graduação, companheiros do dia a dia, pelo estímulo, amizade e horas boas que passamos juntos.

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

À turma das amigas que sempre me apoiaram e entenderam minha ausência em muitos momentos.

Muito Obrigada!

Epigrafe

“Cada pessoa que passa em nossa vida, passa sozinha, é porque cada pessoa é única e nenhuma substitui a outra. Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha, e não nos deixa só, porque deixa um pouco de si e leva um pouquinho de nós. Essa é a mais bela responsabilidade da vida e a prova de que as pessoas não se encontram por acaso.”

Charles Chaplin

Sumário

Resumo	14
Abstract	16
Lista de Figuras	18
Lista de Tabelas	21
1. Introdução	23
1.1 Considerações Gerais.....	24
1.2 Anatomia Nervo Periférico	24
1.3 Lesão do Nervo Periférico.....	26
1.4 Regeneração do Nervo Periférico	30
1.5 Alterações Retrógadas.....	33
1.6 Alterações Anterógradas.....	36
1.7 Fatores Neurotróficos.....	37
1.8 Técnicas de Reparação	42
1.9 Neurorrafia Término-terminal	48
1.10 Neurorrafia Término-lateral	51
1.11 Enxerto de Nervo	62
1.12 Neurotização Muscular Direta	63
1.13 Plexo Braquial	68
1.14 Anatomia do plexo Braquial	69
1.15 Reparações das Lesões do Plexo Braquial	69
1.16 Anatomia do Plexo Braquial do Rato	72
1.17 Considerações Finais.....	74
2. Objetivo	75
3. Método	77
3.1 Animais e grupos experimentais	78
3.2 Procedimentos cirúrgicos.....	79
3.3 Análise Eletrofisiológico	83
3.4 Análise Funcional.....	84
3.5 Processamento para Coleta do Material	85
3.6 Processamento para Microscopia Óptica.....	85
3.7 Análise estatística	88

4. Resultados	89
4.1 Coleta da Amostra	90
4.2 Avaliação da Massa Inicial e Final dos Animais.....	92
4.3 Avaliação da Massa do Músculo Flexor Superficial dos Dedos	93
4.4. Estudo Eletrofisiológico.....	94
4.5. Grasping Test	96
4.6. Morfometria.....	98
4.6.1. Área de Fibra Nervosa.....	98
4.6.2. Número de Fibras	99
4.6.3. Área do Axônio	102
4.6.4. Bainha de Mielina	103
4.6.5. Área da Fibra Muscular.....	107
5. Discussão	111
5.1 Método.....	112
5.2 Resultados.....	122
5.2.1 Massa	123
5.2.2 Estudo Eletrofisiológico.....	124
5.2.3 Grasping Test	124
5.2.4 Morfometria	126
6. Conclusão	129
Referências	131

Resumo

Neste trabalho, propomos um modelo experimental para tratamento de lesões parciais do plexo braquial e estudamos a regeneração axonal em enxertos de nervo suturados com neurorrafia término-lateral entre os troncos do plexo braquial, mais precisamente entre o tronco superior e tronco inferior e entre tronco médio e tronco inferior. Foram utilizados 30 ratos Wistar, adultos, machos, divididos nos grupos Desnervado (GD), Neurorrafia (GN) e Controle (GC). Em um primeiro momento cirúrgico foi retirado um segmento de 1 cm do nervo cutâneo sural caudal direito. Em seguida, realizada a avulsão total das raízes de C8 e T1(tronco inferior). No Grupo Neurorrafia o enxerto de nervo autólogo foi dividido em dois segmentos. Um segmento fixado à face lateral intacta do tronco superior a ao tronco inferior avulsionado, sem janela epineural, e o outro segmento fixado entre a face lateral do tronco médio e tronco inferior. No grupo desnervado, somente foi realizada a avulsão do tronco inferior. O grupo controle não foi submetido a procedimento cirúrgico. Foi realizado o “Grasping Test” e também estudo eletrofisiológico. Amostras dos enxertos e músculo foram coletadas no período de 16 semanas após a cirurgia e processadas para microscopia óptica. As imagens capturadas dos cortes semifinos foram utilizadas para as análises quantitativas dos axônios regenerados. A observação histológica confirmou a presença de axônios mielínicos nos enxertos e tronco inferior de ambos os grupos. A análise estatística foi realizada com a Análise de Variância (ANOVA), seguida pelo Teste de Tukey, quando detectada diferença estatística. No pós-operatório tardio, o “Grasping Test” mostrou diferenças estatisticamente significante entre os grupos, sendo $GN > GD$ ($p < 0,001$); $GC > GD$ ($p < 0,001$); $GN < GC$ ($p < 0,001$). No estudo eletrofisiológico, mostrou diferenças estatisticamente significantes na amplitude, sendo ($GN > GD$ ($p = 0,004$); $GC > GD$ ($p < 0,001$); $GN < GC$ ($p < 0,001$)). Quanto à área da fibra nervosa, a área do axônio e a espessura da bainha de mielina, houve significância, sendo $GN < GC$; $GD < GC$; $GN = GD$ ($p < 0,001$). Em relação à área da fibra muscular do flexor superficial dos dedos, a diferença estatística foi $GD < GN$ ($p < 0,001$); $GN < GC$ ($p < 0,001$); $GD < GC$ ($p < 0,01$). Com o modelo experimental utilizado, concluiu-se que os troncos não lesados suprimam os enxertos de nervo em ponte proporcionando a reinervação do tronco inferior no rato.

Palavras-chave: Plexo Braquial; Enxerto Autólogo; Neurorrafia término-lateral; Rato; Nervo sural

Abstract

In this work, we propose an experimental model for treatment of partially brachial plexus injury and studied the regeneration of axons in nerve grafts sutured with end-to-side neurorrhaphy between the trunks of brachial plexus, more precisely between the upper and lower trunk and middle and lower trunk. We used 30 adult, male rats, divided into groups denervated (DG), neurorrhaphy (GN) and control (CG). At first it was surgically removed a segment of 1 cm of the right sural nerve. After performing the total avulsion of the roots C8 and T1 (lower trunk). In NG the graft was divided into two segments. A segment attached to the side of intact upper trunk to the lower trunk avulsed without epineural window, and another segment set between the side of the middle trunk and lower trunk. In DG, was held to only avulsion of the lower trunk. The CG was not undergo a surgical procedure. It was carried out "Grasping Test" and also electrophysiological study. Samples of the grafts and muscle were collected in the period of 16 weeks after surgery and processed for light microscopy. Captured images of the thin cuts were used for quantitative analyses of regenerated axons. The observation confirmed the presence of histological myelin axons in grafts and lower trunk of both groups. The statistical analysis was performed with the analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey test, when detected statistical difference. In the late postoperative period, "Grasping Test" showed statistically significant differences between groups, and NG > GD ($p < 0.0001$); GC > GD ($p < 0.0001$); NG < GC ($p < 0.0001$). In electrophysiological study, showed statistically significant differences in scale, and (GN > GD ($p = 0.004$); GC > GD ($p < 0.0001$); NG < GC ($p < 0.0001$)). As the field of nerve fiber, the area of axons and thickness of the myelin sheath, there was significance, and NG < GC; GD < GC; NG GD = ($p < 0.0001$). Regarding the area of the flexor muscle fiber surface of the fingers, the statistical difference was GD < NG ($p < 0.0001$); NG < GC ($p < 0.0001$); ST < GC ($p < 0.01$). With the experimental model used, it was concluded that the intact trunk can give axons through the grafts bridges to a partially injured trunk.

Keywords: Brachial Plexus; Autologous Graft; End-to-side neurorrhaphy; Rat; Sural nerve.

Lista de Figuras

Figura 1 –	Visualização do plexo braquial do rato com suas raízes C5, C6, C7, C8 e T1, troncos superior (TS), médio (TM) e inferior (TI)	73
Figura 2 –	Visualização do plexo braquial do rato com suas cordas lateral (CL), medial (CM) e posterior (CP) e ramificações terminais, nervos musculocutâneo, axilar, radial, mediano e ulnar.....	73
Figura 3 –	Cirurgia para exposição e remoção do segmento de enxerto do nervo cutâneo sural caudal (S), evidenciando também o nervo tibial (T) e fibular comum (F) na coxa.....	81
Figura 4 –	Segmento de 1 cm do nervo cutâneo sural caudal (S).....	81
Figura 5 –	Visualização do plexo braquial e seus troncos superior (TS), médio (TM) e inferior (TI), após a divulsão dos músculos peitoral e deltóide	82
Figura 6 –	Visualização do coto do tronco inferior (TI) após a avulsão da medula espinhal com pinça halsted	82
Figura 7 –	Imagem do grupo neurorafia (GN) evidenciando as duas pontes de enxerto do tronco superior (TS) e do tronco médio (TM) para tronco inferior (TI) com sutura término-lateral.....	83
Figura 8 –	Visualização da realização do Grasping test	84
Figura 9 –	Peça anatômica identificando o local dos cortes semifinos denominados de N1, N2 e N3.....	87
Figura 10 -	Imagem do grupo neurorafia (GN) no pós-operatório, evidenciando a integração das duas pontes de enxerto do tronco superior (TS) e do tronco médio (TM) para tronco inferior (TI) com sutura término-lateral e a diferença de diâmetro entre as pontes e o tronco inferior.....	91
Figura 11 –	Fotomicrografia da secção transversal do tronco inferior (N1) do grupo desnervado (40x).....	105

Figura 12 – Fotomicrografia da secção transversal do tronco inferior (N1) do grupo neurografia (40x).....	105
Figura 13 – Fotomicrografia da secção transversal do tronco inferior (N1) do grupo controle (40x).....	106
Figura 14 – Fotomicrografia da secção transversal do enxerto interposto entre o tronco superior e o tronco inferior (N2)(40x).....	106
Figura 15 – Fotomicrografia da secção transversal do enxerto inerposto entre o tronco médio e o tronco inferior (N3) (40x).....	107
Figura 16 – Fotomicrografia das fibras do músculo flexor superficial dos dedos do grupo desnervado (20x).....	109
Figura 17 – Fotomicrografia das fibras do músculo flexor superficial dos dedos do grupo neurografia (20x).....	109
Figura 18 – Fotomicrografia das fibras do músculo flexor superficial dos do grupo controle (20x).....	110

Lista de Tabelas

Tabela 1	Atributos referentes à massa inicial e final dos ratos em gramas.....	92
Tabela 2 –	Massa do músculo flexor superficial dos dedos (MFSD) em gramas. Média e desvio-padrão dos grupos.....	93
Tabela 3 –	Média e desvio padrão da latência e da amplitude.....	95
Tabela 4 -	Comparação entre os grupos e a significância em negrito da amplitude.....	96
Tabela 5 –	Média e desvio padrão do “Grasping test”, em gramas, no pré operatório, pós imediato e tardio.....	97
Tabela 6 -	Comparação entre os grupos com a significância em negrito do “Grasping test” tardio.....	97
Tabela 7-	Área da fibra nervosa em micrômetro quadrado.....	99
Tabela 8 -	Comparação entre os grupos com a significância em negrito, da área das fibras nervosas.....	99
Tabela 9-	Número de fibras nervosas.....	100
Tabela 10 -	Comparação dos grupos com significância em negrito, do número de fibras nervosas no tronco inferior (N1).....	101
Tabela 11 –	Média e desvio padrão do número de fibras nervosas nos enxertos do tronco superior para tronco inferior (N2) e do tronco médio para tronco inferior (N3).....	101
Tabela 12 –	Área dos axônios em micrômetro quadrado.....	102
Tabela 13 –	Comparação dos grupos com significância em negrito, da área do axônio.....	103
Tabela 14 –	Espessura da bainha de mielina em micrômetros.....	104
Tabela 15 –	Comparativo dos grupos com a significância em negrito, da espessura bainha de mielina.....	104
Tabela 16 –	Área das fibras do músculo flexor dos dedos em micrômetro quadrado.....	108
Tabela 17 –	Comparação dos grupos e significância em negrito, da área das fibras do músculo flexor superficial dos dedos.....	108

1. Introdução

1.1 Considerações Gerais

É datada do século 4 a. C. a primeira descrição escrita do sistema nervoso periférico, realizada por Hipócrates, porém em seus ensinamentos, a regeneração dos nervos periféricos não existia. Já a identificação dos nervos, distinguindo-os dos tendões, foi realizada mais tarde por Herófilo, que também investigou os nervos da medula espinhal. Através dos séculos subseqüentes, vários trabalhos foram escritos sobre o sistema nervoso periférico (SNP), mas sem a compreensão suficiente de sua anatomia, fisiologia e da capacidade regenerativa (Thanos et al., 1998).

Há mais de cem anos já existiam relatos sobre trabalhos experimentais na área de regeneração nervosa, visando uma recuperação funcional (Dellon & Dellon, 1993). Ainda hoje, as linhas de pesquisa de regeneração nervosa, perseguem o objetivo máximo, que é a melhora clínica funcional de uma lesão do nervo (Goheen-Robillard et al., 2002; Menderes et al., 2002).

Agregando novos conhecimentos e modernas tecnologias nas áreas de genética, morfologia e molecular, tem sido possível uma aplicação clínica mais segura e eficiente das diferentes técnicas de reparo nervoso (Fu & Gordon, 1997; Myckatyn et al., 2004).

1.2 Anatomia do Nervo Periférico

Nos nervos, além dos axônios, temos outras estruturas diferentes que são coadjuvantes na nutrição, proteção e preservação da continuidade de seus elementos básicos funcionais (Da-Silva, 1995a e 1995b).

A agregação das fibras nervosas é realizada por meio de tecido conjuntivo, que é constituído de fibras colágenas e algumas fibras elásticas (Hollinshead & Rose, 1991).

Cada fibra nervosa (axônio) é envolta por uma delicada camada de tecido conjuntivo, denominada endoneuro, que apresenta nodos espessados, chamados nodos de Ranvier (Erhart, 1965), onde encontramos fibras colágenas tipo III (Da-Silva, 1995b). No endoneuro ainda encontramos fibroblastos, destituídos de membrana basal, células de Schwann, mastócitos e células endoteliais da rede capilar endoneural (Montes et al., 1984 e Da-Silva, 1995a).

Ao redor dos fascículos, que são conjuntos de fibras nervosas, há um envoltório denominado de perineuro, também formado de tecido conjuntivo e fibroblastos dispostos em lamelas concêntricas que tem por função formar barreira às substâncias difusíveis, preservando o microambiente endoneural, e como barreira mecânica às lesões externas. entre as camadas celulares foram observadas fibras colágenas dos tipos I e III (Peters et al. 1976; Montes et al. 1984)

O nervo pode ser formado por um ou vários fascículos, todos envolto por uma bainha, o epineuro. As três camadas, endoneuro, perineuro e epineuro, são unidas entre si por meio de trabéculas conjuntivas, que também se unem aos tecidos vizinhos. No epineuro, encontramos fibroblastos organizados em camadas concêntricas e separados por fibras colágenas dispostas longitudinalmente, o que reforça a estrutura do epineuro. As células epineurais apresentam perfil fusiforme e não apresentam lâmina basal. O epineuro é uma camada ricamente vascularizada e juntamente com o endoneuro são responsáveis pela continuidade das fibras nervosas, apresentando a função de proteção neural às lesões externas.

Alguns axônios podem estar recobertos por uma bainha lipídica, denominada bainha de mielina, sendo assim classificadas como fibras nervosas mielínicas e amielínicas. Na maioria dos nervos, as fibras nervosas têm diâmetro maior que 2 μm e possuem a bainha de mielina, característica que não se aplica às fibras com menos de 1 μm , nas quais não se encontra essa bainha lipídica (Erhart, 1965; Brodal, 1984; Knoplich, 1986; D'Angelo & Fattini, 1988; Gardner et al., 1988; Galhardo, 1989; Carpenter 1991; Hollinshead & Rose, 1991; Erhart, 1992; Moore, 1992; Machado, 1993; Umphered, 1994; Burt, 1995; Gray, 1995; Da-Silva, 1995a; Latarjet & Ruiz Liard, 1996; Zigmond et al., 1999).

Nos axônios mielínicos, existem células ao longo do seu eixo, denominadas de células de Schwann. Estas células são as responsáveis pela formação da bainha de mielina e cada axônio está relacionado com uma célula de Schwann. Diferentemente, nos axônios amielínicos, as células de Schwann se relacionam com um grupo variável de 5 a 25 axônios, e não há formação da bainha de mielina (Landon & Hall, 1976 e Peters et al., 1976).

1.3 Lesão do Nervo Periférico

As lesões traumáticas dos nervos periféricos são de grande importância clínica em vista de sua freqüente ocorrência e das graves seqüelas que podem advir, principalmente na face e no membro superior (Ferreira et al., 1974), o que clinicamente apresentam-se como paralisia, anestesia (Bunnell, 1927) e alterações autonômicas (Ferreira, 1999).

Todo nervo possui um limite de distensibilidade sem sofrer danos, porém quando ocorre esta lesão, a conseqüência é a perda ou diminuição da sensibilidade e/ou motricidade no território inervado pelo nervo lesado (Weinstein & Herring, 1992).

Segundo Asbury & Johnson (1978), as classificações para as lesões dos nervos periféricos têm diferentes terminologias conforme as proposições de seus autores: Haymaker & Woodhall (1953), Sunderland (1968) e Seddon (1943).

Na classificação de Seddon (1943), as lesões dos nervos periféricos são divididas em três graus, neuropraxia, axoniotmese e neurotmese.

Na neuropraxia ou lesão leve, a condução do impulso nervoso é bloqueada por uma lesão exclusivamente na bainha de mielina do nervo (Ferreira, 1999). Como não existe comprometimento dos axônios, as chances de recuperação funcional neste tipo de lesão são altas (Lundborg, 1987 e Dimeglio, 1990). De acordo com O'Sullivan & Schmitz (1993) trata-se de bloqueio local, interrompendo ou retardando a condução através de um ponto específico, sendo normal a condução acima e abaixo da lesão. Nos testes de velocidade de condução nervosa, pode-se

detectar desmielinização antes da degeneração axonal, que pode ocorrer nos casos de compressão prolongada. Clinicamente pode haver paralisia motora completa na região do nervo atingido, com perda de sensibilidade ou não. A recuperação é, todavia, espontânea, variando de dias a semanas (Watson-Jones, 1976).

Na axoniotmese, o impulso nervoso é bloqueado de forma acentuada por secção do nervo. O tempo de recuperação neste tipo de lesão é maior quando comparado a neuropraxia, porém a recuperação funcional ainda existe (Lundborg, 1987 e Dimeglio, 1990). Segundo O'Sullivan & Schmitz (1993) o tubo neural está intacto, porém o axônio está lesado, podendo ser um distúrbio causado por uma neuropraxia prolongada ou por uma lesão traumática. A velocidade de condução nervosa dependerá do número de axônios afetados. Se as fibras mais calibradas estiverem intactas, a velocidade de condução poderá estar normal (Eyzaguirre & Fidone, 1977). Este é o tipo mais comum de lesão traumática de nervo associada a fraturas (Watson- Jones, 1976).

A neurotmese é o grau de lesão mais grave, onde se observa transecção total do nervo, levando à interrupção da transmissão do impulso nervoso. A probabilidade de recuperação funcional é muito pequena (Lundborg, 1987 e Dimeglio, 1990). Como ocorreu ruptura do tubo neural, a condução não passará para o segmento distal à lesão. Neste caso, não é possível realizar teste de velocidade de condução, pois não pode ser promovida resposta evocada (O'sullivan & Schmitz, 1993). A recuperação neste tipo de lesão não ocorre espontaneamente, sendo necessária a reconstituição cirúrgica. Como a perfeita continuidade dos feixes nervosos correspondentes nunca é conseguida, observa-se recuperação limitada (Watson-Jones, 1976).

Sunderland (1951) incluiu à classificação de Seddon (1943) mais duas classes de lesões entre a axoniotomia e a neurotomia. De acordo com Sunderland (1951), na lesão do tipo I, chamada de neuropraxia por Seddon (1943), observa-se prejuízo localizado na bainha de mielina. Como a continuidade dos axônios está preservada, a recuperação ocorre em semanas ou meses.

Na lesão do tipo II, chamada de axoniotmese por Seddon (1943), pode-se observar o endoneuro preservado; nas lesões do tipo III, o perineuro preservado e nas do tipo IV, o único envoltório preservado é o epineuro. Nestes três tipos de lesões ocorre a degeneração dos axônios.

A lesão do tipo V, chamada de neurotmese por Seddon (1943), é a mais grave devido à perda de continuidade do nervo, tornando-se necessária intervenção cirúrgica (Sunderland, 1951).

Na comparação das classificações de Seddon e Sunderland, realizada por Lundborg (1987), temos que, nas lesões tipo neuropraxia ou tipo I, pode haver uma compressão local induzindo ao bloqueio reversível da condução metabólica, porém com preservação da continuidade e excitabilidade dos axônios. Na axonotmese ou lesão tipo II, devido uma compressão mais intensa, resulta na perda da continuidade axonal ao nível da lesão, mas com preservação do tubo endoneural. A neurotmese ou lesões tipos III, IV e V de Sunderland (onde ocorreu o envolvimento de endo, peri e epineuro, respectivamente) incluem a transecção com perda de continuidade de alguns ou todos os elementos das fibras nervosas, requerendo reparo cirúrgico.

Houve a sugestão de Mackinnon (1989) quanto a uma lesão tipo VI onde se combinariam vários destes padrões de lesão acima.

Segundo Ide et al. (1983) a preservação tanto das membranas quanto do perineuro, após uma lesão, é fundamental para a regeneração axonal, pois estes atuam como tubos orientando os neuritos em crescimento. DeMedinacelli & Merle (1991) afirmam que, se a continuidade física entre os cotos persiste, como ocorre nas lesões por esmagamento, a probabilidade dos novos axônios crescerem através do local da lesão, e dentro das bandas de Bungner ou tubos endoneurais é grande (Fawcett & Keynes, 1990).

A regeneração de um nervo lesado depende de vários fatores, como o tipo de neurônio (Brown, 1972 e Fu & Gordon, 1997), tipo de lesão (Seddon, 1943; Onne, 1962; Almqvist & Eeg-Olofsson, 1970; Sunderland, 1978; Almqvist et al., 1983; Ide et al., 1983; Schaumberg, 1983), o tamanho do “gap” (Hems & Glasby, 1992; Watchmaker & Mackinnon, 1997; Hall, 1997) a idade do paciente (Bunnell,

1927; Onne, 1962; Almquist & Eeg-Olafsson, 1970; Lundborg, 1987; Fawcett, 1992; Bharalli & Lisney, 1990; Vaughan 1992), a tensão aplicada ao nervo reparado (Ferreira et al., 1974; Terzis et al., 1975; Sunderland, 1978; Mackinnon, 1989; Watchmaker & Mackinnon, 1997) e da técnica adotada (Mackinnon, 1989; Watchmaker & Mackinnon, 1997; Vicente et al., 1998a; 1998b; 1999; 2000).

Em uma lesão do tipo neurotmesa onde houve perda tecidual, com intervalos intersegmentares longos ('gap'), ou seja, entre os cotos proximal e distal ou mesmo a ausência de estruturas residuais do epineuro ou bainha de mielina guiando o axônio em regeneração, ocorre como consequência falha na reinervação do tecido-alvo, por não direcionamento das fibras em crescimento, levando à formação de um neuroma. Este último é formado pelo conjunto de fibras nervosas em regeneração - os neuritos - e tecido conjuntivo, refletindo a permanência de resíduos de degradação nervosa e um crescimento axonal desorganizado (Lundborg, 1987).

A probabilidade de axônios crescerem com sucesso através do espaço intersegmentar ('gap') é inversamente proporcional a distância dos cotos proximal e distal (Hall, 1997).

Em uma lesão de nervo periférico, seja por esmagamento ou secção, ocorrem mudanças celulares (Thomas & King, 1974 e Ide, 1982) e moleculares em todo nervo, desde as células localizadas centralmente (Bunnell & Boyes, 1939; McCallister & Calder, 1995; Fu & Gordon, 1997; Ferreira, 1999) até as periféricas (Ferreira, 1999). Uma série de reações celulares coletivamente denominadas de degeneração "Waleriana", que dura aproximadamente duas semanas (Bunnell & Boyes, 1939), acontece tanto no coto proximal como no coto distal (Stoll et al., 1989; DeMedinaceli & Merle, 1991; Ferreira, 1999) sendo uma maneira de estabelecer um meio adequado à regeneração dos axônios (Fu & Gordon, 1997).

1.4 Regeneração do Nervo Periférico

No Sistema Nervoso Periférico as células da neuroglia e as células não neuronais, não possuem capacidade proliferativa, enquanto os neurônios são altamente especializados. O sistema nervoso periférico, por suas características citológicas e fisiológicas, apresenta capacidade de regeneração maior que a do sistema nervoso central (Frostick et al., 1998).

Imediatamente após uma lesão os axônios apresentam intensa força de crescimento, o que não ocorre em uma degeneração avançada, onde as estruturas endoneurais são incapazes de responder (Röyttä & Salonen, 1988).

É imprescindível a sobrevivência do neurônio, para que haja a regeneração nervosa e isso é dependente de três fatores: o tipo de neurônio, a idade do paciente e a distância da lesão ao pericário. As células não neuronais próximas ao corpo do neurônio e do local da lesão axonal secretam e liberam substâncias denominadas fatores neurotróficos, que concorrem para a sobrevivência do neurônio após a lesão (Brown, 1972; Asbury & Johnson, 1978; Bharali & Lisney, 1990; Liuzzi & Tedeschi, 1991; Korsching, 1993; Da-Silva, 1995a; Fu & Gordon, 1997; Frostick et al., 1998).

Na escala de morte neuronal, os neurônios motores espinhais são os mais resistentes em comparação aos neurônios espinhais sensitivos e cranianos (Brown, 1972; Asbury & Johnson, 1978; Fu & Gordon, 1997). Nas lesões em adultos, a morte dos neurônios sensitivos é menor em relação a animais neonatos e jovem (Liuzzi & Tedeschi, 1991; Fawcett, 1992; Vaughan, 1992; Blottner & Baumgarten, 1994; Fu & Gordon, 1997; Watchmaker & Mackinnon, 1997). Existe com o avançar da idade um pequeno decréscimo na velocidade de regeneração bem como no brotamento axonal (Lundborg, 1987; Fawcett, 1992; Vaughan, 1992; Midroni et al., 1995; Verdú et al., 1995). Este fato é evidenciado clinicamente, demonstrando uma resposta bem mais satisfatória ao reparo nervoso em pacientes mais jovens (Brown, 1972; Asbury & Johnson, 1978; Watchmaker & Mackinnon, 1997).

Por sua vez, Bharalli & Lisney (1990), através de estudos eletrofisiológicos, verificaram a influência da idade no sucesso da regeneração nervosa periférica em ratos. Concluíram que animais mais novos e adultos jovens apresentaram melhor recuperação funcional quando comparados com os idosos, não por causa de um processo regenerativo mais eficiente, mas presumivelmente pela maior capacidade do seu sistema nervoso central de se adaptar a novas situações. Também Verdú et al. (1995) confirmaram esses dados em estudo experimental, no qual compararam a influência do envelhecimento na regeneração de fibras nervosas eferentes após esmagamento, secção do nervo e reparo término-terminal e secção sem reparo. Constataram que, após lesões de nervos periféricos, a regeneração axonal e a reinervação são mantidas durante a vida toda, mas com a tendência de ser mais demoradas e levemente menos eficazes com o envelhecimento.

Outro fator que tem efeito sobre o nervo periférico é a subnutrição. Esta afeta proporcionalmente o calibre e os microtúbulos dos axônios nos animais em desenvolvimento e adultos. A anatomia do axônio está em equilíbrio dinâmico e os microtúbulos participam na especificação do calibre axonal (Faúndez et al., 1990).

O neurônio, após qualquer tipo de lesão, sofre mudanças morfológicas, metabólicas, fisiológicas e genéticas, refletindo o esforço dessa célula nervosa para iniciar uma resposta efetiva que sustente o processo regenerativo (Ribaric et al., 1991; Fawcett, 1992; Frisén, 1997; Fu & Gordon, 1997; Frostick et al., 1998; Thanos et al., 1998).

Em uma lesão, as extremidades seccionadas de um neurônio se retraem por vários milímetros, enquanto que o axônio transeccionado apresenta vazamento do material axoplasmático imediatamente após a lesão. Após alguns minutos, o axoplasma é isolado do material extracelular que o envolve, pela fusão da membrana axônica na superfície do corte. O fluxo axoplasmático, nas duas direções, persiste por algum tempo e, devido a isso, cada extremidade seccionada começa a edemaciar. Macrófagos migram para a área traumatizada, aonde vão fagocitar os restos de tecido traumatizado (Burt, 1995).

Experimentos têm demonstrado que a regeneração somente se inicia com a perda do contato do corpo com o axônio e subsequente decréscimo dos fatores derivados do tecido alvo, que alcançam o corpo celular através do transporte retrógrado (Andrews, 1996; Ide, 1996; Frisén, 1997).

Kanje (1991) sugeriu que no sítio da lesão são produzidas proteínas “disparadoras” que são transportadas retrogradamente para o corpo celular, onde, através de um processo desconhecido, iniciam o processo regenerativo.

Kanje (1992) trabalhando com preparações de nervo vago com gânglio nodoso em cultura (*in vitro*) confirmou por meio de radiomarcadores protéicos, sua hipótese, sobre “disparador” da reação do corpo celular, constatando que esta reação é realmente iniciada por proteínas, então chamadas ‘regenerinas’, sintetizadas no local do nervo lesado por células não necessariamente neuronais.

Um único axônio pode dar de 50 a 100 brotos. Embora em média cinco axônios ‘filhos’ comecem a regenerar, alongando-se no coto distal até estabelecerem contato com o alvo, apenas um não é absorvido. O diâmetro dos axônios em regeneração aumenta progressivamente, mas não alcançam o tamanho normal, a menos que estabeleçam conexões funcionais (Fu & Gordon, 1997).

Os axônios, uma vez regenerados, devem reencontrar e reinervar seu órgão-alvo originário, que em contrapartida tem de estar apto a aceitar esta reinervação e se recuperar da atrofia proveniente da desnervação (Boyd & Davey, 1968; Liuzzi & Tedeschi, 1991; Fu & Gordon, 1997).

Röyttä & Salonen (1988) confirmaram que após uma secção nervosa, o endoneuro é ativamente remodelado durante os processos de regeneração e degeneração. Essas mudanças parecem ser influenciadas pelo crescimento axonal. Se a regeneração axonal falha, mudanças endoneurais irreversíveis acontecem. O nervo periférico pode ter um limitado e estereotipado meio para responder a diferentes processos patológicos, nos quais células endoneurais, bem como colunas de células de Schwann, têm um importante papel.

Na lâmina basal dos nervos está presente colágeno do tipo IV, laminina, proteoglicanas e fibronectina. Durante a regeneração axonal, algumas destas moléculas, geralmente a laminina e a fibronectina, promovem o alongamento axonal *in vitro* (Wang et al., 1992a e 1992b). Num contexto biológico, as moléculas de laminina cultivadas *in vitro* têm mostrado afetar diversos fenômenos, como o de divisão, difusão, migração celular e a manutenção de fenótipos diferenciados (Timpl & Brown, 1994).

1.5 Alterações Retrógradas

Quando um nervo é lesado, observa-se um conjunto de alterações no corpo celular. Uma dessas alterações, chamada de cromatólise, é caracterizada pela fragmentação em pequenos grumos dos corpúsculos de Nissl e pelo intumescimento do soma (Junqueira & Carneiro, 1999). Segundo Torvik (1976), a cromatólise é a desintegração da substância de Nissl, causada por dispersão dos ribossomas e retículo endoplasmático rugoso pelo citoplasma e pelo aumento da basofilia. Em alguns casos, o significado funcional dessas alterações é obscuro, mas, geralmente, acredita-se que elas representem eventos moleculares ligados à síntese protéica (Fawcett & Keynes, 1990), aumento da síntese das subunidades das proteínas do citoesqueleto (tubulina e actina) para a formação de microtúbulos e microfilamentos necessários ao crescimento do axônio, às funções do cone de crescimento (Lundborg, 1987; Frisén, 1997; Fu & Gordon, 1997; Watchmaker & Macckinnon, 1997), e ao transporte axoplasmático (Fawcett & Keynes, 1990).

Observa-se também diminuição das proteínas do neurofilamento (no estágio inicial do processo), necessária ao aumento do diâmetro axonal, mas não ao alongamento do axônio; declínio da síntese de enzimas e receptores relacionados com a neurotransmissão; aumento da síntese de proteínas associadas ao crescimento axonal; excentricidade nuclear; e aumento dos volumes do nucléolo e da célula (Lundborg, 1987; Liuzzi & Tedeschi, 1991; Kanje, 1992; Da-Silva, 1995; Kreutzberg, 1996; Frisén, 1997; Fu & Gordon, 1997; Watchmaker & Mackinnon, 1997).

Os axônios do coto proximal se degeneram até o primeiro nodo de Ranvier proximal à lesão, mas em seguida crescem e formam brotos que progridem e penetram nessas colunas, que passam a funcionar como guia para os axônios em regeneração (Da-Silva, 1995).

Já as fibras nervosas mielínicas, após a secção, revelam extensas mudanças, incluindo desorganização de neurofilamentos, interrupção de mitocôndrias e do retículo endoplasmático liso. Subseqüentemente, vesículas redondas e tubulares preenchem a área da extremidade do coto. Membranas aparecem, dividindo o axoplasma em compartimentos de tamanhos variados, que são gradualmente degradados (Miki et al., 1992).

De acordo com Fu & Gordon (1997), as alterações observadas são indicadoras das mudanças fenotípicas, onde o neurônio lesado deixa a função de transmitir impulsos e passa a desenvolver a função de crescimento, ocorrendo à indução da expressão de GAP-43, CPGR, actina e tubulina T α e II α , bem como a repressão desses após reinervação do alvo (Fawcett, 1992; Kreutzberg, 1996)

Dependendo da distância da lesão em relação ao corpo celular, este pode reagir de forma variada, atingindo seu auge na segunda ou terceira semana pós-trauma (Lundborg, 1987).

Segundo Ferreira (1999), a regeneração da fibra nervosa decorre do crescimento do axônio, que implica aumento das atividades de biossíntese do corpo celular. A extremidade distal do axônio emite, por brotamento, numerosas expansões filiformes (cones de crescimento). Estes brotos axonais são prolongamentos protoplasmáticos que se originam no coto proximal dos axônios e atravessam o segmento lesado.

Cada axônio mielínico ou grupo de axônios amielínicos com suas células de Schwann estão envoltos por um tubo de lâmina basal, que os separam do tecido conjuntivo endoneural (Ide, 1983; Ide et al., 1983; Lundborg, 1987; Ide & Kato, 1990; Liuzzi & Tedeschi, 1991; Da-Silva, 1995; Ide, 1996; Fu & Gordon, 1997; Thanos et al., 1998).

A estrutura de lâmina basal das células de Schwann serve como condutos eficazes para o alongamento, a manutenção e a maturação dos axônios em regeneração (Ide, 1983; Fu & Gordon, 1997; Thanos et al., 1998).

Em experimentos realizados com enxertos de segmentos nervosos pré-degenerados e tratados em seqüência por congelação-descongelação (Ide, 1983; Ide et al., 1983), e apenas congelados ou tratados por congelação *in situ* (Ide & Kato, 1990), constatou-se que a lâmina basal das células de Schwann serve como guia para os axônios em regeneração tanto quanto as bandas de Büngner.

A lâmina basal das células de Schwann e o endoneuro são formados por várias moléculas que promovem o crescimento dos neuritos, que incluem a laminina, o colágeno tipo IV, as proteoglicanas de sulfato de heparana e a fibronectina (Bunge, 1987; Fu & Gordon, 1997). Foi constatado que em cultura tecidual,

fibronectina e laminina provêm extensão dos neuritos, servindo como excelente substrato para a migração das células de Schwann dos cotos proximal e distal (Ide et al., 1983; Barnes, 1985; Liuzzi & Tedeschi, 1991; Albert et al., 1997; Thanos et al., 1998).

Estudo de cultura de tecido com populações de neurônios e células de Schwann, separadamente e em combinação, indicou que um componente da superfície do axônio fornece um sinal mitogênico para as células de Schwann, necessitando do contato célula-célula. Análises bioquímicas, ultraestruturais e imunocitoquímicas mostraram que as células de Schwann em contato com axônios estão aptas para gerar uma lâmina basal e colágeno fibroso, favorecendo a regeneração da fibra nervosa (Bunge, 1987).

A proliferação dessas células nas fibras amielínicas atinge seu pico no segundo dia após a lesão e um dia mais cedo que nas fibras mielínicas (Fu & Gordon, 1997).

Segundo Stoll et al. (1989), os macrófagos começaram a penetrar no nervo seccionado a partir do segundo dia, através de vasos sangüíneos, migraram para as fibras nervosas em degeneração, aderindo-se a elas. Em seguida, penetraram a lâmina basal da célula de Schwann para ocupar uma posição intratubo e realizar a fagocitose da mielina. Os dados experimentais mostraram que ambos, célula de Schwann e macrófago, têm papel importante na degradação e remoção da mielina durante a degeneração walleriana.

De fato, experimentos têm comprovado que a regeneração é iniciada pela perda do contato do pericário com o axônio e subsequente decréscimo dos fatores derivados do tecido alvo, que alcançam o corpo celular por transporte retrógrado (Rotshenker et al., 1990; Liuzzi & Tedeschi, 1991; Andrews, 1996; Ide, 1996; Frisén, 1997).

