



Brazilian Journal of Otorhinolaryngology

ISSN: 1808-8694

revista@aborlccf.org.br

Associação Brasileira de  
Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-  
Facial  
Brasil

Aló Maluza Florez, Rosangela; Lang, Raquel; Mora Veridiano, Adriano; de Oliveira Zanini,  
Renato; Calió, Pedro Luiz; dos Santos Simões, Ricardo; Gurgel Testa, José Ricardo  
Ultraestrutura do nervo facial intratemporal em pacientes com paralisia facial idiopática:  
estudo de evidências de infecção viral

Brazilian Journal of Otorhinolaryngology, vol. 76, núm. 5, septiembre-octubre, 2010, pp.  
639-642

Associação Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial  
São Paulo, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=392437896017>

- ▶ Como citar este artigo
- ▶ Número completo
- ▶ Mais artigos
- ▶ Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal  
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

## Intratemporal facial nerve ultrastructure in patients with idiopathic facial paralysis. Viral infection evidence study

*Ultraestrutura do nervo facial intratemporal em pacientes com paralisia facial idiopática: estudo de evidências de infecção viral*

Rosangela Aló Maluza Florez <sup>1</sup>, Raquel Lang <sup>2</sup>, Adriano Mora Veridiano <sup>3</sup>, Renato de Oliveira Zanini <sup>4</sup>, Pedro Luiz Caliô <sup>5</sup>, Ricardo dos Santos Simões <sup>6</sup>, José Ricardo Gurgel Testa <sup>7</sup>

**Keywords:**

facial paralysis,  
facial nerve,  
facial nerve diseases,  
bell palsy.

### Abstract

**T**

he etiology of idiopathic peripheral facial palsy (IPFP) is still uncertain; however, some authors suggest the possibility of a viral infection. **Aim:** to analyze the ultrastructure of the facial nerve seeking viral evidences that might provide etiological data. **Material and Methods:** We studied 20 patients with peripheral facial palsy (PFP), with moderate to severe FP, of both genders, between 18-60 years of age, from the Clinic of Facial Nerve Disorders. The patients were broken down into two groups - Study: eleven patients with IPFP and Control: nine patients with trauma or tumor-related PFP. The fragments were obtained from the facial nerve sheath or from fragments of its stumps - which would be discarded or sent to pathology exam during the facial nerve repair surgery. The removed tissue was fixed in 2% glutaraldehyde, and studied under Electronic Transmission Microscopy. **Results:** In the study group we observed an intense repair cellular activity by increased collagen fibers, fibroblasts containing developed organelles, free of viral particles. In the control group this repair activity was not evident, but no viral particles were observed. **Conclusion:** There were no viral particles, and there were evidences of intense activity of repair or viral infection.

**Palavras-chave:**

doenças do  
nervo facial,  
facial,  
paralisia de bell,  
paralisia facial.

### Resumo

**A**

etiologia da paralisia facial periférica idiopática (PFPI) ainda é uma incógnita, no entanto, alguns autores aventam a possibilidade de ser uma infecção viral. **Objetivo:** Analisar a ultraestrutura do nervo facial procurando evidências virais que possam nos fornecer dados etiológicos. **Material e Método:** Foram estudados 20 pacientes com PFP, com graus de moderado a severo, de ambos os sexos, entre 18-60 anos, provenientes de Ambulatório de Distúrbios do Nervo Facial. Os pacientes foram divididos em dois grupos: Estudo, onze pacientes com PFPI e Controle, nove pacientes com Paralisia Facial Periférica Traumática ou Tumoral. Foram estudados fragmentos de bainha do nervo facial ou fragmentos de seus cotos, que durante a cirurgia de reparação do nervo facial, seriam desprezados ou encaminhados para estudo anatopatológico. O tecido foi fixado em glutaraldeído 2% e analisado em Microscopia Eletrônica de Transmissão. **Resultado:** Observamos no grupo estudo atividade celular intensa de reparação com aumento de fibras colágenas, fibroblastos com organelas desenvolvidas, isentos de partículas virais. No grupo controle esta atividade de reparação não foi evidente, mas também não foram observadas partículas virais. **Conclusão:** Não foram encontradas partículas virais, no entanto, houve evidências de intensa atividade de reparação ou infecção viral.

