



Acta Ortopédica Brasileira

ISSN: 1413-7852

actaortopedicasociedade@uol.com.br

Sociedade Brasileira de Ortopedia e

Traumatologia

Brasil

Pinheiro de Souza Lemos, Sandro; Hayashi, Izumi; Cunha, Armando dos Santos; Ferreira da Silva, Ciro; Pessoa Barros Filho, Tarcísio Eloy; Costa, Marcio Paulino; Castro Ferreira, Marcus
Nervo alógeno conservado em glicerol: estudo experimental em ratos

Acta Ortopédica Brasileira, vol. 16, núm. 3, 2008, pp. 133-137

Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia

São Paulo, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=65713426001>

- ▶ 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

ARTIGO ORIGINAL

NERVO ALÓGENO CONSERVADO EM GLICEROL. ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS

**GLYCEROL-PRESERVED ALLOGENOUS NERVE:
AN EXPERIMENTAL STUDY WITH RATS**

SANDRO PINHEIRO DE SOUZA LEMOS¹, IZUMI HAYASHI², ARMANDO DOS SANTOS CUNHA³, CIRO FERREIRA DA SILVA⁴, TARCÍSIO ELOY PESSOA BARROS FILHO⁵, MARCIO PAULINO COSTA⁶, MARCUS CASTRO FERREIRA⁷

RESUMO

A utilização de aloenxerto de nervo conservado em glicerol é uma alternativa a auto-enxertia em casos de lesões de nervos periféricos com perda de substância que diminui a morbidade cirúrgica e provem material suficiente para a reparação neural. O objetivo deste trabalho foi comparar o grau de reparação nervosa, utilizando análises histológica e funcional, através da interposição de enxerto autógeno (grupo A), de tubo de veia conservada em glicerol (grupo B) e de interposição de nervo alógeno conservado em glicerol (grupo C) em defeitos de 5 mm no nervo fibular de ratos Wistar. A análise histológica foi feita após o sacrifício dos animais (6 semanas), usando o corante azul de toluidina a 1%. No grupo A (auto-enxerto) verificou-se reação tecidual perineural e escape de fibras axonais mielinizadas para fora dos limites do epineuro que foi maior se comparada ao verificado no Grupo B (Veia autógena + glicerol) e Grupo C (aloenxerto de nervo). A avaliação funcional foi feita através da análise dos padrões das pegadas das patas posteriores dos ratos ("Walking Track Analysis"), nos períodos: pré-operatório, pós-operatório imediato, na terceira e sexta semanas. Na recuperação funcional, não houve diferença estatisticamente significativa entre os três grupos em nenhum dos períodos avaliados.

Descritores: Transplantes; Regeneração nervosa; Glicerol; Nervo fibular; Ratos Wistar; Cirurgia/métodos.

Citação: Lemos SPS, Hayashi I, Cunha AS, Silva CF, Barros Filho TEP, Costa MP et al. Nervo alógeno conservado em glicerol. Estudo experimental em ratos. Acta Ortop Bras. [periódico na Internet]. 2008; 16(3):133-137. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/aob>.

INTRODUÇÃO

O tratamento cirúrgico mais utilizado, atualmente, para a reparação das lesões de nervos periféricos com perda de substância, é a auto-enxertia de nervo. Essa técnica baseia-se na utilização de um segmento de nervo doador do próprio indivíduo, que é interposto entre os cotos proximal e distal do nervo lesado e tem como objetivo o preenchimento do espaço entre os cotos, promovendo a diminuição da tensão nas linhas de sutura e a orientação para o avanço dos cones de crescimento neurais^(1,2).