1.6 Alterações Anterógradas

Imediatamente após a lesão, inicia-se no coto distal do nervo lesado um processo autolítico caracterizado pela tumefação e lise mitocondrial, desintegração dos microtúbulos e neurofilamentos, intumescimento axoplasmático, resultando, finalmente, em fragmentação do axônio (Schlaepfer & Micko, 1978). As terminações axônicas se intumescem, os neurofilamentos aumentam em número e as mitocôndrias se rompem. A área de contato sináptica é invadida por células de Schwann. De acordo com Ferreira (1999), 48 horas após a lesão, alterações do axoplasma levam a retração e posterior fragmentação do axônio. A mielina começa a fragmentar-se no dia seguinte à lesão, retraíndo-se a partir dos nódulos de Ranvier. Durante as duas ou três semanas após a lesão, todos os axônios e bainha de mielina do coto distal se desintegram e os restos são geralmente removidos, predominantemente por macrófagos e pelas células de Schwann que desenvolvem atividade fagocitária (Bunnell & Boyes, 1939; O'daly & Imaeda, 1967; Williams & Hall, 1971; Beuche & Fride, 1986; Pellegrino et al., 1986; Bigbee et al., 1987; Lundborg, 1987; Stoll et al., 1989; Fawcett & Keynes, 1990; Madison & Archibald, 1994; Reichert et al., 1994; Fernandez-Valle et al., 1995; Perry et al., 1995; Son & Thompson, 1995; Ide, 1996; Albert et al., 1997; Frisén, 1997; Fu & Gordon, 1997; Watchmaker & Mackinnon, 1997; Ferreira 1999).

Estudos imunocitoquímicos revelaram a infiltração de macrófagos em nervos que foram transeccionados (Beuche & Friende, 1986; Stoll & Mueller, 1986; Perry et al., 1987). As células de Schwann se dividem e começam a organizar-se no interior de tubos de membrana basal, de forma linear, formando as “bandas de Büngner” (Bunnell & Boyes, 1939; Guth, 1956; Nathaniel & Pease, 1963a; 1963b; Satinsky et al., 1964; Thomas, 1964; O'daly & Imaeda, 1967; Weinberg & Spencer, 1978; Aguayo & Bray, 1980; Lundborg, 1987; Ide et al., 1990; Ide & Kato, 1990; Griffin et al., 1993; Ide, 1996; Albert et al., 1997; Frisén, 1997; Fu & Gordon, 1997; Rodrigues & Silva, 2001). Esta explosão de atividade é combinada por uma exuberante resposta celular do coto proximal onde os axônios danificados brotam (Bunnell & Boyes, 1939; Brat & Aguayo, 1974; Yawo & Kuno, 1983) e as células de Schwann e os fibroblastos endoneurais proliferam. A seguir, os axônios em

regeneração invadem essas estruturas, justapondo-se entre a membrana plasmática das células de Schwann e a respectiva membrana basal (Bunge, 1981). À medida que se restabelece a interação entre axônio e as células de Schwann, inicia-se a formação da bainha de mielina ao redor dos axônios. Concomitantemente a reorganização do epineuro, perineuro e vasos sanguíneos tendem a restabelecer a homeostase do nervo (Oliveira, 1996).

Se o espaço entre os cotos proximal e distal, conhecido como “gap”, for muito longo, os axônios regenerados terão de transpor este território antes de ganhar o lugar seguro de uma “banda de Büngner” (Chiu et al., 1982). A probabilidade de esses axônios crescerem com sucesso através do “gap” diminui à medida que o comprimento deste aumenta (Hall, 1997) e, segundo Bunnell & Boyes (1939), somente uma pequena quantidade de fibras nervosas conseguem atravessar os “gaps” com mais de dois centímetros de comprimento.

1.7 Fatores Neurotróficos

Em 1928, Cajal referia que o crescimento nervoso é direcionado por um gradiente bioquímico onde as fibras nervosas em regeneração são guiadas por um trofismo químico até o órgão alvo. Sendo esse gradiente bioquímico, mencionado como fator neurotrófico, que são constituídos por um grupo heterogêneo de polipeptídeos e, através de receptores específicos, agem no desenvolvimento, sobrevivência e manutenção de neurônios (Da-Silva, 1995a e Yuen & Mobley, 1995).

Esses fatores neurotróficos são produzidos no decorrer da degeneração walleriana e da proliferação das células de Schwann, no intuito de os axônios em regeneração estenderem-se ao longo do gradiente dessas substâncias no interior do coto distal (Lundborg et al., 1994a; Da-Silva, 1995; Ide, 1996; Frostick et al., 1998; Thanos et al., 1998; Grothe & Nikkhah, 2001).

Segundo Friedman et al, 1992, as células de Schwann mielinizadas e não mielinizadas possuem diferentes padrões para formação de fatores neurotróficos.

As substâncias tróficas promovem a sobrevivência neuronal por meio de múltiplos efeitos. Elas se ligam a receptores específicos, sendo interiorizadas e transportadas retrogradamente pelo axônio até o corpo do neurônio (Heumann, 1987; Barde, 1989; Korsching, 1993; Lundborg et al., 1994a; Da-Silva, 1995; Grothe & Nikkhah, 2001).

Como fatores neurotróficos, têm-se as *neurotrofinas*, aqui incluídos o fator de crescimento nervoso, o fator neurotrófico derivado do cérebro, as neurotrofinas 3, e 4/5; as *citocinas neuropoiéticas*, com o fator neurotrófico ciliar, IL-6, a oncostatina M e o LIF; os *fatores de crescimento tipo insulina* (IGFs) I e II; os *fatores de crescimento fibroblástico ácido e básico* (FGFa e b); e outros (Korsching, 1993; Da-Silva, 1995; Frisén, 1997; Fu & Gordon, 1997; Frostick et al., 1998; Thanos et al., 1998; Grothe & Nikkhah, 2001).

Recentes experimentos têm demonstrado que o neurotrofismo não somente existe, mas que um alto grau de especificidade está associado a ele (Lundborg et al., 1986; Mackinnon et al., 1986; Mackinnon 1989).

Fatores derivados de outros neurônios e hormonais também foram encontrados influenciando a sobrevivência neuronal (Liuzzi & Tedeschi, 1991).

A regulação de fatores neurotróficos no coto distal dos nervos lesados e o retorno ao nível normal após regeneração axonal e reinervação do órgão alvo têm conduzido à associação destes fatores com a regeneração (Richardson & Ebendal, 1982; Meyer et al., 1992; Funakoshi et al., 1993). Embora um efeito direto destas moléculas sobre a regeneração axonal tem sido freqüentemente buscado, uma evidência crescente indica que estas moléculas atuam diretamente na promoção da sobrevivência dos axônios axotomizados e indiretamente sobre axônios em regeneração via células não-neurais (Fu & Gordon, 1997).

Estudos *in vitro* mostram o efeito de fatores neurotróficos na sobrevivência dos vários tipos neuronais que compõem o sistema nervoso periférico (McMahon et al., 1995).

De acordo com Andrews (1996), no sistema nervoso autônomo, o trofismo do tecido alvo sobre seus neurônios diminui à medida que aumenta a idade do paciente, possivelmente como resultado de uma diminuição da disponibilidade de

fatores neurotróficos derivados do alvo, bem como do fator de crescimento nervoso. De acordo com Muragaki et al. (1995) a exata localização dos pontos de síntese tecidual dos fatores neurotróficos é de suma importância para determinar suas ações *in vivo* na manutenção e regeneração do sistema nervoso periférico.

O fator de crescimento nervoso (FCN ou NGF), descoberto há mais de 40 anos, é produzido pelos neurônios simpáticos e sensitivos e certos tipos de neurônios colinérgicos centrais, servindo como suporte adicional à sobrevivência neuronal (Heumann, 1987; Korsching, 1993; Blottner & Baumgarten, 1994; Ide, 1996; Fu & Gordon, 1997; Thanos et al, 1998; Yin et al., 1998).

A taxa de síntese do FCN em células da bainha do nervo periférico é alta durante o desenvolvimento e cai durante a maturidade. Entretanto, eleva-se outra vez transiente após a lesão nervosa (Korsching, 1993).

Em axônios que sofreram secção, a produção de FCN atinge o máximo 24 horas após e mantém níveis elevados pelo menos até duas semanas após a lesão (Heumann, 1987).

Em experimentos, onde se injetava FCN exógeno próximo à terminação seccionada do nervo isquiático e em reparo com tubo de silicone, observou-se a recuperação de 100% dos axônios que morreriam (Liuzzi & Tedeschi, 1991).

A aplicação do FCN diretamente no músculo, após o reparo através da técnica de neurotização muscular direta, levou a resultados funcionais e morfométricos melhores, comprovando os efeitos positivos dessa neurotrofina na regeneração nervosa (Menderes et al., 2002).

O fator neurotrófico cerebral (BDNF) é efetivo na sobrevivência e crescimento não só de neurônios sensitivos e simpáticos, como também do neurônio motor somático (Ide, 1996; Yin et al., 1998). Possui 120 aminoácidos e mostra 54% de homologia ao fator de crescimento nervoso e, como esse, resgata neurônios sensitivos da morte celular que ocorreria naturalmente (Yin et al., 1998).

Os fatores de crescimento fibroblásticos (FGFs) são proteínas heparina-ligante, produzidos pelas células de Schwann, potentes promotores da sobrevivência neuronal (Liuzzi & Tedeschi, 1991; Ide, 1996; Fu & Gordon, 1997), indutores de

angiogênese e do crescimento de neuritos, além de mitógenos para as células de Schwann (Liuzzi & Tedeschi, 1991; Fu & Gordon, 1997). Sua aplicação em tubos sintéticos ou de colágeno aumentou a regeneração nervosa periférica (Fields et al., 1989; Watchmaker & Mackinnon, 1997; Trigg et al., 1998).

Os fatores de crescimento tipo-insulina (IGFs- I e II), que são proteínas solúveis, quando injetados localmente após esmagamento do nervo, promovem o crescimento dos neuritos em neurônios sensitivos, simpáticos e motoneurônios *in vitro* e elevação da taxa de regeneração (Liuzzi & Tedeschi, 1991; Fu & Gordon, 1997). Existem evidências de que o fator I de crescimento tipo-insulina medeia à interação das glicosaminoglicanas da lâmina basal com a laminina e com vários outros fatores de crescimento, estimulando o crescimento nervoso e conseqüentemente a formação de neuritos e a reinervação muscular (Gorio et al., 1998a e b).

Thanos et al. (1998) estudaram o fator de crescimento epidermal (EGF), que é um polipeptídeo e tem sido estudado como estimulador da proliferação celular, com evidências de sua localização no cérebro de ratos. Ele foi isolado na glândula submandibular. Como um fator angiogênico, o fator de crescimento da célula endotelial (ECGF) foi testado e resultou em melhor condução nervosa, bem como aumento da vascularização em enxertos nervosos (Smith & Browne, 1998).

Pela importância dos hormônios da tireóide no crescimento, principalmente no desenvolvimento, na maturação do sistema nervoso central e no desenvolvimento dos nervos periféricos, é provável que a triiodotironina (T3) regule a expressão de genes de um ou mais fatores de crescimento, da matriz extracelular ou das moléculas de adesão, os quais estimulam a regeneração nervosa periférica (Barakat-Walter, 1999).

Segundo Fu & Gordon (1997), há pouca comprovação dos efeitos diretos dos fatores neurotróficos sobre o crescimento axonal *in vivo*, embora *in vitro* tenham-se extensas evidências. Assim, hoje se sugere que os efeitos desses fatores sejam por via parácrina ou autócrina em células não neuronais do coto distal e não por efeitos diretos nos axônios em regeneração.

A regeneração nervosa está sob a influência mecânica da orientação de contato e do neurotropismo e neurotrofismo. Enquanto o neurotrofismo implica na habilidade de influenciar na maturação do nervo, o neurotropismo influencia a regeneração direcional do nervo e depende da distância entre os segmentos proximal e distal do nervo (Mackinnon, 1989).

Alguns pesquisadores constataram influência quimiotática do coto nervoso distal degenerado, sendo que este atrairia as fibras em crescimento do coto proximal. O termo quimiotaxia ou neurotropismo foi introduzido significando crescimento preferencial dos axônios em direção a uma fonte distante de liberação química. O neurotropismo exibe um alto grau de especificidade de reinervação, que pode ocorrer em dois níveis, na habilidade do axônio em encontrar o caminho adequado para o seu alvo e do próprio órgão-alvo. Tanto as células do coto nervoso distal como as do tecido alvo secretam substâncias, os fatores neurotróficos, capazes de atrair os axônios em regeneração em sua direção, constituindo um elemento determinante do sucesso da regeneração nervosa periférica e da recuperação funcional (Lundborg et al., 1982; Lundborg, 1987; Mackinnon, 1989; Kummer, 1992; Da-Silva, 1995; Yuen & Mobley, 1995).

Existem evidências da influência neurotrófica exercida por moléculas da lâmina basal de fibras musculares nas fibras nervosas (Mackinnon et al., 1988 e Liuzzi & Tedeschi, 1991).

Essa influência neurotrófica e neurotrópica do tecido-alvo, através da secreção de substâncias que são transportadas retrogradamente para o corpo neuronal foi comprovada em diversos estudos (Lundborg, 1987; Liuzzi & Tedeshi, 1991; Kummer, 1992; Ide, 1996; Frisén, 1997; Fu & Gordon, 1997; Watchmaker & Mackinnon, 1997). Também há evidências de influência neurotrópica exercida por moléculas da lâmina basal de fibras musculares (Mackinnon et al., 1988; Liuzzi & Tedeschi, 1991).

Vários experimentos foram feitos com tubos em “y” de silicone, para determinar o efeito desses fatores e suas influências sobre o crescimento axonal (Politis et al., 1982; Ochii, 1983; Williams et al., 1984; Lundborg et al., 1986; Mackinnon et al., 1986). Nestes experimentos, os axônios cresceram preferencialmente em direção ao tecido nervoso quando comparados com tecido

tendinoso ou tecido de granulação. Existem razões para acreditar-se que a proliferação das células de Schwann no coto distal associada com determinadas substâncias poderiam atrair os axônios em regeneração (Lundborg, 1987).

Sanes et al. (1978) propuseram que a lâmina basal da fibra muscular, ou substâncias a ela associadas, atuam estimulando e direcionando os cones de crescimento para os sítios onde existiam as junções mioneurais.

Com o desenvolvimento de novas técnicas e refinados métodos para avaliação do crescimento axonal, muitas opiniões estão mudando. Observações em experimentos *in vivo* e *in vitro* indicam que o neurotrofismo pode ser importante mecanismo na regulação dos axônios regenerados dentro de certas circunstâncias (Ebendal & Jacobsen, 1977; Letourneau, 1978; Lumsden & Davies, 1983; Gundersen & Barrett, 1979)

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.

1.8 Técnicas de Reparação

Em 1927, Babcock definiu para tratamento cirúrgico da lesão do nervo periférico a neurólise, a sutura direta e o enxerto nervoso.

Através da exploração intraneural, determina-se o tipo de tratamento, pois é o passo mais importante de uma operação em um nervo lesado (Babcock, 1927; Mackinnon, 1989). Falhas nessa etapa têm levado não só a deficiências no tratamento operatório, como produzido sérios erros nas conclusões estatísticas de vários cirurgões (Babcock, 1927).

No reparo do nervo periférico, Mackinnon (1989) considera que três áreas importantes merecem ser discutidas, que são: a identificação funcional dos fascículos ou mapeamento fascicular, o papel da neurólise interna e o dilema da continuidade interna do neuroma.

A simples remoção de tecido cicatricial ou de estruturas que possam estreitar ou comprimir o nervo periférico é denominado neurólise (Babcock, 1927). Esta pode ser externa, quando a remoção de tecido é fora do epineuro, liberando-o de aderências aos tecidos adjacentes, e interna ou fascicular, quando o epineuro é aberto e a remoção do tecido cicatricial é realizada entre os fascículos. A neurólise é indicada nas lesões em continuidade do nervo, quando não há ruptura do mesmo.

A realização de uma neurografia, em lesões do nervo periférico é indicada quando houve uma interrupção da continuidade, sem perda de tecido, tornando possível a aproximação direta dos cotos (Braun, 1982). A não tensão na sutura, de acordo com Terzis et al. (1975) e Sunderland (1978), é fundamental para prevenir a isquemia e a fibrose.

Para obtenção de resultados satisfatórios em um reparo de nervo periférico, é fundamental a utilização de equipamentos como lupa ou microscópios que permitam a magnificação, do uso de materiais adequados e específicos, de conhecimento da técnica microcirúrgica, reparo primário sempre que possível e, quando do reparo secundário, realizá-lo dentro de até três semanas, com aproximação dos cotos livres de tensão. Se necessário deve-se optar pela interposição de enxerto quando houver perda de tecido nervoso (*'gaps'*) e realizar a reeducação sensitiva e motora para maximizar os resultados (Mackinnon, 1989; Watchmaker & Mackinnon, 1997).

Smith em 1964 introduziu o uso do microscópio para melhor visualização e assim auxiliar na reparação de lesões nervosas periféricas, levando a obtenções de melhores resultados funcionais.

A regeneração nervosa é diretamente ligada à tensão existente no local da neurografia. Em estudo experimental realizado por Maeda et al. (1999), estes autores encontraram, que a tensão na linha de sutura levou ao aumento de Na, Cl e K no axoplasma e conseqüentemente ao aumento da pressão fluida endoneural (PFE). Provavelmente, esta diminuição do mecanismo de transporte desses elementos e o aumento da PFE afetem a regeneração nervosa.

Zhang et al. (2001) em seu trabalho relatou que a tensão elevada no nervo, após reparo término-terminal, levou a debilitada recuperação funcional e a um decréscimo significativo no diâmetro do axônio.

Em estudo sobre as mudanças na estrutura dos nervos periféricos após lesão, Toby et al. (1996) sugerem que um reparo término-terminal deveria ser realizado na época da lesão, pois, após apenas uma semana, rigidez significativa desenvolveu-se no segmento distal do nervo, o qual pode resultar em aumento na tensão no local do reparo.

Dentre as várias técnicas de reparo de nervo periférico, existem aquelas que utilizam tecidos diversos do tecido nervoso para unir ou envolver as extremidades do nervo lesado. Assim têm-se a membrana cartilaginosa (Bunnell & Boyes, 1939; Fields et al., 1989); o tubo fibrocolagenoso envolto em fáscia (Watanabe et al., 2001); o enxerto de um segmento de vaso sanguíneo na posição normal (Bunnell & Boyes, 1939; Fields et al., 1989; Fawcett & Keynes, 1990) ou ao avesso (Ferrari et al., 1999); os tubos de pericárdio bovino (Virmond & Pereira, 2000); os enxertos venosos preenchidos com músculo esquelético (Battiston et al., 2000; Geuna et al., 2000; Fornaro et al., 2001); a colocação de tubos de materiais biológicos constituídos de osso, caseína, peritônio, dura-máter, fáscia, gordura, colágeno, gelatina, moléculas de adesão, músculos ou células tipo-mesoteliais (Fields et al., 1989; Watchmaker & Mackinnon, 1997).

Quando existe uma lesão com perda tecidual (lesão tipo V), é necessária a interposição de um enxerto, sendo que o tecido de escolha é o próprio tecido nervoso ou parte dele. Diversos trabalhos foram realizados empregando-se enxerto de segmento nervoso periférico (Bunnell & Boyes, 1939; Lundborg, 1987; Mackinnon et al., 1988; Lundborg et al., 1994b; Trumble & Parvin, 1994; Amillo et al., 1995; Watchmaker & Mackinnon, 1997). Outra alternativa é a utilização de somente um tubo de epineuro (Karacaoglu et al., 2001).

Em uma lesão com perda de tecido nervoso, a utilização de enxerto resolve o problema da tensão. A indicação principal é quando não é possível a aproximação direta do coto proximal ao distal. Como enxerto utiliza-se segmento de algum nervo, geralmente sensitivo, sendo o nervo sural o mais utilizado. Este enxerto sofrerá processo de degeneração e funcionará apenas como conduto para

os axônios do segmento proximal, em regeneração, atingirem o coto distal do nervo lesado (Bunnell, 1927).

A divergência entre as distâncias para se indicar o uso de enxerto variam conforme os autores. Hall (1997) refere que em distâncias superiores a dois centímetros, em roedores, é necessário algum tipo de material para direcionar os neuritos que brotassem do coto proximal, até o coto distal. Já Somazz (1994), utiliza enxerto em lesões onde a perda de substância é maior que três centímetros.

Maeda et al. (1999), após a remoção de cinco milímetros do nervo ciático, para minorar a tensão no local da coaptação através da neurorrafia término-terminal, utilizou, prévio ao reparo, uma sutura de ancoragem auxiliar.

Lundborg et al. (1982) constataram que em distâncias limitadas existe uma influência do coto distal sobre a regeneração de axônios proximais, que poderia consistir de agentes humorais do coto distal estimulando o crescimento nervoso. Em experimento utilizando câmaras de silicone para unir uma perda nervosa de 15 mm, nenhuma regeneração ocorreu.

Seddon (1947) refere ser o enxerto autogênico de nervo uma das únicas alternativas eficazes no tratamento de lesões com considerável perda de tecido nervoso, sendo que seu diâmetro não deve ser maior que o nervo receptor, evitando assim a necrose central.

O limite para o uso de enxertos não vascularizados, ditos convencionais, é de seis centímetros. A partir daí é indicado o uso de enxerto vascularizado. Doi et al., (1992) escreveram que em um leito bem vascularizado, os resultados obtidos com o uso do enxerto convencional são tão bons quanto os do enxerto vascularizado.

Calder & Green (1995) relataram o uso de uma combinação do enxerto de nervo a outro tecido, como músculo esquelético.

Com a evolução das técnicas de reparo do nervo periférico, o uso de materiais sintéticos (polietileno, silicone, metal, plástico, celulose, polímero de ácido glicólico), combinados ou não com agentes bioquímicos neurotróficos, também tem sido utilizados (Lundborg et al., 1982; Fields et al., 1989; Evans et al., 1991;

Frykman, 1993; Dellon, 1994; Watchmaker & Mackinnon, 1997; Watanabe et al., 2001; Wang et al., 2005).

Lundborg et al. (1982) utilizaram em intervalos de 6, 10 e 15 mm, tubos de silicone para unir cotos nervosos com espaços intersegmentares colocados de duas formas diferentes: sistema proximal-distal (os cotos proximal e distal foram introduzidos nas extremidades do tubo) e sistema proximal-aberto (no qual apenas o coto proximal foi introduzido no tubo). Os resultados encontrados mostraram que em uma perda nervosa de seis milímetros de comprimento, o nervo regenerado cresceu por todo o tubo em ambos os grupos, e, na perda de 10 mm, houve crescimento similar no sistema proximal distal, ao passo que no tubo proximal-aberto o crescimento proximal foi parcial ou não existente e no grupo com perda de 15 mm de tecido nervoso, nenhuma regeneração ocorreu, mesmo na presença do coto distal.

Fields et al. (1989), em ampla revisão sobre implantes tubulares artificiais em regeneração de nervo periférico, concluíram ser vantagens, os tipos de materiais, os adjuntos físicos, farmacológicos e bioquímicos do processo, a morfologia dos nervos regenerados, as propriedades eletrofisiológicas dos axônios em regeneração e o papel dos fatores de crescimento e trófico durante o processo da regeneração nervosa.

Em trabalho comparativo da técnica de reparo de nervo periférico com neurorrafia e uso de conduto de silicone, alinhando ou não os fascículos, Evans et al. (1991), constataram através de avaliações morfológicas e funcionais que o reparo com conduto foi equivalente ao reparo através de neurorrafia no grupo dos fascículos corretamente alinhados, porém superior a neurorrafia com fascículos incorretamente alinhados.

O implante de um tubo fibrocolagenoso envolto em fásia, mostrou bons resultados histológicos, ultraestruturais e eletromiográficos, principalmente na formação do perineuro. Isto sugere que esse material apresenta vantagens como um conduto nervoso, porém requer os procedimentos cirúrgicos extras de coleta da fásia e de interposição do tubo (Watanabe et al., 2001).

Na diversidade de materiais sintéticos, o tubo guia biodegradável composto de malha de colágeno-ácido poliglicólico, mostrou-se mais promissor. Em

trabalho experimental de uma lesão nervosa com perda de 25 mm de nervo, preenchido com fatores neurotróficos, foram encontradas fibras nervosas regeneradas aos cinco meses após a cirurgia (Kiyotani et al., 1996).

Outro tipo de tubo reabsorvível de poli-3-hidroxi-butarato (PHB) foi testado no reparo de perda de segmento nervoso periférico de quatro centímetros, evitando o uso do enxerto de nervo (Young et al., 2002).

Em outro trabalho experimental em cães, Wang et al. (2005) utilizaram o enxerto de um tubo artificial microporoso, constituído de filamentos de quitosan orientados e ácido poliglicólico (PGA), comprovando a praticidade e eficácia da utilização desse enxerto no reparo de nervo periférico de lesões com grande perda tecidual (30 mm).

Utilizando ou não o enxerto de nervo, as extremidades de um nervo seccionado devem ser mantidas adequadamente unidas para permitir o crescimento dos axônios em regeneração para a extremidade distal do nervo lesado. Outra opção para a coaptação dos cotos de um nervo são os adesivos biológicos (Cooper & Falb, 1968; Boedts & Boukaert, 1984; Boedts, 1987; Moy et al., 1988; Nishihira & McCafrey, 1989; Jin et al., 1990; Daunois & Sébille, 1991; Bertelli & Mira, 1993; Reis, 1999).

Uma cola de fibrina derivada de veneno de serpente foi testada experimentalmente em reparo nervoso periférico, tendo se obtido bons resultados (Viterbo et al., 1993b; Reis et al., 1998; Reis, 1999; Vicente, 1999; Reis & Rodrigues, 2000; Reis et al., 2000; Vicente et al., 2000).

Boedts (1987) relatou que em um tubo de silicone fixado com cola biológica, juntamente com alinhamento fascicular, a técnica de *splintage* pode superar as desvantagens de um reparo puramente realizado com sutura epi ou perineural ou da coaptação com colas biológicas e artificiais.

Em estudo realizado por Payne et al. (2002) comparando os grampos de titânio (os mesmos utilizados na sutura vascular) com fio monofilamentar de náilon, chegou-se a conclusão que o grampo é uma alternativa rápida e os resultados finais foram similares.

A capacidade do neurônio lesado de recuperar-se pode ser determinada pela expressão de genes específicos relacionados ao crescimento e à resposta a sinais específicos de crescimento do meio. No futuro, com as manipulações genéticas, técnicas de terapias genéticas serão importantes opções nesse ramo de pesquisa, uma vez que a manipulação de gene e a clonagem já são tecnologias existentes. Uma nova disciplina de engenharia de tecido está emergindo, em que os princípios de engenharia e as ciências da vida são aplicados para a geração de substitutos biológicos, que são direcionados na criação, preservação ou restauração da perda funcional de órgãos. Em adição, com a ajuda de neurotrofinas, será possível abordar uma lesão nervosa via engenharia genética, com a regeneração completa eliminando a necessidade de reparo. Com isso, haveria a eliminação dos problemas associados com reparo nervoso convencional, sendo que a restauração perfeita da função será uma meta alcançável (Thanos et al., 1998).

É improvável que haja melhores resultados clínicos, puramente pelos refinamentos técnicos da microcirurgia, mas sim associados ao conhecimento, confiança e experiência nos procedimentos de reparo nervoso. Estará a recuperação limitada ao conhecimento da anatomia interna do nervo periférico e de detalhes da neurobiologia e neuroquímica da regeneração nervosa (Mackinnon, 1989).

1.9 Neurorrafia Término-terminal

Define-se como sutura direta de um nervo ou neurorrafia término-terminal, a aproximação dos condutos do epineuro dos cotos proximal ao distal, possibilitando a passagem das fibras em regeneração através do local lesado (Edshage, 1964; Moberg, 1964; Wilgis, 1982; Bora Junior, 1978; Rouleau et al., 1981).

Babcock em 1927 definiu que a neurorrafia término-terminal é a técnica de escolha em lesão de nervo, pois se consegue melhores resultados com a aproximação direta das extremidades nervosas através da sutura isolada com fio fino na bainha nervosa. Este conceito ainda é vigente nos dias de hoje (Babcock, 1927; Bora, 1967; Sunderland, 1968; Hakstian, 1973; Terzis et al., 1975; Van Beek, 1977; Bora Junior, 1978; Hudson et al., 1979; Rouleau et al., 1981; Millesi, 1981; Braun, 1982; Millesi, 1982; Ide, 1983; Lundborg, 1987; Zhao et al., 1997; Santamaría et al., 1999; Yuksel et al., 1999).

Tanto a sutura do epineuro, quanto a sutura perineural, são denominadas de neurorrafia término-terminal (Hakstian, 1973; Rosegay & Edwards, 1980).

A sutura perineural, também denominada de sutura fascicular, intraneural ou interfascicular, é mais complexa. Ela permite o afrontamento fascicular e orientação longitudinal satisfatória através da união dos perineuros dos fascículos de um nervo seccionado (Rosegay & Edwards, 1980; Braun, 1982; Stopiglia & Erhart, 1987).

Neurorrafia epiperineural foi proposta por Ferreira et al. (1974) com o mínimo de tensão na sutura.

Mesmo não ocorrendo um perfeito alinhamento intrafascicular, a sutura epineural é relativamente não traumática e de fácil execução. As características do epineuro permitem aproximá-lo sem entrar em contato direto com os elementos neurais verdadeiros. Os fascículos se manterão vascularizados, pois abaixo do epineuro, o tecido conjuntivo, rico em vasos sanguíneos será mantido. A preservação dessa vascularização é essencial para evitar a formação de tecido cicatricial (Braun, 1982).

Outro importante fator na regeneração direcional no reparo de um nervo periférico é o alinhamento dos fascículos, onde Evans et al. (1991) observaram que a recuperação funcional em uma neurorrafia com fascículos corretamente alinhados foi superior ao da neurorrafia com fascículos incorretamente alinhados. Lundborg (1987 e 2000) relatou que correta orientação fascicular não é imprescindível.

Em nervos monofasciculares ou com poucos fascículos, a sutura perineural ou fascicular permite a boa orientação fascicular (Millesi, 1973; Bora et al., 1976; Orgel & Terzis, 1977; Terzis, 1979; Ikeda, 1980; Tupper, 1980; Kline et al., 1981; Kutz et al., 1981; Millesi, 1981;).

A desvantagem desta técnica são lesões do suprimento vascular do nervo, devido dissecção dos fascículos para seu alinhamento (Bora, 1967).

Segundo Ferreira et al., (1974) e Venault et al., (1981), nos nervos multifasciculares, uma melhor coaptação é obtida por meio da aproximação individual de fascículos, com associação de duas técnicas de sutura.

Em trabalhos realizados por Braun (1982) e Lundborg (1987), não demonstraram evidências quanto à superioridade dos resultados obtidos com a neurorrafia epineural ou a perineural. Young et al. (1940), comparando os resultados clínicos em humanos também não observaram diferenças significativas, devido ao desconhecimento da anatomia intraneural e do grau de cruzamento axonal dentro dos fascículos.

Visando os melhores resultados funcionais, alguns princípios são importantes na técnica da sutura epineural. A manutenção de um campo cirúrgico limpo; o exame prévio da extensão da ressecção, da orientação de rotação e posição dos fascículos; o estudo da anatomia intraneural, determinando a orientação dos fascículos através de coloração específica e estimulação elétrica; a regularização das extremidades nervosas, removendo tecido cicatricial e neuroma; utilização de lupa ou microscópio cirúrgico; utilização de fio adequado, como o 9-0 e 10-0, e de material menos reativo, como náilon monofilamentar e prolene; a ausência de tensão na sutura, pois a compressão no local da neurorrafia pode levar à sobreposição dos fascículos ou a um padrão de organização irregular na zona de junção do reparo nervoso; a contenção do sangramento local, evitando a formação de hematoma; quando for necessária uma dissecação maior (Braun, 1982).

Trabalhos sobre a sutura de nervo periférico com a inervação cruzada vêm sendo realizados, com a finalidade de testar a capacidade de um nervo funcionalmente diferente em reinervar estruturas próximas após neurorrafia término-terminal. Flumerfelt et al. (1986), comprovaram a regeneração de fibras vagais utilizando marcações retrógradas com HRP e anterógradas pela auto-radiografia, que cruzaram a neurorrafia com o coto distal do nervo hipoglosso e reinervaram as placas motoras da língua.

A reinervação do músculo esternocleidomastóide por fibras aferentes do nervo vago em coelhos, gatos e carneiros (Falempin & Rosseau, 1983; Rosseau & Falempin, 1984) e em ovelhas (Delorme et al., 1997) após neurorrafia término-terminal foi comprovada. Nos achados morfológicos, constatou-se que o diâmetro das fibras mielínicas regeneradas era menor, porém com o padrão semelhante às do nervo vago normal. Atividade eletrofisiológica das junções neuromusculares também foi demonstrada.

Diferentes ângulos tanto de secção como de união dos cotos nervosos foram estudados recentemente por Yan et al. (2002b). Eles seccionaram o nervo fibular e repararam-no através da neurorrafia término-terminal em ângulos transversos (90°) e oblíquos (30°). Em todos os parâmetros funcionais e morfológicos estudados, os resultados foram significativamente mais altos e melhores no lado com reparo oblíquo do que com o reparo transversos. Isso sugere que a conexão oblíqua aumenta a área de superfície coaptada, aumentando o brotamento de fibras a partir do nervo doador e melhorando a recuperação do músculo.

1.10 Neurorrafia Término-lateral

Relatos sobre a neurorrafia término-lateral datam do século XIX. Dupres, em 1876, relatou o reparo do nervo mediano através da inserção de seu coto distal na lateral do nervo ulnar, segundo Al-Qattan (2001).

Em 1899, Kennedy relatou o tratamento de um paciente com espasmo facial por meio da neurorrafia término-lateral. Este autor realizou a secção do nervo facial e uniu seu coto distal ao nervo hipoglosso, tendo incisado parcialmente este último até o perineuro do outro lado. Esse caso foi publicado em 1901 (Al-Qattan, 2001).

Em 1903, Ballance et al. também repararam o nervo facial, porém suturaram seu coto distal após ser seccionado à face lateral do nervo acessório, para tratar a paralisia do nervo facial. No mesmo ano Harris e Low (1903) trataram uma lesão do tronco superior do plexo braquial através de reinserção da extremidade distal do nervo lesado, na face lateral da sétima raiz cervical.

Vários autores utilizaram a neurorrafia término-lateral, obtendo bons e maus resultados. Para este procedimento realizavam incisão no nervo doador, mantendo íntegro apenas o epineuro do lado oposto à neurorrafia (Sherren, 1906). Esta conduta proporcionava uma união dos tubos endoneurais do nervo doador com os tubos endoneurais do nervo receptor do tipo término-terminal.

Babcock em 1927 sugeriu o abandono definitivo da neurorrafia término-lateral com incisão do epineuro, conforme descrita por Sherren em 1906, pois essa abertura no nervo doador provocava importantes prejuízos às estruturas por ele inervadas.

Em 1992, Viterbo et al. (1992a) introduziram uma nova concepção de neurorrafia término-lateral, realizada sem abertura do epineuro e portanto, sem lesão no nervo doador. Em um de seus trabalhos experimentais, o coto distal do nervo fibular foi seccionado e fixado à face lateral do nervo tibial intacto, sem remoção do epineuro. Nas observações morfológicas e testes eletrofisiológicos foram constatadas presença de fibras miélicas regeneradas na maioria dos animais. Em outro trabalho, utilizando o mesmo modelo experimental, porém com remoção de janela de epineuro, Viterbo et al. (1994b) observaram tanto morfológica como eletrofisiologicamente o crescimento de axônios do nervo doador para o coto distal do nervo fibular, sem apresentar lesão no nervo doador ou em seu território de inervação, tornando assim, qualquer nervo um potencial nervo doador. Este fato provocou grande ceticismo devido ao conhecimento prévio estabelecido de que o axônio jamais poderia atravessar as capas envoltórias de tecido conjuntivo, ou seja, endoneuro, perineuro e epineuro, entretanto diversos trabalhos experimentais mudaram esta resistência (Viterbo et al., 1993c; Viterbo et al., 1998).

A indicação da neurorrafia término-lateral se dá quando o coto proximal do nervo lesado não está disponível para a realização do reparo tradicional término-terminal (Noah et al., 1997b; Fortes et al., 1999; Liu et al., 1999; Kalliainen et al., 1999; Yuksel et al., 1999; Cederna et al., 2001; Rovak et al., 2001; Zhang & Fischer, 2002).

De acordo com Zhao et al. (1997), as razões para se utilizar uma neurorrafia término-lateral são: quando a distância entre os cotos do nervo for muito grande para ser corrigida utilizando enxertos; quando as condições do nervo a ser enxertado não são satisfatórias; quando a regeneração do coto proximal do nervo seccionado for impossível.

Em trabalhos clínicos, Viterbo et al. (1993a e 1994a) preveniram o aparecimento de seqüelas sensitivas após remoção do nervo sural mediante a neurorrafia término-lateral de seu coto distal à face lateral do nervo fibular superficial.

Lundborg et al. (1994b) em trabalho experimental, constataram o cruzamento dos brotos axoplasmáticos do nervo doador através de seu epineuro a recuperação funcional, utilizando enxerto de nervo autólogo pré-degenerado e a fresco.

Em estudos experimentais com ratos, Cederna et al. (2001) concluíram que a neurorrafia término-lateral causa uma desnervação aguda no nervo doador, sugerindo que haja uma “lesão” física dos axônios deste no momento da neurorrafia. Isto poderia determinar diminuição do número de axônios que inervam o músculo-alvo deste nervo, ou seja, o nervo doador que recebe a sutura em sua face lateral. Segundo os autores, axônios que estabeleceram conexões funcionais novas pela neurorrafia término-lateral não podem manter conexões com dois alvos motores. No entanto, este déficit não afetou a força final do músculo doador após seis meses da realização da neurorrafia término-lateral.

Rovak et al. em 2000, concluíram que os axônios doadores na neurorrafia término-lateral podem inicialmente abandonar sua conexão funcional neuromuscular original antes de estabelecer nova conexão neuromuscular funcional.

Kallianen et.al, (1999) em trabalho experimental com ratos, relataram que os músculos reinervados pela neurorrafia término-lateral apresentam uma diminuição da massa muscular e uma alta porcentagem de fibras musculares desnervadas, porém a recuperação da força isométrica é semelhante ao grupo da neurorrafia término-terminal.

