

ESTUDO COMPARATIVO ENTRE CIRURGIA CONVENCIONAL E A LASER DE DIÓXIDO DE CARBONO (CO₂) NA ORIENTAÇÃO DA REPARAÇÃO DO NERVO FACIAL. ESTUDO HISTOLÓGICO EM RATOS

COMPARATIVE STUDY BETWEEN CONVENTIONAL SURGERY AND CARBON DIOXIDE LASER (CO₂) IN THE ORIENTATION OF THE REPARATION OF THE FACIAL NERVE. HISTOLOGICAL STUDY IN RATS

Fernando Vagner RALDI

Professor Assistente Doutor do Departamento de Cirurgia, Periodontia e Radiologia, Disciplina de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial da FOSJC-Unesp.

Walter NICCOLI - FILHO

Professor Adjunto do Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal e Coordenador do Grupo Acadêmico de Estudos e Pesquisas com Laser na Odontologia da FOSJC-Unesp.

Lúcio Murilo dos SANTOS

Professor Assistente Doutor do Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal da Disciplina de Fisiologia da FOSJC-Unesp.

As lesões do nervo facial, causadas por traumas, iatrogenias, ou por princípio oncológico, são complicações extremamente desagradáveis e comportam conseqüências severas, visto que, não raramente, chegam a interferir na identidade facial dos pacientes acometidos. Portanto, tentativas de reestabelecimento da função do nervo facial, há longa data são publicados na literatura. É sabido que uma das condições mais importantes para a regeneração da função do nervo facial, é uma adequada coaptação da bainha de mielina nas extremidades lesadas do nervo. O atual estudo teve por objetivo avaliar, histologicamente, a orientação da regeneração do ramo bucal, do nervo facial lesado, em ratos após a aproximação dos cotos e aplicação da radiação laser, e compara-la com a simples aproximação. Para tanto, foi seccionado o ramo bucal do nervo facial em 24 ratos, que foram divididos em dois grupos. No grupo I foi realizado a simples aproximação das extremidades lesadas, e no grupo II, além da aproximação, foi aplicado a radiação laser de CO₂ com 2 watts de potência. Os resultados nos levaram a concluir que a utilização da radiação laser de CO₂ resultou numa melhor orientação da regeneração nervosa, e que, a longo prazo, a utilização da radiação laser não prejudicou a reparação dos outros tecidos biológicos envolvidos no processo.

UNITERMOS: Laser CO₂; Reparação neural; Anastomose; Nervo facial.

INTRODUÇÃO

A glândula parótida é sede de inúmeras alterações decorrentes das mais diversas etiologias, tais como: processos inflamatórios, auto-imunes ou não, tumorais, litíasicos e traumáticos. Todos os processos de etiologia tumoral e traumática, a grande maioria dos processos litíasicos e uma considerável parte dos processos inflamatórios acabam por necessitar

de terapêutica cirúrgica⁶.

Ao observarmos a importância funcional e estética do nervo facial, somada a sua complexa anatomia, além de suas freqüentes variações, fica fácil perceber o tormento que o VII par craniano representa aos cirurgiões que militam na área^{12,17}.

A dimensão das conseqüências das lesões do nervo facial dá suporte, a nosso ver, para a denominação de “cirurgia do nervo facial” quando

nos referirmos as parotidectomias com conservação do nervo facial^{1,4}. Afora as patologias que requerem, por princípio, o sacrifício intencional, não é difícil imaginar a tragédia que significa a lesão do nervo facial.

Diante de tal quadro podemos, sem questionamentos, afirmar que qualquer método que comporte uma recuperação da inatividade do nervo facial, tenha ela sido causada por invasão tumoral, trauma, ou decorrente de iatrogenia, é muito bem vinda^{7,16}.

A reconstrução microcirúrgica, já consagrada na literatura⁵, e mais recentemente a radiação laser, apesar de seus críticos, são ferramentas que merecem atenção^{7,16}. Novos estudos, quer interessando a microcirurgia ou a radiação laser, acerca do restabelecimento da função do nervo facial, merecem todo incentivo.