A necessidade do sacrifício de um nervo de outra região do corpo, mais comumente, o nervo sural, está correlacionado a algumas desvantagens que devem ser consideradas:

SUMMARY

The use of glycerol-preserved nerve allograft is an alternative to autografting in cases of peripheral nerve injury with loss of substance, which decreases surgical morbidity and provides sufficient material for neural repair. The objective of this study was to compare the degree of nervous repair, through interposition of autogenous graft (Group A), of glycerol-preserved vein tube (Group B), and interposition of glycerol-preserved allogenic nerve (Group C) in 5-mm defects of Wistar rats' fibular nerve, using histological and functional analyses. In group A (autograft) a perineural tissue reaction and myelinated axonal fibers escape out of the epineurium boundaries were greater when compared to those observed in Group B (autogenous vein + glycerol) and Group C (nerve allograft). The functional evaluation was made by analysis of the patterns of rats' posterior footprints (Walking Track Analysis) in preoperative, early postoperative period, week 3 and week 6. Regarding functional recovery, in none of the evaluated periods was there a statistically significant difference between the three groups.

Keywords: Transplant; Nervous regeneration; Glycerol; Fibular nerve; Wistar rats; Surgery/methods.

Citation: Lemos SPS, Hayashi I, Cunha AS, Silva CF, Barros Filho TEP, Costa MP et al. Glycerol-preserved allogenous nerve: an experimental study with rats. Acta Ortop Bras. [serial on the Internet]. 2008; 16(3): 133-137. Available from URL: <http://www.scielo.br/aob>.

Presença de seqüelas no sítio de retirada do nervo sural. Foram verificados infecção da área doadora em 10% dos pacientes, cicatrização retardada em 12% e dor crônica em 5%⁽³⁾. Também verificou-se perda da sensibilidade das porções laterais do pé e tornozelo em 44%, parestesia na panturrilha em 42%, bem como dor na panturrilha em 16% dos pacientes⁽⁴⁾. Outra desvantagem é a limitação do número ou porções de nervos a serem reconstruídas por causa da insuficiência de material doador, bem como uma relativa incompatibilidade entre os diâmetros do nervo lesado e do nervo doador. Isso obriga à realização de síntese com fascículos do nervo lesado com vários segmentos de nervo doador, aumentando o número de suturas locais e interferindo ne-

Trabalho realizado no Laboratório de Microcirurgia da Disciplina de Cirurgia Plástica da Faculdade de Medicina da USP.

Endereço para correspondência: Marcio Paulino Costa - Rua Gabriel dos Santos, 759 - 12º andar - Santa Cecília - São Paulo - SP - Brasil - CEP: 01231-011 - e-mail: marciopaulino@bol.com.br

1. Mestrando da Disciplina de Cirurgia Plástica da Faculdade de Medicina da USP

2. Médica, ex-participante da liga de Cirurgia Plástica da Faculdade de Medicina da USP

3. Mestre em Cirurgia Plástica da Faculdade de Medicina da USP

4. Professor Titular do Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento do Instituto de Ciências Biomédicas USP

5. Professor Titular do Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da USP

6. Professor Assistente da Disciplina de Cirurgia Plástica da Faculdade de Medicina da USP

7. Professor Titular da Disciplina de Cirurgia Plástica da Faculdade de Medicina da USP

gativamente por aumentar o processo inflamatório peri-neural^(5,6). Várias alternativas a auto-enxertia foram estudadas, dentre elas, a tubulização utilizando vasos criopreservados ou conservados em glicerol que ganharam força por serem alternativas viáveis⁽⁷⁻¹³⁾. Na literatura são escassas as referências ao uso de enxertos alógenos de nervos⁽¹⁴⁾, não se relacionando até o presente nenhuma referência a aloenxertos de nervos conservados em glicerol. O objetivo deste trabalho foi comparar, em ratos, o grau de regeneração neural utilizando-se de análise histológica e análise funcional através da interposição de enxerto autógeno de nervo, veia autógena e enxerto alógeno conservados em glicerol, na correção de defeito de 5mm de nervo fibular.

MATERIAIS E MÉTODOS

Quinze ratos machos da raça Wistar, com peso variando entre 200 e 300g, e idade ao redor de oito semanas, foram divididos em três grupos de cinco animais. Para o procedimento cirúrgico, os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (dose de 5mg/kg) injetados intraperitonealmente. Com técnica microcirúrgica criou-se um defeito de cinco mm no nervo fibular de suas patas traseiras direitas. Os grupos foram divididos de acordo com o tratamento empregado para a correção dos defeitos da seguinte maneira: Grupo A: grupo-controle; interposição imediata de auto-enxerto de nervo fibular com reposicionamento do fragmento de nervo autógeno retirado e ressutura na orientação original com mononylon 10.0 (Figura 1).

