

Modelo experimental do uso da neurorrafia término-lateral em plexo braquial de ratos

Experimental model of use the end-to-side neurorrhaphy in rats brachial plexus

SUSANA FABIOLA MUELLER¹
FAUSTO VITERBO DE OLIVEIRA
NETO²
LUIZ FERNANDO FRANCIOSI³

RESUMO

Introdução: Uma das sequelas dos acidentes de motocicleta tem sido a lesão do plexo braquial. Propomos um modelo experimental para tratamento de lesões parciais do plexo braquial com enxertos de nervo suturados com neurorrafia término-lateral entre os troncos. **Método:** Utilizamos 30 ratos Wistar, divididos em grupos Desnervado, Neurorrafia e Controle. Realizada a avulsão das raízes de C8 e T1. No Grupo Neurorrafia, dois segmentos de enxerto de nervo foram fixados entre o tronco superior e inferior avulsionado e entre tronco médio e inferior, sem janela epineural. No grupo desnervado, somente realizada avulsão do tronco inferior. O grupo controle não foi submetido a procedimento cirúrgico. Realizado o “Grasping test” e estudo eletrofisiológico. **Resultados:** A análise microscópica após 16 semanas confirmou a presença de axônios mielínicos nos enxertos e tronco inferior dos grupos. No pós-operatório tardio, o “Grasping test” e a amplitude mostraram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos. Na área da fibra nervosa e do axônio e na espessura da bainha de mielina, não houve significância. Na área da fibra muscular, houve diferença estatística. **Conclusão:** Concluiu-se que os troncos não lesados reinervaram o tronco inferior no rato através das pontes de enxerto.

Descritores: Plexo braquial. Transplante autólogo. Nervo sural. Ratos.

SUMMARY

Introduction: One of the sequelae of motorcycle accidents has been the brachial plexus injury. We propose an experimental model for treatment of partial injuries of the brachial plexus with nerve grafts sutured with end-to-side neurorrhaphy between the trunks. **Method:** We used 30 rats were divided into groups denervated (DG), neurorrhaphy (NG) and control (CG). Held avulsion of the roots of C8 and T1. In neurorrhaphy group, two segments of nerve graft was fixed between the upper trunk and lower avulsed and between middle and lower trunk without epineural window. In the denervated group, only made avulsion of the lower trunk. The control group did not undergo surgery. Held the Grasping test, electrophysiological study and morphological study. **Results:** At microscopic analysis after 16 weeks, confirmed the presence of myelinated axons in the grafts and lower trunk of the groups. In the late postoperative period, the Grasping test and the scale showed statistically significant differences between the groups. In the area of nerve fiber and the axon and the thickness of the myelin sheath was not significant. In the area of muscle fiber was no statistical difference. **Conclusion:** It was concluded that the trunks uninjured reinnervated the lower trunk in the rat through the bridge graft.

Descriptors: Brachial plexus. Transplantation, autologous. Sural nerve. Rats.

Trabalho realizado na Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, Botucatu, SP.

Trabalho Vencedor do Prêmio Sirlei Rinaldi 2009.

Artigo recebido: 18/7/2009
Artigo aceito: 11/11/2009

1. Membro Titular da Sociedade Brasileira de Cirurgia Plástica (SBCP); Professora Doutora da Disciplina de Cirurgia Plástica na Faculdade de Medicina da UNISC-RS.
2. Membro Titular da SBCP; Professor Doutor e Responsável pela Disciplina de Cirurgia Plástica da Faculdade de Medicina de Botucatu / UNESP.
3. Membro Titular da SBCP; Chefe do Serviço de Residência em Cirurgia Plástica do Hospital Cristo Redentor Porto Alegre – RS.

INTRODUÇÃO

As lesões traumáticas dos nervos periféricos são de grande importância clínica em vista de sua frequência de ocorrência e das graves sequelas que podem advir, principalmente na face e no membro superior, que clinicamente apresentam-se como paralisia, anestesia¹ e alterações autonômicas².

Em uma lesão de nervo periférico, seja por esmagamento ou secção, ocorrem mudanças celulares³ e moleculares em todo nervo, desde as células localizadas centralmente até as periféricas². Uma série de reações celulares coletivamente denominadas de degeneração “Waleriana”, que dura aproximadamente duas semanas⁴, acontece tanto no coto proximal como no coto distal, sendo uma maneira de estabelecer um meio adequado à regeneração dos axônios⁵.