Em modelo experimental em ratos, proposto por Noah et al. (1997b) realizaram a conexão do nervo ciático ao coto distal do nervo obturador que inerva o músculo grácil, utilizando enxerto de nervo safeno. Os animais foram divididos em três grupos, um grupo com janela epiperineural na face lateral do nervo ciático; um segundo grupo com neurectomia parcial do nervo ciático; e o terceiro, grupo controle, não teve o enxerto suturado, porém com desnervação do músculo grácil e realização da janela no perineuro no nervo ciático. Após 30 dias, o resultado do índice funcional do ciático (IFC), mostrou-se significativamente mais baixo no grupo da neurectomia parcial.

Tarasidis et al. (1997) formaram 5 grupos, onde grupo 1 realizaram corte e reparo do nervo sendo grupo controle; grupo 2 neurografia término-terminal no nervo fibular no tibial; grupo 3 neurografia término-lateral do nervo tibial à face lateral do nervo fibular sem retirada de janela de epineuro; grupo 4 neurografia término-lateral do nervo tibial à face lateral do nervo fibular com retirada de janela de epineuro e grupo 5 realizaram uma fenda no perineuro. As avaliações da marcha não apresentaram diferenças, sugerindo não ter diferença funcional. A realização da marcação nervosa retrógrada revelou coloração mínima dos neurônios motores, porém, a coloração neuronal sensitiva do gânglio da raiz dorsal ocorreu em todos os grupos. Esses resultados sugerem que a regeneração neural predominantemente sensitiva ocorreu após neurografia término-lateral ao final de 16 semanas.

Zhao et al. (1997) utilizaram quatro métodos diferentes de neurografia término-lateral em trabalho experimental. Em um grupo, o coto distal do nervo fibular foi suturado ao nervo tibial intacto, com e sem remoção de epineuro; em outro grupo o coto distal do nervo fibular foi fixado ao nervo tibial intacto com uma ponte de segmento nervoso enxertado entre eles com duas neurografias término-laterais; no terceiro grupo, o coto proximal do nervo tibial foi suturado ao nervo fibular intacto. Concluíram que, que as fibras nervosas em regeneração, independente da retirada ou não do epineuro, têm habilidade de atravessar o endo, peri e epineuro.

Al-Qattan & Al-Thunyan (1998) realizaram vários trabalhos experimentais, com objetivo de verificar as variáveis que afetam a regeneração axonal após a neurografia término-lateral. Em um dos experimentos, realizaram abertura do epineuro e dividiram em dois grupos. No grupo 1 realizaram a sutura do enxerto autólogo fresco na borda do epineuro e no grupo 2 a sutura do enxerto autólogo fresco foi realizada através do perineuro do nervo ciático. As avaliações morfológicas realizadas 50 dias após o reparo, mostraram que no grupo da sutura no epineuro nenhum dos enxertos apresentou axônios em regeneração, enquanto no grupo da sutura no perineuro 50% dos enxertos apresentaram evidências de regeneração axonal. Em um segundo estudo, investigaram a possibilidade de induzir brotamento colateral em tubos de silicone suturados de forma término-lateral ao epineuro ou perineuro em nervos ciáticos intactos. Nas avaliações morfológicas não houve evidências de regeneração axonal dentro do tubo. Esta ausência de brotamento pode ser explicada pela ausência de células de Schwann nos tubos de silicone suturados.

Zhang et al. (1998) estudaram a neurorrafia término-lateral em três grupos, com remoção de janela de epineuro, sem lesar o perineuro. Após 3 meses concluíram que a sutura término-lateral é uma técnica que resulta em regeneração axonal e reinervação muscular com sucesso, porém este resultado não é tão evidente quando os nervos se originam de diferentes níveis espinhais.

Em estudo comparativo, Viterbo et al. em 1998, realizaram a neurorrafia término-lateral com e sem remoção do epi-perineuro. Nas avaliações histológicas realizadas seis meses após a cirurgia, com cortes longitudinais no local da neurorrafia término-lateral e transversais no nervo receptor, observaram brotamento lateral e desaparecimento do epineuro e perineuro no local da sutura em ambos os grupos. Constataram que não houve diferenças nas características morfológicas e eletrofisiológicas nos grupos estudados.

Cao et al. em 1999, utilizaram a acetiltransferase colina para avaliar o reparo término-lateral e término-terminal. Demonstraram que o brotamento é equivalente em ambos os métodos de reparação.

Em outro estudo experimental entre neurorrafia término-terminal e término-lateral, Liu et al. (1999), isolaram o nervo ciático do rato e seus ramos, dividindo em 4 grupos. Grupo A o grupo controle somente lesão do nervo fibular sem reparo; no grupo B o nervo tibial permaneceu intacto sem janela de epineuro, sendo o nervo fibular suturado direto com neurorrafia término-lateral; no grupo C, com retirada uma janela do epineuro e no grupo D, o nervo fibular foi seccionado e suturado com neurorrafia término-terminal. Ao final dos períodos de 2, 4, 6, 8, 10 e 12 semanas, concluíram que a neurorrafia término-lateral deveria ser considerada uma alternativa quando o coto proximal não estivesse disponível, pois, a neurorrafia término-terminal foi a que alcançou melhor resultado funcional.

Matsumoto et al. (1999) estudaram o reparo término-lateral em ratos, com tubos de silicone em Y. O braço único do Y foi suturado na face lateral do nervo ciático e os cotos distal do nervo tibial e do fibular introduzidos nos dois braços restantes, evitando a sutura direta, impedindo assim a lesão dos nervos. Após 12 semanas constataram regeneração axonal em 66% dos animais, principalmente as custa de axônios sensitivos vindos do gânglio da raiz dorsal. Concluíram que em reparo nervoso por meio da neurorrafia término-lateral, o *sprouting* lateral de axônios sensitivos ocorre e que as células de Schwann do nervo receptor têm importância crucial no início do processo de crescimento axonal.

McCallister et al. (1999) realizaram estudo em ratos utilizando a neurorrafia término-lateral no nervo fibular com nervo tibial e com retirada do epineuro. No grupo 1 realizaram somente coaptação término-lateral; no grupo 2 trauma mecânico após a coaptação término-lateral (esmagamento do nervo tibial com clamp durante 45 segundos) e o grupo controle, onde o nervo fibular foi seccionado e sepultado na musculatura proximal, evitando a reinervação. Após 20 semanas, as avaliações com estimulação elétrica, morfometria e aferição da massa muscular, revelaram aumento significativo na contagem de axônios no grupo estimulado por esmagamento em relação ao grupo só com o reparo. A massa do músculo tibial anterior foi maior em ambos os grupos com e sem trauma, quando comparados ao grupo que não recebeu reparo.

Em 1999, Reis desenvolveu modelo experimental com nervos de origens diferentes, através de neurorrafia término-lateral. Uniu enxerto de nervo sural a face lateral do nervo vago com adesivo de fibrina derivada de veneno de serpente (produzida pelo Centro de Estudos de Venenos e Animais Peçonhentos, UNESP/Botucatu). Encontrou crescimento axonal, eliminando assim a possibilidade de 'contaminação nervosa' presente nos modelos com secção do nervo receptor já que o coto proximal poderia determinar esta possibilidade.

Zhang et al. (1999) confirmaram o brotamento axonal lateral utilizando a técnica histológica de marcação fluorescente através da observação de neurônios marcados duplamente. Sugeriram a hipótese de que este brotamento axonal seja induzido apenas quando há desnervação parcial, resultado de "sinais ou fatores de interrupção" enviados à célula nervosa e ao sistema nervoso central, podendo acontecer no local dos nodos de Ranvier.

Yuksel et al. (1999) estudaram as neurorrafias término-terminal, término-lateral e látero-lateral. Após 28 semanas concluíram que a neurorrafia látero-lateral apresentou melhores resultados que a neurorrafia término-lateral tanto na análise da marcha, quanto na morfometria e avaliação morfológica ultra-estrutural, sugeriram que a neurorrafia látero-lateral pode ser uma alternativa na perda de grandes segmentos de nervo.

Al-Qattan (2000) em trabalho experimental em ratos, realizou a união do coto distal do nervo tibial à face lateral do nervo fibular após remoção do epineuro e encontrou regeneração axonal e ausência de neuroma, após 90 dias do reparo.

Em estudo sobre neurografia término-lateral entre ramos motores sinérgicos, Giovanoli et al. (2000) não encontraram diferenças na força tetânica máxima e no peso muscular dos lados operado e lado controle, embora tenham ocorrido diferenças no número total de fibras do nervo doador, proximal e distal ao local do reparo. As avaliações foram realizadas após oito meses.

Em relato de dois casos clínicos, Kayikçioğlu et al. (2000) não obtiveram sucesso no tratamento de lesão do nervo ulnar, onde realizaram a neurografia término-lateral, fixando diretamente ou por interposição de enxerto autólogo, o nervo ulnar ao nervo mediano intacto, com sutura epineural e remoção de janela de epineuro. Aos 18 e 21 meses do pós-operatório, foram realizadas eletromiografia, testes de monofilamento de Semmes-Weinstein ou de testes de vibração, sendo que não houve sinais clínicos de regeneração.

Lutz et al. (2000) também constataram que utilizando um nervo antagonista funcionalmente, não houve resposta funcional satisfatória ao final de 16 semanas de pós-operatório. Em dois grupos, com abertura de janela no epineuro, sendo que no grupo A, suturaram com neurografia término-lateral o nervo mediano ao antagonista nervo radial e no grupo B suturaram o nervo mediano ao agonista nervo ulnar. Após 16 semanas, a recuperação motora foi observada quando o nervo mediano foi unido ao seu agonista, nervo ulnar. Concluíram que nervos antagonistas podem induzir regeneração axonal, mas o retorno funcional pode não ser o esperado.

Rovak et al. (2000) desenvolveram outro modelo experimental, em dois estágios, com neurografia término-lateral e enxerto de nervo isogênico longo (8-10 cm). No primeiro estágio, uniu-se o enxerto a face lateral do nervo fibular esquerdo intacto. No segundo estágio, quatro meses após, suturaram a extremidade distal do enxerto ao coto distal do nervo fibular direito seccionado. Após quatro meses, constataram por meio de testes eletrofisiológicos, respostas descontínuas da musculatura direita (operada) e esquerda (não-operada). Com estes resultados, puderam elaborar a hipótese que os axônios poderiam formar conexões após a neurografia término-lateral, mas devem primeiro abandonar a conexão funcional com seu órgão-alvo original.

Um novo modelo experimental para neurografia término-lateral foi proposto por Goheen-Robillard et al. (2002). Estes autores uniram o coto distal do nervo tibial contralateral através de um enxerto de nervo isogênico longo a face lateral do nervo tibial contralateral, removendo uma janela de epineuro e do perineuro. Após 24 semanas observaram que os axônios preencheram toda a extensão do enxerto e penetraram no coto distal do nervo tibial, evidenciando aumento significativo no número de axônios no reparo imediato, realizado em somente um estágio, comparado ao realizado em dois estágios. Na avaliação da marcha, nenhum animal mostrou recuperação da função motora no lado contralateral. Com esses resultados, mesmo em um reparo término-lateral de enxerto longo, sugerem a importância de fatores neurotróficos no coto distal incentivando a regeneração do nervo.

Após reparo de um nervo, o crescimento dos axônios pode ocorrer por mecanismos de brotamentos terminal e colateral. O brotamento lateral tem sido demonstrado partindo do nodo de Ranvier proximal à área da lesão. Ainda existe o questionamento sobre o crescimento dos axônios após a neurografia término-lateral, se o brotamento colateral espontâneo ocorre sem nenhuma lesão do nervo doador ou a regeneração axonal é devido aos axônios doadores lesados durante o procedimento da neurografia. Zhang & Fischer (2002) confirmaram que pode ocorrer brotamento colateral do nodo de Ranvier tanto *in vivo* e *in vitro*, sendo que as células de Schwann do nervo recipiente têm um papel importante na iniciação desse processo. Porém, ainda esse processo de crescimento axonal, não está completamente esclarecido.

Em uma nova técnica de reparo término-lateral pelo método helicoidal de neurografia, introduzida por Yan et al. (2002a), é aberta uma janela epineural maior (quatro milímetros) na face lateral do nervo tibial intacto, para unir a superfície em uma angulação de 30° (oblíqua) ao coto distal do nervo fibular seccionado. Os resultados mostrados na análise funcional e morfológica foram significativamente melhores nos animais reparados com essa técnica, comparados aos da neurografia término-lateral convencional (transversal ou 90°). Os autores referem o uso dessa técnica em casos clínicos de reparo de nervo, cujos resultados serão publicados no futuro.

Em trabalho clínico, Bertelli & Ghizoni (2003) não observaram nenhuma recuperação clínica, eletrofisiológica e histológica em pacientes submetidos ao reparo término-lateral. A recuperação somente foi constatada quando realizada a transferência fascicular.

Com fixação término-lateral do nervo fibular ao nervo tibial intacto, mas com abertura do epineuro, tanto a fresco como pré-degenerado, Jaber et al. (2003) não encontraram diferenças estatísticas na contagem de fibras nervosas. Porém o número de fibras nervosas encontradas foram insuficientes para resultar na recuperação funcional do órgão-alvo.

Oğün et al. (2003) utilizaram a neurografia término-lateral em três pacientes com grande perda do nervo mediano (de 15 a 22 cm), consideradas irreparáveis utilizando enxerto de nervo. Observaram retorno sensitivo na região correspondente ao nervo mediano nos três casos e retorno motor em apenas um paciente, após 32-38 meses de acompanhamento, mostrando ser o reparo término-lateral uma alternativa viável para o enxerto nervoso em pacientes com perdas longas.

Papalia et al. (2003) mostraram em estudos morfológico e funcional, a recuperação funcional parcial e progressiva atingindo 20% do normal, do nervo mediano que foi suturado ao nervo ulnar através de neurografia término-lateral. Foram detectadas fibras de nervo regenerado em todos os nervos medianos reparados, porém foram detectados sinais de atrofia das fibras do nervo ulnar, distal ao local de sutura, sugerindo a ocorrência de possíveis danos ao nervo doador. Tal fato não pode ser relevado na perspectiva clínica da utilização dessa técnica

Utilizando a neurografia término-lateral, com enxertos de nervo, de veia e de veia preenchido com músculo esquelético fresco, e realizando a análise em períodos de 2, 4, 8, 12, 20 e 28 semanas, utilizando como avaliação funcional a análise da marcha e o estudo morfométrico e ultra-estrutural, Encontraram diferenças significativas entre todos os grupos nas análises da marcha e diâmetro das fibras. Tendo concluído que a neurografia término-lateral é uma boa alternativa combinada com o uso de enxerto nervoso e enxerto venoso, mas não o é com enxerto de veia preenchida com músculo (Ulür et al., 2003).

Seis meses após reparo, Xiong et al. (2003) confirmaram a ocorrência de brotamento colateral após neurorrafia término-lateral, através da dupla-marcação retrógrada e avaliação eletrofisiológica. Realizaram uma marcação única dos neurônios sensitivos e motores nos grupos controle normal e coaptação término-terminal, enquanto nos grupos do reparo término-lateral identificaram alguns neurônios duplamente marcados. A velocidade de condução foi significativamente mais lenta aos quatro meses após a cirurgia do que o controle normal, porém nenhuma diferença foi encontrada no sexto mês pós-cirurgia.

Gigo-Benato et al. (2004) testaram a bioestimulação com laser de baixa-potência após reparo nervoso através da neurorrafia término-lateral. Observaram que a laserterapia levou a uma recuperação funcional, recuperação da massa muscular e mielinização das fibras nervosas mais rápidas, principalmente quando se utilizou a emissão combinada pulso-contínuo.

Os resultados de 13 pacientes, que tiveram avulsão do plexo braquial e foram tratados com neurorrafia término-lateral do nervo axilar, foram apresentados por Haninec et al. (2004) e comparados com estudo experimental em rato da neurorrafia término-lateral do nervo musculocutâneo ao nervo ulnar. Constataram bons resultados nos pacientes (75% de recuperação funcional), após acompanhamento por 24 meses. Enquanto no modelo experimental, a reinervação do músculo bíceps foi encontrada aos três meses pós-cirurgia, observando-se tanto regeneração por brotamento colateral como diretamente do nervo musculocutâneo.

Para observar os axônios regenerados no local da coaptação, Hayashi et al. (2004) observaram experimentalmente, através de exames histológicos e eletrofisiológicos, conjuntamente com a microscopia confocal, que a regeneração nervosa após o reparo término-lateral, com ou sem janela perineural, ocorre através do brotamento colateral dos axônios do nervo doador.

Em trabalho de revisão das pesquisas após neurorrafia término-lateral realizado por Myckatyn & Mackinnon (2004) observaram que geralmente são realizados com nervo sensitivo e que os resultados estão relacionados com o grau de lesão dos axônios durante a execução da epineurotomia ou perineurotomia.

Utilizando ratos transgênicos que expressam proteína fluorescente amarela nos neurônios periféricos, Myckatyn et al. (2004), estudaram o reparo nervoso por meio de neurografia, enxerto e neurografia término-lateral e concluíram que o uso desses animais associados à microscopia fluorescente constituiu em uma metodologia importante no estudo do crescimento axonal após uma lesão nervosa periférica.

Ozmen et al. (2004) constataram experimentalmente que a neurografia término-lateral apresentou melhores resultados funcionais e histomorfométricos quando se realizou a excisão do epineuro e introdução do coto distal no nervo doador, comparado a execução apenas da neurografia epineural com ou sem janela epineural.

Em estudo sobre o tamanho ideal da janela epineural para o reparo nervoso periférico através da neurografia término-lateral, Walker et al. (2004) também observaram o efeito na arquitetura da barreira hemato-neural e a perda funcional no nervo doador de axônios e constataram maior número de fibras no grupo com janela epineural de cinco milímetros e um colapso na arquitetura da barreira hemato-nervosa, que se resolveu na 4ª semana pós-operatória.

Outros pesquisadores corroboraram os achados de Noah et al. (1997a) de que o epineuro formaria uma barreira parcial para regeneração axonal e que sua remoção não afeta a estrutura e função do nervo doador.

Investigando, clínica e experimentalmente, as neurografias término-lateral e látero-lateral, Yüksel et al. (2004), concluíram que são escolhas razoáveis, prudentes e científicas para o tratamento de alguns casos desafiantes de lesões nervosas.

Em estudo para investigar o valor da técnica de reparo nervoso periférico, através neurografia término-lateral, em tratamento de paralisia de corda vocal foi realizado por Liu et al., (2005) em ratos Sprague-Dawley. A laringoscopia e eletromiografia nervosa foram usadas para avaliar os resultados, constatando que o reparo através da neurografia término-lateral não levou ao movimento da corda vocal.

Voche & Ouattara (2005) utilizaram clinicamente a neurorrafia término-lateral, com janela de epineuro, para tratar lesões nervosas traumáticas da palma e dedos da mão. Constataram recuperação sensitiva, concluindo que esse tipo de técnica foi eficaz e apresentou resultados comparáveis ao do enxerto nervoso e condutos de veia.

Em análise retrospectiva de um período de 24 até 50 meses, utilizando a neurorrafia término-lateral em lesões de plexo braquial obstétrico, Pondaag & Gilbert (2008) concluíram que na maioria dos pacientes houve recuperação, porém com função limitada.

1.11. Enxerto de Nervo

Em experimentos sobre reparo nervoso a que ocorreram há mais de 100 anos, realizados em cachorros por Philipeaux (1863) e Vulpian (1870) foi verificada a performance do então enxerto nervoso alogênico e autogênico, (Dellon & Lee Dellon, 1993). Desde então, tem aumentado o interesse em conhecerem-se detalhes do processo de regeneração nervosa, bem como pela descoberta de novas técnicas de reparo nervoso periférico (Reis, 1999).

O estudo de transplantes experimentais de nervos periféricos tem sido de grande valia para melhor entendimento dos fatores promotores e limitantes da regeneração do sistema nervoso periférico, assim como do papel relativo dos componentes celulares neurais e não neurais neste processo (Glass et al., 1993; Evans et al., 1994; Oliveira, 1996).

Roitt et al. (1993) descreveram quatro tipos de transplantes de tecidos ou órgãos, que são classificados levando-se em conta a procedência do enxerto e do receptor. Assim, denomina-se autoenxerto o procedimento onde o doador e o receptor são do mesmo indivíduo; isoenxerto, quando o doador e o receptor pertencem a linhagens isogênicas ou são irmãos univitelinos; aloenxertos, quando doador e o receptor pertencem à mesma espécie e xenoenxertos, quando o doador e o receptor são de distintas espécies.

Clinicamente e experimentalmente a maior barreira a ser superada no emprego dos aloenxertos e xenoenxertos é a resposta imunológica do receptor, a qual desencadeia uma série de reações que levam à rejeição e subsequente necrose do enxerto (Barker & Billingham, 1971; Takahata et al., 1993; Oliveira 1996).

O nervo sural é o mais utilizado como enxerto autogênico, para substituir um nervo lesado, mesmo sendo ele um nervo sensitivo (Bunnell, 1927; Sunderland, 1978; Hudson et al., 1979; Millesi, 1982; Viterbo et al., 1993a; Reis, 1999). O problema dessa técnica surge quando o calibre do nervo lesado é maior que o do nervo sural, tornando necessário o uso de vários segmentos do nervo doador, técnica conhecida como “cable graft”. Neste caso, o grande número de suturas leva à formação de fibrose, com conseqüente isquemia na região do enxerto. No caso de um segmento nervoso muito grande, o nervo doador pode ser insuficiente para o reparo.

Como conseqüência da remoção do nervo sural, Fawcett & Keynes (1990) exaltaram a perda da sensibilidade. Porém, em trabalho realizado por Viterbo et al. (1993a), uma neurrrafia término-lateral entre o coto distal do nervo sural e o nervo fibular superficial devolve a sensibilidade perdida nesta região.

Gulati (1988) observou que nos enxertos nervosos, a lâmina basal das células de Schwann possui componentes como a laminina e a fibronectina que estimulam o crescimento axonal *in vivo* e *in vitro*. Entretanto pouco se sabe em relação ao mecanismo de controle da regeneração nervosa *in vivo* pela laminina e fibronectina (Wang et al., 1992b).

1.12 Neurotização Muscular Direta

É a implantação de uma extremidade de nervo ou de segmento nervoso entre as fibras de um músculo paralisado, sendo indicada para restaurar a função muscular somente quando o trauma ou lesão levar à perda da junção neuromuscular (Becker et al., 2002).

O primeiro a utilizar o termo neurotização para descrever o brotamento axonal em coaptação nervosa foi Spitzky em 1904 (apud Askar et al., 2001).

Na neurotização muscular direta, a base biológica é que um músculo desnervado pode aceitar uma nova inervação por outro nervo não originário, mesmo em uma zona aneural, porque sua sensibilidade à acetilcolina está presente em todo o músculo, enquanto em um músculo normalmente innervado essa sensibilidade está confinada nas placas motoras (Brunelli et al., 1990).

A neurotização foi introduzida na neurocirurgia no começo do século XX, tendo como pioneiros Hacker (1908), que a utilizou em um caso clínico, e Heineke (1914), que realizou estudo experimental. Estudos subseqüentes foram realizados por Steindler, Erlacher e Elsberg (apud Askar et al, 2001; Becker et al., 2002).

Em trabalho experimental com cães, Sorbie & Porter (1969) implantaram um fascículo nervoso motor do músculo flexor ulnar do carpo no ventre do músculo flexor radial do carpo, obtiveram, na avaliação da força muscular, resultado com ampla dispersão, indo de 44 a 94% da força original. Na histologia, do tecido muscular apresentou quantidade significativa de fibras degeneradas, e constataram também que as placas motoras estavam concentradas ao redor do nervo implantado.

Na mesma linha de avaliação e modelo animal, Sakellaride et al. (1972) encontraram 60-75% da função muscular primordial e aspecto muscular macroscópico muito próximo do normal. Porém, o nervo foi dividido em 2 ou 3 fascículos previamente à neurotização.

Brunelli & Monini em 1985 verificaram a possibilidade de novas placas motoras se formarem após o crescimento axonal. Realizaram o sepultamento de um ramo motor na zona 'aneural' do músculo gastrocnêmio de coelho. Após quatro semanas de observação, juntamente com a recuperação funcional, foram encontradas, em corte histológico, novas placas motoras.

Na implantação do coto proximal do nervo seccionado entre as fibras musculares, Mackinnon et al. (1985a) observaram ao final do período pós-operatório a formação de um neuroma pequeno contido pelo músculo.

Brunelli et al. (1990) apresentaram os resultados da neurotização muscular direta em zonas aneurais, realizados em 47 casos clínicos de secção traumática ou cirúrgica de nervo, sendo que 42 apresentaram resultados bons ou muito bons.

Gaillard & Horvat (1993 – 1994), criaram um modelo de enxerto nervoso autólogo em rato adulto, tipo ponte, entre a medula cervical e o músculo bíceps braquial. Em um dos grupos experimentais, realizaram a neurotização direta entre as fibras do músculo desnervado e observaram placas ectópicas ao redor do ponto de implantação do enxerto. Embora tenha ocorrido regeneração axonal, não foi suficiente para a recuperação motora.

Mackinnon et al. em 1993 utilizaram a neurotização muscular direta clinicamente com sucesso no tratamento da lesão do nervo tibial posterior. Eletrodiagnóstico e exame clínico sugeriram que esse procedimento foi responsável pela recuperação funcional, comprovando que a neurotização pode ser considerada uma técnica de salvação para alguns casos específicos.

Estudo pioneiro da identificação e quantificação de placas motoras, reinervadas após neurotização muscular direta, foi realizado por Payne & Brushart, em 1997, que examinaram o efeito da distância entre o implante nervoso e a zona de placas motoras nativas. Os resultados demonstraram que essa distância influencia a morfologia da reinervação das placas motoras nativas e ectópicas.

Zhang et al. (1997) realizaram estudo comparativo da preservação da massa muscular após a desnervação muscular e posterior reparo através da reinervação direta, da neurotização e do retalho de músculo livre transplantado. No grupo reinervação, no grupo neurotização do músculo e no grupo do retalho, foram realizadas com nervos sensitivo e motor. Após seis meses, o peso médio do músculo reinervado pela neurotização com nervo motor foi muito bem preservado, enquanto que, com o nervo sensitivo, produziu efeitos tróficos menores. Em retalho muscular livre transplantado, a reinervação direta com ambos os nervos, motor ou sensitivo, resultou em uma preservação melhorada da massa muscular, pois nem a neurotização sensitiva nem a motora foi significativamente efetiva no modelo de retalho. Tais dados sugerem que o transplante pode alterar a resposta do nervo à reinervação.

Em estudo da técnica de neurotização muscular direta, Parck et al (2000), reinervaram o músculo sóleo desnervado de rato com seu nervo original e com um nervo diferente. Observaram a presença de novas placas motoras conectadas através de brotamento axonal, e não encontraram diferença específica no processo de regeneração entre a neurotização com nervo original e adjacente.

Um estudo comparativo de três técnicas de neurotização foi realizado em 40 coelhos, divididos em quatro grupos. No grupo controle, realizou-se apenas a exposição cirúrgica do músculo gastrocnêmio e dos nervos tibial e fibular. No grupo neurotização direta, o nervo fibular foi implantado na cabeça lateral do músculo gastrocnêmio desnervado. No grupo neurotização dupla, o nervo tibial foi seccionado e anastomosado novamente término-terminal e o nervo fibular foi implantado no músculo gastrocnêmio. No grupo 'hiperneurotização', o nervo fibular foi implantado no músculo gastrocnêmio normal. Após seis meses, constataram que todos os grupos mostraram recuperação funcional. Os grupos que tiveram o nervo tibial seccionado apresentaram menor peso muscular. Concluíram que a neurotização direta e dupla é útil se não for possível reinervação muscular através da neurografia e enxerto nervoso, e que não houve superioridade entre os métodos utilizados (Askar et al., 2001).

Estudos experimentais realizados desde 1994 com macacos (*macaca fascicularis*), empregando a neurotização muscular direta, foram relatados por Brunelli (2001). Esse autor utilizou enxerto nervoso autólogo para unir os motoneurônios pré-sinápticos da medula espinhal aos músculos da coxa. Conexões funcionais foram estabelecidas e confirmadas por exames físicos, eletrofisiológicos e histológicos, abrindo novas perspectivas para reparos de lesões da medula espinhal através dessa técnica.

Papalia et al. (2001) utilizaram a neurografia término-lateral e a neurotização muscular direta, em uma região lateral ao ponto motor do músculo tibial anterior. Decorridas 16 semanas, os resultados morfológicos demonstraram boa reinervação dos músculos privados de qualquer conexão nervosa, com cerca de 1/3 do peso do músculo normal, também presença de discreta fibrose no local da sutura término-lateral e brotos axonais em todos os níveis do nervo, embora em menor quantidade que no nervo fibular normal. Algumas fibras musculares atroficas estavam espalhadas sobre as fibras musculares normais. Placas motoras normais e em degeneração, foram observadas.

Em estudo comparativo experimental realizado por Askar & Sabuncuoglu (2002) sobre a profundidade de implantação do nervo motor separado na zona aneural da cabeça lateral do músculo gastrocnêmio, constataram, através de análise funcional, formação de placas motoras de maneira dispersa em ambos os grupos, porém mais densas no grupo implantação superficial do que no grupo implantação profunda.

Becker et al. (2002) introduziram uma modificação na técnica de neurotização muscular direta, separando o coto distal do enxerto em várias ramificações, à semelhança do aspecto normal da inervação motora originária. Constataram em 10 pacientes a restauração dos movimentos musculares e com força considerável (M3 e M4).

Estudo dos efeitos do fator de crescimento nervoso (FCN), injetado diretamente no músculo, foi realizado, após reparo de músculo desnervado através da técnica de neurotização muscular direta. Avaliações eletromiográficas foram realizadas 8, 10 e 12 semanas pós-cirurgia. Após esse período, foram realizadas as análises de contratilidade, do peso muscular e morfométrica. O grupo com a aplicação do FCN apresentou melhores resultados em todos os parâmetros avaliados, confirmando os efeitos positivos desta neurotrofina em algumas reconstruções difíceis causadas pela desnervação (Menderes et al., 2002).

Fukuda et al. (2005) investigaram o reparo nervoso através da neurotização direta do nervo no músculo, combinada com o transplante de células de Schwann, observaram que ocorreu um aumento na recuperação funcional do músculo.

Keilhoff & Fansa (2005) constataram experimentalmente que quanto mais precoce for realizado o reparo nervoso periférico melhor o nível de regeneração. Em seu trabalho, utilizaram a neurotização intramuscular direta do nervo ciático aos fascículos do músculo grácil, após secção do nervo obturador, em períodos diferentes (imediate, duas, quatro, seis e oito semanas).

Através da maior compreensão da neurobiologia da regeneração nervosa, o cirurgião que estiver lidando com paciente portador de nervo lesado pode ter um novo otimismo em relação ao tratamento cirúrgico. O reparo mudará de um

procedimento principalmente mecânico e anatômico para um procedimento influenciado pela neuroimunologia e neurobiologia da regeneração nervosa (Mackinnon, 1989).

Embora os resultados após o reparo tenham melhorado a função normal nunca é restaurada e o resultado médio ainda está longe da excelência (Mackinnon, 1989). Os problemas associados à recuperação funcional, após lesões, certamente continuarão a frustrar e estimular pesquisadores por muitos anos ainda.

1.13 Plexo Braquial

A avulsão das raízes do plexo braquial é considerada um tipo de lesão do sistema nervoso central, sendo seu tratamento cirúrgico desafiador (Carlstedt et al., 1995).

O primeiro relato registrado sobre a paralisia do plexo braquial ao nascimento foi feito por William Smellie, sobre ofício de parteira (Smellie, 1764).

No final do século XIX, o neurologista francês, Guillaume Duchenne, descreveu como sendo a causa da lesão, a tração exercida no braço e no ombro da criança durante o parto, criando o nome de paralisia do plexo braquial obstétrico (Duchene, 1872).

Nesta mesma época, o neurologista alemão, Wilhelm Erb, identificou os nervos lesados e os correspondentes músculos afetados. Através de observação anatômica, Erb descobriu a exata localização da lesão nervosa que era em C5 e C6. A enfermidade, conhecida como paralisia de Erb, determina o braço na posição em extensão, rodado internamente, o punho em flexão e dedos em extensão, postura conhecida como “waiter’s tip hand”, ou mão de garçom pegando gorgeta de forma discreta (Erb, 1874).

Em 1885, Klumpke descreveu lesão de C8 e T1 em paralisia obstétrica comprometendo os músculos da mão e também a pupila do olho do mesmo lado, que foi denominado de Sinal de Horner (Klumpke, 1885).

A primeira reportagem sobre a cirurgia do plexo braquial ao nascimento foi feita no início dos anos de 1900 (Thornburn, 1903).

Entretanto, na primeira parte do século, Sever (1925) publicou que na maioria das vezes, o tratamento cirúrgico não foi bem sucedido com elevado índice de problemas associados ou até mesmo morte, sendo, então, praticamente abandonado.

1.14 Anatomia do Plexo Braquial

O plexo braquial é formado por 4 raízes ventrais cervicais, C5, C6, C7, C8 e uma raiz ventral torácica, T1, que se convergem extraforaminal para formarem os troncos. C6 se une a C5 formando o tronco superior, C7 continua sozinha e forma o tronco médio, C8 e T1 se unem e formam tronco inferior. Os troncos se dividem em anterior e posterior ao nível da clavícula. As divisões posteriores formam o fascículo posterior. As divisões anteriores do tronco superior e do tronco médio formam o fascículo lateral. A divisão anterior do tronco inferior se continua como fascículo medial. Os fascículos são distais à clavícula, sendo seus ramos denominados de plexo infraclavicular. Dos fascículos saem os ramos terminais, denominados de nervo mediano, nervo ulnar, nervo musculocutâneo, nervo radial, nervo peitoral lateral, nervo axilar e nervo toracodorsal (Kim et al., 2003).

1.15 Reparações das Lesões do Plexo Braquial

As lesões traumáticas do plexo braquial são usualmente devidas à alta velocidade de automóveis e motocicletas. Também podem ocorrer por tumores, irradiação, compressão e ferimentos penetrantes (Spinner et al., 2005). Segundo Federação Nacional da Distribuição de Veículos Automotores (Fenabrave), a estatística de venda de motos de até 150 cilindradas em maio de 2008, foi de 107.674 mil unidades, sendo a previsão para o ano de 2008 do total de 507.123 unidades.

Segundo Narakas (1987), 70 % das lesões de plexo braquial em adultos envolvem avulsão de raízes.

A maioria das lesões do plexo braquial são supraclaviculares fechadas. O manejo cirúrgico nestas lesões é bem estabelecido. O reparo do nervo suturando o coto proximal com distal é possível somente em 25% dos casos. No restante dos casos, necessitam-se de nervos doadores, que podem ser do mesmo lado do plexo braquial, como o nervo intercostal, frênico, espinhal acessório e nervos derivados do plexo braquial contralateral, sendo o mais utilizado a raiz de C7. Também são doadores, nervos que não foram lesadas como torácico longo, peitoral, ulnar (Birch et al., 1998; Terzis et al., 2001; Sananpanich, 2002).

Na década de 60, uma nova abordagem nas lesões do plexo braquial foi proposta por Millesi e Narakas, independentes cada um, usando técnicas microcirúrgicas com enxertos em tronco e cordas rompidas (Millesi 1988; Narakas, 1990).

As estratégias para a reconstrução do plexo braquial variam, porém o objetivo de muitas cirurgias é a reconstrução do ombro e cotovelo para proporcionar estabilidade ao membro superior e permitir o uso dele como um gancho (Millesi, 1988).

As técnicas para reconstrução das estruturas nervosas danificadas no plexo braquial irão depender do tipo de lesão apresentada (Seddon, 1975).

A transferência do nervo acessório para o nervo supraescapular é muito usada na reconstrução da abdução e rotação externa (Bertelli, 2006).

A transferência do nervo intercostal se tornou popular. Ela é freqüentemente utilizada para reinervação do músculo bíceps ou para reinervação dos músculos livres transferidos (Spinner et al., 2005).

O nervo frênico e C7 contralateral são opções em casos de nervos doadores limitados. O nervo frênico pode ser utilizado para a neurotização do nervo supraescapular (Xu et al., 2003; Spinner., 2005).

A raiz de C7 contralateral possui grande número de fibras nervosas e tem sido utilizada para a restauração da flexão do cotovelo e ombro, bem como na restauração da função de pinça (Gu, YD 1989; Chuang et al., 1993; Songcharoen et al., 2001).

Songcharoen et al. (2001) têm utilizado o nervo ulnar vascularizado para reinervar o nervo mediano.

As transferências utilizando o nervo hipoglosso têm apresentado resultados pobres e devido a isso, seu uso foi abandonado (Malessy et al., 1999; Ferraresi et al., 2002).

Neurotizações intraplexo acontecem quando existem possíveis doadores, como o nervo toracodorsal (Gu et al., 2003).

Oberlin et al. (1994) mostraram ser possível restaurar a contração do bíceps de forma efetiva usando fascículos do nervo ulnar, sem causar grande disfunção.

Franciosi et al. (1998) utilizaram o nervo ulnar como doador para o nervo musculocutâneo com neurorrafia término-lateral e obtiveram contração efetiva do músculo bíceps.

Em lesões antigas com atrofia irreversível, a transferência de músculo livre, geralmente o músculo grácil, tem sido utilizada para obter-se flexão do cotovelo e a extensão do punho (Akasaka et al., 1990).

Doi et al. (2000) realizaram a transferência dupla de músculos livres para flexão do cotovelo e extensão e flexão dos dedos.

Uma alternativa usando neurorrafia término-lateral, sem nenhuma lesão nos nervos do plexo braquial ou nos nervos doadores, foi proposta por Viterbo et al. (1994d, 1995, 2000, 2003, 2005). Denominada “Robin Hood”, a técnica proposta por estes autores, constitui-se na interposição de três a seis enxertos de nervo sural unindo, com neurorrafias término-laterais, os três fascículos do plexo braquial na região infraclavicular. Outra técnica, conseqüência desta primeira, foi chamada por estes mesmos autores, de “Robin Hood expandido”. Nesta, além dos enxertos descritos na primeira, acrescenta-se enxertos tipo “bypass” sobre os eventuais neuromas, e múltiplos enxertos unindo o nervo acessório ao supraescapular, o nervo frênico ao plexo braquial e também, alguns nervos intercostais ao plexo braquial.