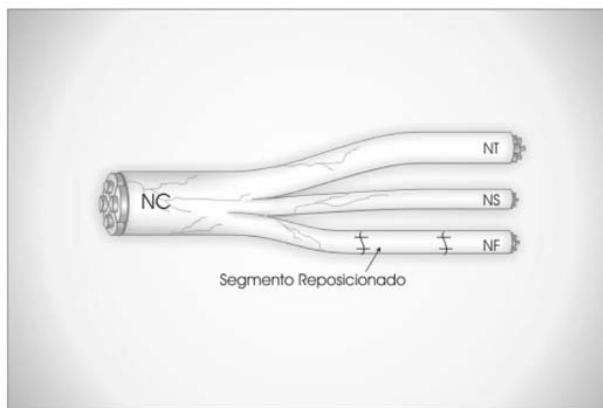


Figura 1 - Repositionamento do segmento de nervo autógeno, previamente retirado através de sutura com pontos simples usando fio monofilamentar de nylon 10.0. NC: nervo ciático, NF: nervo fibular, NS: nervo sural e NT: nervo tibial posterior.

Grupo B: Tubulação com veia autógena conservada em glicerol. Foi retirado previamente de cada animal, um segmento de 10 mm de veia jugular interna direita que foi conservada em glicerol a 98%, por sete dias consecutivos sob refrigeração a 4°C.

Após este período, cada veia foi hidratada por cerca de 30 minutos em solução fisiológica a temperatura ambiente e utilizada para a tubulação do nervo. O posicionamento foi a 2,5 mm de distância do coto proximal e do coto distal com um intervalo de 5mm entre eles.

Para a fixação do tubo de veia nos cotos proximal e distal do nervo, foram utilizados pontos de mononylon 10.0 em "u" entre o epineuro e a veia jugular (Figura 2).

Grupo C: Interposição de nervo alógeno previamente conservado em glicerol a 98% por sete dias consecutivos a 4°C. Estes nervos são provenientes da pata traseira direita de ratos Sprague-Dawley. Estes ratos com peso, sexo e idade semelhantes ao rato Wistar. A interposição do enxerto alógeno de nervo foi feita com técnica microcirúrgica semelhante à utilizada na auto-enxertia (Grupo A)

e com hidratação por cerca de 30 minutos em solução fisiológica a temperatura ambiente. O posicionamento do nervo alógeno foi feito de maneira semelhante ao método de auto-enxertia realizado no grupo A (Figura 3).

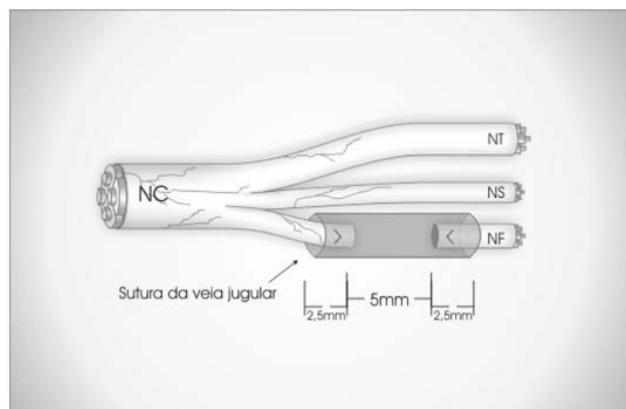


Figura 2 - Interposição de veia conservada em glicerol (grupo B), para tubulação de defeito de 5 mm em nervo fibular. Nota-se que o comprimento da veia é de 10 mm e que esta recobre 2,5 mm do coto proximal e 2,5 mm do coto distal, além da fixação em cada coto com pontos em "u".