Ao observar-se os estudos publicados na literatura sobre as possibilidades terapêuticas de reestabelecimento da função do nervo facial lesado, percebe-se a enorme controvérsia do assunto. Alguns autores relatam estudos nos quais a microcirurgia apresenta melhores resultados^{7,9}, outros afirmam ter a radiação laser uma maior eficácia^{15,16,19}, e outros não observaram diferenças significativas entre os dois métodos^{13,14,20}.

O objetivo do atual artigo é avaliar histologicamente a orientação da reparação do nervo facial, quando da simples aproximação dos cotos nervosos após uma secção linear realizada com bisturi convencional, e compará-la com a aproximação seguida da vaporização com 2 watts de potência de radiação laser de CO₂.

O atual estudo, é óbvio, não tem a pretensão de encerrar tal controvérsia. Esperamos, outrossim enriquecê-la.

MATERIAIS E MÉTODOS

Após aprovação pelo Comitê Provisório de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos - UNESP, (protocolo nº 001/98), para a presente pesquisa foram empregados 24 ratos (*Rattus norvegicus*, albinus, Wistar) machos, com idade média de 3 meses e peso corporal variando entre 150 a 200 gramas que foram mantidos, durante todo período experimental, com ração balanceada[†] e água “*ad libitum*”.

Os animais foram divididos aleatoriamente em 2

grupos, denominados de grupo I (controle) e grupo II (tratado). Ambos grupos foram submetidos a procedimento cirúrgico conforme segue:

- 1) Anestesia por inalação com éter sulfúrico
- 2) Tricotomia facial direita
- 3) Incisão de 1cm com bisturi lâmina número 15
- 4) Identificação do ramo bucal do nervo facial
- 5) Secção deste ramo em sua porção mediana

com bisturi

6) Aproximação dos cotos seccionados no grupo I e aproximação dos cotos seguidos de irradiação de laser de CO₂ no grupo II (Figura 1). Foi utilizada a potência de 2 watts, por 50 ms e diâmetro do foco de 0,6mm, sendo que a entrega foi feita por meio de fibra tipo hallow fiber (Sharplan 15F® – Fapesp processo 97/07645-2). Foi usado no campo cirúrgico pontos simples de nylon 6-0 para facilitar a demarcação do local da irradiação para futuro preparo da peça histológica.

7) Aproximação da pele por meio de fio mononylon 6-0¥.

Imediatamente após os procedimentos, ambos os grupos, receberam via intraperitoneal, 20.000 UI de penicilina G benzatina¶, em dose única.

Três ratos de cada grupo foram sacrificados, por meio de excesso de inalação de vapores de éter sulfúrico, nos períodos de 30, 60 e 90 dias após os procedimentos.

Os espécimes obtidos após os sacrifícios foram fixados em formalina a 10% durante 6 horas e, em seguida, incluídas em parafina, sendo orientadas de tal forma a permitir cortes no sentido longitudinal ao longo eixo do nervo.

Cortes semi-seriados foram realizados com a espessura de 6 micrômetros e posteriormente corados com hematoxilina-eosina e analisados a luz da microscopia óptica comum.

RESULTADOS

Os animais não apresentaram sinais de morbidade em nenhum momento desta pesquisa. Os resultados histológicos alcançados referem-se ao grupo controle e tratado com irradiação de laser de dióxido de carbono (CO₂) com 30, 60 e 90 dias pós-cirúrgico.

† Ração ativada Produtor - Anderson Clayton S.A.