1.16 Anatomia do Plexo Braquial do Rato

Existe uma grande semelhança do plexo braquial do rato e do homem (Bertelli, 1992, 1995; Chen & Gu 1994; Cao et al., 2003), o que constitui excelente modelo de experimentação para estudos em lesões no plexo braquial.

O plexo braquial do rato é formado por quatro raízes cervicais (C5, C6, C7 e C8) e a primeira raiz torácica (T1). Estas raízes são formadas pela união dos ramos ventrais (motor) e do ramo dorsal (sensitivo). A união de C5 e C6 forma o tronco superior. C7 sozinho forma o tronco médio e C8 e T1 formam o tronco inferior (Fig. 1) (Rodrigues-Filho et al., 2003).

A união dos ramos anteriores de todos os troncos forma a corda lateral de onde sai o nervo musculocutâneo. Da corda medial saem o nervo mediano, ulnar e ramos cutâneos para o antebraço. Os ramos posteriores formam a corda posterior, de onde saem o nervo axilar e radial (Fig. 2) (Bertelli 1992, 1995; Rodrigues-Filho et al., 2003).

Ao contrário do plexo braquial humano, o plexo braquial do rato é totalmente infraclavicular (Bertelli, 1993).

Nos humanos, os nervos mediano e ulnar contribuem para inervar ambos os músculos intrínsecos e extrínsecos (Kozin et al., 1999). No rato é clara a distinção na inervação dos músculos intrínsecos e extrínsecos que permite a diferenciação da função destes dois nervos na atividade de preensão (Papalia et al., 2003a; Bertelli & Mira, 1995). O nervo mediano inerva os músculos extrínsecos, enquanto o nervo ulnar controla os músculos intrínsecos, com a exceção do flexor curto do polegar. Assim a força de preensão é controlada pelo nervo mediano através de sua ação sobre a flexão das falanges distais, enquanto a coordenação da preensão é dada pelo nervo ulnar através da sua ação nos movimentos finos de lateralidade, rotação e oposição das falanges e dos metacarpos (Papalia et al., 2006).

Outra diferença anatômica descrita por Bertelli & Mira (1995) entre o plexo braquial do humano e do rato, é a ausência do músculo bráquio-radial e a inervação dos músculos flexores superficiais dos dedos é realizada somente pelo nervo mediano, sendo que o nervo ulnar inerva somente o flexor ulnar do carpo.

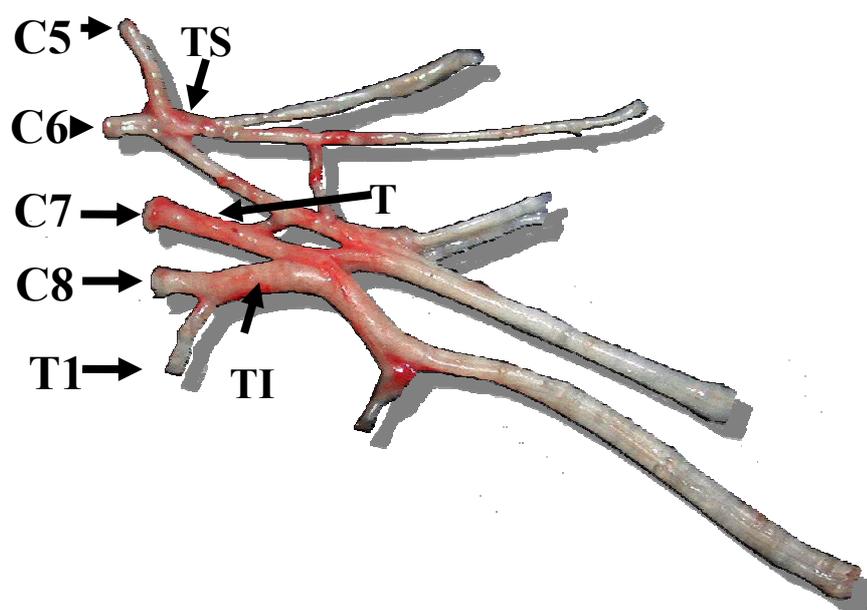


Figura 1 – Visualização do plexo braquial do rato com suas raízes C5, C6, C7, C8 e T1, troncos superior (TS), médio (TM) e inferior (TI).

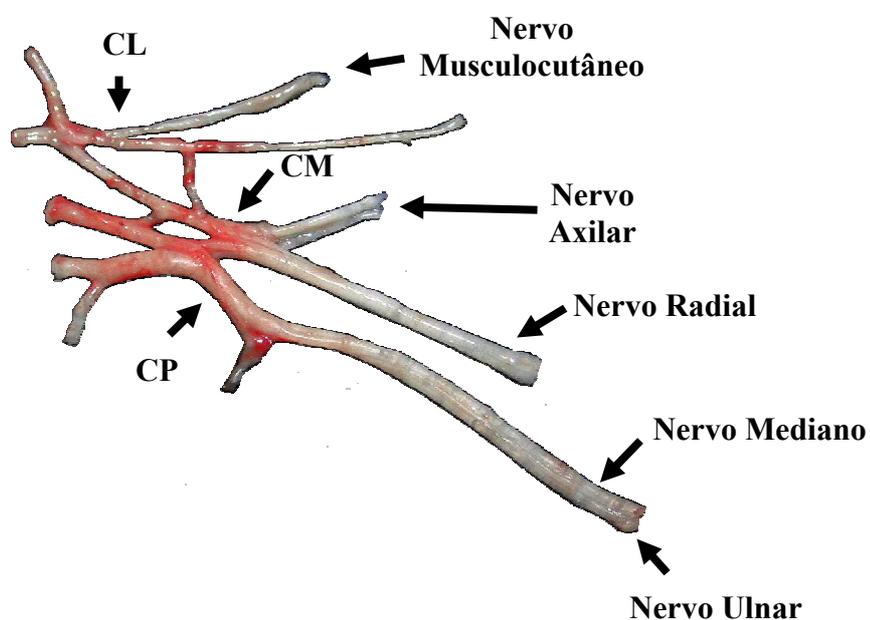


Figura 2 – Visualização do plexo braquial do rato com suas cordas lateral (CL), medial (CM) e posterior (CP) e ramificações terminais, nervos musculocutâneo, axilar, radial, mediano e ulnar.

1.17 Considerações Finais

Considerando que o número de lesões do plexo braquial está crescendo cada vez mais; que o número de motocicletas em circulação está aumentando devido ao baixo custo destes veículos; que a motocicleta não oferece nenhuma proteção ao condutor; que a gravidade destas lesões está cada vez maior; que as técnicas tradicionais implicam em extensos enxertos de nervo e sacrifício de nervos doadores; que a neurografia término-lateral não lesa nenhum nervo e assim qualquer nervo torna-se doador em potencial; que a experiência clínica com a técnica “Robin Hood” e “Robin Hood expandido” mostrou bons resultados, embora os mesmos pudessem ser devidos a uma recuperação espontânea, decidimos esclarecer esta dúvida com este trabalho experimental.

2. Objetivo

O objetivo deste trabalho foi verificar a possibilidade de reinervar-se um tronco do plexo braquial parcialmente lesado com axônios oriundos de outros troncos do mesmo plexo, utilizando enxertos e neurorrafias término-laterais.

3. Método

3.1 Animais e Grupos Experimentais

Foram utilizados 30 ratos (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar, adultos, machos, pesando entre 93,2 e 136,4 g, com média de 122 g (+/- 5,41), provenientes do Biotério Central da UNESP – Campus de Botucatu - SP.

Após as cirurgias, os animais foram mantidos em caixas apropriadas, recebendo água e ração “*ad libitum*”, sem restrições na movimentação, respeitando-se ciclos de 12 horas de luz, em temperatura média de 24°C ($\pm 0,5$), no Biotério do Laboratório de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia e Ortopedia da Faculdade de Medicina – UNESP – Botucatu.

Todos os procedimentos experimentais realizados obedeceram aos Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), protocolo n° 367 (anexo), aprovado em reunião da Comissão de Ética na Experimentação Animal, realizada em 19 de novembro de 2003.

Os 30 animais foram distribuídos em três grupos experimentais, com 10 ratos cada, assim constituídos:

1- GRUPO NEURORRAFIA (GN). Nos animais desse grupo foram submetidos à lesão por avulsão total do tronco inferior do plexo braquial (PB) e retirada do nervo sural. Após, sutura de duas pontes do nervo sural intraplexo com neurorrafia término-lateral.

2- GRUPO DESNERVADO (GD). Nos animais desse grupo realizaram-se uma lesão do plexo braquial por avulsão e a retirada do nervo sural.

3- GRUPO CONTROLE (GC): Os animais pertencentes a este grupo não foram submetidos a nenhum procedimento cirúrgico.

3.2 Procedimentos Cirúrgicos

Todos os procedimentos cirúrgicos e de coleta foram realizados por uma única pessoa, a autora deste trabalho, padronizados nos três grupos experimentais.

Os animais foram previamente pesados e submetidos à anestesia geral, através de injeção de solução aquosa de pentobarbital sódico intra-peritoneal (30mg/kg).

Em um primeiro procedimento, colocou-se o rato em decúbito dorsal, foi realizada tonsilotomia e anti-sepsia da face ventral do membro torácico esquerdo, e, na junção da face ventral da parede torácica com o membro superior esquerdo, realizou-se uma incisão de aproximadamente dois centímetros de comprimento no sentido longitudinal do membro superior esquerdo. A seguir realizou-se divulsão dos músculos deltóide e peitoral maior esquerdo para visualização e individualização do plexo braquial e seus respectivos troncos, superior, médio e inferior.

Em seguida, com o tronco inferior individualizado, utilizou-se uma pinça halsted para avulsão total do tronco inferior da medula espinhal (Rodrigues-Filho et al., 2003). Após realizou-se fechamento da ferida operatória com pontos de fio de náilon monofilamentar 5-0. Este primeiro procedimento cirúrgico, no membro superior esquerdo, foi realizado para anular a flexão desta pata na realização do “Grasping Test”.

Em um segundo momento cirúrgico, realizou-se a tonsilotomia e anti-sepsia da face média do membro pélvico esquerdo e face ventral do tórax e membro torácico direito. Em seguida, posicionaram-se os animais em decúbito ventral na placa de cortiça e procedeu-se à fixação das patas.

Na primeira etapa desta cirurgia, efetuou-se uma incisão longitudinal no terço médio da coxa, com aproximadamente dois centímetros de comprimento; rebateu-se a pele e a tela subcutânea, para exposição e dissecação do nervo cutâneo sural caudal (Fig. 3), que foi removido (Fig.3). Após a remoção de um segmento medindo cerca de um centímetro de comprimento, esse foi mantido em solução fisiológica, à temperatura ambiente, até sua utilização final (Fig. 4).

A pele da região doadora foi suturada com pontos simples de fio de náilon monofilamentar 5-0.

Em seqüência, trocou-se a posição dos animais para decúbito dorsal e, na junção da face ventral da parede torácica com membro superior direito, realizou-se incisão de aproximadamente dois centímetros de comprimento no sentido longitudinal do membro superior direito. Efetuou-se a divulsão dos músculos deltóide e peitoral maior direito para visualização e individualização do plexo braquial e seus respectivos troncos, superior, médio e inferior (Fig 5) (Rodrigues-Filho et al., 2003)

Em seguida, com o tronco inferior individualizado, utilizou-se uma pinça halsted para avulsão total do tronco inferior da medula espinhal (Fig. 6) (Rodrigues-Filho et al., 2003). Nesta fase realizou-se sorteio para determinar a qual grupo pertenceria o animal.

No Grupo Neurorrafia foram realizadas neurorrafias término-laterais através de dois pontos simples com fio de náilon monofilamentar 10-0, sem lesão intencional e sem remoção do epineuro. O enxerto de nervo sural foi dividido em dois seguimentos de 0,5 mm cada. Os dois enxertos foram suturados tipo ponte lateral unindo o tronco superior ao tronco inferior e outro enxerto unindo o tronco médio ao tronco inferior, todas suturas livres de tensão (Fig. 7).

Já no Grupo Desnervado, realizou-se somente a avulsão total do tronco inferior, sem enxerto de nervo.

Em ambos os grupos a ferida cirúrgica foi suturada com fio de náilon monofilamentar 5-0 e os procedimentos cirúrgicos foram realizados sob microscópio cirúrgico (DF Vasconcelos), sob aumento de 10 vezes.

Durante todo o procedimento cirúrgico manteve-se o campo operatório umedecido com solução fisiológica a 0,9%.

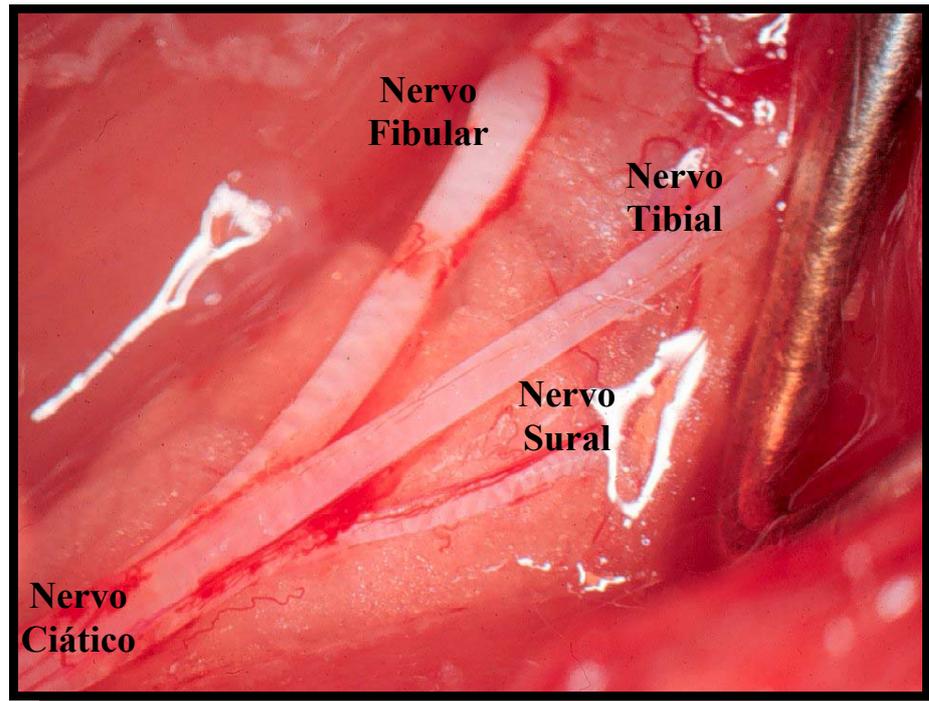


Figura 3 – Cirurgia para exposição e remoção do segmento de enxerto do nervo cutâneo sural caudal (S), evidenciando também o nervo tibial (T) e fibular comum (F) na coxa.

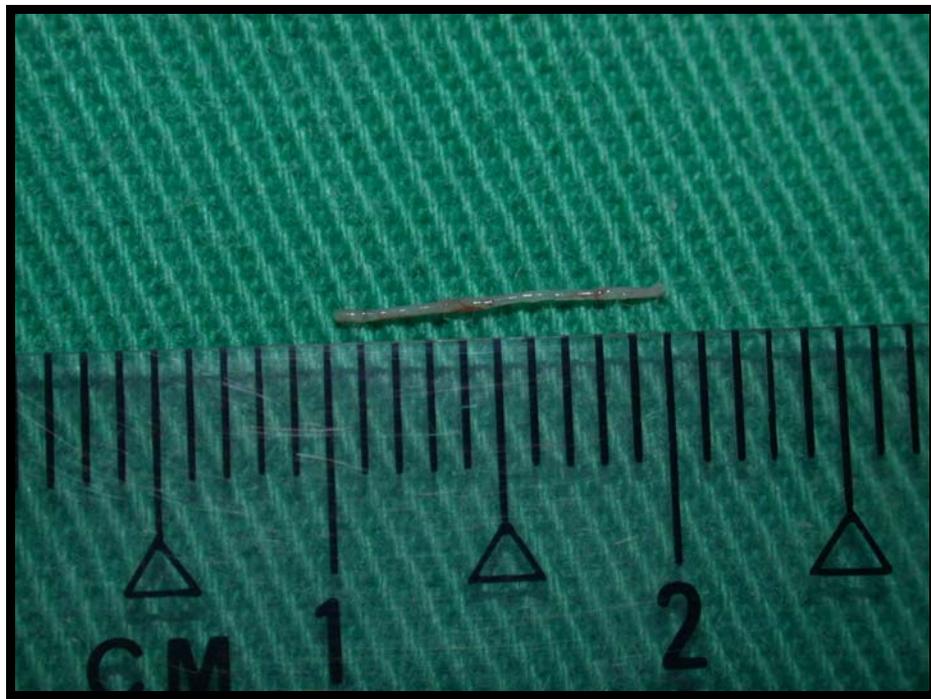


Figura 4 – Segmento de 1 cm do nervo cutâneo sural caudal (S).

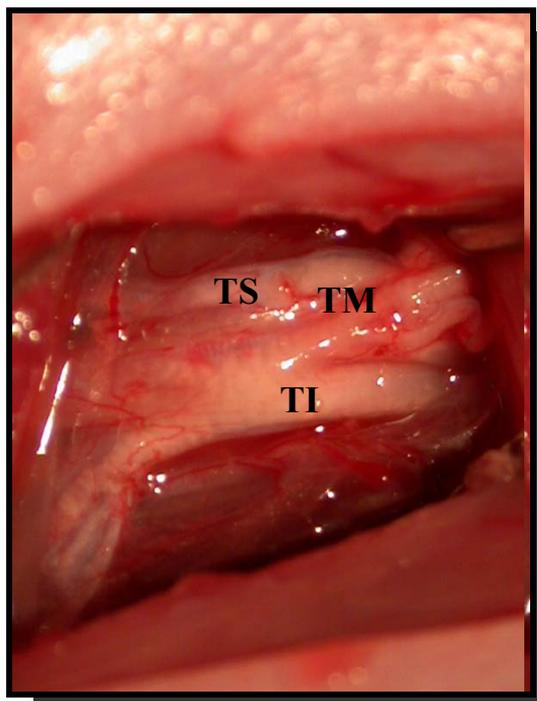


Figura 5 – Visualização do plexo braquial e seus troncos superior (TS), médio (TM) e inferior (TI), após a divulsão dos músculos peitoral e deltóide.

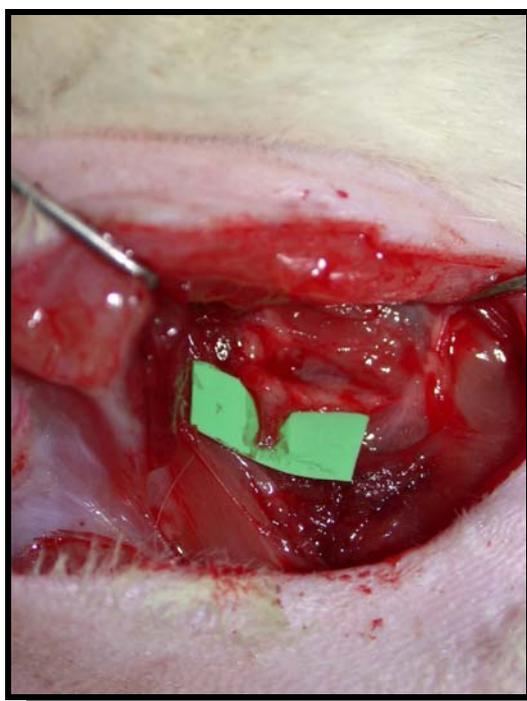


Figura 6 – Visualização do coto do tronco inferior (TI) após a avulsão total da medula espinhal com pinça halsted.

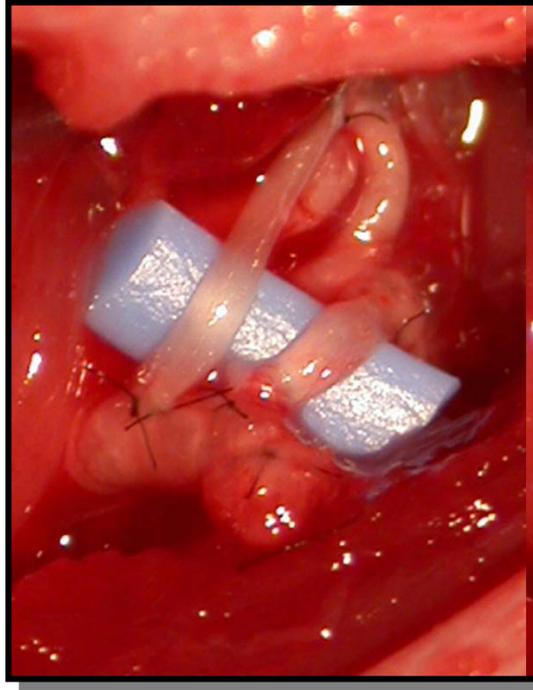


Figura 7 – Imagem do grupo neurorrafia (GN) evidenciando as duas pontes de enxerto do tronco superior (TS) e do tronco médio (TM) para o tronco inferior (TI) com sutura término-lateral.

3.3 Estudo Eletrofisiológico

Durante o procedimento cirúrgico, após dissecação do plexo braquial e isolamento do tronco inferior, realizou-se eletromiografia.

A estimulação nervosa foi feita por estimulador elétrico direto no tronco inferior do plexo braquial. A atividade elétrica do músculo foi coletada pelos eletrodos implantados no músculo flexor superficial dos dedos, utilizando-se eletromiógrafo da marca Sapphire II 4ME.

O estudo eletrofisiológico foi realizado no membro superior direito dos animais em duas ocasiões, imediatamente antes do procedimento cirúrgico e imediatamente antes da eutanásia.

3.4 “Grasping Test”

O “Grasping test” foi realizado em três oportunidades, antes do animal ser anestesiado para o procedimento cirúrgico, 24 horas após o procedimento cirúrgico e antes da eutanásia, quatro meses após.

Para a realização deste teste, o rato foi gentilmente apreendido pela cauda sobre uma grade conectada a balança eletrônica. O rato instintivamente faz a preensão da grade e pela cauda é tracionado até ele perder sua força e soltar a grade, o que gera um valor negativo registrado na balança. (Bertelli & Mira, 1995; Rodrigues-Filho et al., 2003; Papalia et al., 2003).

No membro torácico esquerdo foi realizada a avulsão total do tronco inferior, impedindo assim sua utilização, enquanto o membro torácico direito permaneceu livre (Bertelli & Mira, 1995).

A avaliação quantitativa é obtida medindo a força máxima que o rato gera antes dele perder a sua aderência (Papalia et al., 2003) (Fig 8).

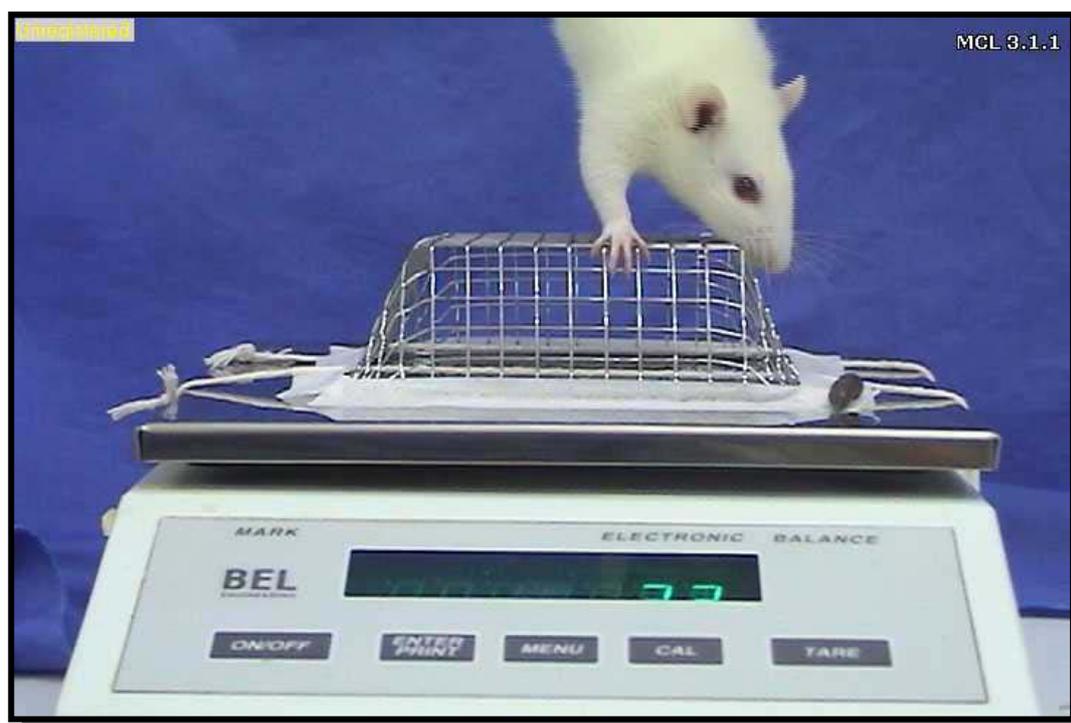


Figura 8 – Visualização da realização do “Grasping test”.

3.5 Procedimentos para Coleta de Nervos e Músculos

Na 16ª semana de pós-operatório, todos os animais foram submetidos à anestesia geral através da injeção intra-peritoneal de solução aquosa de pentobarbital sódico (30mg/kg).

Realizou-se novamente a tonsilotomia e anti-sepsia da face ventral do tórax e membro torácico direito e os animais foram posicionados em decúbito dorsal em placa de cortiça e tiveram suas patas fixadas com fitas adesivas.

Uma incisão na face ventral do membro superior e tórax do rato, seguida pela divulsão dos músculos peitoral maior e deltóide, permitiu a visualização do plexo braquial com as pontes de enxerto de nervo no GN e do coto avulsionado no GD. Efetuou-se cuidadosamente a dissecação das pontes de enxerto entre os troncos superior e inferior e entre o tronco médio e inferior, sendo coletada toda esta região em todos os animais do GN e colocada imersa em solução de Karnovsky para o processamento histológico.

Em seqüência, foi realizada a retirada do músculo flexor superficial dos dedos e colocado imerso em nitrogênio líquido destinado ao processamento histológico.

Após a coleta dos nervos e músculos de interesse, procedeu-se à eutanásia dos animais (Fontes, 1995) através da injeção de anestésico até 150 a 200 mg/kg.

3.6 Processamento para Microscopia Óptica

O processamento histológico das amostras de nervo na região de conexão do tronco inferior com o enxerto e do músculo foi realizado no Laboratório Experimental de Urologia do Departamento de Urologia da FMB-UNESP, campus de Botucatu. A amostra do nervo foi desidratada e incluída em historesina. Os blocos foram submetidos à cortes semifinos de 0,5 µm, fixados em solução de tetróxido de ósmio e posteriormente corados com azul de toluidina.

Para obtenção dos cortes semifinos, após imersão em solução de Karnovsky por 12 horas, os segmentos coletados passaram pelo seguinte protocolo de técnicas convencionais no Laboratório Experimental de Urologia do Departamento de Urologia da FMB-UNESP: foram lavados em tampão fosfato 0,1M, pH=7,3 (três vezes de quinze minutos), pós-fixados em tetróxido de ósmio a 1% (diluído em tampão fosfato de sódio, 0.1M, pH=7.3) por 2 horas, lavados em água destilada (três vezes de cinco minutos), contrastados em solução aquosa de acetato de uranila 0,5% (2-24horas), desidratados em série de concentração crescente de acetona, embebidos em mistura de Araldite® mais acetona 100% (mínimo 12 horas), infiltrados com Araldite® em estufa a 37°C por uma hora e, finalmente, os segmentos foram incluídos em Araldite® e levados para polimerização em estufa a 60°C por 48 horas. Esses blocos foram destinados a cortes transversais semifinos de 0,5 µm, corados em solução de partes iguais de azul de metileno 1%, em bórax 1%, mais Azur II 1%.

Os cortes semifinos foram realizados em três locais, sendo denominados N1, N2 e N3. N1 refere-se ao tronco inferior, comum aos grupos desnervado, neurorrafia e controle. O corte semifino realizado no enxerto entre o tronco superior e tronco inferior foi denominado N2 e no enxerto entre o tronco médio e tronco inferior de N3, sendo o N2 e N3 somente encontrados no grupo neurorrafia (Fig. 9).

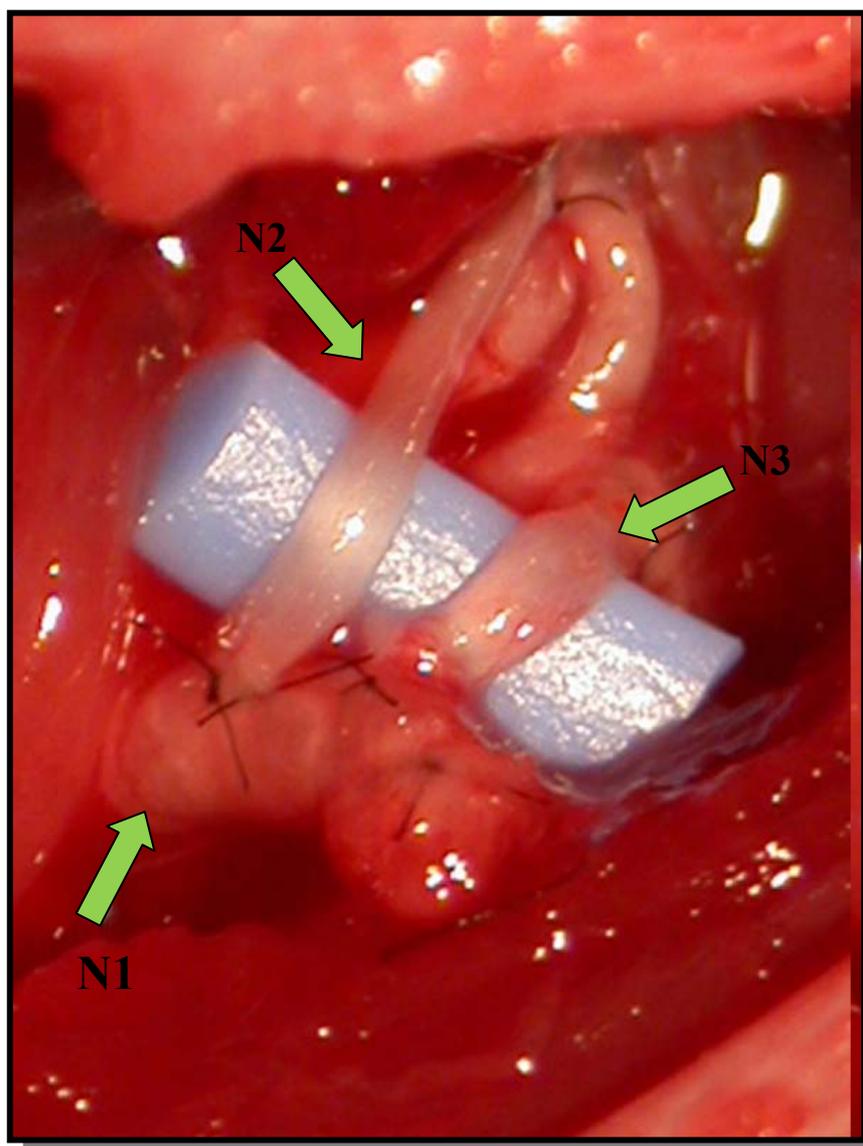


Figura 9 – Peça anatômica identificando o local dos cortes semifinos denominados de N1, N2 e N3.

3.7 Análise Estatística

A área do axônio, a área da fibra nervosa, o número de fibras nervosas e a espessura de bainha de mielina, foram avaliados pela análise de quatro campos em cada lâmina, escolhidos de forma aleatória. Toda avaliação foi realizada pela autora do trabalho.

A análise estatística foi realizada no Núcleo de Pesquisa (NUPES) da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), Rio Grande do Sul.

Para verificar as diferenças entre os grupos foram utilizados os valores de “delta” onde, $\text{delta} = (\text{valor pós} - \text{valor pré})$, para as diversas variáveis analisadas.

Quando comparados os três grupos entre si foi utilizada Análise de Variância (ANOVA) seguida pelo Teste de Tukey, se detectada diferença estatística. Se a amostra não apresentava homogeneidade, foi utilizado o teste de Kruskal-wallis.

Para análise de amostras independentes no “Grasping test” imediato, foi utilizado o teste “t” de Student.

Em todas as análises foi utilizado nível de significância $p < 0,05$.

4. Resultados

4.1 Coleta da Amostra

Do total de 30 ratos operados, um rato do Grupo Controle foi a óbito na indução anestésica do procedimento cirúrgico para retirada das amostras.

No dia da eutanásia, não foram observadas alteração na marcha ou atrofia do membro torácico direito nos animais de todos os grupos, Neurorrafia (GN), Desnervado (GD) e Controle (GC).

Na maioria dos animais, detectou-se fibrose do tecido circunvizinho ao plexo braquial manipulado e seccionado durante a cirurgia. Esse fato provocou aderência entre os músculos peitoral maior e deltóide, dificultando a visualização do plexo braquial e das neurorrafias término-laterais entre os troncos superior, médio e inferior no GN. No entanto, os enxertos e respectivas neurorrafias foram encontrados em todos os ratos do GN.

Durante a dissecação no GN observou-se diferença de diâmetro entre o tronco inferior e os enxertos de nervo sural, sendo os enxertos de menor diâmetro (Fig. 10).

Não foi observada macroscopicamente alteração na forma do músculo flexor superficial dos dedos em nenhum dos grupos, no dia da coleta dos enxertos.

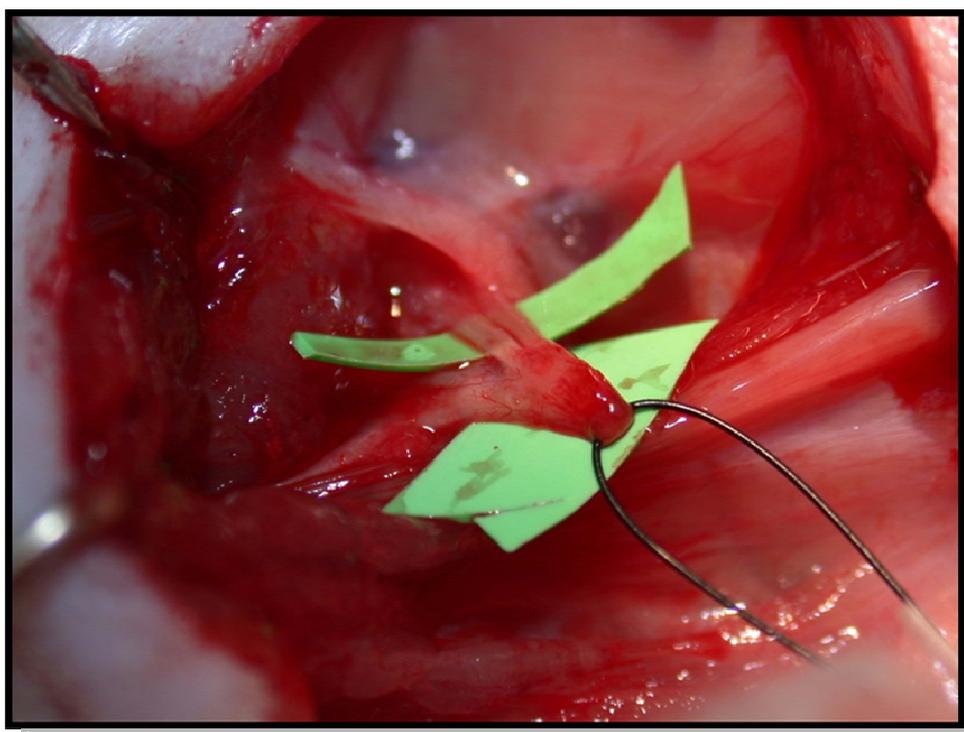


Figura 10 – Imagem do grupo neurorrafia (GN) no pós-operatório, evidenciando a integração das duas pontes de enxerto do tronco superior (TS) e do tronco médio (TM) para tronco inferior (TI) com sutura término-lateral e a diferença de diâmetro entre as pontes e o tronco inferior.

4.2 Avaliação da Massa Inicial e Final dos Animais

A média da massa inicial dos ratos no Grupo Desnervado foi de 123,33 g ($\pm 11,53$), variando de 93,2 g a 130,3 g. No Grupo Neurorrafia, foi de 118 g ($\pm 13,22$), variando de 102,3 g a 140,6 g. No Grupo Controle, foi de 113,9 g ($\pm 14,54$), variando de 95,3 g a 136,4 g. Na tabela 1, estão representados estes dados, mostrando a equivalência entre as massas iniciais dos grupos no momento da cirurgia.

A média da massa final dos ratos, em gramas, para o GD foi de 402 g ($\pm 70,61$), variando de 369,9 g a 578,8 g. Já no GN, foi de 455 g ($\pm 42,94$), variando de 407,5 g a 525,6 g. E no GC foi de 442 g ($\pm 25,01$), variando de 409,7 g a 486,5 g. Esses dados podem ser observados na tabela 1, também mostrando a equivalência entre as massas finais dos grupos no momento da coleta da amostra.

A análise de variância ANOVA para as massas em cada momento – inicial e final – entre os grupos estudados, não apresentou diferença significativa ($p=0,379$).

Tabela 1 – Atributos referentes à massa inicial e final dos ratos em gramas.