As técnicas para reconstrução das estruturas nervosas danificadas no plexo braquial irão depender do tipo de lesão apresentada⁶. A neurotização extraplexo é o tratamento cirúrgico mais comumente utilizado nas lesões por avulsão, onde se utilizam os nervos: intercostal, frênico, espinhal acessório, raiz C7 contralateral como doadores de axônios, sempre com neurorafia término-terminal⁷. Doi et al⁸. realizaram a transferência de músculo livre para o biceps, tendo utilizado o grácil e o grande dorsal.

Uma fonte alternativa de axônios para repopular o coto distal do nervo avulsionado é a neurorafia término-lateral, que tem sido realizada em humanos⁹.

Franciosi et al.¹⁰ utilizaram o nervo ulnar como doador para nervo musculocutâneo com neurorafia término-lateral para obter a contração efetiva do músculo biceps.

Viterbo^{11,12} propôs a técnica de “Robin Hood”, que se constitui na interposição de três a seis enxertos de nervo sural unindo, com neurorafias término-laterais, os três fascículos do plexo braquial na região infraclavicular. Outra técnica, consequência desta primeira, foi chamada por esse mesmo autor, de “Robin Hood expandido”¹³. Nesta, além dos enxertos descritos na primeira, acrescenta-se enxertos tipo “bypass” sobre os eventuais neuromas, e múltiplos enxertos unindo o nervo acessório ao supra-escapular, o nervo frênico ao plexo braquial e também alguns nervos intercostais ao plexo braquial.

Este estudo tem por objetivo avaliar a possibilidade de se reinervar um tronco do plexo braquial parcialmente lesado com axônios oriundos de outros troncos do mesmo plexo, utilizando enxertos e neurorafias término-laterais.

MÉTODO

Foram utilizados 30 ratos (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar, adultos, machos, pesando entre 93,2 e 136,4 gramas, provenientes do Biotério Central da UNESP – Campus de Botucatu, SP. Todos os procedimentos

experimentais realizados obedeceram aos Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), aprovado em reunião da Comissão de Ética na Experimentação Animal (protocolo n° 367). Os animais foram divididos em três grupos, neurorafia (GN), desnervado (GD) e controle (GC), tendo sido operados e mantidos em observação durante 16 semanas.

Anestesia realizada com emprego de pentobarbital de sódio intraperitoneal (30mg/kg). No GN e GD, os ratos foram submetidos à retirada de 1 cm do nervo sural, que foi mantido em solução fisiológica. Após, em decúbito dorsal, foi realizada individualização do plexo braquial e seus respectivos troncos, superior (TS), médio (TM) e inferior (TI) (Figura 1)¹⁴. Com uma pinça Halsted foi realizada a avulsão total do TI da medula espinhal. No GN, foram colocadas 2 pontes de enxerto com neurorafia término-lateral, sem remoção do epineuro, do TS ao TI e outro do TM ao TI (Figura 2). No GD, não foram colocadas pontes, sendo realizada somente a lesão do TI. No GC, não foi realizado procedimento cirúrgico no plexo braquial.