<sup>1</sup> Mestre em Otorrinolaringologia pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Professora Titular do Universidade Santa Cecília (UNISANTA) Coordenadora da faculdade de odontologia da UNISANTA.

<sup>2</sup> Especialista em Odontologia pelo UNISANTA, Professora da Faculdade de Odontologia da UNISANTA.

<sup>3</sup> Mestre em Morfologia pela UNIFESP, Professor Assistente da Faculdade de Odontologia da UNISANTA.

<sup>4</sup> Especialista em Odontologia pela UNISANTA, Professor da Faculdade de Odontologia da UNISANTA.

<sup>5</sup> Doutor em Histologia e Biologia Estrutural pela UNIFESP, Professor Titular da Faculdade de Odontologia da UNISANTA.

<sup>6</sup> Especialista em Ginecologia e Obstetrícia (TEGO), Mestrando da Universidade de São Paulo.

<sup>7</sup> Doutor em Otorrinolaringologia pela UNIFESP, Professor Adjunto da Disciplina de ORL da UNIFESP.

Departamento de Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e PESCOÇO Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP/EPM).

Endereço para correspondência: José Ricardo Gurgel Testa - Rua Peixoto Gomide 671 4º andar São Paulo SP.

Este artigo foi submetido no SGP (Sistema de Gestão de Publicações) da BJORL em 30 de outubro de 2009. cod. 6750

Artigo aceito em 18 de fevereiro de 2010.

## INTRODUÇÃO

A paralisia facial periférica (PFP) acarreta não só uma deformidade física, mas também alterações funcionais e muitas vezes psicológicas, podendo levar os pacientes à incapacidade social e profissional. A mais freqüente causa de PFP é de origem idiopática, também chamada de paralisia de Bell, e as outras etiologias são as traumáticas, tumorais, infecciosas, neurológicas, congênitas e iatrogênicas<sup>1-6</sup>.

No tratamento da PFP, continua-se em dúvida quanto à eficácia das atuais medidas clínicas e/ou cirúrgicas, já que a evolução natural da doença em geral é bastante benigna.<sup>4,5</sup> Uma revisão da literatura do último século sobre o tratamento da PFP idiopática revela que, como sua etiologia não está totalmente esclarecida, as opções de tratamento são controversas e variam intensamente<sup>7-9</sup>. A meta para as futuras investigações deve ser a determinação conclusiva da causa da paralisia facial de cada paciente, para que o tratamento possa ser baseado em informações etiopatológicas precisas, aumentando com isto sua eficácia.

Uma das possibilidades etiológicas aventadas para a PFP de Bell seria a de uma neurite viral facial, recentemente relacionada mais especificamente ao vírus Herpes simplex<sup>10,11</sup>. Apesar de experimentalmente podermos reproduzir um quadro compatível com a PFP de Bell através da inoculação de vírus em animais, ainda não se obteve comprovação direta da mesma em humanos pela demonstração consistente das partículas virais em estudos anatomo-patológicos ou isolamento de vírus viáveis em amostras neurais.

Este estudo teve como objetivo avaliar em nível ultraestrutural o nervo facial de pacientes com PFP idiopática através de fragmentos de bainha, biópsia de cotos ou de seus ramos, procurando evidências de infecção viral.

## MÉTODOS

O presente estudo foi inicialmente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição onde foi realizado sob o número 11/2005. Todos os pacientes do presente estudo concordaram em participar da pesquisa e assinaram o “Termo de consentimento livre e esclarecido”.

Participaram deste estudo 20 pacientes com PFP provenientes de Ambulatório de Distúrbios do Nervo Facial, que foram divididos em dois grupos, sendo: Grupo estudo (G-PFP.I) - formado por 11 pacientes com PFP idiopática ou “Paralisia de Bell”, que tiveram indicação de tratamento cirúrgico e foram submetidos à cirurgia para descompressão com abertura da bainha neural e, Grupo Controle (G-PFP.T) - constituído por 9 pacientes com PFP de origem traumática ou tumoral e que também receberam tratamento cirúrgico.

Quanto ao critério de inclusão para a indicação cirúrgica devemos mencionar que os pacientes apresen-

tavam paralisia facial completa, com mais de 20 dias de início e não mais de 45 dias; com testes eletrofisiológicos sem resposta (eletroneurografia e teste de Hilger inexcitáveis). Já quanto ao tempo após a paralisia em que foi realizada a cirurgia para melhor correlação com os achados ultraestruturais nos casos de paralisia idiopática entre 20 e 45 dias após o início do quadro de paralisia e nos casos traumáticos ou tumorais todos eram casos de paralisia crônica com mais de 6 meses de evolução sem melhora.