¥ Johnson & Johnson

¶ Benzetacil 20.000U

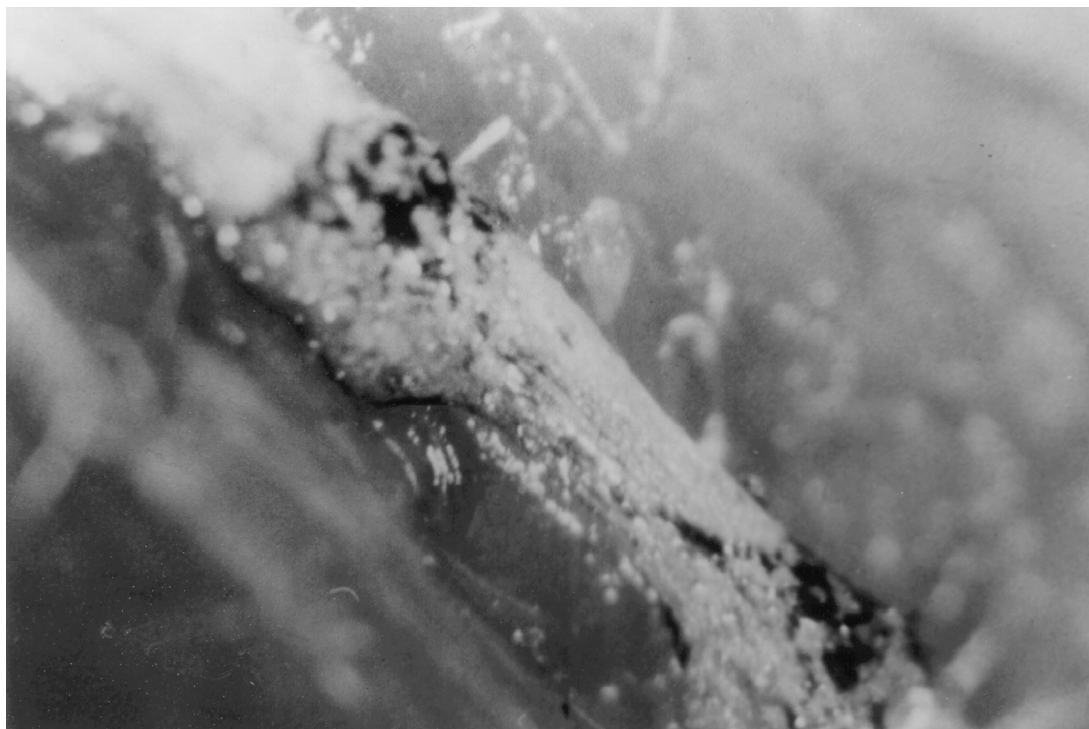


FIGURA 1- Vaporização dos cotos nervosos com Laser de CO₂.

GRUPO CONTROLE

Com 30 dias, a observação microscópica permitiu evidenciar um tecido conjuntivo ricamente celular, na grande maioria constituída de fibroblastos e macrófagos. Algumas células inflamatórias são observadas ao redor de vasos sanguíneos neo-formados de aspecto irregular e dilatados. O feixe nervoso seccionado apresentou suas fibras com disposição extremamente irregular e numerosos segmentos nodulares cujas fibras estão dispostas desordenadamente.

Após 60 dias, o tecido conjuntivo apresentou-se densamente fibroso com aspecto de normalidade e poucos vasos sanguíneos. O nervo seccionado apresentou em ambas extremidades distais fibras dispostas paralelamente com aspecto normal, entretanto no segmento próximo à secção as mesmas se dispõem de maneira extremamente irregular com grande número de células de Schwann, formando segmentos nodosos. Cabe destacar que os extremos proximais ao corte histológico, estão relacionado lateralmente (Figura 2).

Com 90 dias o tecido conjuntivo apresentou-se densamente fibroso com poucas células. Na região média do corte histológico observou-se pequenos vasos sanguíneos neo-formados e outros mais calibrosos com luz dilatada rodeados por células inflamatórias. Os extremos proximais apresentaram

suas fibras nervosas dispostas desordenadamente com grande número de células de Schwann, evidenciando grande processo proliferativo. Observou-se ainda na região mediana seccionada grande quantidade de segmentos nodulares com fibras nervosas dispostas irregularmente (Figura 3).