Nº do RATO	GD		GN		GC	
	Massa Inicial	Massa Final	Massa Inicial	Massa Final	Massa Inicial	Massa Final
1	120	492,8	107,6	417,6	136,4	473,2
2	120	578,8	129,2	453,1	118,5	444,1
3	126,4	510,6	118	438,6	95,3	430
4	126,6	402	140,6	481	123,9	446,4
5	130	467,9	104,4	429	125,3	422,2
6	122,6	449,9	103,3	525,6	119,6	486,5
7	130,3	369,9	126,2	443,3	96,8	467,5
8	117,4	497,6	119,2	368,8	97,8	454
9	93,2	399,8	104,9	413,4	111,5	409,7
10	106,6	571,5	102,3	407,5		
Média	119,31	451,22	114,86	438,37	113,9	445,18
DP	11,53	70,61	13,22	42,94	14,54	25,01

GD=GN=GC ($p=0,379$) ANOVA

4.3 Avaliação da Massa do Músculo Flexor dos Dedos

A média da massa do músculo flexor superficial dos dedos, em gramas, no grupo desnervado, foi 0,05 g (\pm 0,03) no qual a variação entre os animais deste grupo foi de 0,026 g a 0,064 g; no grupo neurorrafia, a média foi 0,07g (\pm 0,01), variando de 0,05 g a 0,09 g; no grupo controle, a média foi 0,06 g (\pm 0,00), variando de 0,06 g a 0,07g.

O resultado da análise de variância ANOVA, para a massa do músculo flexor superficial dos dedos dos ratos entre os grupos, não apresentaram diferenças estatisticamente significante ($p=0,446$) (Tab. 2).

Tabela 2 – Massa do músculo flexor superficial dos dedos (MFSD) em gramas. Média e desvio-padrão dos grupos.

Nº do RATO	Massa MFSD GD	Massa MFSD GN	Massa MFSD GC
1	0,15	0,05	0,06
2	0,06	0,08	0,06
3	0,04	0,06	0,06
4	0,04	0,06	0,05
5	0,04	0,07	0,06
6	0,02	0,07	0,07
7	0,04	0,07	0,06
8	0,05	0,09	0,07
9	0,04	0,04	0,07
10	0,06	0,05	
Média	0,05	0,06	0,06
DP	0,03	0,01	0,00

GD=GN=GC ($p=0,446$) ANOVA

4.4 Estudo Eletrofisiológico

Foram aferidas a latência e amplitude mediante estudo eletrofisiológico.

Latência

A média da latência no pré operatório no grupo desnervado foi 1,19 ms (\pm 0,11), variando de 1,00 ms a 1,36 ms; no grupo neurraxia a média foi 1,25 ms (\pm 0,09), variando de 1,14 ms a 1,41 ms; no grupo controle a média foi 1,28 ms (\pm 0,12), variando de 1,16 ms a 1,54 ms.

A média da latência no pós operatório no grupo desnervado foi 1,41 ms (\pm 0,44), variando de 1,20 ms a 2,37 ms; no grupo neurraxia a média foi 1,20 ms (\pm 0,00), mantendo 1,20 ms em todos os animais; no grupo controle a média foi 1,20 ms (\pm 0,00), mantendo 1,20 ms em todos animais.

Os valores foram submetidos à análise de variância ANOVA e não apresentaram diferenças estatisticamente significantes ($p = 0,069$) entre os três grupos estudados (Tab. 3). No entanto, houve dois casos dispersos (outliers) no grupo desnervado, que não conferiram homogeneidade das variâncias.

Uma alternativa foi à utilização do Teste Não-paramétrico de Kruskal-Wallis, não havendo alteração do resultado, isto é, não houve diferença estatisticamente significativa com relação à latência no pré e pós-operatório.

Amplitude

A média da amplitude no pré operatório no grupo desnervado foi 31,79 mV (\pm 5,81), variando de 21,16 mV a 44,43 mV; no grupo neurraxia a média foi

29,02 mV ($\pm 7,31$), variando de 19,86 mV a 43,26 mV; no grupo controle a média foi 35,80 mV ($\pm 7,74$), variando de 21,86 mV a 45,9 mV.

A média da amplitude no pós operatório no grupo desnervado foi 7,91 mV ($\pm 3,72$), variando de 2,85 mV a 15,2 mV; no grupo neurografia a média foi 26,32 mV ($\pm 7,59$), variando de 10,7 mV a 39,1 mV; no grupo controle a média foi 43,62 mV ($\pm 6,98$), variando de 29,06mV a 52,0 mV.

A verificação das diferenças entre os três grupos com relação à amplitude pré e pós-operatória, foi realizada por meio do teste de variância ANOVA, que neste caso os valores analisados foram homogêneos.

A amplitude resultado apresentou diferença estatisticamente significativa entre os três grupos ($p < 0,001$) e para verificar quais os grupos que diferem entre si foi realizado um Teste de Comparações Múltiplas de Tukey. O grupo neurografia foi menor que o grupo controle ($p = 0,04$), o grupo desnervado foi menor que o grupo neurografia ($p < 0,001$) e o grupo desnervado foi menor que o grupo controle ($p < 0,001$) (Tab.4).

Tabela 3 – Média e desvio padrão da latência (ms) e da amplitude (mV).

Variável	GD Média/DP	GN Média/DP	GC Média/DP
Lat. Pré	1,19 ($\pm 0,11$)	1,25 ($\pm 0,09$)	1,28 ($\pm 0,12$)
Lat. Pós	1,41 ($\pm 0,44$)	1,20 ($\pm 0,00$)	1,20 ($\pm 0,00$)
Dif. Pré/Pós	0,21 ($\pm 0,47$)	-0,05 ($\pm 0,09$)	-0,08 ($\pm 0,12$)
Amp. Pré	31,79 ($\pm 5,81$)	29,02 ($\pm 7,13$)	35,80 ($\pm 7,74$)
Amp. Pós	7,91 ($\pm 3,72$)	26,32 ($\pm 7,59$)	43,62 ($\pm 6,98$)
Dif. Pré/Pós	-23,89 ($\pm 7,74$)	-2,70 ($\pm 11,80$)	7,82 ($\pm 5,45$)

Tabela 4 – Comparação entre os grupos e a significância em negrito da amplitude.

Grupo Comparado	Grupo Desnervado	Grupo Neurorrafia	Grupo Controle
GD		-21,18 (0,000)	-31,70 (0,000)
GN	21,18 (0,000)		-10,51 (0,000)
GC	31,70 (0,000)	10,51 (0,000)	

GN > GD (p=0,004); GC > GD (p<0,001); GN < GC (p<0,001) Teste Tukey

4.5 “Grasping Test”

Pré Operatório

A média do “Grasping Test” no pré-operatório no grupo desnervado foi 56,98 g (\pm 4,26), variando de 51,77 g a 66,53 g; no grupo neurorrafia a média foi 54,84 g (\pm 2,78), variando de 51,26 g a 60,32 g; no grupo controle a média foi 53,42 g (\pm 2,25), variando de 50,16 g a 55,28 g.

Pós Operatório Imediato

A média do “Grasping Test” no pós-operatório imediato no grupo desnervado foi 8,28 g (\pm 1,80), variando de 4,67 g a 10,54 g; no grupo neurorrafia a média foi 7,83 g (\pm 1,93), variando de 5,42 g a 10,67 g.

Para avaliação do pós-operatório imediato, foi realizado o teste “t” de Student para amostras independentes, pois neste caso foram comparados somente dois grupos, o desnervado e o neurorrafia.

Não existiram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos desnervado e neurorrafia no “Grasping test” imediato (p=0,290) (Tab. 5).

Pós Operatório Tardio

A média do “Grasping Test” no pós operatório tardio no grupo desnervado foi 16,49 g (\pm 4,80), variando de 10,29 g a 24,65 g; no grupo neurorrafia a média foi 75,80 g (\pm 14,75), variando de 35,94 g a 86,95 g; no grupo controle a média foi 148,17 g (\pm 15,67), variando de 128,89 g a 168,30 g (Tab. 5).

No pós-operatório tardio, 16 semanas, comparamos os três grupos, desnervado, neurografia e controle, utilizando o teste de análise de variância ANOVA. Foi realizado o teste de Comparações Múltiplas de Tukey, onde foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre todos os grupos ($p < 0,001$). O grupo neurografia foi maior que o grupo desnervado ($p < 0,001$), o grupo controle foi maior que o grupo neurografia ($p < 0,001$) e o grupo desnervado foi menor que o grupo controle ($p < 0,001$) (Tab. 6).

Tabela 5 – Média e desvio padrão do “Grasping test”, em gramas, no pré operatório, pós imediato e tardio.

Nº do RATO	GD			GN			GC	
	Pré	Pós I	Pós T	Pré	Pós I	Pós T	Pré	Pós T
1	58,34	10,16	15,94	52,97	7,36	35,94	51,04	148,64
2	53,54	9,42	22,57	55,62	7,49	77,56	53,46	140,28
3	59,32	9,37	24,65	56,55	6,89	80,54	52,96	167,02
4	57,0	10,54	18,34	53,36	9,99	79,73	55,28	166,34
5	54,0	4,67	19,48	60,32	10,67	73,82	50,16	128,92
6	59,46	7,56	11,27	51,26	5,56	77,68	54,15	128,89
7	66,53	8,50	10,29	57,65	5,42	86,95	51,46	168,30
8	51,77	6,49	16,57	53,62	9,86	86,95	57,03	144,59
9	53,86	7,21	12,89	51,93	6,02	84,25	55,22	140,52
10	55,95	8,89	12,89	55,07	9,03	74,61		
Média	56,98	8,28	16,49	54,84	7,83	75,80	53,42	148,17
DP	4,26	1,80	4,80	2,78	1,93	14,75	0,25	0,67

Tabela 6 – Comparação entre os grupos com a significância em negrito do “Grasping test” tardio.

Grupo Comparado	Grupo Desnervado	Grupo Neurografia	Grupo Controle
GD		-61,45 (0,000)	-135,23 (0,000)
GN	61,45 (0,000)		-73,78 (0,000)
GC	135,23 (0,000)	73,78 (0,000)	

GN > GD ($p < 0,001$); GC > GD ($p < 0,001$); GN < GC ($p < 0,001$) Teste Tukey

4.6 Morfometria

Nos cortes estudados, as características observadas eram de um nervo normal, com bainha de mielina, axônio e fibras nervosas bem definidas, que variaram em número, tamanho e conformação dependendo do grupo que se encontravam.

Nos grupos desnervado e neurorrafia, encontramos maior número de fibras nervosas, porém de tamanhos variados e disformes, enquanto que no grupo controle não havia grande quantidade de fibras, porém com tamanhos e formas semelhantes.

4.6.1 Área da Fibra Nervosa

A média das áreas das fibras nervosas no grupo desnervado, foi $4,41\mu\text{m}^2$ ($\pm 1,39$), variando de $2,84\mu\text{m}^2$ a $6,83\mu\text{m}^2$; no grupo neurorrafia, a média foi $4,06\mu\text{m}^2$ ($\pm 0,82$) variando de $3,32\mu\text{m}^2$ a $5,93\mu\text{m}^2$; no grupo controle, a média foi $7,52\mu\text{m}^2$ ($\pm 1,13$) variando de $6,28\mu\text{m}^2$ a $10,12\mu\text{m}^2$. (Tab. 7).

A análise estatística das médias das áreas das fibras nervosas mostrou diferenças entre os três grupos ($p < 0,001$). Para verificar quais os grupos que diferiram entre si, foi realizado o teste de Comparações Múltiplas de Tukey, onde foram encontradas diferenças estatisticamente significantes. Sendo o grupo neurorrafia menor que o grupo controle ($p < 0,001$) e o grupo desnervado, também menor que o grupo controle ($p < 0,001$). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos neurorrafia e desnervado ($p = 0,776$) (Tab. 8)

Tabela 7- Área da fibra nervosa em micrômetro quadrado.

Nº do RATO	GD	GN	GC
1	4,09	3,54	10,12
2	3,55	4,04	8,43
3	4,51	5,93	7,18
4	5,53	4,50	6,28
5	6,42	4,87	7,12
6	3,00	3,47	6,79
7	3,62	3,70	7,06
8	6,83	3,32	7,13
9	2,84	3,62	7,55
10	3,72	3,56	
Média	4,41	4,06	7,52
DP	1,39	0,82	1,13

Tabela 8 – Comparação entre os grupos com a significância em negrito, da área das fibras nervosas.

Grupo Comparado	Grupo Desnervado	Grupo Neurorrafia	Grupo Controle
GD		0,34 (0,776)	-3,11 (0,000)
GN	-0,34 (0,776)		-3,46 (0,000)
GC	3,11 (0,000)	3,46 (0,000)	

GN < GC ($p < 0,001$); GD < GC ($p < 0,001$); GN=GD ($p = 0,776$) Teste Tukey

4.6.2 Número de Fibras Nervosas

O resultado da contagem do número de fibras nervosas foi realizado em três locais diferentes, conforme indicado na figura 9. No tronco inferior (N1), no grupo desnervado, obteve-se uma média de 35,5 ($\pm 22,32$) variando de 10 a 76 fibras; no grupo neurorrafia, a média foi 94,1 ($\pm 38,38$), variando de 20 a 144 fibras; no grupo controle a média foi 54,44 ($\pm 10,42$), variando de 36 a 65 fibras (Tab. 9)

Na análise estatística, a aplicação do teste ANOVA mostrou que existem diferenças estatisticamente significantes, realizado então o Teste de Tukey, sendo que o grupo desnervado foi menor que o grupo neurorrafia ($p < 0,001$) e o grupo

neurorrafia foi maior que o grupo controle ($p=0,011$), não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos desnervado e controle ($p=0,303$) (Tab. 10).

No grupo neurorrafia, a contagem no enxerto do tronco superior para o tronco inferior (N2) mostrou uma média de 89,28 ($\pm 27,29$) e no enxerto entre o tronco médio e o tronco inferior (N3) a média de 101,66 ($\pm 35,15$) (Tab. 11).

Tabela 9 - Número de fibras nervosas.

Nº do RATO	GD	GN	GC
1	76	20	36
2	10	76	42
3	54	80	65
4	37	73	60
5	23	76	63
6	60	144	56
7	31	145	59
8	17	82	60
9	20	101	49
10	27	144	
Média	35,50	94,10	54,44
DP	21,25	40,21	9,96

Tabela 10 – Comparação dos grupos com significância em negrito, do número de fibras nervosas no tronco inferior (N1).

Nº do Rato	N2	N3
1	42	100
2	64	57
3	95	102
4	115	120
5	111	52
6	88	181
7	110	135
8		107
9		161
10		
Média	89,28	101,66
DP	27,29	35,15

GD < GN ($p < 0,001$); GN > GC ($p = 0,011$); GC=GD ($p = 0,303$) Teste tukey

Tabela 11 – Média e desvio padrão do número de fibras nervosas nos enxertos do tronco superior para tronco inferior (N2) e do tronco médio para tronco inferior (N3).

Grupo Comparado	Grupo Desnervado	Grupo Neurorrafia	Grupo Controle
GD		-58,60 (0,000)	-18,94 (0,303)
GN	58,60 (0,000)		39,65 (0,011)
GC	18,94 (0,303)	-39,65 (0,011)	

4.6.3 Área do Axônio

A média da área do axônio no grupo desnervado foi $2,95 \mu\text{m}^2$ ($\pm 1,20$), variando de $1,70 \mu\text{m}^2$ a $5,20 \mu\text{m}^2$; no grupo neurografia a média foi $3,01 \mu\text{m}^2$ ($\pm 0,55$), variando de $2,16 \mu\text{m}^2$ a $4,07 \mu\text{m}^2$; no grupo controle a média foi $4,71 \mu\text{m}^2$ ($\pm 0,66$), variando de $3,73 \mu\text{m}^2$ a $6,02 \mu\text{m}^2$ (Tab. 12)

A análise estatística das médias da área dos axônios mostrou diferenças entre os três grupos ($p < 0,001$). Para verificar quais os grupos que diferem entre si, foi realizado o teste de Comparações Múltiplas de Tukey.

Neste teste, foram encontradas diferenças estatisticamente significantes. Sendo o grupo neurografia foi menor que o controle ($p < 0,001$) e o grupo desnervado foi menor que o controle ($p < 0,001$). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos neurografia e desnervado ($p = 0,986$) (Tab. 13).

Tabela 12 – Área dos axônios em micrômetro quadrado.

Nº do RATO	GD	GN	GC
1	1,70	2,41	6,02
2	5,20	2,80	4,90
3	2,71	4,07	4,65
4	3,60	2,89	3,98
5	4,31	3,59	3,73
6	1,85	2,93	4,52
7	2,12	3,33	4,41
8	3,73	3,04	5,02
9	1,82	2,83	5,07
10	2,38	2,16	
Média	2,94	3,00	4,70
DP	1,20	0,55	0,66

Tabela 13 – Comparação dos grupos com significância em negrito, da área do axônio.

Grupo Comparado	Grupo Desnervado	Grupo Neurorrafia	Grupo Controle
GD		-0,06 (0,986)	-1,75 (0,000)
GN	0,06 (0,986)		-1,69 (0,001)
GC	1,75 (0,000)	1,69 (0,001)	

GN < GC (p<0,001); GD < GC (p<0,001); GN=GD (p=0,986) Teste Tukey

4.6.4 Espessura da bainha de mielina

A média da espessura da bainha de mielina no grupo desnervado foi 1,44 μm ($\pm 1,26$), variando de -1,65 μm a 3,10 μm ; no grupo neurorrafia a média foi 1,05 μm ($\pm 0,53$), variando de 0,28 μm a 1,60 μm ; no grupo controle a média foi 2,82 μm ($\pm 0,68$), variando de 2,10 μm a 4,09 μm (Tab.14)

Observamos a presença de grande número de fibras nervosas com bainha de mielina bem definida, mostrando adequado crescimento axonal, de forma semelhante entre os grupos, desnervado e neurorrafia. Entretanto, quando comparados ao nervo normal, observamos menores diâmetros e bainha de mielina de menor espessura.

A análise estatística das médias da espessura da bainha de mielina mostrou diferenças entre os três grupos (p=0,001). Para verificar quais os grupos que diferem entre si, foi realizado o teste de Comparações Múltiplas de Tukey.

Neste teste foram encontradas diferenças estatisticamente significantes, sendo o grupo neurorrafia menor que o controle (p=0,001) e o grupo desnervado menor que o controle (p=0,007). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos neurorrafia e desnervado (p=0,596) (Tab. 15).

Tabela 14 – Espessura da bainha de mielina em micrômetros.

Nº do RATO	GD	GN	GC
1	2,35	1,13	4,09
2	-1,65	1,24	3,52
3	1,80	1,85	2,53
4	1,92	1,60	2,29
5	2,10	1,27	3,38
6	1,14	0,54	2,27
7	1,49	0,37	2,65
8	3,10	0,28	2,10
9	1,01	0,79	2,47
10	1,13	1,40	
Média	1,44	1,05	2,82
DP	1,26	0,53	0,68

Tabela 15 – Comparativo dos grupos com a significância em negrito, da espessura bainha de mielina.

Grupos Comparados	Grupo Desnervado	Grupo Neurorrafia	Grupo Controle
GD		0,39(0,596)	-1,37 (0,007)
GN	-0,39(0,596)		-1,76 (0,001)
GC	1,37 (0,007)	1,76 (0,001)	

GN < GC (p=0,001); GD < GC (p=0,007); GN=GD (p=0,596) Teste Tukey

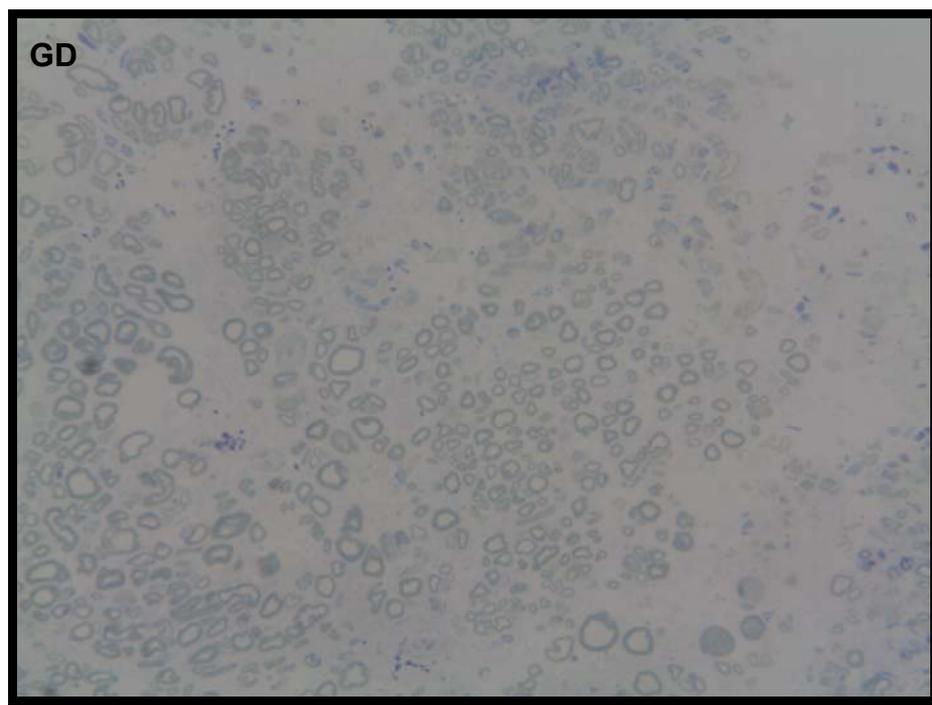


Figura 11 - Fotomicrografia da secção transversal do tronco inferior (N1) do grupo desnervado (40x).

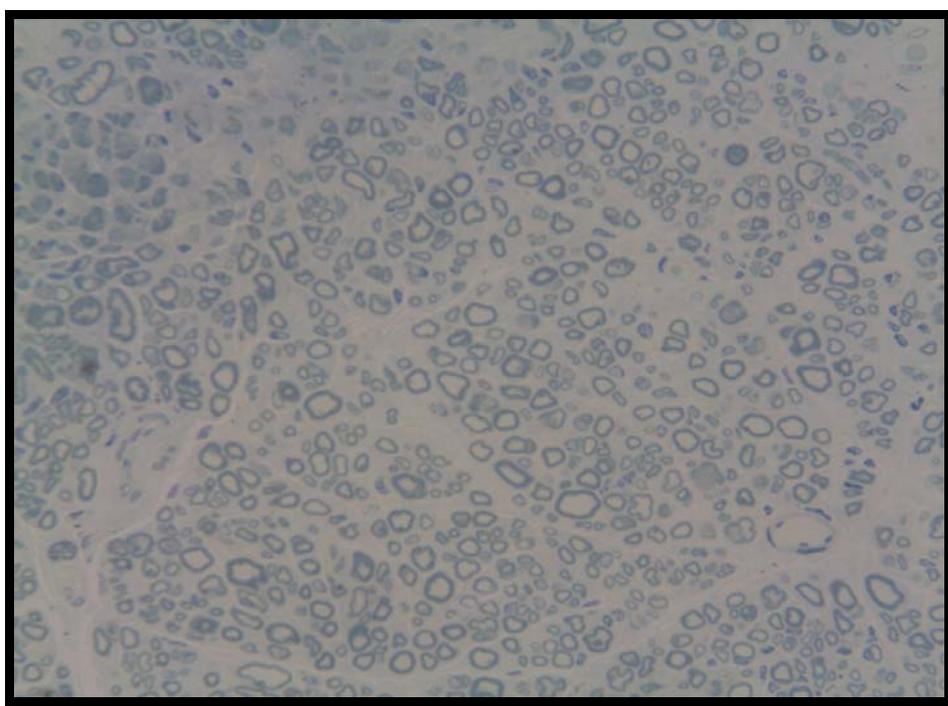


Figura 12 - Fotomicrografia da secção transversal do tronco inferior (N1) do grupo neurorrafia (40x).

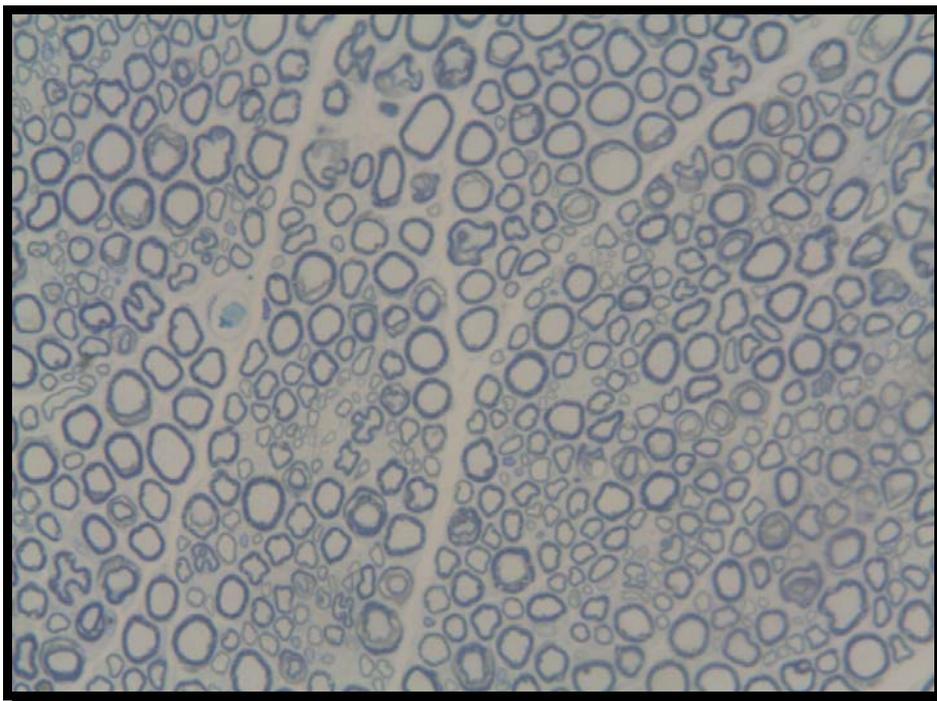


Figura 13 - Fotomicrografia da secção transversal do tronco inferior (N1) do grupo controle (40x).

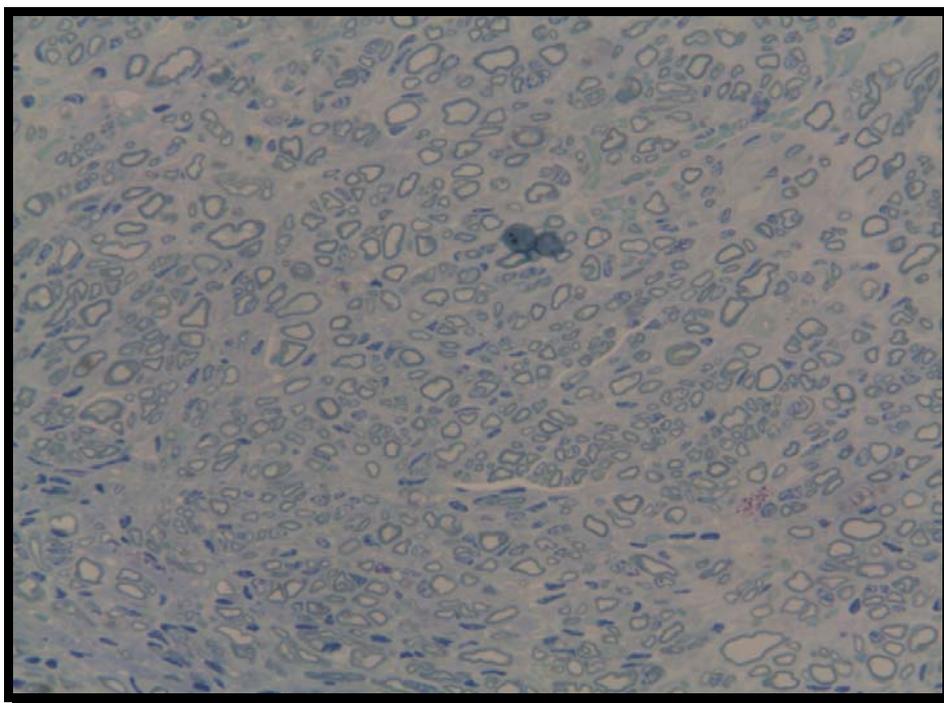


Figura 14 - Fotomicrografia da secção transversal do enxerto interposto entre o tronco superior e o tronco inferior (N2)(40x).

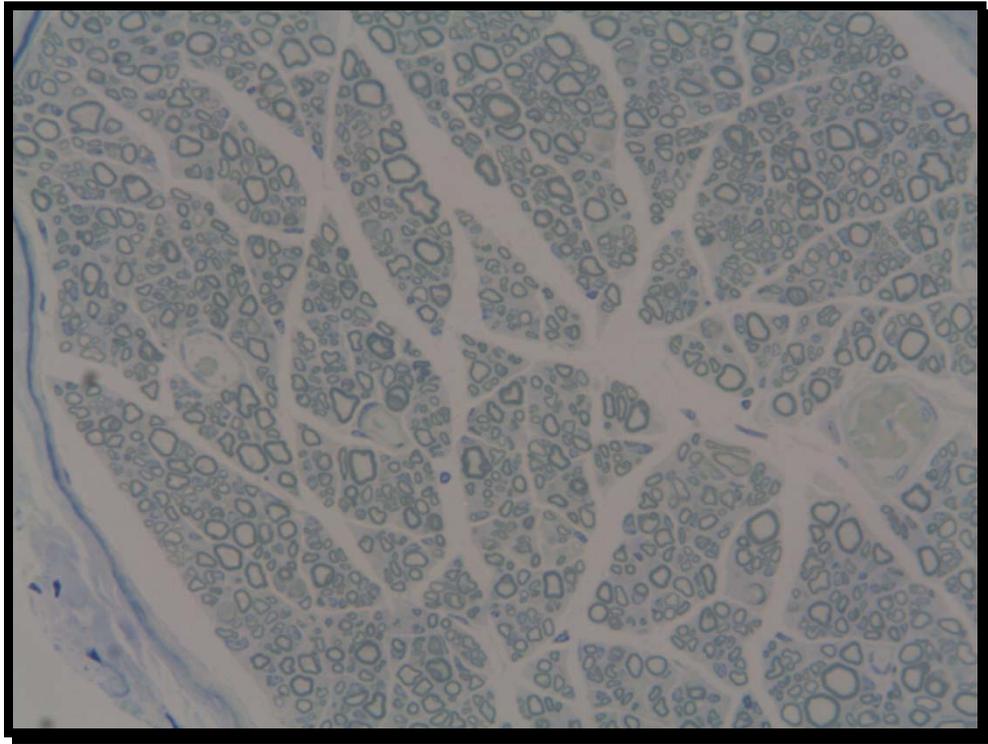


Figura 15 - Fotomicrografia da secção transversal do enxerto interposto entre o tronco médio e o tronco inferior (N3) (40x).

4.6.5 Área das fibras musculares

A média da área das fibras do músculo flexor superficial dos dedos no grupo desnervado foi $117,20 \mu\text{m}^2$ ($\pm 9,80$), variando de $102,89 \mu\text{m}^2$ a $131,20 \mu\text{m}^2$; no grupo neurorafia a média foi $156,12 \mu\text{m}^2$ ($\pm 10,36$), variando de $138,44 \mu\text{m}^2$ a $167,08 \mu\text{m}^2$; no grupo controle a média foi $243,39 \mu\text{m}^2$ ($\pm 41,73$), variando de $156,04 \mu\text{m}^2$ a $293,85 \mu\text{m}^2$ (Tab. 16).

Na análise histológica das lâminas do músculo flexor superficial dos dedos, coradas com hematoxilina e eosina, pudemos observar que não houve diferenças macroscópicas entre os grupos. Todos se apresentaram com fibras de grandes áreas, aspecto poligonal, com núcleos sempre em posição periférica e com presença de pouco tecido conjuntivo, isto é, características de tecido muscular normal, não havendo sinais de atrofia. (Fig. 16, 17, 18).

A análise estatística das médias da área dos músculos flexores superficiais dos dedos mostrou diferenças entre os três grupos ($p < 0,001$). Para

verificar quais os grupos que diferem entre si, foi realizado o teste de Comparações Múltiplas de Tukey.

Neste teste foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre todos os grupos avaliados. Sendo o grupo desnervado foi menor que o grupo neurorrafia ($p=0,006$) e foi menor que o grupo controle ($p<0,001$). O grupo neurorrafia também foi menor que o grupo controle ($p<0,001$) (Tab. 17).

Tabela 16 – Área das fibras do músculo flexor dos dedos em micrômetro quadrado.

Nº do RATO	GD	GN	GC
1		167,08	156,04
2	102,89	143,73	201,63
3	105,19	152,02	256,77
4	123,56	163,16	235,95
5	107,86	154,91	270,90
6	120,45	164,77	247,46
7	116,32	147,25	255,05
8	124,45	163,26	293,85
9	122,83	138,44	272,86
10	131,20	166,56	
Média	117,20	156,12	243,39
DP	9,80	10,36	41,73

Tabela 17 – Comparação dos grupos e significância em negrito, da área das fibras do músculo flexor superficial dos dedos.

Grupos Comparados	Grupo Desnervado	Grupo Neurorrafia	Grupo Controle
GD		-38,92 (0,006)	-126,19 (0,000)
GN	38,92 (0,006)		-87,27 (0,000)
GC	126,19 (0,000)	87,27 (0,000)	

GD < GN ($p<0,001$); GN < GC ($p<0,001$); GD<GC ($p<0,01$) Teste Tukey

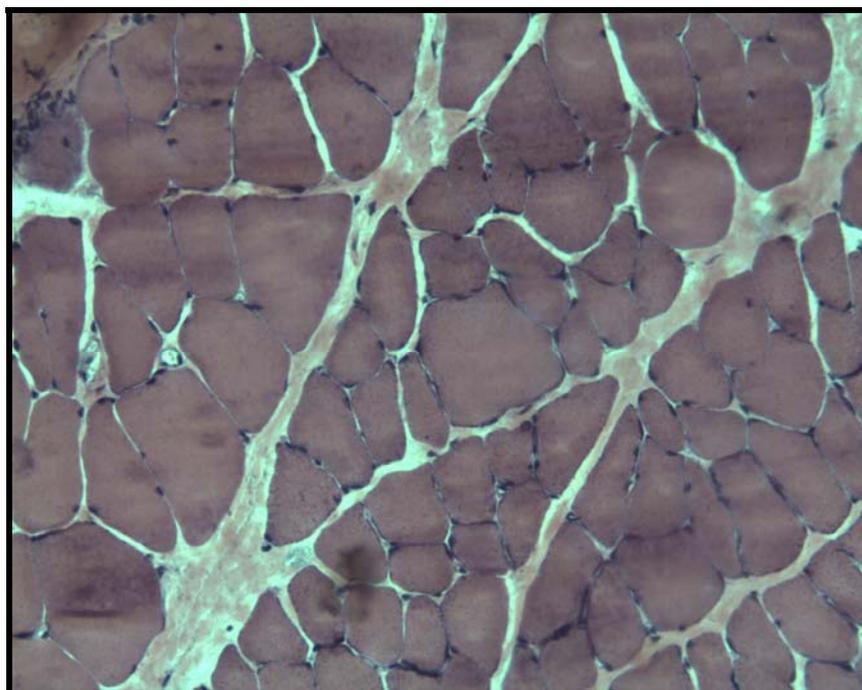


FIGURA 16 - Fotomicrografia das fibras do músculo flexor superficial dos dedos do grupo desnervado (20x).

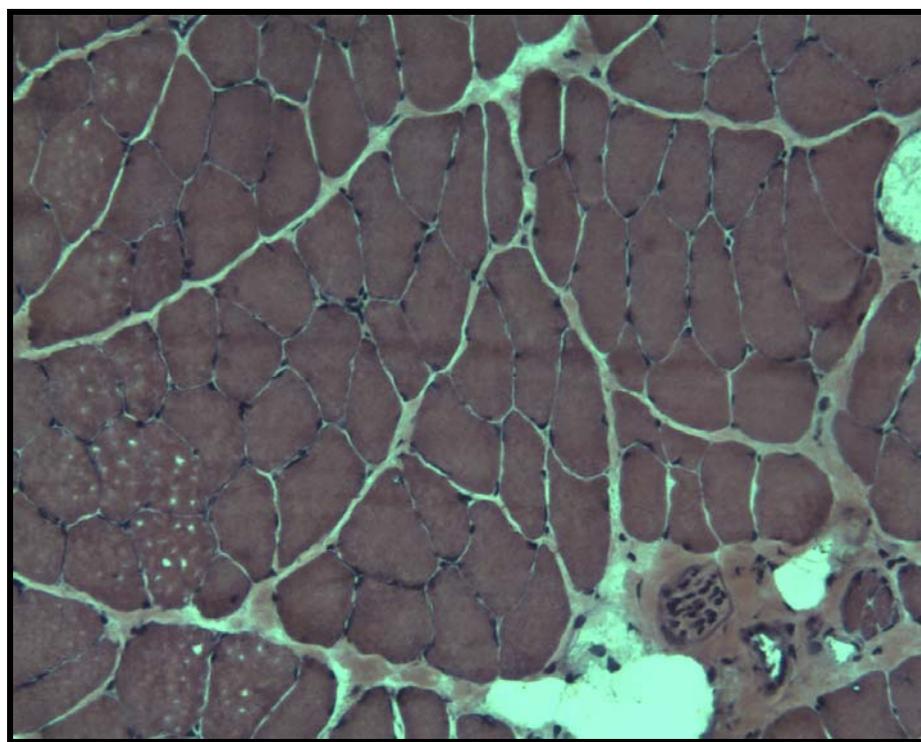


Figura 17 - Fotomicrografia das fibras do músculo flexor superficial dos dedos do grupo neurotização (20x).