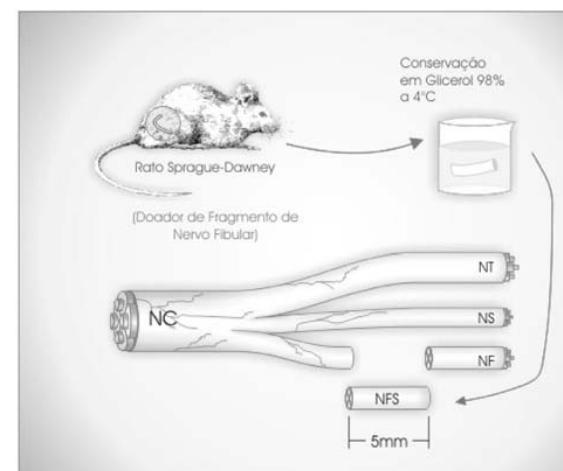


Figura 3 - Interposição de nervo alógeno conservado em glicerol (grupo C) para tratamento de defeito de 5 mm em nervo fibular de rato Wistar, após sua retirada em rato doador de espécie diferente (Sprague-Dawley) e conservação por sete dias em glicerol a 98% em refrigeração a 4°C. NC: nervo ciático, NFS: nervo fibular de rato doador, NS: nervo sural e NT: nervo tibial posterior.

Avaliação Funcional

Todos os animais foram submetidos à avaliação funcional pelo meio da técnica de análise dos padrões das pegadas das patas posteriores dos ratos ("Walking Track Analysis")^(16,17), nos períodos: pré-operatório, pós-operatório imediato, na terceira semana de pós-operatório e no momento do sacrifício (seis semanas). Mergulharam-se as patas traseiras dos animais em tinta azul, e foram colocados, um por um, para caminhar em um corredor sobre papel branco, de modo a deixarem suas pegadas impressas. Foram coletadas as distâncias das impressões entre o primeiro e quinto dedos (extensão dos dedos – ED) e o comprimento da pegada (CP)(Figura 4).

Esses dados foram colhidos para os cálculos dos índices de função do fibular (IFF) de cada animal, utilizando-se a fórmula proposta por Bain et al.⁽¹⁸⁾.

$$IFF = 174.9 \times [(CPO - CPN) \div CPN] + 80.3 \times [(EDO - EDN) \div EDN] - 13.4$$

onde:

CPO = comprimento da pegada da pata operada

CPN = comprimento da pegada da pata normal

EDO = extensão dos dedos da pata operada

EDN = extensão dos dedos da pata normal

sendo:

IFF = próximo a zero → função motora normal do nervo fibular

IFF = próximo a -100 → completa disfunção.



Figura 4 - Demonstra-se, na impressão da pata do rato, as medidas necessárias para quantificação do índice de função do nervo fibular(16,17).

Utilizando-se dos dados apresentados pelos grupos em relação ao IFF do pós-operatório e submetendo-os à análise estatística pelo método de variância com medida repetida e um fator (ANOVA), seguida de comparações múltiplas pelo método de Bonferroni, foi demonstrada a variação do IFF, em relação ao tempo de pós-operatório (15). Em seguida, sacrificados seis semanas após a cirurgia de correção do nervo fibular, para realização de histologia qualitativa.

Histologia Qualitativa

Para a análise histológica, padronizou-se a coleta de fragmento da porção média do segmento interpessoal, evitando-se, dessa forma, a área de sutura em ambos os grupos.

O material foi fixado em solução de glutaraldeído a 2% e em solução de tetróxido de ósmio a 1%, incluído em resina pura de peróxido de bezoila a 1% e hidroxietilmetacrilato. Realizaram-se cortes transversais de 2 micras de espessura, corados com azul de toluidina a 1%.

RESULTADOS

Durante as seis semanas do estudo, todos os animais mantiveram-se saudáveis, sendo mantidos em gaiolas separadas e com identificação individualizada e conforme grupo. Foram mantidos sob aquecimento e com água e ração "ad libitum" até total restabelecimento de suas funções vitais, não tendo sido observada infecção da ferida cirúrgica, nem a presença de úlceras plantares neuro-distróficas em nenhum momento até a data de seu sacrifício.