GRUPO TRATADO

Com 30 dias os cortes histológicos evidenciaram segmentos de nervo com fibras dispostas de maneira irregular, apresentando alguns poucos fragmentos nodosos distribuídos ao acaso. O tecido conjuntivo adjacente apresentou grande quantidade de células, na sua maioria fibroblastos, alguns macrófagos e numerosos pequenos vasos neo-formados.

Após 60 dias, no corte histológico observamos um tecido conjuntivo fibroso com menor número de células, porém, a grande maioria de fibroblastos e menor número de vasos sanguíneos. Não foram encontradas grandes quantidades de células inflamatórias. Este corte histológico evidenciou dois segmentos longitudinais do nervo aproximando-se na região mediana. Nesta região observou-se grande número de segmentos nodulares alongados cujas fibras nervosas apresentaram uma disposição ainda irregular, porém, com tendência a se disporem paralelamente ao longo eixo do nervo. Neste segmento intermediário observamos a presença de



FIGURA 2- Fotomicrografia da região mediana do nervo segmentado do espécime controle, 60 dias após a cirurgia (32X)



FIGURA 3- Fotomicrografia da região do nervo segmentado do espécime controle, 90 dias após a cirurgia. (32X). Grande quantidade de segmentos nodulares com fibras nervosas dispostas irregularmente (setas)

grande número de células de Schwann (Figura 4).

Com 90 dias observamos tecido conjuntivo denso fibroso com muito poucas células, reconhecidas

como fibroblastos e poucos vasos sanguíneos de pequeno calibre na região média do corte histológico. O feixe nervoso pode ser observado longitudinal-