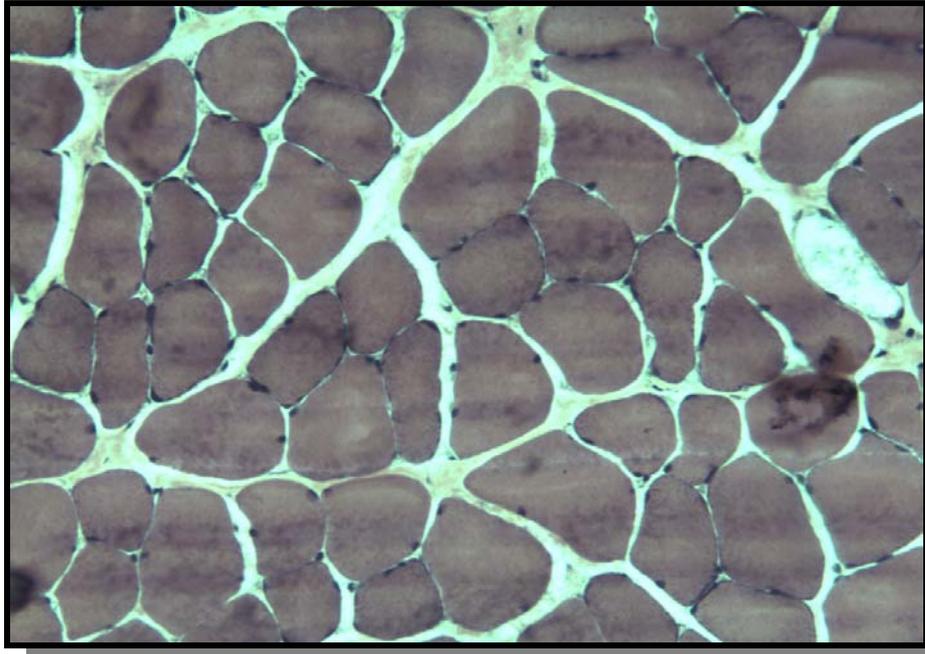


Figura 18 - Fotomicrografia das fibras do músculo flexor superficial dos dedos do grupo controle (20x).

5. *Discussão*

5.1 Método

Em uma pesquisa sempre se deve levar em conta as características ou a necessidade da pesquisa na escolha do animal de experimentação (Strasberg et al., 1999).

Nas pesquisas de lesão e regeneração de nervo periférico, o rato é um modelo freqüentemente utilizado, pois ele apresenta uma rapidez da regeneração tecidual e recuperação funcional (Mackinnon et al., 1985b; Evans et al., 1994; Strasberg et al., 1999). Os ratos são de fácil manipulação, muito resistentes, baixo custo de obtenção e manutenção (Glasby et al., 1986; Viterbo, 1992a; Viterbo et al., 1993c; Viterbo et al., 1994a; 1994b; Bertelli et al., 1996; Strasberg et al., 1999; Reis, 1999). Existem na literatura vários trabalhos com outros animais, como coelhos (Hems & Glasby, 1992), macacos (Mennen, 1999), que apresentam um maior custo e maior facilidade de infecções.

Os ratos do sexo feminino apresentam um ciclo estral, onde há influencia dos hormônios adenohipofisários (FSH, LH) e dos próprios hormônios gonadais (estrogênio e progesterona). Já os ratos do sexo masculino não estão sujeitos a esta fluutuabilidade dos ritmos hormonais das fêmeas (Lincoln, 1980 e Carandente et al., 1989).

Estes fatores nos levaram a utilizar ratos do sexo masculino e jovens.

A escolha em utilizar animais jovens, foi devida, vários autores referirem que o avançar da idade influencia na regeneração dos tecidos, podendo prejudicá-la, (Ónne, 1962; Almquist & Eeg-Olafsson, 1970; Bunnell, 1927; Almquist et al., 1983; Lundborg, 1987; Fawcett, 1992; Bharalli & Lisney, 1990; Vaughan, 1992), bem como a velocidade de regeneração nervosa apresenta-se diminuída (Bunnell, 1927; Fawcett, 1992; Vaughan, 1992) e ainda apresentam diminuição dos fatores neurotróficos (Andrews, 1996).

Todos os animais tinham massas similares no início do experimento, confirmado pela análise estatística. Este detalhe é muito importante, pois oferece comprovação da homogeneidade da amostra (Vieira & Hossne, 2001).

Os grupos foram definidos com dez animais cada um, número similar ao que foi utilizado por Sébille (1981) em cada grupo e acima do apresentado por Caplan (1999), de cinco animais por grupo, e Fortes et al. (1999) com apenas dois animais por grupo. Este número foi determinado para conferir maior confiabilidade na análise estatística. Acreditamos que um número inferior a dez torna a análise estatística prejudicada.

Escolheu-se, de forma aleatória, o membro pélvico esquerdo e o membro torácico direito em nosso trabalho, pois, apesar das diferenças morfológicas observadas nos distintos antímeros (Gardner et al., 1988; Gray, 1995; Latarjet & Ruiz Liard, 1996), não foram encontradas referências sobre possíveis alterações entre os antímeros que pudessem comprometer os resultados em virtude dessas variações.

Desde que Smith em 1964 introduziu o microscópio cirúrgico nas neurorrafias, recomenda-se sua utilização durante o ato operatório, pois se obtêm melhores resultados, devido ao menor trauma operatório e maior precisão no ato cirúrgico o que se reflete em melhor recuperação funcional (Ferreira et al., 1974; Terzis, 1979; Braun, 1982; Stopiglia et al., 1987; Millesi, 1990; Noah et al., 1997b; Watchmaker & Mackinnon, 1997).

O anestésico utilizado em todas as cirurgias foi o pentobarbital de sódio muito utilizado nestes trabalhos devido ao baixo custo e adequada eficiência (Reis et al., 1998; Vicente et al., 1998a; 1998b; Reis, 1999; Wang, 1999; Oliveira et al., 2000; Vicente, 2000; Reis et al., 2000; Vicente et al., 2000; Vicente et al., 2001). Outros autores preferem anestésicos diferentes do por nós utilizado (Hems & Glasby, 1992; Fortes et al., 1999; Matsumoto et al., 1999).

Para evitar a tendenciosidade (Berkuo et al., 1981), após o procedimento inicial que incluiu a retirada do enxerto e a avulsão do tronco inferior, que foi semelhante nos dois grupos operados, determinou-se por sorteio, a qual grupo pertenceria o animal.

Devido à grande semelhança do plexo braquial do rato e do homem (Bertelli 1992, 1995 – Chen & Gu 1994), optamos por utilizar este modelo experimental, pois, os resultados obtidos, podem implicar em futura aplicação clínica.

Observações realizadas nos nervos do membro superior do rato são mais compatíveis para serem transferidas para a prática clínica que os modelos experimentais do membro inferior (Bontioti et al., 2005; Papalia, 2006). Em comparação ao modelo no nervo ciático, os animais em que se lesa o membro superior apresentam menor estresse, mesmo durante a primeira semana de pós-operatório. Também a automutilação e contratura articular são mais raras (Papalia et al., 2003).

Vários modelos de avulsão do plexo braquial foram descritos. O modelo adotado no trabalho é o descrito por Rodrigues-Filho et al. (2003), que prende o tronco inferior com uma pinça e arranca a raiz da medula espinhal por tração. Cao & Ling (2003) utilizaram um gancho de tendão para tracionar e avulsionar as raízes do plexo braquial. Spinner et al. (2000) produziram um maneira não invasiva de lesão do plexo braquial. Um aparelho usando método de aceleração passiva (PAM), traciona o membro superior, simulando uma lesão fechada nos humanos.

Em nosso modelo experimental, optamos pela avulsão das raízes (C8 e T1) da medula espinhal, pois segundo Davies et al. (1966) e Bristol et al. (1989), uma raiz, quando avulsionada da medula espinhal, não regenera espontaneamente.

Viterbo et al em 1992a desenvolveu um modelo experimental em que um enxerto de nervo autólogo fresco é fixado à face lateral de um nervo intacto, sem janela epineural através de dois pontos simples com fio de náilon monofilamentar 10-0, ou seja, neurorrafia término-lateral, e que foi adotado neste trabalho.

Segundo Watchmaker & Mackinnon (1997) e Battiston et al. (2000), o enxerto nervoso autólogo é a melhor opção para se tratar perda de tecido nervoso que tenha deixado espaço intersegmentar longo. Por esta razão, utilizamos em nosso trabalho o enxerto nervoso autólogo fresco.

Lundborg et al. (1994b) encontraram melhor resultado no teste funcional de animais utilizando enxerto nervoso pré-degenerado, quando comparado com os que receberam enxerto nervoso fresco. Também Danielsen et al. (1994) testaram enxertos pré-degenerados por esmagamento, que demonstraram índice de regeneração melhor que o enxerto fresco. Apesar da preferência destes autores, a maioria dos trabalhos usa enxertos frescos, por esta razão optamos pelos mesmos.

Em relação ao comprimento dos enxertos, alguns autores trabalharam com enxerto de um centímetro de comprimento (Ferreira et al., 1974; Viterbo, 1992a; Viterbo et al., 1994a; 1994b), com um centímetro e meio (Schultes et al., 2001) e com dois e meio a três centímetros (Fortes et al., 1999). Em nosso trabalho optamos por enxerto nervoso de um centímetro de comprimento, para evitar a tensão entre o enxerto e o nervo doador, o que poderia prejudicar a regeneração nervosa e que já está bem definido na literatura (Ferreira et al., 1974; Terzis et al., 1975; Sunderland, 1978; Mackinnon, 1989; Watchmaker & Mackinnon, 1997).

Não existe consenso em relação ao comprimento máximo de um enxerto de nervo, que pode variar de um e meio a sete centímetros, de acordo com as necessidades, desde que não haja tensão (Millesi, 1977). O enxerto nervoso não serve somente para guiar os axônios em regeneração (Yuksel et al., 1999), mas também para garantir um microambiente adequado à regeneração nervosa (Aguayo et al., 1976; 1979; Griffin & Hoffman, 1993; Liu et al., 1999).

Jenq & Coggeshall (1987), usando enxerto autólogo de nervo sural de oito milímetros de comprimento, concluíram que o tamanho do enxerto não influencia a qualidade de regeneração e nem o número total de axônios regenerados.

Goheen-Robillard et al. (2002) em trabalho com ratos e utilizando enxerto de nervo longo, suturado com neurorafia término-lateral entre nervo tibial intacto e nervo tibial contralateral, observaram regeneração através do enxerto.

Tsuchihara et al. (2008), utilizaram na reconstrução do nervo femoral pós ressecção de tumor do retroperitônio, um longo enxerto de nervo sural e observaram bom resultado funcional.

Em nosso modelo, escolhemos o nervo cutâneo sural caudal (sural), que é um nervo sensitivo da pata traseira, como doador do enxerto, para ser utilizado como pontes de enxerto entre os troncos do plexo braquial.

O nervo sural é o mais extensivamente estudado no homem e o mais utilizado clinicamente para enxerto em reparo nervoso periférico, por ser provavelmente a melhor fonte de nervo do corpo humano. Esse nervo é inteiramente sensitivo, à exceção de um pequeno contingente de fibras autonômicas amielínicas, possuindo um padrão de constituição mais homogêneo (Corkidi et al., 1997; Chang,

2002). O nervo sural pode ser disponível como enxerto de 30 - 40 cm de comprimento, sendo que sua retirada gera um mínimo déficit sensitivo (Chang, 2002).

O fácil acesso para dissecação e remoção do segmento de nervo cutâneo sural caudal de rato também foi fator importante na escolha do enxerto nervoso em nosso modelo experimental.

Devido ao nosso trabalho ser realizado em antímeros diferentes, retirando um segmento de nervo do membro pélvico e fixando em um nervo do plexo braquial, eliminou-se a possibilidade da 'contaminação' de axônios em regeneração, oriundos do coto proximal seccionado, conforme sugerido por McCallister et al. (1999) e confirmado por Al-Qattan (2001), possibilidade que pode ocorrer onde os nervos doador e receptor são próximos.

Lutz et al. (2000), através da técnica de dupla marcação retrógrada (Fast Blue e Diamidino Yellow), excluíram a possibilidade de os brotamentos axonais serem oriundos do coto proximal do nervo seccionado.

Hayashi et al. (2004) utilizaram em modelo experimental o envolvimento dos nervos suturados com neurografia término-lateral a aponeurose do músculo espinhal, o que poderia evitar a contaminação axonal.

Bertelli et al. (1996) observaram que as fibras nervosas são capazes de crescer em direção retrógrada, usando a face externa do nervo como substrato para alcançar o enxerto, causando assim uma contaminação dos axônios.

Zhang et al. (1998) constataram, em trabalho experimental, que o reparo nervoso término-lateral não tem sucesso quando o nervo doador e o receptor originam-se de níveis diferentes da medula espinhal. Opinião que não foi compartilhada por nós e por outros autores.

Em trabalhos de Viterbo et al. (1992; 1994c), onde empregaram a neurografia epineural término-lateral, com e sem a remoção de janela epineural, estes autores comprovaram que os resultados foram semelhantes e que a não retirada do epineuro não foi impedimento para o crescimento axonal.

Em relação à janela de epineuro e perineuro, existem controvérsias na literatura. Diversos trabalhos que empregaram a neurografia término-lateral

realizaram a epineurotomia e perineurotomia (Kennedy, 1899 apud Battal & Hata, 1997; Ballance et al., em 1903; Viterbo et al., 1992; Viterbo et al., 1993c; Viterbo et al., 1994 b e c; Bertelli et al., 1996; Noah et al., 1997a e b ; Tarasidis et al., 1997; Zhao et al., 1997; Al-Qattan & Al-Thunyan, 1998; Viterbo et al., 1998; Liu et al., 1999; McCallister et al., 1999; Zhang et al., 1999; Al-Qattan, 2000; Kayikçioğlu et al., 2000; Cederna et al., 2001; Papalia et al., 2001; Yan et al., 2002a; Jaberri et al., 2003; Hayashi et al., 2004; Myckatyn & Mackinnon, 2004; Ozmen et al., 2004).

Lundborg et al. (1994b) utilizaram a neurorrafia término-lateral para fixar o enxerto nervoso autólogo de nervo ciático na face lateral intacta do mesmo nervo contra-lateral. Também constataram após 14, 35 e 90 dias, que os brotamentos axoplasmáticos atravessaram o epineuro e responderam positivamente aos testes funcionais.

Já Bertelli et al. (1996), contrariamente a outros estudos, não encontraram evidências funcionais, motora e sensitiva, após reparos término-lateral e látero-terminal sem remoção do epineuro, sugerindo que as camadas conjuntivas do epineuro representam uma barreira para a penetração dos axônios. Segundo os autores, a secção dos neurônios é a principal condição para a regeneração nervosa.

Em estudos realizados por Noah et al. (1997a) e Liu et al. (1999), estes autores constataram o epineuro, quando intacto, parece formar uma barreira parcial para regeneração axonal e que a remoção do epineuro não afeta a estrutura e função do nervo doador.

Autores como Sanapanich et al. (2002) e Bontioti et al. (2005), realizaram estudo com neurorrafia término-lateral e abertura de uma janela no epineuro, obtendo significativa regeneração axonal.

Walker et al. (2004) compararam o tamanho ideal da janela epineural para o reparo nervoso periférico através da neurorrafia término-lateral, onde o tamanho das janelas variou de um até cinco milímetros. Constataram maior número de fibras no grupo com janela epineural maior.

Em nosso trabalho seguimos o ângulo de coaptação da neurorrafia término-lateral de 90° entre os enxertos e os troncos superior, médio e inferior sem a retirada do epineuro, da mesma forma que diversos autores (Tarasidis et al., 1997;

Kalliainen et al., 1999; Reis, 1999; Kayikçioğlu et al., 2000; Cederna et al., 2001; Zhang et al., 2001; Vicente, 2003).

Yan et al. (2002a) introduziram uma nova técnica de reparo término-lateral pelo método helicoidal. Criaram uma janela epineural (quatro milímetros) na face lateral do nervo tibial intacto, para uni-lo à superfície oblíqua (30°) do coto distal do nervo fibular seccionado. Análises funcionais e morfológicas mostraram resultados significativamente melhores nos animais reparados com essa técnica, comparados aos da neurografia término-lateral padrão (90°).

Quanto à polaridade do segmento de nervo cutâneo sural caudal durante a fixação não foi controlada e preservada em nosso estudo. Sotereanos et al. (1992) inverteram em 180° um segmento do nervo ciático de rato e compararam com o reparo do mesmo nervo na posição normal e não observaram influência da inversão de polaridade na função desse nervo. Mais recentemente, Nakatsuka et al. (2002) também não encontraram diferenças eletrofisiológica e histológica ao comparar o enxerto de nervo sural polarizado com o de polaridade invertida.

Optamos neste trabalho por utilizar dois pontos de sutura com fio monofilamentar de nylon 10-0, seguindo modelo de Viterbo et al. (1992a) Caplan et al. (1999) e Schultes et al. (2001) e devido ser suficiente para adequada coaptação. Autores como Mackinnon (1989) e Lundborg et al. (1994a) utilizaram três pontos de sutura com fio monofilamentar de nylon 10-0 para permitir melhor contato entre os nervos suturados, tanto na neurografia término-terminal quanto na término-lateral.

O fio que utilizamos foi de náilon monofilamentar por este induzir menor reação tecidual (Bora Junior, 1978; Braun, 1982; Stopiglia & Erhart, 1987). Segundo Rappeti & Pippi (2000), o fio de náilon monofilamentar apresentou, juntamente com o fio de poliglactina, a menor reação tecidual quando comparado aos fios de seda e catégute cromado.

Quanto ao calibre do fio, foi escolhido o 10-0 para que a lesão não intencional dos axônios, no momento da passagem da agulha e do fio, fosse a mínima possível (Braun, 1982).

Diversos autores estudaram a reinervação de um músculo esquelético desnervado, após o reparo nervoso periférico, utilizando a neurografia término-lateral. Para tal, fixaram o coto distal de um nervo motor seccionado a outro nervo

intacto adjacente, em ratos (Viterbo, 1992a; Viterbo et al., 1992; Viterbo et al., 1993c; Viterbo et al., 1994b e c; Noah et al., 1997b; Viterbo et al., 1998; Zhang et al., 1998; McCallister et al., 1999; Papalia et al., 2001; Tiangco et al., 2001; Goheen-Robillard et al., 2002; Ulkür et al., 2003), em coelhos (Koller et al., 1997; Giovanoli et al., 2000; Jaberi et al., 2003) e em macacos (Mackinnon et al., 1988; Mennen, 1999). Nosso trabalho se diferencia por fixar um enxerto com duas suturas término-laterais entre um nervo intacto e outro parcialmente desnervado.

Referente ao período de observação pós-operatória, alguns experimentos verificaram o resultado horas após a lesão e/ou o reparo. A presença de brotos ao nível do nodo de Ranvier foi constatada cinco horas após a lesão por Tomatsuri et al. (1993, apud Fu & Gordon, 1997) e seis horas após por Ide & Kato (1990). Sjöberg & Kanje (1990) verificaram que os neuritos começam a aparecer três horas após lesão por esmagamento. Já Okajima & Terzis (2000) observaram, 12 horas após o reparo, cones de crescimento no nervo doador de axônios e, 48 horas após, axônios regenerando dentro da membrana basal da célula de Schwann do enxerto nervoso fixado de forma término-lateral.

Quando o período de observação pós-operatória foi definido em semanas ou meses, encontramos uma grande variabilidade nos trabalhos em ratos que adotaram sete dias (Matsumoto et al., 1999; Tiangco et al., 2001), seis meses (Ueda & Harri, 2004), e até 15 meses (Rab et al., 2002). Em trabalho realizado em animal de médio porte (ovelha), foi estabelecido um período maior, de 18 meses (Frey et al., 1992).

Reis et al. (1998), Reis (1999) e Reis et al. (2000) observaram uma população de fibras nervosas dentro do enxerto nervoso após 12 semanas. Aszmann et al. (2003), também estabeleceram período de 12 semanas para o experimento, obtendo crescimento dos axônios. McCallister et al. (2001) estabeleceram 20 semanas. De acordo com Mackinnon et al. (1989) e Viterbo et al. (1992, 1993, 1994a), o resultado de neurografia término-terminal estabiliza-se a partir dos seis meses. Estes autores levaram em consideração não só o crescimento axonal no enxerto, mas também a reinervação muscular.

Lutz et al. (2000) e Haninec et al. (2004), em trabalho experimental no membro superior de ratos, optaram por 16 semanas de observação, verificando crescimento de axônios. Da mesma forma, optamos neste estudo pelo tempo de observação pós-cirúrgica de 16 semanas.

Um modelo matemático foi apresentado por Holmquist et al. (1993), para calcular a taxa de regeneração e o período para o início da regeneração nervosa periférica, através do teste sensitivo do beliscão, após o reparo cirúrgico com enxerto fresco fixado pela neurorrafia. Nesse estudo em ratos, observou-se uma taxa de regeneração do nervo ciático de 1,5 mm/dia, após uma demora inicial de 3,6 dias.

Um ponto muito importante na escolha de trabalhos experimentais em nervos periféricos, é a possibilidade de realizar a avaliação quantitativa da recuperação funcional pós lesão (Varejão et al., 2001)

Em modelo experimental com o membro superior, o mais usado método de avaliação quantitativa da recuperação motora é o “grasping test” (Varejão et al., 2001). Um método não invasivo, muito simples e pode ser repetido quantas vezes forem necessárias (Papalia et al., 2003).

Descrito por Bertelli em 1995, o teste funcional de preensão, denominado de “grasping test”, pode avaliar a qualidade da regeneração do nervo e da reinervação muscular do rato, semelhante ao dinamômetro utilizado na prática clínica. O “grasping test” é mais específico para o nervo mediano, pois o nervo mediano é responsável pela inervação dos músculos flexores dos dedos, controlando assim a força de preensão do rato, enquanto o nervo ulnar não dá ramos para os músculos flexores dos dedos (Bertelli, 1995; Bontioti et al., 2005). Neste trabalho, realizamos o “grasping test” como avaliação funcional, porém com desnervação da pata contralateral, conforme descrito por Bertelli (1995).

Conforme Papalia et al. (2003), o uso de fita para anular a pata contralateral durante o “grasping test” estressa muito o rato que se concentra em liberar a pata saudável.

Papalia et al., 2006, descreveu um teste funcional para o nervo ulnar, que consiste do rato prender com a pata esferas colocadas em uma placa sobre uma balança.

Quanto ao estudo eletrofisiológica, a eletromiografia pode ajudar a estabelecer a localização, determinar a severidade, predizer a recuperação funcional da lesão, bem como excluir outro diagnóstico (Kim et al., 2003). No homem, a eletromiografia é mais fidedigna 2 a 3 semanas após a lesão, devido à degeneração walleriana que necessita algumas semanas para se estabelecer (Spinner et al., 2005).

Entretanto, segundo Yuksel et al. (1999), em trabalhos recentes sobre a neurorrafia término-lateral, a morfometria e os testes eletrofisiológicos são utilizados para analisarem os resultados deixando de lado os testes funcionais.

Lutz et al. (2000) descreve realização de eletromiografia no membro superior, colocando eletrodo diretamente no nervo e no músculo flexor superficial dos dedos. Modelo este, adotado neste trabalho.

Conforme Dellon & Mackinnon, 1989, o teste morfométrico e eletrofisiológico não devem ser feitos juntos, pois são informações redundantes. A morfometria seria mais indicada para se ver há regeneração, enquanto a eletromiografia seria melhor para a porção distal da neurorrafia.

Todas as lâminas dos nervos deste trabalho foram pós-fixadas e coradas com ósmio e azul de toluidina, para a visualização adequada dos axônios e suas bainhas de mielina seguindo a tendência de vários autores (Lundborg et al., 1982; Mackinnon 1984; Mackinnon et al., 1985; Fortes et al., 1999; McCallister et al., 1999; Strasberg et al., 1999; Vicente 1999; Wang, 1999; Oliveira et al., 2000; Vicente et al., 2001).

Os dados morfométricos dos nervos ou enxertos em regeneração, tais como número de fibras nervosas, o diâmetro axonal e a espessura da bainha de mielina, são parâmetros que fornecem indicações relevantes sobre o estado funcional dos neurônios e das células associadas a eles (Strasberg et al., 1999; Caplan et al., 1999; McCallister et al., 1999; Wang, 1999; Oliveira et al., 2000; Schultes et al., 2001).

Essas informações são importantes para a avaliação dos processos regenerativos e degenerativos, decorrentes do estabelecimento de estados patológicos ou traumáticos no sistema nervoso periférico (Fields et al., 1989).

As aferições do número total de fibras nervosas e do seu diâmetro são parâmetros apropriados para medir brotamentos axonais e o efeito da maturação ou neurotropismo (Dellon & Mackinnon, 1989).

No entanto, Kuypers et al. (1998) comprovaram a discrepância entre resultados magnéticos e histológicos em experimento de reparo nervoso periférico término-terminal. Constataram, 20 semanas após a cirurgia, que o resultado histológico apresentou decréscimo de 5% no número de fibras mielínicas em relação ao nervo normal. Já o dado neurofisiológico apresentou um decréscimo resultante da perda de 50% das unidades neuronais mielínicas. Assim, concluíram que, das unidades mielínicas presentes no corte histológico, 5% degeneraram completamente, 45% estavam vitais, mas perderam a capacidade de condução e somente 50% permaneceram vitais e conduzindo impulsos.

5.2 Resultados

Durante a coleta dos enxertos, constatamos uma fibrose do tecido circunvizinho ao enxerto, provavelmente resultado da divulsão realizada na região quando da dissecação do plexo braquial e exposição de seus troncos. Tal fato também foi encontrado por Ferlic & Goldner (1965).

A ausência de processo infeccioso nos animais, reforça o que se sabe sobre a grande resistência do rato à infecção (Mardegam et al., 2001), pois as cirurgias foram realizadas com material não esterilizado e não foi administrado antibiótico.

No dia da eutanásia e coleta dos segmentos nervosos, foi observado que os animais dos grupos experimentais não apresentaram alteração na marcha. Isso era esperado em função do nervo cutâneo sural caudal ser um nervo sensitivo da perna, dado esse confirmado em estudos anteriores realizados sobre esse nervo (Ortigüela et al., 1987; Lajara et al., 1988; Coert & Lee Dellon, 1994; Huene & Bunnell, 1995; Corkidi et al., 1997; Solomon et al., 2001; Chang, 2002; Mahakkanukrauh & Chomsung, 2002).

5.2.1 Massa

A massa inicial dos animais dos três grupos estudados não mostrou diferença estatística, comprovando-se, assim, a homogeneidade da amostra. Esse detalhe é importante, pois em estudos realizados por Viterbo et al. (1992, 1993a, 1994a e b) com o músculo tibial cranial, estes autores concluíram que a massa do músculo correlaciona-se diretamente com a massa do animal. Da mesma forma o músculo flexor superficial dos dedos deve ter correlação com a massa do animal.

A massa final dos ratos também foi homogênea, não havendo diferença estatística entre os três grupos. Esse detalhe reflete a padronização das condições ambientais oferecidas e do tempo do experimento.

A massa do músculo flexor superficial dos dedos não mostrou diferença estatística entre os três grupos estudados. Mesmo no grupo desnervado não houve atrofia, pois a lesão do plexo braquial por nós realizada foi parcial. Através da observação macroscópica, não encontramos alteração na forma deste músculo em nenhum dos grupos no dia da coleta das amostras. Talvez em trabalhos futuros deva-se optar por outro músculo que apresente alteração atrófica, mesmo na lesão parcial. Para isto, este músculo teria que ter massa maior que o flexor superficial dos dedos, por nós utilizado. Talvez o músculo bíceps seja mais indicado, por apresentar maior massa.

A análise estatística das médias das áreas das fibras musculares do músculo flexor superficial dos dedos mostrou diferença entre os três grupos, sendo que o grupo desnervado foi menor que o grupo neurografia ($p < 0,001$), o grupo neurografia foi menor que o grupo controle ($p < 0,001$) e o grupo desnervado foi menor que o grupo controle ($p < 0,001$)

A diferença encontrada na área da fibra muscular sem apresentar diferença na massa do músculo, pode ser devido à pequena massa muscular e sua alteração ter sido sutil. Geralmente o músculo atrofiado apresenta substituição da fibra muscular por tecido adiposo (Oswald et al. 2004), o que determina a manutenção da massa muscular, porém com diminuição da área da fibra muscular.

A massa do músculo é uma variável válida, quando positiva, porém não demonstrou neste trabalho ser muito sensível.

5.2.2 Estudo Eletrofisiológico

A latência não mostrou diferença estatística entre os três grupos tanto no pré como no pós-operatório. A latência é sensível a qualquer lesão nervosa, entretanto não foi sensível suficiente para detectar alterações entre os grupos neste trabalho.

Gu et al 2004, em trabalho experimental de avulsão de C8 e reimplante da mesma raiz na medula espinhal, observaram que após 20 semanas a latência não apresentou diferença entre o grupo reimplantado e o grupo controle. Estes autores não avaliaram a amplitude.

Lutz et al. (2000) mediram a velocidade de condução nos nervos ulnar e radial no membro superior de ratos, após 16 semanas, não havendo diferença significativa na latência. A amplitude também não foi avaliada.

No entanto, a amplitude apresentou diferenças entre os grupos, sendo que o grupo neurografia foi menor que o grupo controle ($p=0,04$), o grupo desnervado foi menor que o grupo neurografia ($p<0,001$) e o grupo desnervado foi menor que o grupo controle ($p<0,001$). A diferença significativa da amplitude demonstra que este parâmetro foi mais sensível que a latência.

Carlstedt et al. (1993) no estudo eletrofisiológico do experimento onde reimplantou as raízes avulsionadas do plexo braquial na medula espinhal, encontraram na avaliação da amplitude do músculo bíceps de ratos, valores de 50% em relação ao músculo normal.

5.2.3 “Grasping test”

Na avaliação realizada no pós-operatório imediato, não houve diferença significativa entre os grupos desnervado e neurografia ($p=0,290$), demonstrando que a lesão por avulsão total do tronco inferior causou uma desnervação eficaz e semelhante nos grupos neurografia e desnervado.

No entanto, após 16 semanas da cirurgia, houve diferença estatisticamente significativa entre todos os grupos: o grupo neurografia foi maior que o grupo desnervado ($p<0,001$), o grupo controle foi maior que o grupo neurografia

($p < 0,001$) e o grupo desnervado foi menor que o grupo controle ($p < 0,001$). Isto comprova a eficácia da reinervação obtida no grupo neurografia.

Introduzido por Bertelli & Mira (1995), o “grasping test” tem grande valor, pois não necessita o sacrifício dos animais para acompanhar a regeneração axonal dos nervos do plexo braquial, pode ser realizado sem a necessidade de anestesia, da mesma forma que o “Walking Track Analysis” nos estudos da regeneração do nervo ciático.

Gu et al 2004, observaram após 20 semanas em trabalho experimental de avulsão de C8 e reimplante da mesma raiz na medula espinhal, que os animais com melhores resultados no “grasping test” foram os que apresentaram regeneração do nervo mediano.

Lutz et al. (2000) realizaram o “grasping test “ em 12 e 16 semanas, sendo que o grupo neurografia término-lateral apresentou uma força de 70% comparado ao grupo término-terminal.

Papalia et al. (2003), após 28 semanas de neurografia término-lateral do nervo mediano na face lateral do nervo ulnar, verificaram que o “grasping test” apresentou resultado positivo refletindo uma recuperação da flexão dos dedos.

Em modelo para avaliar a função do membro superior, Bontioti et al. (2005) utilizaram a medida da “pawprint”, onde são aferidas distâncias entre os dedos na pata anterior do rato, em trabalho experimental utilizando os nervos radial, mediano e ulnar. Estes nervos foram suturados de forma término-lateral no nervo musculocutâneo de ratos, retirando uma janela de epineuro e realizando incisão no perineuro. Concluíram que após seis meses houve crescimento axonal, chegando o resultado da “pawprint” do lado operado em 70% do resultado obtido da pata contralateral normal.

5.2.4 Morfometria

A contagem do número de fibras nervosas do tronco inferior resultou em maior número no grupo neurografia quando comparado ao grupo desnervado ($p < 0,001$) e maior número no grupo neurografia quando comparado ao grupo controle ($p = 0,011$), não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos desnervado e controle ($p = 0,303$).

A média das áreas das fibras nervosas mostrou diferenças estatisticamente significantes, sendo que no grupo neurografia foi menor que no grupo controle ($p < 0,001$) e também no grupo desnervado foi menor que no grupo controle ($p < 0,001$). Não foram encontradas diferenças significantes entre os grupos neurografia e desnervado ($p = 0,776$).

O grupo desnervado, apesar da avulsão total do tronco inferior, permaneceu com algumas fibras nervosas, devido a este tronco receber fibras de ramo proveniente do tronco médio. No grupo controle, as fibras nervosas mantiveram seu número normal, enquanto no grupo neurografia o número de fibras nervosas está aumentado provavelmente devido às fibras oriundas dos enxertos.

Na histologia dos segmentos N2 e N3 do grupo neurografia, evidenciou-se grande quantidade de fibras nervosas e bainha de mielina bem definida, comprovando a repopulação axonal adequada, o que caracteriza nervo normal em regeneração.

Quanto à área dos axônios, houve diferença estatisticamente significativa. O grupo neurografia foi menor que o controle ($p < 0,001$) e o grupo desnervado foi também menor que o grupo controle ($p < 0,001$). Não foram encontradas diferenças entre os grupos neurografia e desnervado ($p = 0,986$).

Os resultados da espessura da bainha de mielina foram semelhantes aos das áreas dos axônios, mostrando as mesmas diferenças estatísticas. O grupo neurografia foi menor que o controle ($p = 0,001$) e o grupo desnervado também foi menor que o controle ($p = 0,007$). Não foram encontradas diferenças entre os grupos neurografia e desnervado ($p = 0,596$).

Röyttä & Salonen (1988) constataram que o diâmetro dos axônios e a espessura da bainha de mielina aumentaram até 50 semanas após a secção e regeneração do nervo ciático de ratos. Nosso período pós-operatório foi de apenas 16 semanas, o que sugere que as fibras nervosas não tenham alcançado o máximo do seu desenvolvimento regenerativo, estando o processo de mielinização incompleto. E essa mielinização das fibras nervosas é somente um sinal de maturidade, podendo as fibras nervosas conduzir impulso antes da mielinização total.

Sanapanich et al. (2002) sugeriram que a área do axônio e espessura da bainha de mielina após três meses de reparo, poderiam, num espaço maior de tempo apresentar melhor resultado.

Talvez o tempo de 16 semanas de observação utilizado neste experimento, o mesmo empregado nos trabalhos de Tarasidis et al. (1999), Lutz et al. (2000) e Haninec et al. (2004), tenha sido insuficiente para o crescimento e maturação dos axônios. Outros autores preconizam que a regeneração muscular é melhor com tempo de observação maior, como 20 semanas (McCallister et al., 2001) e 24 semanas (Mackinnon et al., 1989; Ueda & Harri, 2004).

Nas lesões de plexo braquial, as opções de nervos como doadores são limitadas, especialmente quando temos avulsão de múltiplas raízes.

Este trabalho revelou que os troncos íntegros do plexo braquial são adequados como doadores de axônios podendo vir a serem utilizados clinicamente em diversas situações críticas.

Devido a não causar lesão no nervo doador, esta cirurgia poderá ser feita em um intervalo de tempo mais curto após a lesão do plexo braquial, amenizando assim a conseqüente atrofia muscular provocada por estas lesões nervosas.

A utilização de enxertos mais curtos, intraplexo, é outro ponto positivo a ser enfatizado, pois se pode utilizar um número maior de pontes de nervos, obtendo-se talvez melhores resultados nas lesões de plexo braquial.

A principal meta a ser alcançada em qualquer reparação nervosa é a recuperação funcional das estruturas reinervadas. O que observamos em nosso trabalho foi que, mesmo não apresentando um grande número de fibras nervosas, ocorreu uma reinervação do músculo flexor superficial dos dedos que levou a uma

recuperação funcional adequada, conforme demonstrado no teste funcional, o “grasping test”.

Mais uma vez gostaríamos de ressaltar que talvez, com observação em período mais longo, o resultado morfométrico das fibras nervosas fosse diferente, acompanhando o resultado funcional obtido.

Finalizando, acreditamos que este trabalho trouxe grande contribuição nos estudos das lesões de plexo braquial, comprovando os achados clínicos de Viterbo e col. (1994d, 1995, 2000, 2003, 2005) com as técnicas “Robin Hood” e “Robin Hood expandido”. Certamente as contribuições clínicas advindas deste estudo serão muito importantes.

6. Conclusão

Baseados no modelo experimental utilizado concluímos que foi possível reinervar o tronco inferior, parcialmente lesado, a partir do tronco superior e médio, não lesados, com uso de enxertos e neurorrafias término-laterais.

Referências

AGUAYO, A.J.; EPPS, J.; CHARRON, L.C. Multi - potentiality of Schwann cells in cross anastomosed and grafted myelinated and unmyelinated nerve. **Brain Res.**, Amsterdam, v.104, p.1-20, 1976.

AGUAYO, A.J.; BRAY, G.M.; PERKINS, S.C. Axon - Schwann cells relationships in neuropathies of mutant mice. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, New York, v.317, p.512-518, 1979.

AGUAYO, A.J.; BRAY, G.M. Experimental nerve grafts. In: JEWETT, D.L.; McCARROLL JR., H. R. (Eds). **Nerve repair and regeneration: its clinical and experimental basis**. St. Louis: C. V. Mosby, 1980. p.68-76.

AKASAKA Y.; HARA T.; TAKAHASHI M. Restoration of elbow flexion and wrist extension in brachial plexus paralyses by means of free muscle transplantation innervated by intercostal nerve. **Ann Chir Main Mem Sup**. n. 9, p. 34-350, 1990.

ALBERTS, B.; BRAY D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WATSON, J. D. **Biologia molecular da célula**. 3.ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997. 1125p.

ALMQUIST, E.; EEG-OLOFSSON, O. Sensory nerve conduction velocity and two point discrimination in sutured nerves. **J. Bone Joint Surg.[Am.]**, Boston, v.52, p.791-796, 1970.

ALMQUIST, E.; SMITH, O.; FRY, L. Nerve conduction velocity, microscopic and electron microscopic studies comparing repaired adult and baby monkey median nerves. **J. Hand. Surg. [Am.]**, St. Louis, v.8,p.406-410, 1983.

AL-QATTAN, M. M.; AL-THUNYAN, A. Variables affecting axonal regeneration following end-to-side neurorrhaphy. **Br. J. Plast. Surg.**, Edinburg, v.51, p.238-242, 1998.