No momento do sacrifício, o Grupo A (auto-enxerto) demonstrava, macroscopicamente, enxertos intactos, sem neuromas visíveis nas

O Grupo B (veia autógena + glicerol) apresentou pouca aderência entre as veias e os tecidos adjacentes, com uma fina camada de tecido fibroso envolvendo externamente as veias. Não foram observados neuromas ou colabamento das veias. No grupo C (nervo alógeno + glicerol) também não se observaram neuromas e havia pouca aderência a tecidos adjacentes, de forma muito semelhante ao grupo A (auto-enxerto).

Análise Histológica

Na análise microscópica das lâminas do Grupo A (auto-enxerto) nota-se que o auto-enxerto conservou o epineuro, caracterizado pela presença de células fusiformes e uma bainha fibrosa delgada. No interior deste invólucro, é possível delimitar a presença de vasos sanguíneos em pequena quantidade.

Visualizaram-se pequenos fascículos contendo axônios mielinizados e de tamanhos variados. A degeneração walleriana está presente, mas em pequeno número de axônios. Evidencia-se também o escape de fibras axonais mielinizadas para fora dos limites do epineuro, em todos os 5 animais do grupo(Figura 5).

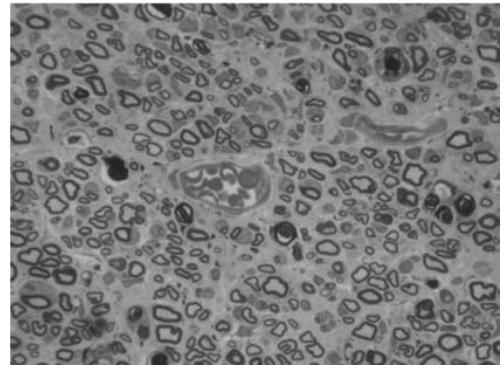


Figura 5 - GRUPO A (auto-enxerto). Minifascículos de axônios, em sua maioria mielinizados e de variados diâmetros. (400x).

Nos cinco animais do Grupo B (veia autógena+ glicerol), houve menor reação tecidual perineural e menor quantidade de escape axonal, quando comparada ao Grupo A (auto-enxerto). As veias conservadas em glicerol apresentaram sua estrutura preservada e facilmente distinguível do tecido neural. Nota-se uma grande quantidade de vasos neoformados em permeio aos fascículos formados pelos axônios neurais, esses, em sua grande maioria mielinizados, porém de diâmetro relativamente inferior e contendo menos axônios, em comparação aos fascículos do grupo A (auto-enxerto)(Figura 06).

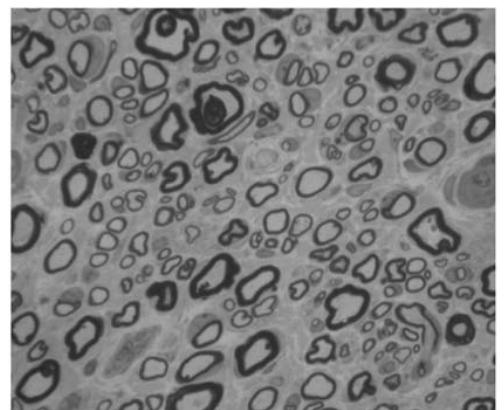


Figura 6 - Grupo B (Veia autógena + Glicerol): Demonstram-se minifascículos

No Grupo C (nervo alógeno + glicerol) os achados histológicos foram semelhantes aos encontrados no grupo B (veia autógena + glicerol). O aloenxerto conservou o seu epineuro, sendo possível a visualização de uma bainha fibrosa localmente. No interior desse invólucro, nota-se a presença de neoangiogênese, em pequena quantidade.

Os fascículos formados pelos agrupamentos de axônios eram pequenos, com poucas fibras axonais, em sua maioria mielinizadas e de diâmetros variados. A degeneração walleriana de fibras axonais estava presente, mas em pequena quantidade.