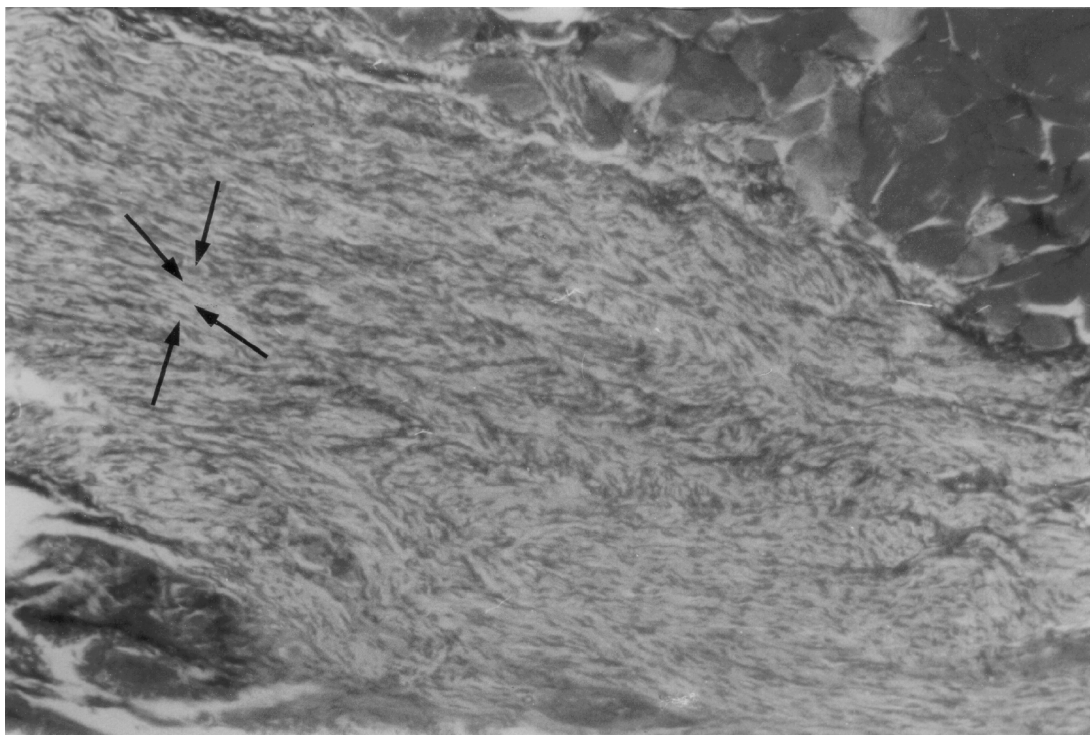


FIGURA 4- Fotomicrografia da região do nervo segmentado do espécime tratado, 60 dias após a cirurgia e irradiado com laser de CO₂. (100X). Proliferação de células de Schwann (setas)

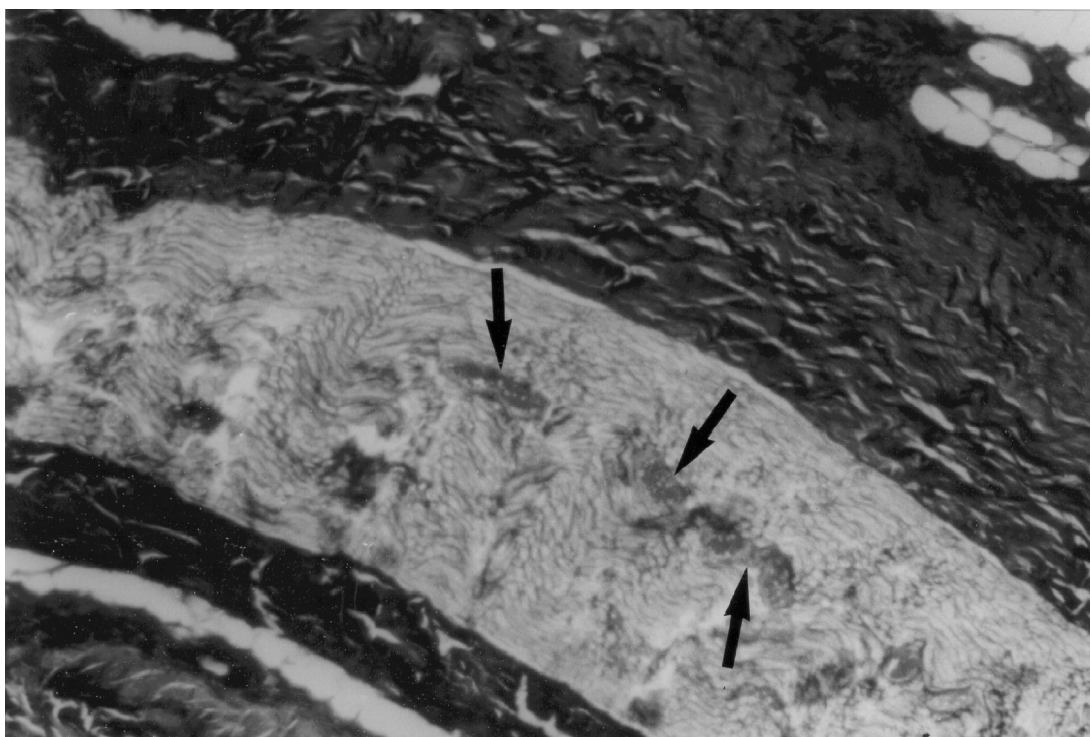


FIGURA 5- Fotomicrografia da região mediana do nervo segmentado do espécime tratado, 90 dias após a cirurgia e irradiado com Laser de CO₂. (100X). Vasos sanguíneos no interior do feixe nervoso (setas)

mente em toda sua extensão do corte histológico, mostrando suas fibras dispostas paralelamente de maneira ordenada com aspecto de normalidade.

Cabe destacar a presença de vasos sanguíneos no interior do feixe nervoso perto da região mediana (Figura 5).

DISCUSSÃO

No atual estudo optamos por utilizar o ramo bucal do nervo facial do rato, por sua situação anatomotopográfica ser a melhor em cirurgias experimentais realizadas em ratos¹².