AL-QATTAN, M. M. Prevention and treatment of painful neuromas of the superficial radial nerve by the end-to-side nerve repair concept: an experimental study and preliminary clinical experience. **Microsurgery**, New York, v.20, n.3, p. 99-104, 2000.

AL-QATTAN, M. M. Terminolateral neurorrhaphy: Review of Experimental and Clinical Studies. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.17, n.2, p.99-107, 2001.

AMILLO, S.; YÁÑEZ, R.; BARRIOS, R. H. Nerve regeneration in different types of grafts: Experimental study in rabbits. **Microsurgery**, New York, v.16, p.621-30, 1995.

ANDREWS, T. J. Autonomic nervous system as a model of neuronal aging: The role of target tissues and neurotrophic factors. **Microsc. Res. Tec.**, New York, v.35, p.2-19, 1996.

ASBURY, A. K.; JOHNSON, P. C. Pathology of Peripheral Nerve. In:_____. **Nerve Trauma**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1978. p. 198-205.

ASKAR, I.; SABUNCUOGLU, B. T., YORMUK, E.; SARAY, A. The fate of neurotization techniques on reinnervation after denervation of the gastrocnemius muscle: an experimental study. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.17, n.5, p.347-355, 2001.

ASKAR, I.; SABUNCUOGLU, B. T. Superficial or deep implantation of motor nerve after denervation: an experimental study--superficial or deep implantation of motor nerve. **Microsurgery**, New York, v.22, n.6, p.242-248, 2002.

ASZMANN, O.C.; KORAK, K.J.;RAB, M.;GRÜNBECK, M.;LASSMANN, H.;FREY, M. Neuroma prevention by end-to-side neurorrhaphy: an experimental study in rats. **J. Hand Surg**.v.28A,n.6, p.1022-1028, 2003.

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

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

BARAKAT-WALTER, I. Role of thyroid hormones and their receptors in peripheral nerve regeneration. **J. Neurobiol.**, New York, v.40, n.4, p.541-559, 1999.

BARDE, Y. A. Trophic factors and neuronal survival. **Neuron**, Cambridge, v.2, p.1525-1534, 1989.

BARKER, C.F.; BILLINGHAM, R.E. Histocompatibility requirements of heart and skin grafts in rats. **Transplant. Proc.**, New York, v.3, p.172-175, 1971.

BARNES, D. M. What makes nerves regenerate? Many experimental strategies revolve around a central issue: What conditions promote regeneration and functional recovery in mammalian nerves? **Science**, Washington, v.230, p.1024-1025, 1985.

BATTAL, M. N.; HATA, Y. A review on the history of end-to-side neurorrhaphy. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.99, n.7, p.2110-2111, 1997.

BATTISTON, B.; TOS, P.; CUSHWAY, T. R.; GEUNA, S. Nerve repair by means of vein filled with muscle grafts. I. Clinical results. **Microsurgery**, New York, v.20, n.1, p.32-6, 2000.

BECKER, M.; LASSNER, F.; FANSA, H.; MAWRIN, C.; PALLUA, N. Refinements in nerve to muscle neurotization. **Muscle Nerve**, New York, v.26, p.362-366, 2002.

BERKUO, E.S.; SOUZA, J.M.P.; GOTLIEB, S.L.D. **Bioestatística**. 2.ed. São Paulo: EPU, 1981. 350p.

BERTELLI, J.A.; MIRA, J.C.; GILBERT, A.; MICHOT, G.A.; LEGAGNEUX, J. Anatomical Basis of Rat Brachial Plexus Reconstruction. **Surg Radiol Anat**. v.14, n.1, p. 85-86, 1992.

BERTELLI, J. A.; MIRA, J. C. Nerve repair using freezing and fibrin glue: immediate histologic improvement of axonal coaptation. **Microsurgery**, New York, v.14, p.135-40, 1993.

BERTELLI, J.A.; MIRA, J.C. The grasping test: a simple behavioral method for objective quantitative assessment of peripheral nerve regeneration in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**. v. 58, p. 151-155, 1995.

BERTELLI, J. A.; SANTOS, A. R. S.; CALIXTO, J. B. Is axonal sprouting able to transverse the conjunctival layers of the peripheral nerve? A behavioral, motor, and sensory study of end-to-side nerve anastomosis. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.12, p.559-563, 1996.

BERTELLI, J. A.; GHIZONI, M. F. Nerve repair by end-to-side coaptation or fascicular transfer: a clinical study. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.19, p.313-318, 2003.

BERTELLI, J.A.; GHIZONI, M.F. Improved technique for harvesting the accessory nerve for transfer in brachial plexus injuries. **Neurosurgery**,v. 58,n.4,s.2,p. 366-70, 2006.

BEUCHE, W.; FRIEDE, R.L. Myelin phagocytosis in Wallerian degeneration depends on silica-sensitive, bg, bg-negative and Fc-positive monocytes. **Brain Res.**, Amsterdam, v.378, p.97-106, 1986.

BHARALLI, L. A.; LISNEY, S. J. W. Success of regeneration of peripheral nerve axons in rats after injury at different postnatal ages. **J. Neurol. Sci.**, Amsterdam, v.100, p.203-210, 1990.

BIGBEE, J.W.; YOSHINO, J.E.; DeVRIES, G.H. Morphological and proliferative responses of cultured Schwann cells following rapid phagocytosis of a myelin-enriched fraction. **J. Neurocytol.**, London, v.16, p.487-496, 1987.

BIRCH, R.; BONNEY, G.; WYNN PARRY, C. **Surgical disorders of the peripheral nerves**. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1998.

BLOTTNER, D.; BAUMGARTEN, H. G. Neurotropy and regeneration in vivo. **Acta Anat.**, Basel, v.150, p.235-245, 1994.

-
- BOEDTS, D.; BOUCKAERT, J. I. Nerve anastomoses. Sutures or fibrinogenic glue? Preliminary results. **Acta Otorhinolaryngol.**, Brussels, v.38, p.107-112, 1984.
- BOEDTS, D. A comparative experimental study on nerve repair. **Arch. Otorhinolaryngol.**, Chicago, v.244, n.1, p.1-6, 1987.
- BONTIOTI, E.; KANJE, M.; LUNDBORG, G.; DAHLIN, L.B. End-to-side nerve repair in the upper extremity of rat. **J Peripher Nerv Syst.**, n. 10, v. 1, p. 58-68, 2005.
- BORA, W. Peripheral nerve repair in cats: the fascicular stitch. **J. Bone Joint Surg. Am.**, Boston, v.49, p.659-666, 1967.
- BORA, F.W.; PLEASURE, D.E.; DIDIZIAN, N.A. A study of nerve regeneration and neuroma formation after suture by various techniques. **J. Hand Surg. [Am]**, St. Louis, v.1, p.138-143, 1976.
- BORA JUNIOR, F. W. A comparison of epineural, perineural and epineural methods of nerve suture. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, Philadelphia, v.133, p.91-94, 1978.
- BOYD, I. A.; DAVEY, M. R. **Composition of peripheral nerves**. Edinburgh: E & S Livingstone, 1968. p.6-7.
- BRAT, G.M.; AGUAYO, A.J. Regeneration of peripheral unmyelinated nerves. Fate of the axonal sprouts which develop after injury. **J. Anat.**, London, v.117, p.517-529, 1974.
- BRAUN, R. M. Epineurial nerve suture. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, Philadelphia, v.163, p.50-56, Mar. 1982.
- BRODAL, A. **Anatomia neurológica com correlações clínicas**. 3.ed. São Paulo: Roca, 1984. 888p.
- BRISTOL, D.C.; FRAHER, J.P.; Experimental traction injuries of ventral spinal nerve roots. A scanning electron microscopic study. **Neuropathol. Appl. Neurobiol.**, v.15, p.549-561, 1989.
-

BROWN, P. W. Factors e influencing the success of the surgical repair of periferal nerves. **Surg. Clin. North Am.**, Philadelphia, v.52, n.5, p.1137-1155, 1972.

BRUNELLI, G. A.; MONINI, L. Direct muscular neurotization. **J. Hand Surg. [Am]**, Saint Louis, v.10, n.6, p.993-997, 1985.

BRUNELLI, G.; MONINI, L.; BRUNELLI, F. La neurotisation musculaire directe. **Ann. Chir. Main**, Paris, v.9, n.4, p.290-295, 1990.

BRUNELLI, G. A. Direct neurotization of muscles by presynaptic motoneurons. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.17, n.8, p.631-636, 2001a.

BUNGE, R. P. Tissue culture observations relevant to the study of axon-Schwann cell interactions during peripheral nerve development and repair. **J. Exp. Biol.**, Great Britain, v.132, p.21-34, 1987.

BUNGE, R.P. Contribution of tissue culture studies to our understanding of basic processes in peripheral nerve regeneration. In: GORIO, A.; MILLESI, H.; MIGRINO, S. (Eds). **Posttraumatic peripheral nerve regeneration: experimental basis and clinical implications**. New York: Raven Press, 1981. p.105-113.

BUNNELL, S. Surgery of the nerves of the hand. **Surg. Gynecol. Obstet.**, Chicago, v.44, p.145-152, 1927.

BUNNELL, S.; BOYES, J. H. Nerve grafts. **Am. J. Surg.**, Washington, v.44, suppl.1, p.64-75, 1939.

BURT, A.V. **Neuroanatomia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.412p.

CAJAL, S. R. **Degeneration and regeneration of the nervous system**. Oxfor: Oxford University Press, v.1, p.239, 1928.

CALDER, J. S.; GREEN, C. J. Nerve-muscle sandwich grafts: The importance of Schwann cells in peripheral nerve regeneration through muscle basal lamina conduits. **J. Hand Surg. [Br]**, Edinburgh, v.20, p.423-428, 1995.

CAO, X.; TAMAI, M.; KIZAKI, K.; AKAHANE, M.; ONO, H.; OHGUSHI, H.; YAJIMA, H.; TAMAI, S. Choline Acetyltransferase Activity In Collateral Sprouting Of Peripheral Nerve After Surgical Intervention: Experimental Study In Rats. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.15, n.6, p.443-448, Aug. 1999.

CAO, X.C.; LING, L.J. Anatomic basis and technical aspects of a new brachial plexus avulsion injury model in the rat. **Plast Reconstr Surg.** v.111,n.7,p.2488-90, 2003.

CAPLAN, J.; TIANGCO, D. A.; TERZIS, J. K. Effects of IGF-II in a new end-to-side model. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.15, n.5, p.351-358, 1999.

CARANDENTE, F. et al. Rhythms in the ovulatory cycle: LH, FSH, estradiol and progesterone. **Chronobiologia**, Milano, v.16, p.353-363, 1989.

CARLSTED, T.; GRANE, P.; Hallin, R.G.; NOREN, G. Return of function after spinal Cord reimplantation of avulsed spinal nerve roots. **Lancet.** v.346,p.1323-1325,1995.

CARPENTER, M.B. **Core text of neuroanatomy.** 4.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1991. 481p.

CEDERNA, P. S.; KALLIAINEN, L. K.; URBANCHEK, M. G.; ROVAK, J. M.; KUZON, W. M. Donor Muscle Structure and Function after End-to-Side Neuroorrhaphy. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.107, p. 789, 2001.

CHANG, D. W. Minimal incision technique for sural nerve graft harvest: Experience with 61 patients. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.18, p.671-675, 2002.

CHEN, L.; GU, Y-D. An experimental study of contralateral C7 root transfer with vascularized nerve grafting to treat brachial plexus root avulsion. **J Hand Surg.** v.19, n. B, p. 60-66, 1994.

CHIU, D.T.W. et al. Autogenous vein graft as a conduit for nerve regeneration. **Surgery**, St. Louis, v.91 p.226-233, 1982.

CHUANG, D.C.; WEI, F.C.; Noordhoff MS: Cross-chest C7 nerve grafting followed by free muscle transplantations for the treatment of total avulsed brachial plexus injuries: a preliminary report. **Plast Reconstr Surg.** n. 92, p. 717-727, 1993.

COERT, J. H.; LEE DELLON, A. Clinical implications of the surgical anatomy of the sural nerve. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.94, p.850-855, 1994.

COOPER, C. W.; FALB, R. D. Surgical Adhesives. **Ann. NY Acad. Sci.**, New York, v.146, p.214-224, jan, 1968.

CORKIDI, G.; RUIZ-VELASCO, S.; ORTIZ, A.; VARGAS, G.; TEIXEIRA, F. Limits of variation of fiber distribution in the sural nerve of man. **Arch. Med. Res.**, México, v.28, n.2, p.183-187, 1997.

DANIELSEN, N.; KERNS, J. M.; HOLMQUIST, B.; ZHAO, Q., LUNDBORG, G., KANJE, M. Pre-degenerated nerve grafts enhance regeneration by shortening the initial delay period. **Brain Res.**, Amsterdam, v.666, p.250-254, 1994.

DANGELO, G.D.; FATTINI, C.A. **Anatomia humana sistêmica e segmentar.** 2.ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1988. 671p.

DA-SILVA, C. Biologia Celular e Molecular da regeneração do sistema nervoso periférico. **Atualiz. Neurociênc.**, [S.l.], p.1-16, 1995b.

DA-SILVA, C.F. Fatores Neurotróficos: estrutura, função e aplicações clínicas. **Atual. Neurociênc.**, v.1, p.1-20, 1995a.

DAUNOIS, O.; SÉBILLE, A. Amélioration de la réinnervation musculaire par utilisation de colle biologique enrichie chez le rat. **Ann. Chir. Main**, Paris, v.10, p.113-118, 1991.

DAVIES, E.R., SUTTON, D., BLIGH, A.S. Myelography in brachial plexus injury. **Br. J. Radiol.** v. 39, p. 362-371, 1966.

DELLON, A. L. & MACKINNON, S.E. – Selection of the appropriate parameter to measure neural regeneration. **Ann. Plast. Surg.**, Boston, 23 : 197-02, 1989.

DELLON, A. L. Alternatives to nerve grafting. Bioabsorbable conduits. Vienna Nerve Symposium. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.10, n.5, p.356-357, 1994.

DELLON, E. S.; DELLON, A. L. The first nerve graft, Vulpian, and the nineteenth century neural regeneration controversy. **J. Hand Surg. [Am]**, Saint Louis, v.18A, p.369-372, 1993.

DELORME, P.; ROUSSEAU, A.; BERNARD, J.; LEEK, B. F.; ROUSSEAU, J. P. Ultrastructural Changes in the Nerve Fiber Population of Anastomosed Vagal and Spinal Accessory Nerves in the Sheep. **Anat. Rec.**, New York, v.248, p.129-36, 1997.

DeMEDINACELI, L.; MERLE, M. How exact should nerve stump coaptation be? A new answer given by “cell surgery”. **J. Hand Surg. [Br.]**, Edimburgh, v.16, n.5, p.495-498, 1991.

DIMEGLIO, A. **Ortopedia pediátrica**. São Paulo: Santos, 1990. 459p.

DOI, K. et al. A comparison of vascularized and conventional sural nerve grafts. **J. Hand Surg. [Am.]**, St. Louis, v.17, p.670-676, 1992.

DOI K, Muramatsu K, Hattori Y. Restoration of prehension with the double free muscle technique following complete avulsion of the brachial plexus. Indications and long-term results. **J Bone Joint Surg Am.** n. 82, v. A, p. 652-666, 2000.

DUCHENE, G. De l'electrisation localisée et de son application à La pathologie et à la therapeutique. Paris: **JB Baillière et fils**. pp. 357-62, 1872.

EBENDAL, T.; JACOBSON, C.O. Tissue explants affecting extension and orientation of axons in cultured chick embryo ganglia. **Exp. Cell Res.**, Orlando, v.105, p.379-387, 1977.

EDSHAGE, S. Peripheral nerve suture. A technique for improved intraneural topography. **Acta Chir. Scand. Suppl.**, Stockholm, v.331, p.1-104, 1964.

ERB, W. Ueber eine eipentümliche lokalisation von Lähmungen im Plexusbrachialis, Verhandl Naturhist Med Vereins. Carl Winter's Universitats Heidelberg: **Buchlandlung**. v 2, p. 130-36, 1874.

ERHART, E. A. **Neuroanatomia**. 3.ed. São Paulo: Atheneu, 1965. 374p.

EYZAGUIRRE, C.; FIDONE, S.J. **Fisiologia do sistema nervoso**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1977. 398p.

EVANS, P. J.; BAIN, J. R.; MACKINNON, S. E.; MAKINO, A. P.; HUNTER, D. A. Selective reinnervation: a comparison of recovery following microsuture and conduit nerve repair. **Microsurgery**, New York, v.15, p.502-505, 1991.

EVANS, P.J.; MIDHA, R.; MACKINNON, E. The peripheral nerve allograft: a comprehensive reiew of regeneration and neuroimmunology. **Prog. Neurobiol.**, Oxford, v.43, p.187-233, 1994.

FALEMPIN, M.; ROSSEAU, J. P. Reinnervation of skeletal muscle by vagal sensory fibers in the sheep, cat and rabbit. **J. Physiol. (Lond.)**, Cambridge, v.335, p.467-479, 1983.

FAÚNDEZ, V.; CORDERO, M. E.; ROSSO, P.; ALVAREZ, J. Calibers and microtubules of nerve fibers: differential effect of under nutrition in developing and adult rats. **Brain Res.**, Amsterdam, v.509, p.198-204, 1990.

FAWCETT, J. W.; KEYNES R. J. Peripheral Nerve Regeneration. **Annu. Rev. Neurosci.**, Palo Alto, v.13, p.43-60, 1990.

FAWCETT, J. W. Intrinsic neuronal determinants of regeneration. **TINS**, Barking, v.15, suppl.1, p.5-8, 1992.

FERLIC, D. C.; GOLDNER, L. Evaluation of the effect of methyl 2-cyanoacrylate (Eastman 910 Monomer) on peripheral nerves. **South. Med. J.**, Birmingham, v.58, p.679-85, 1965.

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.**, London, v.24, p.667-679, 1995.

FERRARESI, S.; GAROZZO, D.; RAVENNI, R.; Hemihypoglossal nerve transfer in brachial plexus repair: technique and results. **Neurosurgery**, n. 50, p. 332-335, 2002.

FERREIRA, A. S. **Lesões nervosas periéricas**. Santos: Livraria Editorial Santos, 1999. 253p.

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. H. Nerve regeneration through artificial tubular implants. **Prog. Neurobiol.**, Oxford, v.33, p.87-134, 1989.

FLUMERFELT, B. A.; KIERNAN, J. A.; KRCEK, J. P.; SHOLDICE, J. Reinnervation of skeletal muscle in the tongue by preganglionic parasympathetic vagal neurons. **J. Anat.**, Cambridge, v.146, p.117-30, 1986.

FONTES E. M. Métodos de Eutanásia. **Rev. Port. Ciênc. Vet.**, Lisboa, v.40, n.515, p.104-109, 1995.

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.

FORTES, W.M. et al. End-to-side neurorrhaphy: evaluation of axonal response and upregulation of IGF-I and IGF-II in a non-injury model. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.15, n.6, p.349-357, 1999.

FRANCIOSI, L.F.; MODESTTI, C.; MUELLER, S.F. Neurotization of the biceps muscle by end-to-side neurorrhaphy between ulnar and musculocutaneous nerves. A series of five cases. **Chir Main.** n. 17, p. 362-367, 1998.

FREY, M.; KOLLER, R.; GRUBER, I.; LIEGL, C.; BITTNER, R.; GRUBER, H. Time course of histomorphometric alterations in nerve grafts without connection to a muscle target organ: an experimental study in sheep. **J. Reconst. Microsurg.**, New York, v.8, n.5, p.345-57, 1992.

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

FRISÉN, J. Determinants of axonal regeneration. **Histol. Histopathol.**, Murcia, v.12, p.857-868, 1997.

FROSTICK, S. P.; YIN, Q.; KEMP, G. J. Schwann cells, neurotrophic factors, and peripheral nerve regeneration. **Microsurgery**, New York, v.18, p.397-405, 1998.

FRYKMAN, G. K. The quest for better recovery from peripheral nerve injury: current status of nerve regeneration research. **J. Hand Ther.**, Philadelphia , v.6, n.2, p.83-88, 1993.

FU, S. Y.; GORDON, T. The cellular and molecular basis of peripheral nerve regeneration. **Mol. Neurobiol.**, Clifton, v.14, n.1, p.67-116, 1997.

FUKUDA, A.; HIRATA, H.; AKEDA, K.; MORITA, A.; NAGAKURA, T.; TSUJII, M.; UCHIDA, A. Enhanced reinnervation after neurotization with Schwann cell transplantation. **Muscle Nerve**, New York, v.31, p.229-234, 2005.

FUNAKOSHI, H. et al. Differential expression of mRNAs for neurotrophins and their receptors after axotomy of sciatic nerve. **J. Cell Biol.**, New York, v.123, p.455-465, 1993.

GAILLARD, S.; HORVAT, J. C. Modèle de greffe "pont" entre la moëlle épinière cervicale et le muscle biceps à l'aide d'un autogreffon de nerf périphérique. Étude chez le rat adulte. **Chirurgie**, Paris, v.119, p.649-656, 1993-1994.

GALHARDO, I. **Propedêutica neurológica essencial**. São Paulo: Pancast, 1989. 351p.

GARDNER, E.; GRAY, D.J.; O'RAHILLY, R. **Anatomia**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 815p.

GEUNA, S.; TOS, P.; FORNARO, M.; BATTISTON, B.; GIACOBINI-ROBECCHI, M. G. New insights into nerve fiber regeneration along non-nervous grafts used to bridge peripheral nerve defects. In : WORKSHOP INTERNACIONAL DE MICROCIRURGIA E CIRURGIA DE MÃO, 18., 2000, Botucatu. **Anais...** São Paulo:UNESP, 2000. p.23.

GIGO-BENATO, D.; GEUNA, S.; DE CASTRO RODRIGUES, A.; TOS, P.; FORNARO, M.; BOUX, E.; BATTISTON, B.; GIACOBINI-ROBECCHI, M. G. Low-power laser biostimulation enhances nerve repair after end-to-side neurotomy: a double-blind randomized study in the rat median nerve model. **Lasers Med. Sci.**, New York, v.19, p.57-65, 2004.

GIOVANOLI, P.; KOLLER, R.; MEULI-SIMMEN, C.; RAB, M.; HASLIK, W.; MITTLBÖCK, M.; MEYER, V.E.; FREY, M. Functional and morphometric evaluation of end-to-side neurotomy for muscle reinnervation. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.106, n.2, p.383-392, 2000.

GLASBY, M.A. et al. Degenerated muscle grafts used for peripheral nerve repair in primates. **J. Hand Surg.**, St. Louis, v.11, p. 347-351, 1986.

GLASS, J.D. et al. Prolonged survival of transected nerve fibers in C57BL/Ola mice is a intrinsic characteristic of axon. **J. Neurocytol.**, Oxford, v.22, p.311-321, 1993.

GOHEEN-ROBILLARD B.; MYCHATYN, T. M.; MACKINNON, S. E.; HUNTER, D. A. End-to-side neurorrhaphy and lateral axonal sprouting in a long graft rat model. **Laryngoscope**, Saint Louis, v.112, p.899-905, 2002.

GORIO, A.; VERGANI, L.; LESMA, E.; DI-GIULIO, A. M. Neuroprotection, neuroregeneration, and interaction with insulin-like growth factor-I: novel non-anticoagulant action of glycosaminoglycans. **J. Neurosci. Res.**, New York, v.51, p.559-62, 1998a.

GORIO, A.; VERGANI, L.; TOLLIS, A.; DI GIULIO, A. M.; TORSELLO, A.; CATTANEO, L.; MULLER, E. E. Muscle reinnervation following neonatal nerve crush. Interactive effects of glycosaminoglycans and insulin-like growth factor-I. **Neuroscience**, Oxford, v.82, p.1029-1037, 1998b.

GRAY, H. **Anatomia**. 35.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.1375p.

GRIFFIN, J.W.; HOFFMAN, P.N. Degeneration and regeneration in the peripheral nervous system. In: DICK, P.S.; THOMAS, P.K. (Eds). **Peripheral neuropathy**, 3.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1993. p.361-376.

GRIFFIN, J.W.; KIDD, G.; TRAPP, B. **Interactions between axons and Schwann cells: incisão peripheral neuropathy**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1993. p.317-330.

GROTHER, C.; NIKKHAH, G. The role of basic fibroblast growth factor in peripheral nerve regeneration. **Anat. Embryol.**, Berlim, v.204, p.171-177, 2001.

GU, Y.D. Cervical nerve root transfer from the healthy side in the treatment of brachial plexus root avulsion. **Zhonghua Yi Xue Za Zhi**. v.69, p. 563-565, 1989.

GU, Y.D.; CAI, P.Q.; XU, F. Clinical application of ipsilateral C7 nerve root transfer for treatment of C5 and C6 avulsion of brachial plexus. **Microsurgery**. n. 23, p. 105-108, 2003.

GU, Y.D.; CHAI, H.; ZHANG, J.Y.; YAO, Z.B.; ZHOU, L.H.; Wong, W.M.; BBRUCE, I.; WU, W.T. Survival, regeneration and functional recovery of motoneurons in adult rats by reimplantation of ventral root following spinal root avulsion. **European Journal of Neuroscience**. v.19,p. 2123-2131, 2004.

GULATI, A.K. Evaluation of acellular and cellular nerve grafts in repair of rat peripheral nerve. **J. Neurosurg.**, Baltimore, v.68, p.117-123, 1988.

GUNDERSEN, R.W.; BARRETT, J.N. Neuronal chemotaxis: chick dorsal root axons turn toward high concentrations of nerve growth factor. **Science**, Washington, v.206, p.1079-1080, 1979.

GUTH, L. Regeneration in the mammalian peripheral nervous system. **Physiol. Rev.**, Baltimore, v.36, p.441-478, 1956.

HAKSTIAN, R. H. Perineural neurorrhapy. **Orthop. Clin. North Am.**, Philadelphia ,v.4, p.945-956, 1973.

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

HANINEC, P.; DUBOVÝ, P.; ŠÁMAL, F.; HOUŠT'AVA, L.; STEJSKALA, L. End-to-side anastomosis of peripheral nerve in experimental and clinical model. **Int. Congress Ser.**, Hawai, v.1259, p.471-477, 2004.

HARRIS, L.; LOW, V.W. On the importance of accurate muscular analysis in lesions of the brachial plexus, and the treatment of Erb's palsy and infantile paralysis of the upper extremity by cross-union of nerve roots. **Br. Med. J.**, London, v.24, p.1035, 1903.

HAYASHI, A.; YANAI, A.; KOMURO, Y.; NISHIDA, M.; INOUE, M.; SEKI, T. Collateral sprouting occurs following end-to-side neurorrhaphy. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.114, p.129-137, 2004.

HAYMAKER, W.; WOODHALL, B. **Peripheral Nerve Injuries**. Philadelphia: W. B. Saunders Co., 1953. p.200.

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.

HEUMANN, R. Regulation of the synthesis of nerve growth factor. **J. Exp. Biol.**, Great Britain, v.132, p. 133-150, 1987.

HOLLINSHEAD, W.H.; ROSE, S. **Anatomia**. 4.ed. Rio de Janeiro: Interlivros, 1991. 881p.

HOLMQUIST, B.; KANJE, M.; KERNS, J. M.; DANIELSEN, N. A mathematical model for regeneration rate and initial delay following surgical repair of peripheral nerves. **J. Neurosci. Methods**, Amsterdam, v.48, p.27-33, 1993.

HUDSON, A. R.; HUNTER, D.; KLINE, D. G.; BRANTTON, B. R. Histological studies of experimental interfascicular graft repair. **J. Neurosurg**, Baltimore, v.51, p. 333-340, 1979.

HUENE, D. B.; BUNNELL, W. P.; LINDA, L. Operative anatomy of nerves encountered in the lateral approach to the distal part of the fibula. **J. Bone Joint Surg. [Am]**, Boston, v.77-A, n.7, p.1021-1024, 1995.

IDE, C. Degeneration of mouse digital corpuscle. **Am. J. Anat.**, Philadelphia, v.163, p.59-72, 1982.

IDE, C. Nerve regeneration and Schwann cell basal lamina: observations of the long-term regeneration. **Arch. Histol. Jap.**, Niigata, v.46, p.243-257, 1983.

IDE, C.; TOHYAMA, K.; YOKOTA, R.; NITATORI, T.; ONODERA, S. Schwann cell basal lamina and nerve regeneration. **Brain Res.**, Amesterdam, v.288, p.61-75, 1983.

IDE, C., KATO, S. Peripheral nerve regeneration. **Neurosci. Res.**, Limerick, v.13, p.S157-S164, 1990.

IDE, C. Peripheral nerve regeneration. **Neurosci. Res.**, Limerick, v.25, p.101-121, 1996.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE. **Nomina anatomica veterinaria**. 4.ed. Ithaca: Word Association of veterinary Anatomists, 1994.

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

JENQ, C. B.; COGGESHALL, R. E. Sciatic nerve regeneration after autologous sural nerve transplantation in the rat. **Brain Res.**, Amsterdam, v.406, p.52-61, 1987.

JIN, T.; DEHESDIN, D.; HEMET, J.; BAGOT D'ARC, C.; CREISSARD, P.; TADIE, M. Comparative experimental study of nerve repairs by classical suture or biological adhesive. **Neurochirurgie**, Paris, v.36, p.378-382, 1990.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, C. **Histologia básica**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 427p.

KALLIAINEN, L. K.; CEDERNA, P. S.; KUZON, W. M.. Mechanical function of muscle reinnervated by end-to-side neurorrhaphy. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.103, n.7, p.1919-1927, 1999.

KANJE, M. Survival and regeneration of the adult rat vagus nerve in culture. **Brain Res.**, Amsterdam, v.550, p.340-342, 1991.

KANJE, M. Regeneration of an adult an adult peripheral nerve preparation in culture. **Mol. Neurobiol.**, Clifton, v.6, suppl.2-3, p.217-223, 1992.

KARACAOGLU, E.; YÜKSEL, F.; PEKER, F.; GÜLER, M. Nerve regeneration through an epineurial sheath: Its functional aspect compared with nerve and vein grafts. **Microsurgery**, New York, v.21, p.196-201, 2001.

KAYIKÇIOĞLU, A.; KARAMÜRSEL, S.; AĞAOĞLU, G.; KEÇİK, A.; ÇELIKER, R.; ÇETIN, A. End-to-side neurorrhaphies of the ulnar and median nerves at the wrist: report of two cases without sensory or motor improvement. **Ann. Plast. Surg.**, Boston, v.45, p.641-643, 2000.

KEILHOFF, G.; FANSA, H. Successful intramuscular neurotization is dependent on the denervation period. A histomorphological study of the gracilis muscle in rats. **Muscle Nerve**, New York, v.31, p.221-228, 2005.

KIM, D.H.; Cho, Y.J.; Tiel, R.L.; Kline, D.G. Operative management of brachial plexus injuries and tumors. **Neurosurgery Quarterly**, v.13, n. 1, p.1-19, 2003.

KIYOTANI, T.; TERAMACHI, M.; TAKIMOTO, Y.; NAKAMURA, T.; SHIMIZU, Y.; ENDO, K. Nerve regeneration across a 25-mm gap bridged by a polyglycolic acid-collagen tube: a histological and electrophysiological evaluation of regenerated nerves. **Brain Res.**, Amsterdam, v.740, p.66-74, 1996.

KLINE, D.G.; HUDSON, A.R.; BRATTON, B.R. Experimental study of fascicular nerve repair with and without epineurial closure. **J. Neurosurg.**, Baltimore, v.54, p.513-520, 1981.

KLUMPKE, A. Contribution à l'étude des paralysies radiculaires du plexus brachial. **Rev. Med.** (Paris) 5: 591-616, 1885.

KNOPLICH, J. **Enfermidades da coluna vertebral**. 2.ed. São Paulo: Panamed, 1986. 452p.

KOLLER, R.; RAB, M.; TODOROFF, B.P.; NEUMAYER, C.; HASLIK, W.; STÖHR, H. G.; FREY, M. The influence of the graft length on the functional and morphological result after nerve grafting: an experimental study in rabbits. **Br. J. Plast. Surg.**, Edinburgh, v.50, p.609-614, 1997.

-
- KORSCHING, S. The neurotrophic factor concept: A reexamination. **J. Neurosc.**, Washington, v.13, n.7, p.2739-2748, 1993.
- KOZIN, S.H.; PORTER, S.; CLARK, P.; THODER, J.J. The contribution of the intrinsic muscles to grip and pinch strength. **J Hand Surg (Am)**., v. 24, p. 64-72, 1999.
- KREUTZBERG, G. W. Principles of Neuronal regeneration. **Acta Neurochir. Suppl.**, Wien, v.66, p.103-106, 1996.
- KUBEK, T.; KYR, M.; HANINEC, P.; DUBOVY, P. Morphological evidence of collateral sprouting of intact afferent and motor axons of the rat ulnar nerve demonstrated by one type of tracer molecule. **Ann. Ant.** v.186, p.231-234, 2004.
- KUMMER, W. Neuronal specificity and plasticity in the autonomic nervous system. **Ann. Anat.**, Paris, v.174, p. 409-417, 1992.
- KUTZ, J.E.; SHEALY G.; LUBBERS, L. Interfascicular nerve repair. **Orthop. Clin. North Am.**, Philadelphia, v.9, p.277-286, 1981.
- KUYPERS, P. D. L.; EGERAAT, J. M.; HEEL, M. D.; BRIEMEN, L.; GODSCHALK, M.; HOVIUS, S. E. R. A magnetic evaluation of peripheral nerve regeneration: I. The discrepancy between magnetic and histologic data from the proximal segment. **Muscle Nerve**, New York, p.739-749, jun. 1998.
- LAJARA, L. R.; BACK JÚNIOR, E. T.; SILVA, E. R.; SAVI, A.; ARRUDA, M. Estudo anatômico do nervo sural. **Rev. Bras. Cir.**, Rio de Janeiro, v.78, p.179-183, 1988.
- LANDON, D.N.; HALL, S. The myelinated nerve fiber. In: LANDON, D.N. (Ed.) **The peripheral nerve**. London: Chapman and Hall, 1976. 105p.
- LATARJET, M.; RUIZ LIARD, A. **Anatomia humana**. 2.ed. São Paulo: Panamericana, 1996. 958p.
- LETOURNEAU, P.C. Chemotactic response of nerve fiber elongation to nerve growth factor. **Dev. Biol.**, Orlando, v.66, p.183-196, 1978.
-

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

LIU, K.; CHEN, L. ; SEABER, A. V.; GOLDNER, R. V.; URBANIAK, J. R. Motor Functional and Morphological findings following End-To-Side Neurotomy in the Rat Model. **J. Orthop. Res.**, New York, v.17, n.2, p.293-300, 1999.

LIU, H. J.; DONG, M. M.; CHI, F. L. Functional remobilization evaluation of the paralyzed vocal cord by end-to-side neurotomy in rats. **Laryngoscope**, Saint Louis, v. 115, p.1418-1420, 2005.

LIUZZI, F. J.; TEDESCHI, B. Peripheral Nerve Regeneration. **Neurosurg. Clin. North Am.**, Philadelphia, v.2, suppl.1, p.31-42, 1991.

LUMSDEN, A.G.S.; DAVIES, A.M. Earliest sensory nerve fibres are guided to peripheral targets by attractants other than nerve growth factor. **Nature**, London, v.306, p.786-788, 1983.

LUNDBORG, G.; DAHLIN, L. B.; DANIELSEN, N.; GELBERMAN, R. H.; LONGO, F. M.; POWELL, H. C.; VARON, S. Nerve regeneration in silicone chambers: influence of gap length and of distal stump components. **Exp. Neurol.**, Orlando, v.76, p.361-375, 1982.

LUNDBORG, G. et al. Tissue specificity in nerve regeneration. **Scan. J. Plast. Reconstr. Surg.**, Stockholm, v.20, p.279-283, 1986.

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

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

LUNDBORG, G.; ZHAO, Q.; KANJE, M.; DAINELSEN, N.; KERNS, J. M. Can sensory and motor collateral sprouting be induced from intact peripheral nerve by end-to-side anastomosis?. **J. Hand Surg. [Br]**, Edinburgh, v.19B, p.277-282, 1994b.

LUNDBORG, G. A 25-year perspective of peripheral nerve surgery: involving neuroscientific concepts and clinical significance. **J. Hand Surg. [Am.]**, St. Louis, v.25, p.391-413, 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 neurorrhaphy. **Br. J. Plast. Surg.**, Edinburgh, v.53, n.2, p.149-154, 2000.

MACHADO, A. **Neuroanatomia funcional**. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 1993. 363p.

MACKINNON, S.E. et al. Histologic assessment of nerve regeneration in the rat. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.75, p.384-388, 1984.

MACKINNON, S. E.; DELLON, A. L.; HUDSON, A. R.; HUNTER, D. A. Alteration of neuroma formation by manipulation of its microenvironment. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.76, p.345-353, 1985a.

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, 1985b.

MACKINNON, S.E.; LEE DELON, A.A.; LUNDBORG, G. A study of neurotropism in primate model. **J. Hand Surg. [Am.]**, St Louis, v.11,p.888, 1986.

MACKINNON, S. E.; LEE DELON, A. A.; HUNTER, D. A. Histological assessment of the effects of the distal nerve in determining regeneration across a nerve graft. **Microsurgery**, New York, v.9, p.46-51, 1988.

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

MACKINNON, S. E.; McLEAN, A.; HUNTER, D. A. Direct muscle neurotization recovers gastrocnemius muscle function. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.9, n.2, p.77-80, 1993.

MADISON, R.D.; ARCHIBALD, S.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.**, Orlando, v.128, p.266-275, 1994.

MAEDA, T.; HORI, S.; SASAKI, S.; MARUO, S. Effects of tension at the site of coaptation on recovery of sciatic nerve function after neurorrhaphy: Evaluation by walking-track measurement, electrophysiology, histomorphometry, and electron probe X-ray microanalysis. **Microsurgery**, New York, v.19, p.200-207, 1999.