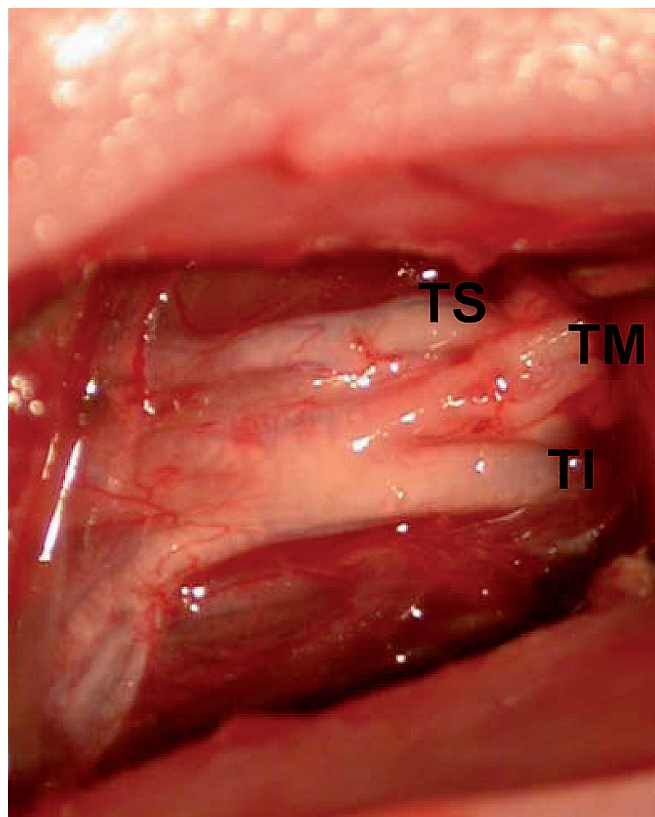


Figura 1 - Visualização do plexo braquial e seus troncos superior (TS), médio (TM) e inferior (TI), após a divulsão dos músculos peitoral e deltóide.

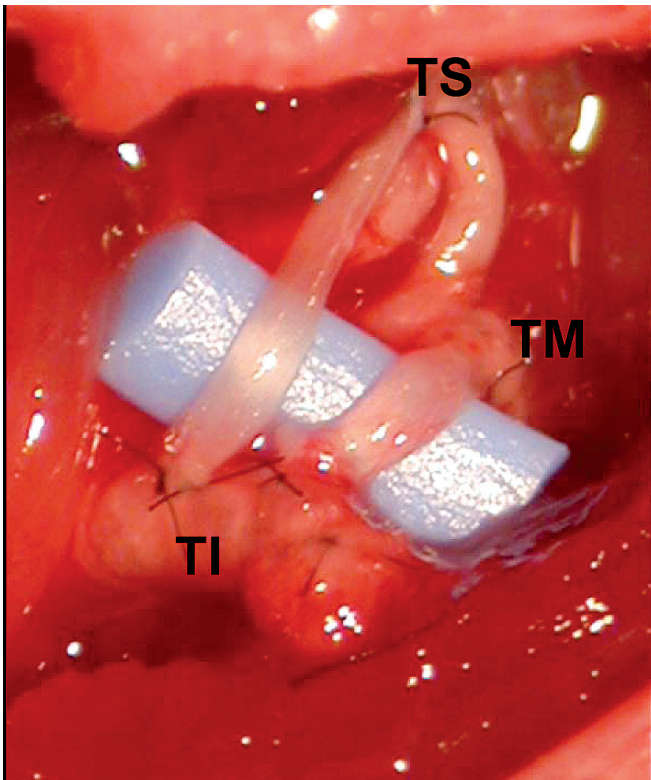


Figura 2 - Imagem do grupo neurorafia (GN) evidenciando as duas pontes de enxerto do tronco superior (TS) e do tronco médio (TM) para o tronco inferior (TI) com sutura término-lateral.

Avaliação

O estudo eletrofisiológico foi realizado no membro superior direito dos animais antes do procedimento cirúrgico e antes da eutanásia. A atividade elétrica do músculo foi coletada pelos eletrodos implantados no músculo flexor dos dedos e observada na tela do osciloscópio. Foi utilizado o eletromiógrafo da marca Sapphire II 4ME, tendo sido medidas a latência e a amplitude.

O “*Grasping test*” é um teste funcional, consiste no rato ser gentilmente segurado pela cauda e colocado sobre uma grade conectada em uma balança eletrônica, tarada previamente. O rato instintivamente faz a preensão da grade, e pela cauda este é tracionado até perder sua força e soltar a grade, o que gera um valor negativo registrado na balança. Este teste foi realizado, antes de o animal ser anestesiado, 24 horas após o procedimento cirúrgico (GT Imediato) e antes da eutanásia (GT Tardio), 4 meses após. No membro torácico esquerdo foi realizada a avulsão total do TI, impedindo assim sua utilização, enquanto o membro torácico direito permaneceu livre¹⁵.

O processamento histológico das amostras da região de conexão do tronco inferior com o enxerto foi realizado no Laboratório Experimental de Urologia do Departamento de Urologia da FMB-UNESP, campus de Botucatu, tendo sido corados em solução de tetróxido de ósmio e azul de toluidina. O músculo flexor superficial dos dedos foi processado com técnica hematoxilina e eosina.

Análise Estatística

A análise estatística foi realizada na UNISC - RS, utilizando análise de variância (ANOVA) e “t” de Student.