Estudos têm demonstrado que a reparação de nervos periféricos seccionados, por meio de anastomoses microcirúrgicas, produzem resultados satisfatórios^{9,15}. Anastomoses com utilização de adesivos tissulares, mostraram-se clinicamente ineficazes¹⁹.

Não podemos desconsiderar a habilidade do cirurgião e a capacidade de resposta metabólica inerente a cada indivíduo como fator de influência na reparação nervosa.

Pesquisas demonstram ser a adequada coaptação das terminações nervosas, obtida por meio de uma sutura criteriosa dos feixes nervosos, o método que melhores resultados apresenta na promoção da regeneração e restauração funcional do axônio^{2, 20}.

Muitas pesquisas foram publicadas sobre a capacidade de realizar-se anastomoses de vasos sanguíneos utilizando-se o laser de CO₂^{3,8,10,11}, e isso tem sugerido que técnicas similares poderiam ser usadas para anastomose de nervos^{18,21}.

O mecanismo de reparo neural produzido por laser de CO₂ baseia-se na desnaturação de proteínas e subsequente fusão da porção do colágeno do epineuro por coagulação térmica^{11,13,16}.

O grande número de células de Schwann, que são as responsáveis pela orientação e reparação das fibras nervosas, observados no atual estudo, sugerem que os efeitos térmicos decorrentes da potência da radiação laser de CO₂ utilizada (2 watts) não tiveram um efeito deletério capaz de destruir a bainha de mielina e os axônios adjacentes ao sítio irradiado.

FISCHER et al.⁶ compararam anastomoses microepineurais com laser de CO₂ e suturas em nervos ciáticos de ratos. Os resultados morfológicos sugeriram que a radiação com laser de dióxido de carbono não induz a efeitos de longo prazo que comprometam a regeneração neural. Restos de tecidos carbonizados resultantes de efeitos térmicos da radiação laser não mostraram ter efeito nocivo significativo na regeneração das fibras.

Nossos resultados corroboram com estudos da literatura que concluem que, em bases morfológicas, é factível supor que a orientação para crescimento de terminações nervosas seccionadas é melhor quando da utilização da radiação laser de CO₂, do que quando da simples aproximação dos cotos seccionados.

CONCLUSÕES

a) A utilização da radiação Laser de CO₂ mostrou-se mais eficaz na orientação da regeneração nervosa do ramo bucal do nervo facial de ratos, quando comparada com a simples aproximação dos cotos, após sua secção com bisturi convencional.

b) A carbonização produzida pelo Laser de CO₂ não influenciou negativamente na cronologia do processo de reparo, quando analisado a longo prazo.

ABSTRACT

The lesions of the facial nerve, caused by traumas, iatrogenic factors or for oncology principles are extremely unpleasant complications and they behave severe consequences, since, not rarely, come to interfere in the patient's facial identity. Therefore, attempts to reestablish the function of the facial nerve, has long date are published in the literature. It is known that one of the more important conditions to regenerate the function of the facial nerve is an adequate coaptation of myelin in the extremities of the injury nerve. The current study had for goal to evaluate histologically the orientation of the regeneration of the buccal branch of the facial nerve of rat approach of cots and, application of the laser radiation and to compare with the normal approach. The buccal branch of the facial nerve in 24 rats was sectioned and divided into two groups. In group I was realized the simple approach of the proximal and distal extremities and in the group II, besides the approach, the CO₂ laser radiation with 2 Watts was done. Our results showed that the utilization of the CO₂ laser radiation resulted in a better orientation of the nervous regeneration and that in long term, the utilization of the laser radiation did not compromise the reparation of the other biological tissues involved in the process.