Foram estudados 20 fragmentos de bainha do nervo facial ou de seus cotos, que por ocasião da cirurgia de reparação da lesão do nervo facial seriam desprezados ou encaminhados para estudo anatomo-patológico. Fragmentos do tecido removido foram mergulhados em solução de glutaraldeído 2%, tampão fosfato 0,5 M e PH 7,2, pós-fixado em tetróxido de ósmio 1% por 1 hora e mergulhados em solução aquosa de acetato de uranila 0,5% por 12 horas. O material foi posteriormente desidratado e embebido e incluído em resina (Polylite, Reichhold Research Triangle Park, NC, USA). Os tecidos emblocados foram adequadamente aparados e levados ao ultramicrotomo Porter Blum MT-1, obtendo-se assim, cortes semi-finos, com espessura aproximada de 0,5mm e corados pelo azur de metileno. Os blocos dos cortes semifinos, selecionados ao microscópio de luz, foram obtidos cortes ultrafinos, com espessura variando de 40 a 80 nm que foram montados em telas de cobre com 200 malhas. Para contraste utilizou-se acetato de uranila e citrato de chumbo<sup>12,13</sup>. O exame das telas e as micrografias eletrônicas (ME) foram realizados em microscópio eletrônico de transmissão Carl Zeiss, modelo EM 900 a 80 kV.

## RESULTADOS

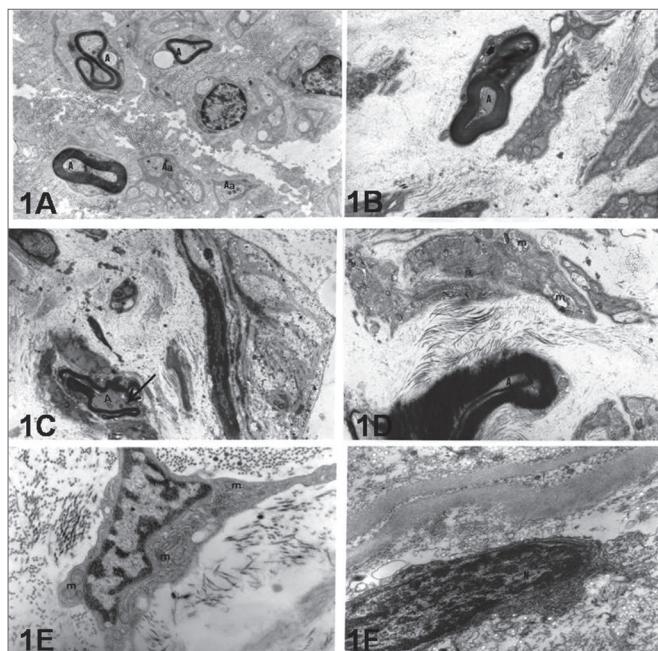
A análise ultraestrutural de biópsias de nervo facial de pacientes com PFP idiopática (GPFP.I) quanto do grupo G-PFP.T mostrou na maioria dos campos estudados que os nervos apresentavam-se constituídos por axônios mielinizados e não mielinizados (Figura 1A, B, C e D), que por sua vez estavam revestidos pelo endoneuro, perineuro e epineuro. Tanto o perineuro quanto o epineuro estavam formados principalmente por fibras colágenas do tipo I. Os axônios estavam constituídos por neurofibras e mitocôndrias típicas.

No grupo PFP.I tanto as células de Schwann que revestem os axônios quanto a maioria dos fibroblastos da matriz extracelular do tecido conjuntivo mostravam características ultraestruturais de células em intensa atividade de síntese, sendo seus núcleos volumosos e eucromáticos. Neste grupo os axônios visibilizados apresentavam-se envoltos por células de Schwann, sendo que os mielinizados mostravam desorganização do seu padrão lamelar e descontinuidade de sua lâmina basal (Figura 1C). Os fibroblastos mostravam citoplasma com grandes prolongamentos ricos em organelas de síntese tais como: retículo

endoplasmático granular e mitocôndrias (Figura 1E).