MAHAKKANUKRAUH, P.; CHOMSUNG, R. Anatomical variations of the sural nerve. **Clin. Anat.**, New York, v.15, p.263-266, 2002.

MALESSY, M.J.A.; HOFFMAN, C.F.E.; THOMEER, R.T.W.M. Initial report on the limited value of hypoglossal nerve transfer to treat brachial plexus avulsions. **J Neurosurg.** n. 91, p. 601-604, 1999.

MARDEGAM, M. J.; BANDEIRA, C. O. P.; NOVO, N. F., JULIANO, Y.; AMADO, C. A. B.; FAGUNDES, D. J. Modelo experimental de hérnia ventral em ratos. **Acta Scient.**, Maringá, v. 23, n. 3, p. 683-689, 2001.

MATSUMOTO, M.; HIRATA, H.; NISHIYAMA, M.; MORITA, A.; SASAKI, H.; UCHIDA, A. Schwann cell can induce collateral sprouting from intact axons: Experimental study of end-to-side neurorrhaphy using a y-chamber model. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.15, p.281-286, 1999.

McCALLISTER, R.M.; CALDER, J.S. Paradoxical clinical consequences of peripheral nerve injury: a review of anatomical, neurophysiological and psychological mechanisms. **Br. J. Plast. Surg.**, Edinburgh v.48, p.384-95, 1995.

McCALLISTER, W. V.; TANG, P.; TUMBLE, T. E. Is end-to-side neurorrhaphy effective? A study of axonal sprouting stimulated from intact nerves. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.15, n.8, p.598-604, 1999.

McCALISTER, W.V.; COBER, S.R.; NORMAN, B.S.; TRUMBLE, T.E. Using intact nerve to bridge peripheral nerve defects: an alternative to the use of nerve grafts. **J. Hand Surg.** v.26, n.2, p.315-425, 2001.

McMAHON, S.B.; PRIESTLEY, J.V. Peripheral neuropathies and neurotrophic factors: animal models and clinical perspectives. **Curr. Op. Neurobiol.**, Philadelphia, v.5, p.616-624, 1995.

MENDERES, A.; YILMAZ, M.; VAYVADA, H.; ÖZER, E.; BARUTÇU, A. Effects of nerve growth factor on the neurotization of denervated muscles. **Ann. Plast. Surg.**, Boston, v.48, p.415-422, 2002.

MENNEN U. – End-to-side nerve suture – a technique to repair peripheral nerve injury. **S. Afr. Med. J.** v.89,n.11:1188-94, 1999.

MEYER, M. et al. Enhanced synthesis of brain-derived neurotrophic factor in the lesioned peripheral nerve: different mechanisms are responsible for the regulation of BDNF and NGF mRNA. **J. Cell Biol.**, New York, v.119, p.45-54, 1992.

MIDRONI, G.; BILBAO, J. M.; COHEN, S. M. **Biopsy diagnosis of peripheral neuropathy.** Washington: Butterworth-Heinemann, 1995. 477p.

MIKI, A.; FUJIMOTO, E.; MIZOGUCHI, A.; ARAKAWA, M.; IDE, C. Traumatic degeneration of transected myelinated fibers of the mouse sciatic nerve. **Arch. Histol. Cytol.**, Niigata, v.55, n.4, p.407-414, 1992.

MILLES, H. Reappraisal of nerve repair. **Surg. Clin. North Am.**, Philadelphia, v.61, p.321-340, 1981.

MILLES, H. Microsurgery of peripheral nerve repair. **Hand**, London, v.5,p.157-160, 1973.

-
- MILLESSE, H. Indication, technique and results of nerve grafting. **Handchir. Suppl.**, Erlangen, v.2, p.1-24, 1977.
- MILLESSE, H. Peripheral nerve injuries. Nerve sutures and nerve injuries. **Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. Suppl.**, Stockholm, v.19, p.25-37, 1982.
- MILLESSE, H. Brachial plexus injuries. Nerve grafting. **Clin Orthop**, Dec, p.36-42, 1988.
- MILLESSE, H. Peripheral nerve surgery today: turning point or continuous development? **J. Hand Surg. [Am.]**, v.15, p.281, 1990.
- MOBERG, E. Evaluation and management of nerve injuries in the hand. **Surg. Clin. North Am.**, Philadelphia, v.44, p.1019-1029, 1964.
- MONTES, G.S.; COTTA-PEREIRA, G.; JUNQUEIRA, L.C.U. The connective tissue matrix of the vertebrate peripheral nervous system. **Adv. Cell Neurobiol.**, New York, v.5, p.177-218, 1984.
- MOORE, K.L. **Anatomia orientada para a clínica**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. 754p.
- MURAGAKI, Y. et al. Expression of trk receptors in the developing adult central and peripheral nervous system. **J. Comp. Neurol.**, New York, v.356, p.387-397, 1995.
- MYCKATYN, T. M.; MACKINNON, S. E. A review of research endeavors to optimize peripheral nerve reconstruction. **Neurol. Res.**, v.26, p.124-138, 2004.
- MYCKATYN, T. M.; MACKINNON, S. E.; HUNTER, D. A.; BRAKEFIELD, D.; PARSADANIAN, A. A novel model for the study of peripheral-nerve regeneration following common nerve injury paradigms. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.20, p.533-544, 2004.
-

NAKATSUKA, H.; TAKAMATSU, K.; KOSHIMUNE, M.; IMAI, Y.; ENOMOTO, M.; YAMANO, Y. Experimental study of polarity in reversing cable nerve grafts. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.18, n.6, p.509-515, 2002.

NARAKAS, A.O. Injuries of the brachial plexus and neighboring peripheral nerves in vertebral fractures and other trauma of the cervical spine. **Orthopade**, n. 16, n. 1, p. 81-86, 1987.

NARAKAS, A.O. Brachial plexus Injuries. In: **McCarthy J: Plastic Surgery**. Philadelphia: Saunders, p.4776-4780,1990.

NATHANIEL, E.J.H.; PEASE, D.C. Degenerative changes in rat dorsal roots during Wallerian degeneration, **J. Ultrastruct. Res.**, Orlando, v.9,p.511, 1963a.

NATHANIEL, E.J.H.; PEASE, D.C. Degenerative changes in rat dorsal roots following Wallerian degeneration, **J. Ultrastruct. Res.**, Orlando, v.9, p.533, 1963b.

NISHIHIRA, S.; McCAFFREY, T. Repair of motor nerve defects: Comparison of suture and fibrin adhesive techniques. **Otolaryngol. Head Neck Surg.**, Saint Louis, v.100, p.17-21, 1989.

NOAH, E. M.; WILLIAMS, A.; LORGENSON, C.; SKOULIS, T. G.; TERZIS J. K. End-to-Side Neurorrhaphy: A histologic and morphometric study of axonal sprouting into an end-to-side nerve graft. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.13, n.2, p.99-106, February, 1997a.

NOAH, E. M.; WILLIAMS, A.; FORTES, W.; TERZIS J. K. A new animal model to investigate axonal sprouting after end-to-side neurorrhaphy. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.13, n.5, p.317-325, Jul, 1997b.

OBERLIN, C.; BEAL, D.; LEECHAVENGVONGS, S. Nerve transfer to biceps muscle using part of ulnar nerve for C5-C6 avulsion of the brachial plexus: anatomical study and report of four cases. **J Hand Surg [Am]**., v. 19, n.A,p.232-237, 1994.

OCHII, M. Experimental study on orientation of regenerating fibres in severed peripheral nerve. **Hiroshima J. Med. Sci.**, Hiroshima, v.31,p.389-406, 1983.

O'DALY, J.; IMAEDA, T. Electron microscopic study of Wallerian degeneration in cutaneous nerves caused by mechanical injury. **Lab.Invest.**, Baltimore, v.17, p.744-766, 1967.

OĞÜN, T. C.; OZDEMIR, M.; SENARAN, H.; USTÜN, M. E. End-to-side neurorrhaphy as a salvage procedure for irreparable nerve injuries. Technical note. **J. Neurosurg.**, Baltimore, v.99, p.180-185, 2003.

OKAJIMA, S.; TERZIS, J. K. Ultrastructure of early axonal regeneration in an end-to-side neurorrhaphy model. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.16, p.313-326, 2000.

OLIVEIRA, A. L. R. **Capacidade regenerativa axonal em diferentes linhagens de camundongos isogênicos**. Botucatu, 1996. 128p. Dissertação (Mestre em Biologia Celular) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.

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., 2000, Botucatu. **Anais...** Botucatu, 2000. p.6.

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

ORTIGÜELA, M. E.; WOOD, M. B.; CAHILL, D. R. Anatomy of the sural nerve complex. **J. Hand Surg. [Am.]**, Saint Louis, v.12A, p.1119-1123, 1987.

O'SULLIVAN, S.B.; SCHMITZ, T.J. **Fisioterapia, avaliação e tratamento**. 2.ed. São Paulo: Manole, 1993. 775p.

OSWALD, T.M.; ZHANG, F.; LEI, M.; GERZENSHTEIN, J.; LINEAWEAVER, W.C. Muscle flap mass preservation with end-to-side neurorraphy: na experimental study. **J. Reconstr. Microsurg.**, v.20, n.6, p.483-488, 2004.

OZMEN, S.; LATIFOGLU, O.; AYHAN, S.; YAVUZER, R.; NURLU, G.; SEZER, C.; ATABAY, K. Impact of epineurial excision of the distal recipient nerve in terminolateral neurorraphy. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.20, p.385-397, 2004.

PAPALIA, I.; LACROIX, C.; BRUNELLI, F.; D'ALCONTRES, F.S. Direct Muscle Neurotization after End-to-Side Neurorraphy. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.17, n.4, p.237-246, 2001.

PAPALIA, I.; GEUNA, S.; LUIGI TOS, P.; BOUX, E.; BATTISTON, B.; D'ALCONTRES, F. S. Morphologic and functional study of rat median nerve repair by terminolateral neurorraphy of the ulnar nerve. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.19, p.257-264, 2003.

PAPALIA, I.; TOS, P.; SCEVOLA, A.; RAIMONDO, S.; GEUNA, S. The ulnar test: a method for the quantitative functional assessment of posttrumatic ulnar nerve recovery in the rat. *Journal of Neuroscience Methodos*, v. 154, p. 198-200, 2006.

PARCK, D. M.; SHON, S. K.; KIM, Y. J. Direct muscle neurotization in rat soleus muscle. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.16, n.5, p. 379-383, jul. 2000.

PAYNE, S. H.; BRUSHART, T. M. Neurotization of the rat soleus muscle: A quantitative analysis of reinnervation. **J. Hand Surg.**, Saint Louis, v.22A, n.4, p.640-643, 1997.

PAYNE, C. E.; HUNT, S. P.; LAMBERTY, G. H. Primary sciatic nerve repair using titanium staples. **Br. J. Plast. Surg.**, Edinburgh, v.55, p.330-334, 2002.

PELLEGRINO, R.G. et al Events in degenerating cat peripheral nerve: indution of Schwann cell S phase and its relation to nerve fibre degeneration. **J. Neurocytol.**, LONDON, v.15, p.17-28, 1986.

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. Med.**, New York, v.165, 1218-1223, 1987.

PERRY, V.H. et al. Radiation-induced reduction in macrophage recruitment have only slight effects on myelin degeneration in sectioned peripheral nerves of mice. **Eur. J. Neurosci.**, Oxford, v.7, p.271-280, 1995.

PETERS, A.; PALAY, S.L.; WEBSTER, H.F. **The fine structure of the nervous system: the neurons and supporting cells.** Philadelphia: Saunders, 1976. 406p.

POLITIS, M.J.; EDERLE, K.; SPENCER, P.S. Tropism in nerve regeneration in vivo, attraction of regenerating axons by diffusible factors derived from cell in distal nerve stumps of transected peripheral nerve. **Brain Res.**, Amsterdam, v.253, p.1-12, 1982.

PONDAAG, w.; GILBERT, A. Results of end-to-side nerve coaptation in severe obstetric brachial plexus lesions. **Neurosurgery.** v.62, n.3, p.656-663, 2008.

RAB, M.; KOLLER, R.; HASLIK, W.; KAMOLZ, L.-P; BECK, H.; MEGGENEDER, J.; FREY, M. The influence of timing on the functional and morphological result after nerve grafting: an experimental study in rabbits. **Br. J. Plast. Surg.**, Edinburgh, v.55, p.628-634, 2002.

RAPPETI J. C. S.; PIPPI, N. L. **Reações de diferentes fios de sutura em músculo homólogo conservado em glicerina a 98% implantado em tecido sadio de gatos: resultados parciais.** Rio Grande do Sul: Centro de Ciências Rurais, 2000. Disponível em: <<http://www.ufsm.br/lace/artigos/josaine.pdf>>. Acesso em: 17 out. 2003.

REICHERT, F.; SAADA, A.; ROTSHENKER, S. Peripheral nerve injury induces Schwann cells to express two macrophage phenotypes: phagocytosis and the galactose-specific lectin MAC-2. **J. Neurosci.**, New York, v.14, p.3231-3245, 1994.

REIS, F. A.; RODRIGUES, A. C.; VICENTE, E. J. D.; ELEUTÉRIO, M. L.; DAL PAI SILVA, M. Study of collateral sprouting from intact vagus nerve into a autologous

nerve graft by using two different techniques: neuroraphy and coaptation with fibrin glue derivated of the snake venom. In: CONGRESSO PAN-AMERICANO DE ANATOMIA, 12., 1998, **Anais...** São Paulo: SBA, 1998. n.130.

REIS, F. A. **Estudo Comparativo do Brotamento Axonal do Nervo Vago em Enxerto Nervoso Autólogo.** 1999. 110f. Dissertação (Mestrado em Anatomia) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

REIS, F. A.; RODRIGUES, A. C. Comparative Study of Axonal Sprouting from the Vagus Nerve in Autologous Nerve Graft. **J. Venom. Anim. Toxins**, Botucatu, v.6, n.1, p.120 -120, 2000.

RIBARIC, S.; STEFANOVSKA, A; BRZIN, M.; KOGOVSĚK, M.; KROŠELJ, P. Biochemical, morphological, and functional changes during peripheral nerve regeneration. **Mol. Chem. Neuropathol.**, Clifton, v.15, p.143-157, 1991.

RICHARDSON, P.M.; EBENDAL, T. Nerve growth activities in rat peripheral nerve. **Brain Res.**, Amsterdam, v.246, p.57-64, 1982.

ROBOTTI, E.; LONGHI, P.; VERNA, G.; BOCCHIOTTI, G. **Hand Clin.** v.11, n. 4, p. 517-33, 1995.

RODRIGUES-FILHO, R.; SANTOS, A.R.S.; BERTELLI, J.A.; CALIXTO, J.B.. Avulsion injury of the rat brachial plexus triggers hyperalgesia and allodynia in the hindpaws: a new model for the study of neurophatic pain. **Brain Res.** n.982, p. 186-94, 2003.

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

ROITT, I.; BRASTOFF, J.; MALE, D. **Transplantation and rejection.** 3.ed. London: Mosby-Year Book Europe, 1993. p.1-24.

ROSEGAY, H.; EDWARDS, M. S. The language of neurorrhaphy. **J. Neurosurg.**, Baltimore, v.52, p.143-144, 1980

ROTSHENKER, S.; REICHERT, F.; SHOOTER, E. M. Lesion-induced synthesis and secretion of proteins by nonneuronal cells resident in frog peripheral nerve. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, Washington, v.87, p.1144-8, 1990.

ROULEAU, M.; CREPEAU, J.; TETREAU, L.; LAMARCHE, J. Facial nerve sutures: epineural versus perineural sutures. **J. Otolaryngol.**, Toronto, v.10, p.338-42, 1981.

ROVAK, J. M.; CEDERNA, P. S.; MACIONIS, V.; URBANCHEK, M. S.; VAN DER MEULEN, J. H.; KUZON, W. M. Termino-lateral neurorrhaphy: The functional axonal anatomy. **Microsurgery**, New York, v.20, n.1, p.6-14, 2000.

ROVAK, J. M.; CEDERNA, P. S.; KUZON JR, W. M. Terminolateral Neurorrhaphy: A review of the literature. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.17, n.8, p.615-624, 2001.

RÖYTTÄ, M.; SALONEN, V. Long-term endoneurial changes after nerve transection. **Acta Neuropathol.**, Berlim, v.76, p.35-45, 1988.

SAKELLARIDES, H.; SORBIE, C.; JAMES, L. Reinnervation of denervated muscles by nerve transplantation. **Clin. Orthop.**, Philadelphia, v.83, p.194-201, 1972.

SANAPANICH, K.; MORRISON, W. A.; MESSINA, A. Physiologic and morphologic aspects of nerve regeneration after end-to-end or end-to-side coaptation in a rat model of brachial plexus injury. **The Journal of Hand Surgery**. v.27, n. A, p. 133-42, 2002.

SANES, J.R.; MARSHALL, L. M.; McMAHAN, O.J. Reinnervation of muscle fiber basal lamina after removal of myofibers. Differentiation of degenerating axons at original synaptic sites. **J. Cell Biol.**, New York, v.78, p.176-198, 1978.

SANTAMARIA, E.; WEI, F.; CHEN, I.; CHUANG, D. C. Sensation Recovery on Innervated Radial Forearm Flap for Hemiglossectomy Reconstruction by Using Different Recipient Nerves. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.105, p.450, 1999.

SATINSKY, D.; PEPE, F.A.; LIU, C.N. The neurolemma cell in peripheral nerve degeneration and regeneration. **Exp. Neurol.**, Orlando, v.9, p.441-451, 1964.

SCHAUMBERG, H.H. **Disorders of peripheral nerve**. Philadelphia: FA Davis, 1983. 248p.

SCHLAEPFER, W.W.; MICKO, S. Chemical and structural changes of neurofilaments in transected rat sciatic nerve. **J. Cell Biol.**, New York, v.78, p.369-378, 1978.

SCHULTES, G.; GAGGL, A.; KLEINERT, R.; KÄRCHER, H. Vascularized vs. Non-Vascularized Nerve Transfers: Histologic Study in Rats. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.17, n.8, p.99-107, 2001.

SÉBILLE, A. Experimental methods for the evaluation of axonal regeneration of axotomised peripheral nerves. **Int. J. Microsurg.**, Paris, v.3, p.147-151, 1981.

SEDDON, H. J. Three types of nerve injury. **Brain**, Eynsham, v.66, n.4, p.237-88, dec. 1943.

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

SEDDON, H. J. **Surgical Disorders of the Peripheral Nerves**. Edinburgh, London e New York: Churchill Livingstone, p.58, 194, 200, 1975.

SEVER, J.W. Obstetrical Paralysis. Reporto n 1100 cases. **JAMA**, v.85, p.1862, 1925.

SHERREN, I. Some points in the surgery of the peripheral nerves. **Edinb. Med. J.**, Edinburg, v.20, p.297, 1906.

SJÖBERG, J.; KANJE, M. The initial period of peripheral nerve regeneration and the importance of the local environment for the conditioning lesion effect. **Brain Res.**, Amsterdam, v.529, p.79-84, 1990.

-
- SMELIE, W. Collection of cases and observations in Midwifery. London, 1768, p 448
- SMITH, J. W. Microsurgery of peripheral nerves. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.33, p.317, 1964.
- SMITH, M. S.; BROWNE, D. The effect of endothelial cell growth factor on peripheral nerve regeneration. **Otolaryngol. Head Neck Surg.**, Saint Louis, v.118, n.2, p.178-182, 1998.
- SOLOMON, L. B.; RERRIS, L.; TEDMAN, R.; HENNEBERG, M. Surgical anatomy of the sural and superficial fibular nerves with an emphasis on the approach to the lateral malleolus. **J. Anat.**, London, v.199, p.717-723, 2001.
- SOMAZZ, M. C. **Reparo da lesão de nervo ciático através de autotransplante de músculo esquelético em ratos:** retalhos obtidos com injeções intramusculares de anestésicos locais. 1994. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade de Campinas, Piracicaba.
- SON, Y.; THOMPSON, W. Schwann cell processes guide regeneration of peripheral axons. **Neuron**, Cambridge, v.14, p.125-132, 1995.
- SONGCHAROEN, P.; WONGTRAKUL, S.; MAHAISAVARIYA, B. Hemi-contralateral C7 transfer to median nerve in the treatment of root avulsion brachial plexus injury. **J Hand Surg [Am]**. v.26, n. A, p. 1058-1064, 2001.
- SORBIE, C.; PORTER, T. L. Reinnervation of paralysed muscles by direct motor nerve implantation. An experimental study in the dog. **J. Bone Joint Surg. [Br]**, London, v.51B, p.156-164, 1969.
- SOTEREANOS, D. G., SEABER, A. V., URBANIAK, J. R., SPIEGEL, D. A., SOTEREANOS, D., ANTHONY, D. C. Reversing nerve graft polarity in a rat model: the effect on function. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.8, p.303-309, 1992.
-

SPINNER R. J.; KHOUBEHI A.; KAZMI S.; KRUMREICH J. A.; ZHAO S.; ZHANG Z.; KLINE D. G.; BEUERMAN R. W.; Model for avulsion injury in the rat brachial plexus using passive acceleration. *Microsurgery*, v. 20,n. 2; 94-97, 2000.

SPINNER, R.J.; SHIN, A.Y.; BISHOP, A.T. Techniques in Hand and Upper Extremity Surgery 9(4):220–232, 2005.

Stashuk D. EMG signal decomposition: how can it be accomplished and used? *Journal of Electromyography and Kinesiology* 2001; 11: 151-173.

STOLL G.; GRIFFIN J. W.; LI C. Y.; TRAPP B. D. Wallerian degeneration in the peripheral nervous system: participation of both Schwann cells and macrophages in myelin degradation. *J. Neurocytol.*, London, v.18, p.671-683, 1989.

STOLL, G.; MUELLER, H.W. Macrophages in the peripheral nervous system and stroglia in the central nervous system of the rat commonly express apolipoprotein E during development but differ in their response to injury. *Neurosci. Lett.*, Limerick, v.72, p.233-238, 1986.

STOPIGLIA, A. J.; ERHART, E. A. Utilização de técnica microcirúrgica na neurorrafia de animais domésticos. Estudo experimental da reparação fascicular no nervo ulnar de cão (*canis familiaris*). *Rev. Fac. Méd. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, São Paulo, v.24, n.2, p.193-208, 1987.

STRASBERG, J.E. et al. Strain differences in peripheral-nerve regeneration in rats. *J. Reconstr. Microsurg.*, New York, v.15, p.287-293, 1999.

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

SUNDERLAND, S. **Nerves and nerves injuries**. Baltimore: Williams and Wilins Co., 1968. p.5, 26, 58,200-202.

SUNDERLAND, S. **Nerves and nerves injuries**. Edinburg: Churchill Livingstone, 1978. p.483-650.

TAKAHATA, N.; KLEIN, J.; SATTA, Y. The molecular descent of the major histocompatibility complex. **Annu. Rev. Immunol.**, Palo Alto, v.11,p.269-295, 1993.

TARASIDIS, G.; WATANABE, O.; MACKINNON, 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, H. B. The nerve gap, suture under tension versus graft. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.56, p.166-170, 1975.

TERZIS, J.K.; VEKRIS, M.D.; SOUCACOS, P.N. Brachial plexus root avulsions. **World J Surg**, v. 25, p.1049–1061, 2001.

TERZIS, J. Clinical microsurgery of the peripheral nerve: the state of the art. **Clin. Plast. Surg.**, Philadelphia, v.6, p.247-267, 1979.

THANOS, P. K.; OKAJIMA, S.; TERZIS, J. K. Ultrastructure and cellular biology of nerve regeneration. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.14, n.6, p.423-436, 1998.

THOMAS, P.K.; KING, R.H.M. The degeneration of unmyelinated axon following nerve section: an ultrastructural study. **J. Neurocytol.**, London, v.3 p.497-512, 1974.

THOMAS, P.K. The deposition of collagen in relation to Schwann cell basement membrane during peripheral nerve regeneration. **J. Cell Biol.**, New York, v.23 p.375-382, 1964.

THORNBURN, W. Obstetrical Paralysis. **J Obstet. Gynaecol. Br. Emp.** v.3,p.454, 1903.

TIANGCO, D. A.; PAPAKONSTANTINO, K. C.; MULLINAX, K. A.; TERZIS, J. K. IGF-I and end-to-side nerve repair: A dose-response study. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.17, p.247-256, 2001.

-
- TIMPL, R.; BROWN, J.C. The laminins. **Matrix Biol.**, Stuttgart, v.14, p.275-281, 1994.
- TOBY, E. B.; MEYER, B. M.; SCHWAPPACH, J.; ALVINE, G.; CITY, K. Changes in the structural properties of peripheral nerves after transection. **J. Hand. Surg.**, Saint Louis, v.21A, n.6, p.1086-1090, 1996.
- TORVIK, A. Central chromatolysis and the axon reaction: a reapraaisal. **Neuropathol. Appl. Neurobiol.**, Oxford, v.2, p.423-432, 1976.
- TRIGG, D. J.; O'GRADY, D. M.; BHATTACHARYYA, T.; REINKE, M.; TORIUMI, D. M. Peripheral Nerve regeneration: comparison of Laminin and Acidic Fibroblast Growth Factor. **Am. J. Otol.**, Philadelphia, v.9, n.1, p.29-32, 1998.
- TRUMBLE, T. E.; PARVIN, D. Physiology of Peripheral Nerve Graft Incorporation. **J. Hand Surg. [Am]**, Saint Louis, v.19a, p.420-427, 1994.
- TSUCHIARA, T.; NEMOTO, K.; ARINO, H.; AMAKO, M.; MURAKAMI, H.; YOSHIZUMI, Y. Sural nerve grafting for long defects of the femoral nerve after resection of retroperitoneal tumour. **J. Bone. Joint. Surg. Br.** v.90, n.8, p.1097-1100, 2008.
- UEDA, K.; HARII, K. Prevention of denervation atrophy by nerve implantation. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.20, p.545-553, 2004.
- ULKÜR, E.; YÜKSEL, F.; AÇIKEL, C.; OKAR, I.; CELİKÖZ, 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.
- UMPHREED, D.A. **Fisioterapia neurológica**. 2.ed. São Paulo: Manole, 1994. 876p.
- VAN BEEK, A.; KLEINERT, H. E. Practical microneurorrhaphy. **Orthop. Clin. North Am.**, Philadelphia, v.8, p.377-386, 1977.
-

VAREJÃO, A.S.; MEEK, M.F.; FERREIRA, A.J.; PATRÍCIO, J.A., CABRITA, A.M. Functionalevaluation of peripheral nerve regeneration in the rat: walking track analysis. *JNeurosci Methods.*, n. 1081, p. 1-9, 2001.

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

VENAULT, B. et al. Régénération nerveuse. Etude expérimentale chez Le chien. Trois techniques de suture nerveuse. **Ann. Chir.**, Paris, v.35, p.441-446, 1981.

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

VICENTE, E. J. D. **Estudo comparativo entre as técnicas de coaptação através da cola de fibrina derivada de veneno de serpente e da neurorrafia término-terminal no reparo do nervo ciático.** 1999. 110f. Dissertação (Mestrado em Anatomia) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

VICENTE, E. J. D.; RODRIGUES, A. C.; REIS, F. A.; SANTOS, I. A. T. Suture vs. Fibrin adhesive: a comparative study in the peripheral nerve repair. In: WORKSHOP INTERNACIONAL DE MICROCIRURGIA E CIRURGIA DE MÃO, 17, 2000, Botucatu. **Anais...** São Paulo: UNESP, 2000. p.14.

VICENTE, E.J.D.; RODRIGUES, A.C.; GALLACCI, M. Avaliação funcional da regeneração de nervo periférico induzida pela cola de fibrina derivada do veneno de serpente e pela neurorrafia. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 13., 1998, Caxambu. **Anais...** Caxambu, 1998a. p.190-191.

VICENTE, E.J.D. et al. Morphological evaluation of the nerve regeneration by using different techniques: end-to-end neuroraphy and coaptation by glue derivated of serpent poison. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE ANATOMIA, 12., 1998, Navio Funchal. **Anais...**São Paulo, 1998b. p.136.

VICENTE, E. J. D. **Análise do efeito do órgão alvo sobre a regeneração de axônios em enxertos autogênicos de nervo fibular comum suturados ao nervo vago através de neurorrafia término-lateral.** 2003. 162f. Tese (Doutorado em Bases Gerais de Cirurgia) – Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

VIEIRA, S.; HOSSNE, W. S. **Metodologia científica para a área de saúde.** Rio de Janeiro: Campus, 2001. 192p.

VIRMOND, M.; PEREIRA, H. R. Tubular repair of the sciatic nerve in the rat with preserved bovine pericardium. In: WORKSHOP INTERNACIONAL DE MICROCIRURGIA E CIRURGIA DE MÃO, 17., 2000, Botucatu. **Anais...** São Paulo: UNESP, 2000. p.27.

VITERBO, F. **Neurorrafia látero-terminal, estudo experimental no rato.** 1992a. 198 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

VITERBO, F. Cross-face termino-lateral neurorraphy: A new method for treatment of facial palsy. In: PLASTIC SURGICAL FORUM, 1992, Washington. **Proceedings...** Washington, 1992b. p.356-358.

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.; PALHARES, A.; FRANCIOSI, L. F. Restoration of sensitivity after removal of the sural nerve - a new application of lateral-terminal Neurorraphy (case report). **Rev. Soc. Bras. Cir. Plast.**, São Paulo, v.8, suppl.1-3, p.85-87, 1993a.

VITERBO, F.; TOHMAZINI, I. A.; GIANINI, M. J. S. M. Reparação de nervos periféricos com cola de fibrina derivada de veneno de cobra. Resultados preliminares. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, suppl.2, p.85, 1993b.

VITERBO, F.; TRINDADE, J. C.; HOSHINO, K.; NETO, A. M. Latero-terminal neurorrhaphy with and without removal of the epineural sheath. Experimental study in rats. In: PLASTICAL - ANNUAL SCIENTIFIC MEETING, 62., 1993c, New Orleans. **Proceedings**. New Orleans, 1993c. p.356-358.

VITERBO, F.; PALHARES, A.; FRANCIOSI, L. F. Restoration of sensitivity after removal of the sural nerve. A new application of latero-terminal neurorrhaphy. **São Paulo Med. J.**, São Paulo, v.112, n.4, p.658-659, 1994a.

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

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, 1994c.

VITERBO, F. "Facial Palsy, Brachial Plexus Avulsion, Restoration of Sensitivity After Removal of the Sural Nerve. Some Clinical Applications of End-to-Side Neurorrhaphy", apresentado no **4th Annual Scientific Meeting**. Rye Brook, New York; EUA, 13 a 15 de maio de 1994d.

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, n. 2, p. 494-495, 1995.

VITERBO, F.; TEIXEIRA, E.; HOSHINO, K.; PADOVANI, C. R. End-to-side neurorrhaphy with and without perineurium. **Rev. Paul. Med.**, São Paulo, v.116, p.1808-1814, 1998.

VITERBO, F. "Clinical Applications in End-to-side Neurorrhaphy", como conferência no **5th International Muscle Symposium 2000**. Vienna, Áustria, 21 de maio de 2000.

VITERBO, F. Lesiones de nervios periféricos y plexo braquial hoy, no Curso de Instrucción Prática 138, por ocasião do **40º Congresso Argentino e 1º Congresso**

Franco Argentino de Ortopedia e Traumatología, no período de 30 de novembro a 4 de dezembro de 2003.

VITERBO, F. “End-to-Side Neurotomy An Overview: 1994-now”, apresentado no **9º International Microsurgery Symposium**, promovido pela Disciplina de Cirurgia Plástica da Faculdade de Medicina de Botucatu – Unesp, realizado nos dias 20 e 21 de outubro de 2005. Botucatu – SP.

VOCHE, P.; OUATTARA, D. End-to-side neurotomy for defects of palmar sensory digital nerves. **Br. J. Plast. Surg.**, Edinburgh, v.58, p.239-244, 2005.

WALKER, J. C.; BRENNER, M. J.; MACKINNON, S. E.; WINOGRAD, J. M.; HUNTER, D. A. Effect of perineurial window size on nerve regeneration, blood-nerve barrier integrity, and functional recovery. **J. Neurotrauma**, New York, v.21, p.217-227, 2004.

WANG, G.Y.; HIRAI, K.I.; SHIMADA, H. The role of laminin, a component of Schwann cell basal lamina, in rat sciatic nerve regeneration within antiserum treated nerve grafts. **Brain Res.**, Amsterdam, v.570, p.116-125, 1992a.

WANG, G.Y. et al. Behavior of axons, Schwann cells and perineurial cells in nerve regeneration within transplanted nerve grafts: effects of antilaminin and anti-fibronectin antisera. **Brain Res.**, Amsterdam, v.583, p.216-226, 1992b.

WANG, K. K.; CETRULO JR, C. L.; SECKEL, B. R. Tubulation repair of peripheral nerves in the rat using an inside-out intestine sleeve. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.15, n.7, p.547-554, 1999.

WANG, X.; HU, W.; CAO, Y.; YAO, J.; WU, J.; GU, X. Dog sciatic nerve regeneration across a 30-mm defect bridged by a chitosan/PGA artificial nerve graft. **Brain**, Oxford, v.128, p.1897-910, 2005.

WATANABE, K.; TSUKAGOSHI, T.; KURODA, M.; HOSAKA, Y. Nerve conduit using fascia-wrapped fibrocollagenous tube. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.17, n.5, p.183-190, 2001.

WATCHMAKER, G. P.; MACKINNON, S. E. Advances in Peripheral nerve Repair. **Clin. Plast. Surg.**, Philadelphia, v.24, p.63-73, 1997.

WATSON-JONES, R. **Fraturas**: traumatismos das articulações. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1976. v.1, 413p.

WEINBERG, H.J.; SPENCER, P.S. The fate of Schwann cells isolated from axonal contact. **J. Neurocytol.**, London, v.7 p.555-569, 1978.

WEINSTEIN, S. M.; HERRING, S. A. Nerve problems and compartment syndromes in the hand, wrist and forearm. **Clin. Sport. Med.**, New York, v.11, n.1., p.161-188, 1992.

WILGIS, E.F.S. Nerve repair and grafting. In: GREEN, D. P. (Ed). **Operative hand surgery**. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1982. p.915-938.

WILLIAMS, P.L.; HALL, S.M. Chronic Wallerian degeneration - An *in vivo* and ultrastructural study. **J. Anat.**, London, v.109, p.487-503, 1971.

WILLIAMS, L.R. et al. Competence of nerve tissue as distal insert promoting nerve regeneration in a silicone chamber. **Brain Res.**, Amsterdam, v.293, p.201-211, 1984.

XIONG, G.; LING, L.; NAKAMURA, R.; SUGIURA, Y. Retrograde tracing and electrophysiological findings of collateral sprouting after end-to-side neurorrhaphy. **Hand Surg.**, Secaucus, v.8, p.145-150, 2003.

XU, W.D.; GU, Y.D.; XU, J.G. Full-length phrenic nerve transfer by means of video-assisted thoracic surgery in treating brachial plexus avulsion injury. **Plast Reconstr Surg.** v.110,p.104-111, 2003.

YAN, J-G.; MATLOUB, H. S.; SANGER, J. R.; ZHANG, L-L.; RILEY, D. A.; JARADEH, S. S. A modified end-to-side method for peripheral nerve repair: Large epineurial window helicoid technique versus small epineurial window standard end-to-side technique. **J. Hand. Surg. [Am.]**, Saint Louis, v.27A, n.3, p.484-492, 2002a.

YAN, Y-H.; YAN, J-G.; SANGER, J. R.; ZHANG, L-L.; RILEY, D. A.; MATLOUB, H. S.; Nerve repair at different angles of attachment: Experiment in rats. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.18, n.8, p.703-708, 2002b.

YAWO, H.; KUNO, M. How a nerve fiber repair its cut end: involvement of phospholipase A2. **Science**, Washington, v.222, p.1351-1353, 1983.

YIN, Q.; KEMP, G. J.; FROSTICK, S. P. Neurotrophins, neurones and peripheral nerve regeneration. **J. Hand Surg. [Br]**, Edinburgh, v.32B, n.4, p.433-437, 1998.

YOUNG, J.Z.; MEDAWAR, P.B. Fibrin suture of peripheral nerves. **Lancet**, Boston, v.19, p.132-133, 1940.

YOUNG, R. C.; WIBERG, M.; TERENGHI, G. Poly-3-hydroxybutyrate (PHB): a resorbable conduit for long-gap repair in peripheral nerves. **Br. J. Plast. Surg.**, Edinburgh, v.55, p.235-240, 2002.

YUEN, E. C.; MOBLEY, W. C. Therapeutic applications of neurotrophic factors in disorders of motor neurons and peripheral nerves. **Mol. Med. Today**, Eynsham, v.1, n.16, p.278-286, 1995.

YÜKSEL, 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.

YÜKSEL, F.; PEKER, F.; CELIKÖZ, B. Two applications of end-to-side nerve neurorrhaphy in severe upper-extremity nerve injuries. **Microsurgery**, New York, v.24, p.363-368, 2004.

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

ZHANG, Z.; SOUCACOS, P. N.; BO, J.; BERIS, A. E. Evaluation of collateral sprouting after end-to-side nerve coaptation using a fluorescent double-labeling technique. **Microsurgery**, New York, v.19, p.281-286, 1999.

ZHANG, F.; INSERRA, M.; RICHARDS, L.; TERRIS, D. J.; LINEAWEAVER, W. C. Quantification of nerve tension after nerve repair: correlations with nerve defects and nerve regeneration. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.17, n.6, p.445-451, 2001.

ZHANG, F.; FISCHER, K. A. End-to-side neurorrhaphy. **Microsurgery**, New York, v.22, n.3, p.122-127, 2002.

ZHAO, J.; CHEN, Z.; CHEN, T. Nerve regeneration after termino-lateral neurorrhaphy. **J. Reconstr. Microsurg.**, New York, v.13, n.1, p.31-37, 1997.

ZIGMOND, M.J. et al. **Fundamental neuroscience**. San Diego: Academic Press, 1999. 1600p.

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](#)