RESULTADOS

Estudo eletrofisiológico

Na comparação entre os três grupos, a latência não demonstrou diferença estatisticamente significativa, porém houve diferença estatisticamente significativa na amplitude entre os três grupos (Tabela 1).

Grasping test

No pós-operatório imediato (GT Im), não houve diferenças estatisticamente significantes, o que não ocorreu no pós-operatório tardio (GT Tar), onde foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre todos os grupos (Tabela 1).

Tabela 1. Média e desvio padrão da latência, amplitude, “*grasping test*” imediato e tardio.

Variável	GD Média/DP	GN Média/DP	GC Média/DP
Latência Pós	1,41(±0,44)	1,20 (±0,00)	1,20 (±0,00)
Amplitude Pós	7,91(±3,72)	26,32 (±7,59)	43,62 (±6,98)
GT Imediato	8,28 (±1,80)	7,83 (±1,93)	
GT Tardio	16,49 (±4,80)	75,80 (±14,75)	148,17 (±0,67)

GT Imediato = 24 horas após o procedimento cirúrgico; GT Tardio = antes da eutanásia.

Morfometria

Houve diferença significativa entre todos os grupos nos itens estudados: área da fibra nervosa, número de fibras nervosas, área do axônio, espessura bainha de mielina e área das fibras musculares (Tabela 2 e Figura 3).

DISCUSSÃO

Bertelli & Mira^{15,16} e Chen & Gu¹⁷ observaram grande semelhança anatômica entre plexo braquial do rato e do homem. Em comparação ao modelo no nervo ciático, os

Tabela 2. Média e desvio padrão das variáveis da morfometria.

Variável	GD Média/DP	GN Média/DP	GC Média/DP
Área fibra nervosa	4,41(±1,39)	4,06 (±0,82)	7,52 (±1,13)
Número de Fibras nervosas	35,50 (±21,25)	94,10 (±40,21)	54,44 (±9,96)
Área axônio	2,94 (±1,20)	3,00 (±0,55)	4,70 (±0,66)
Espessura bainha	1,44 (±1,26)	1,05 (±0,53)	2,82 (±0,68)
Área fibra muscular	117,20 (±9,80)	156,12 (±10,36)	243,39 (±41,73)

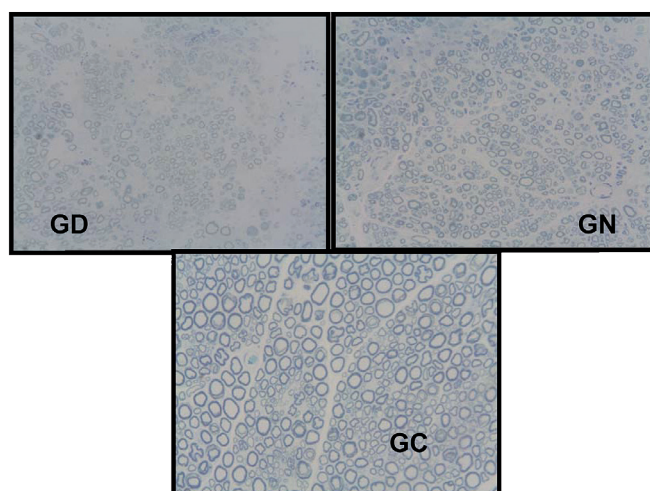


Figura 3 – Fotomicrografia da secção transversal do tronco inferior (N1) dos grupos desnervado, neurorrafia e controle (40x).

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 raras¹⁸.

Nosso modelo difere de outros modelos com neurorrafia término-lateral no plexo braquial, devido à lesão ser parcial e os enxertos serem colocados entre os troncos do plexo braquial. Carlstedt et al.¹⁹ no estudo eletrofisiológico do experimento onde reimplantaram 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. Papalia et al.¹⁸, após 28 semanas da neurorrafia 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.

Röyttä & Salonen²⁰ 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 e maturação dos axônios, estando o processo de mielinização incompleto²¹. E essa mielinização das fibras nervosas é somente um sinal de maturidade, podendo as fibras nervosas conduzirem impulso antes da mielinização total.

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*”.

Finalizando, acreditamos que este trabalho trouxe grande contribuição aos estudos das lesões de plexo braquial, comprovando os achados clínicos de Viterbo et al.^{11-13,22,23} com as técnicas “Robin Hood” e “Robin Hood expandido”.