Nos preparados de pacientes do grupo PFP.T (traumática ou tumoral) um dos achados foi o encontro de alguns axônios com irregularidades estruturais. Nos cortes transversais, esses axônios mostraram-se achatados e revestidos por lamelas de mielina desarranjadas (Figura 1B). Já algumas células de Schwann apresentam citoplasma com lisossomos e mitocôndrias com sinais de cristólise (Figura 1D). O endoneuro, perineuro e epineuro estão constituídos por fibroblastos com características de células com baixa atividade de síntese, mostrando citoplasma reduzido, núcleos heterocromáticos e poucas organelas de síntese (Figura 1F). Estas células encontram-se entre-meadas por grande concentração de fibrilas de colágeno, particularmente do tipo I.

Em nenhum dos dois grupos estudados, tanto ESTUDO quanto CONTROLE, foi identificada a presença de partículas virais.



**Figura 1.** Micrografias eletrônicas mostrando partes de nervos faciais intratemporais de indivíduos com paralisia facial idiopática (A, C e E) e sem paralisia facial (B, D e F). Observar em 1A axônios mielinizados (A) e amielínicos (Aa), em 1C descontinuidade da bainha de mielina (Seta) e, em 1E fibroblasto típico indicando intensa atividade de síntese (m=mitocôndrias). Em 1B observar axônio (A) revestido por lamelas de mielina desarranjadas (Seta). Em 1D célula de Schwann contendo mitocôndrias (m) com sinais de cristólise. Em 1F fibroblasto com núcleo heterocromático (N) indicando baixa atividade de síntese. A, B e C = 12.000X; D, E e F = 24.000X.

## DISCUSSÃO

O estudo histológico do nervo facial em paralisias faciais iniciou-se em 1869 com uso da microscopia de luz (MO) por Moxon, e pouco tempo depois, em 1882,

foram observadas degenerações nos axônios e na bainha de mielina distalmente a partir do gânglio geniculado, principalmente no segmento mastoideo do nervo facial, também com uso do MO por Minkowski. Degenerações dessas estruturas neurais, só que observados à microscopia eletrônica, foram confirmados em nosso estudo tanto no grupo controle como do grupo estudo, como também já demonstrado por outros autores<sup>5,14,15</sup>.

Comparando nossos resultados do grupo estudo com os da revisão de literatura podemos fazer as seguintes considerações: encontramos fibroblastos em intensa atividade, edema, proliferação de células de Schwann, como também o observado em estudo histológico do nervo facial de um paciente com PFP<sup>4</sup>. Os mesmos autores sugerem que as modificações inflamatórias e o edema encontrados nesse caso com PFP poderiam ser compatíveis com uma etiologia viral. Porém, no processo de regeneração normal do nervo facial também há o aumento do número de organelas celulares.

O grupo estudo apresentou presença de fibroblasto na maioria dos cortes histológicos estudados com inúmeras organelas, mostrando-nos que estávamos diante de células em intensa atividade de síntese. Essas células estavam também rodeadas por grande quantidade de fibrilas de colágeno entre-meadas por espaços eletrotranslúcidos, sugestivo de edema. Esses aspectos são típicos de uma célula reagindo a um processo inflamatório.

Neste estudo comparativo procuramos evidências virais nos nervos dos pacientes com paralisia de Bell (grupo estudo) e nos pacientes com paralisia facial tumoral ou traumáticas (grupo controle), porém não foram vistas partículas virais em nenhum fragmento.

Em estudos histológicos post-mortem em PFP idiopática demonstrou-se infiltrados de células inflamatórias no nervo, destruição da bainha de mielina e edema importante, compatível, segundo os autores, com uma infecção viral, ou mesmo com uma reação imunológica<sup>10</sup>. Nossa trabalho apresentou resultados semelhantes no grupo estudo onde demonstramos uma atividade celular intensa de reparação, com aumento de fibroblastos ativos, devido à presença de organelas desenvolvidas, que apesar de isentos de partículas virais, poderiam ser sugestivos de infecção viral, como relatado anteriormente.

No grupo controle esta atividade de reparação não era evidente e também não foram observadas partículas virais. Achamos parte do nervo com estrutura neural normal mesmo em paralisia crônica onde o indivíduo tinha uma lesão neural funcional completa com eletromiografia sem resposta.