O escape de fibras axonais mielinizadas para fora dos limites do epineuro e a reação tecidual perineural foram de baixa intensidade e inferiores em relação ao grupo A (auto-enxertia) (Figura 7).

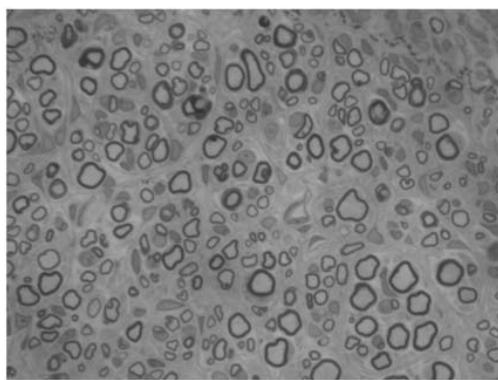


Figura 7 - Grupo C (nervo alógeno + glicerol): Disposição dos axônios em minifascículos, em grande parte, mielinizados e de variados diâmetros (400x).

Os valores médios dos IFF (índice de função do nervo fibular), no pré-operatório e no pós-operatório (imediato, 3 e 6 semanas), calculados para cada grupo estão apresentados na Tabela 1 e representados no Gráfico 1.

Grupo		Pré op	Pós op	3 semanas	6 semanas
Auto-enxerto	Média	-7,79	-88,96	-63,79	-24,51
	DP	0,23	8,01	6,59	10,79
	Mínimo	-8,10	-102,23	-74,60	-37,40
Veia Autógena + glicerol	Máximo	-7,57	-80,74	-57,13	-13,38
	Média	-6,30	-83,57	57,68	-27,36
	DP	2,42	9,08	12,75	11,43
Nervo Alógeno+ glicerol	Mínimo	-8,26	-95,79	-68,06	-40,73
	Máximo	-2,80	-73,50	-41,61	-11,57
	Média	-7,67	-96,04	-71,76	-34,36
	DP	2,87	7,50	7,24	14,48
	Mínimo	-11,41	-107,87	-80,24	-53,44
	Máximo	-3,34	-87,76	-64,36	-17,03

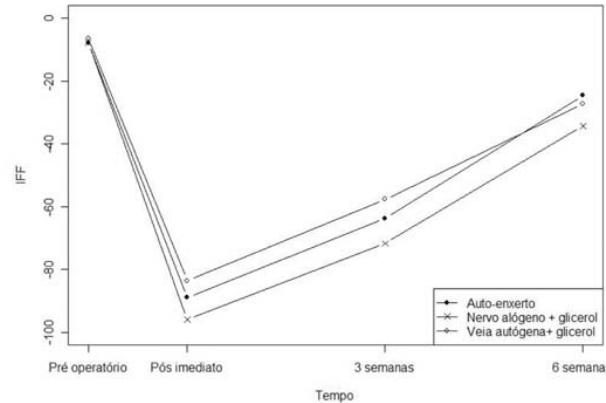


Gráfico 1 - Perfil médio da variável IFF em cada grupo durante o tempo de estudo, iniciado no pré-operatório e o seguimento no pós-operatório imediato, 3 e 6 semanas.

Análise Estatística

A análise estatística da recuperação funcional determinada pelo IFF (índice de função do nervo fibular) foi realizada pelo modelo de análise de variância com medidas repetidas (ANOVA) e pelo método de comparações múltiplas de Bonferroni ($p < 0,05$)⁽¹⁵⁾. A análise estatística não mostrou diferença significativa entre os três grupos em relação IFF no pré-operatório, no pós-operatório imediato, no pós-operatório de 3 semanas e no pós-operatório de 6 semanas.

DISCUSSÃO

A auto-enxertia de nervo é o tratamento cirúrgico de escolha para os casos de lesões de nervos que acometam um segmento maior do que aquele onde seja possível realizar reaproximação simples e rafia, com fio microcirúrgico⁽¹⁶⁾. Porém a procura por novas técnicas que substituam a enxertia de nervo para tratamento de grandes perdas de tecido neural, sem os danos causados à área doadora, a perda de tempo cirúrgico e a melhora dos resultados funcionais tornam-se, cada vez mais, uma tendência na literatura sobre regeneração neural. Uma dessas possibilidades é a utilização de nervos alógenos preservados em glicerol realizado nesse trabalho.