CONCLUSÃO

Concluimos 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 intraplexo.

REFERÊNCIAS

- Bunnell S. Surgery of the nerves of the hand. Surg Gynecol Obstet. 1927;44: 145-52.
- Ferreira AS. Lesões nervosas periféricas. Santos:Livraria Editorial Santos, 1999. 253p.
- Idé C. Degeneration of mouse digital corpuscles. Am J Anat. 1982;163(1):59-72.
- Bunnell S, Boyes JH. Nerve grafts. Am J Surg. 1939;44(suppl.1):64-75.
- Fu SY, Gordon T. The cellular and molecular basis of peripheral nerve re generation. Mol Neurobiol. 1997;14(1):67-116.
- Seddon HJ. Surgical disorders of the peripheral nerves. Edinburgh: Churchill Livingstone;1975. p.58,194,200.
- Alnot J-Y. Traumatic brachial plexus lesions in the adult. Hand Clin. 1995;11:623-31.
- 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. 2000;82(5):652-66.
- Sanapanich K, Morrison WA, 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. J Hand Surg Am. 2002;27(1):133-42.
- Franciosi LF, Modestti C, Mueller SF. Neurotization of the biceps muscle by end-to-side neurorrhaphy between ulnar and musculocutaneous nerves. A series of five cases. Chir Main. 1998;17(4):362-7.
- Viterbo F. Clinical applications in end-to-side neurorrhaphy. Conferência no 5th International Muscle Symposium; Vienna, Áustria;2000.
- Viterbo F. Lesiones de nervios periféricos y plexo braquial hoy. Conferência no Curso de Instruccion Pratica 138, por ocasião do 40º Congresso Argentino e 1º Congresso Franco Argentino de Ortopedia e Traumatología, Buenos Aires;2003.
- Viterbo F. End-to-side neurorrhaphy an overview: 1994-now, apresentado no 9th International Microsurgery Symposium, promovido pela Disciplina de Cirurgia Plástica da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP;Botucatu;2005.
- Rodrigues-Filho R, Santos AR, Bertelli JA, Calixto JB. 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. 2003;982(2):186-94.
- Bertelli JA, Mira JC. The grasping test: a simple behavioral method for objective quantitative assessment of peripheral nerve regeneration in the rat. J Neurosci Methods. 1995;58(1-2):151-5.
- Bertelli JA, Mira JC, Gilbert A, Michot GA, Legagneux J. Anatomical basis of rat brachial plexus reconstruction. Surg Radiol Anat. 1992;14(1):85-6.
- Chen L, Gu YD. An experimental study of contralateral C7 root transfer with vascularized nerve grafting to treat brachial plexus root avulsion. J Hand Surg Br. 1994;19(1):60-6.
- Papalia I, Geuna S, Tos PL, Boux E, Battiston B, Stagno D'Alcontres F. Morphologic and functional study of rat median nerve repair by terminolateral neurorrhaphy of the ulnar nerve. J Reconstr Microsurg. 2003;19(4):257-64.
- Carlstedt T, Grane P, Hallin RG, Norén G. Return of function after spinal cord implantation of avulsed spinal nerve roots. Lancet. 1995;346(8986):1323-5.
- Röyttä M, Salonen V. Long-term endoneurial changes after nerve transection. Acta Neuropathol. 1988;76(1):35-45.
- Haniniec P, Dubový P, Šámal F, Houšťava L, Stejskala L. End-to-side anastomosis of peripheral nerve in experimental and clinical model. Int. Congress Ser. 2004;1259:471-7.
- Viterbo F, Palhares A, Franciosi LF. Restoration of sensitivity after removal of the sural nerve. A new application of latero-terminal neurorrhaphy. São Paulo Med J. 1994;112(4):658-9.
- Viterbo F, Franciosi LF, Palhares A. Nerve graftings and end-to-side neurorrhaphies connecting the phrenic nerve to the brachial plexus. Plast Reconstr Surg. 1995;96(2):494-5.

Correspondência para:

Susana Fabíola Mueller
Rua Ramiro Barcelos, 555/401 – Centro – Santa Cruz do Sul, RS, Brasil – CEP 96810-050
E-mail: susana.mueller@gmail.com