Em nosso estudo encontramos degeneração de fibras mielinicas nos dois grupos, indo de encontro com outros estudos que avaliaram o nervo corda do tímpano e petroso maior obtido durante cirurgia de descompressão do nervo facial<sup>14</sup>.

Não podemos deixar de lembrar que também tivemos dificuldades técnicas no manejo do nervo facial. Obter bons fragmentos do nervo facial para análise histológica durante a cirurgia normalmente constitui uma rara e árdua tarefa. Isto devido ao relativamente baixo número de cirurgias que permitem o mesmo, ao artefato produzido no processo de extração e ao fato do “tamanho da peça”, pois o tecido normalmente é muito pequeno. Isto dificultou um pouco o método deste trabalho, fato também descrito por outros autores<sup>14-16</sup>.

Quanto à nossa falha na identificação de partículas virais, foi sugerido que a PFP idiopática é uma infecção herpética, onde o vírus estaria dentro do gânglio<sup>11</sup>. Durante a fase de proliferação, os corpos celulares do gânglio seriam agredidos e ocorreria a paralisia. Então, se o vírus encontrasse dentro do gânglio, poderíamos não encontrá-lo em fragmentos de bainha, cotos ou ramos. Esta seria mais uma possibilidade para justificar a ausência de partículas virais em nossas amostras, somando-se às outras já discutidas, tais como uma insuficiência técnica de nosso método ou mesmo a não ocorrência de uma etiologia viral na PFP de Bell.

## CONCLUSÕES

Não foram encontradas evidências consistentes de infecção viral (partículas virais) em pacientes com paralisia facial periférica Idiopática, não obstante terem sido identificadas evidências inflamatórias não patognomônicas, sugestivas de infecção viral.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. May M. Facial Paralysis: Differential diagnosis and indications for surgical therapy. *Clin Plast Surg.* 1979; 6:275-91.
2. Peitersen E. Bell's palsy: the spontaneous course of 2.500 peripheral facial nerve palsies of different etiologies. *Acta Otolaryngol.* 2002; 549:4-30.
3. Liu J, Li Y, Yuan X, Lin Z. Bells palsy may have relations to bacterial infection. *Med Hypotheses.* 2009; 72:169-70.
4. Proctor G, Corgill DA, Proud G. The pathology of Bell's palsy. *Trans Sect Otolaryngol Am Acad Ophthalmol Otolaryngol.* 1976. 82:70-9.
5. Michaels L. Histopathological changes in the temporal bone in Bell's palsy. *Acta Otolaryngol.* 1990; 470:114-24.
6. Chapuis-Taillard C, de Vallière S, Bochud PY. Infectious diseases. *Rev Med Suisse.* 2009; 5:29-34.
7. Testa JRG. Paralisia facial: diagnóstico e tratamento. *Rev Bras Otorrinolaringol.* 1997; 4:143-50.
8. Ngow HA, Wan Khairina WM, Hamidlon BB. Recurrent Bells palsy in a young woman. *Singapore Med J.* 2008; 49:278-80
9. Lockhart P, Daly F, Pitkethly M, Comerford N, Sullivan F. Antiviral treatment for Bells palsy (idiopathic facial paralysis). *Cochrane Database Syst Rev.* 2009; 4:CD001869.
10. Quant EC, Jeste SS, Muni RH, Cape AV, Bhussar MK, Peleg AY. The benefits of steroids versus steroids plus antivirals for treatment of Bells palsy: a meta-analysis. *BMJ.* 2009; 339:b3354.
11. Avci S, Kansu L, Akkuzu B, Ozgirgin N, Ozluoglu L. A case of herpetic facial paralysis in which cochleovestibular symptoms outweigh facial nerve symptoms. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg.* 2008; 18:40-3.
12. Reynolds E S. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J Cell Biol.* 1963; 17:208-9.
13. Watson ML. Staining of tissues sections for electron microscopy with heavy metals. *J Biophys Biochem Cytol.* 1958; 4:475-7.
14. Fisch U, Felix H. On the pathogenesis of Bell's palsy. *Acta Otolaryngol.* 1983; 95:532-6.
15. Ulrich J, Podvinec M, Hofer H. Histological and ultrastructural changes in idiopathic facial palsy. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.* 1979; 40:303-11.
16. Podvinec M, Ulrich J. Neuropathologische Befunde bei der peripheren Fazialislähmung. *Akt Probl Otorhinolaryngol.* 1980; 3:32-8.