É importante ressaltar que o método de tubulação nos grupos B (veia autógena conservada em glicerol)⁽⁹⁾ e C (aloenxerto de nervo conservado em glicerol) apresentaria algumas vantagens em relação à auto-enxertia: ausência de seqüela neural da área doadora, menor tempo cirúrgico e a possibilidade de grandes áreas doadoras, na correção de grandes perdas de tecido neural. Já a utilização de enxertos alógenos pode ser considerada como uma alternativa de reconstrução quando há, sobretudo, uma grande perda de tecido neural⁽¹⁸⁾.

O principal motivo para o insucesso desse procedimento seria o alto grau de antigenicidade produzido, sendo necessária a utilização de imunossupressores, sob o risco de forte rejeição local, com a suspensão precoce deles^(12,18).

Na avaliação dos resultados histológicos, o grupo A (auto-enxertia) demonstrou a presença de escapes axonais, demonstrando que, apesar da presença do epineuro e dos fatores neurotróficos locais, estes não foram capazes de dirigir todas as fibras axonais em crescimento para o órgão-alvo.

Na análise histológica do Grupo B (veia autógena conservada em glicerol), foi observada uma menor reação tecidual perineural em relação ao grupo A (auto-enxertia). Esse fato, provavelmente, está relacionado à conservação em glicerol, que destruiu as células da camada íntima da veia, bem como as células musculares da cama

Houve, também, no grupo B (veia autógena conservada em glicerol), um menor escape de axônios para fora dos limites da veia, devido, provavelmente, ao fato de o arcabouço da veia, rica em colágeno e laminina guiar melhor o crescimento axonal à extremidade distal do nervo lesado⁽⁹⁾. Outro aspecto que pode ter contribuído é o fato de que a tubulização elimina a necessidade de sutura entre os cotos do nervo, determinando uma menor reação inflamatória local^(1,2,18).

No grupo B (veia autógena conservada em glicerol), demonstrou-se a presença de minifascículos neurais, em sua grande maioria, mielinizados e degeneração walleriana em pequena quantidade, conforme relatos prévios na literatura científica^(9,13).

O Grupo C (nervo alógeno conservado em glicerol) apontou uma baixa resposta inflamatória, caracterizada por uma reação perineural de baixa intensidade e menor, se comparada ao grupo A (auto-enxertia). Também demonstrou axônios, em sua maioria mielinizados, dispostos em minifascículos, fibras neurais com grande variação de diâmetros permeados por vasos sanguíneos e degeneração walleriana.

Foi observada uma menor quantidade de escapes para além dos limites do nervo, se comparada ao Grupo A (auto-enxertia) e semelhante ao grupo B (veia autógena conservada em glicerol). As explicações para esses fatos devem-se às mesmas razões que as já discutidas no Grupo B.

Os dados da média do IFF do pós-operatório imediato dos três grupos foram submetidos à análise estatística e não se determinou diferença significativa entre os grupos. Essa ausência de diferença indica que, de maneira semelhante, todos os ratos tiveram o mesmo tipo de lesão neural (através da ressecção de 5mm de nervo) e possibilita a comparação da recuperação funcional entre os grupos.

Com 3 e 6 semanas de pós-operatório não houve diferença estatisticamente significativa do IFF entre os 3 grupos analisados. Então, independente do método utilizado para o tratamento do defeito do nervo, não houve diferença estatística na recuperação funcional dos animais, em nenhum período avaliado.

É importante frisar que, com esses dados, fica plausível dizer que o glicerol diminuiu de tal sorte a antigenicidade do aloenxerto que permitiu resultados semelhantes ao da veia autógena e da própria auto-enxertia.