UNITERMS: Facial nerve; Neural reparation; Anastomosis; Carbon dioxide laser.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Miguel Angel Castillo Salgado, Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal - Disciplina de Histologia, pela orientação na parte histológica deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Benke TA, Clark JW, Wisoff PJ. Comparative study of suture and laser-assisted anastomosis in rat sciatic nerves. *Lasers Surg Med* 1989; 9: 602-15.
- 2- Crumley R I. Interfascicular nerve repair: is it applicable in facial nerve injuries? *Arch Otolaryngol* 1980;106:313-16.
- 3- Dew DK. Laser microsurgical repair of soft tissue: An update and review. *Lasers Surg.Med* 1983; 3:134-5.
- 4- Eppley BI, Kalendarian E, Winkelmann T, Delfino JJ. Facial nerve graft repair: suture versus laser-assisted anastomosis. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1989;10:50-4.
- 5- Fisch U, Mattox D. *Microsurg of the Skull Base*. Stuttgart: Verlag; 1988.
- 6- Fischer DW, Beggs JL, Kenshalo DL. Comparative study of microepineural anastomosis with the use of CO₂ laser and suture techniques in rat sciatic nerves. Part I. *Neurosurgery* 1985;17:300-8.
- 7- Goldman JA. Bioestimulation: or what light can do for you. *Lasers Surg Med* 1994; 5 (sp. Issue):38.
- 8- Happak W, Neumayer C, Burggasser G, Holak G, Kuzbari R, Gruber H. Nerve coaptation using CO₂ milliwatt laser. *Handchir Mikrochir Plast Chir* 1998;2:116-21.
- 9- Jabaley M. Current Concepts of Nerve Repair. *Clin Plast Surg* 1981;8:33-44.
- 10- Jain KK. Sutureless microvascular anastomosis using a neodymium-YAG laser. *J Microsurg* 1984; 1:436-9.
- 11- Lauto A, Dawes JM, Cushway T, Piper JÁ, Owen ER. *Microsurg* 1998;1:55-9.
- 12- Mattox DE, Felix H. Surgical anatomy of the rat facial nerve. *Am J Otolaryngol* 1987;8: 43-7.
- 13- Menovsky T. CO₂ and Nd:YAG laser-assisted nerve repair: a study of bonding strength and thermal damage. *Acta Chir Plast* 2000;1:16-22.
- 14- Menovsky T, Beek JF, Thomsen SL. Laser-assisted nerve repair. A review. *Neurosurg Ver* 1995;4:225-35.
- 15- Millesi H. *Microsurgery of peripheral nerves*. The Hand 1973;5:157-60.
- 16- Niccoli-Filho W, Faig H, Madeira MC, Simões S. Inervação da articulação temporomandibular. *Atual Odontol Brasil* 1986;3: 57-64.
- 17- Niccoli-Filho W, Varandas JT. Surgical anatomy of the facial nerve and the parotid gland. *Rev Odontol USP* 1988;21:48-50.
- 18- Ochi M, Osedo M, Ikuta Y. Superior nerve anastomosis using a low-output CO₂ laser on fibrin membrane. *Lasers Surg Med* 1995;1:64-73.

19- Parker G, White T, Jenkins RT. Surgical repair of extratemporal facial nerve: a comparison of extratemporal facial nerve: a comparison of suture repair and microfibrillar collagen repair. *Laryngoscope* 1984; 94:950-53.

20- Sarlak AY, Can C, Yuce E, Oba G. Comparative study of microepineural suture, microepineural suture-aided CO₂ laser, and laser only anastomoses in rat sciatic nerves. *J Clin Laser Med Surg* 1994;5:273-6.

21- Saunders M, Young HF, Becker DP, Greenberg RP, Newlon PG, Corales RL, et al. The use of the laser in neurological surgery. *Surg Neurol* 1980;14:1-10.

Fernando Vagner RALDI

Professor Assistente Doutor do Departamento de Cirurgia, Periodontia e Radiologia, Disciplina de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial da FOSJC-Unesp.

Avenida Francisco José Longo 777

São José dos Campos, SP, Br. CEP:12245-000

Telefone: 0XX12-39218166 ramal 1302

Email: dppontes @ directnet. com. br