CONCLUSÕES

Com base na análise histológica e na avaliação funcional da regeneração neural obtida para a correção de defeitos de 5 mm em nervos fibulares de ratos Wistar, em cada um dos grupos estudados: Grupo A (auto-enxertia de nervo), Grupo B (veia autógena conservada em glicerol) e Grupo C (nervo alógeno conservado em glicerol), pode-se concluir a partir da análise histológica que em todos os grupos observaram-se pequenos fascículos contendo axônios mielinizados e de tamanhos variados, e degeneração walleriana em pequeno número de axônios.

Nos grupos B (veia autógena conservada em glicerol) e C (nervo alógeno conservado em glicerol), o escape de fibras axonais mielinizadas, para fora dos limites do epineuro, foi menor que o do grupo A (auto-enxertia). Nos grupos B (veia autógena conservada em glicerol) e C (nervo alógeno conservado em glicerol) houve a formação de um processo inflamatório menos intenso, quando comparado ao grupo A (auto-enxertia).

Quanto à avaliação funcional, podemos concluir que não houve diferença estatisticamente significativa entre as recuperações funcionais do nervo fibular, independente do tipo de reparação utilizada: auto-enxertia, veia autógena conservada em glicerol e nervo alógeno conservado em glicerol.

REFERÊNCIAS

- Terzis J, Faibisoff B, Williams B. The nerve gap: suture under tension vs. graft. *Plast Reconstr Surg.* 1975; 56:166-70.
- Brunelli GA, Vigasio A, Brunelli GR. Different conduits in peripheral nerve surgery. *Microsurgery.* 1994; 15:176-8.
- Staniforth P, Fisher TR. The effects of sural nerve excision in autogenous nerve grafting. *Hand.* 1978; 10:187-90.
- Rappaport WD, Valente J, Hunter GC, Rance NE, Lick S, Lewis T, et al. Clinical utilization and complications of sural nerve biopsy. *Am J Surg.* 1993; 166:252-56.
- Ortiguela ME, Wood MB, Cahill DR. Anatomy of the sural nerve complex. *J Hand Surg Am.* 1987; 12:19-23.
- Ijpm FF, Nicolai JP, Mecik MF. Sural nerve donor-site morbidity: thirty-four years of follow-up. *Ann Plast Surg.* 2006; 57:391-5.
- Cunha AS, Lemos SPS, Silva CFS, Barros Filho TEP, Costa MP, Ferreira MC. Utilização da veia gliceralada na regeneração neural: estudo experimental em ratos. *Acta Ortop Bras.* 2007; 15: 210-213.
- Costa MP. Tubo de ác. poliglicólico e Fr506 na regeneração de nervos periféricos [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2001.
- Costa MP, Cunha AS, Silva CF, Barros Filho TEP, Ferreira MC. A utilização do tubo de ácido poliglicólico e FK506 na regeneração de nervos periféricos. *Acta Ortop Bras.* 2007; 15: 210-213.
- Costa MP. Emprego do tubo de ác. poliglicólico como substituto de enxerto de nervo: estudo experimental em ratos [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 1998.
- Mackinnon SE, Dellon AL. *Surgery of the peripheral nerve.* New York: Thieme Publishing; 1988. p.121.
- Sunderland S. *Nerves and nerve injuries.* New York: Churchill Livingstone. 1978.
- Wolff KD, Dienemann D. Vessel preservation with glycerol: an experimental study in rats. *J Oral Maxillofac Surg.* 1990; 48:914-8.
- Wolff KD, Walter G, Zimmer C. Nerve reconstruction with glycerol-preserved allogenic grafts in the rat. *Microsurgery.* 1993; 14: 315-22.
- Winer BJ. *Statistical principles in experimental design.* 2nd. Tokyo: McGraw-Hill; 1971.
- Bain JR, Mackinnon SE, Hunter DA. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial lesions in the rat. *Plast Reconstr Surg.* 1989; 83:129-36.
- De Medinaceli L, Freed WJ, Wyatt RJ. An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. *Exp Neurol.* 1982; 77: 469-87.
- Millesi H. Progress in peripheral nerve reconstruction. *World J Surg.* 1990;