
Fabrício Chies Barcelos

Histologia comparativa das alterações medulares provocadas pela reparação da dura-máter em ratos

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para obtenção de
título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Ortopedia e Traumatologia

Orientador: Dr. Reginaldo Perilo Oliveira

São Paulo
2009

*À minha mãe, Marlene Jeresa Chies
Barcelos e minha família, pelo amor e pelas
oportunidades que me propiciaram.*

*À Graziela Cerqueira Gómez pelo seu amor,
apoio, compreensão e incentivo.*

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta dissertação de mestrado está de acordo com as seguintes normas e documentos:

Terminologia anatômica em português conforme *Sociedade Brasileira de Anatomia. Terminologia anatômica: terminologia anatômica internacional. São Paulo (Brasil): Editora Manole Ltda; 2001.* (Terminologia anatômica internacional da Comissão Federativa da Terminologia Anatômica – CFTA aprovada em 1998 e traduzida e publicada pela Comissão de Terminologia Anatômica da Sociedade Brasileira de Anatomia – CTA-SBA em 2001).

Formatação e apresentação conforme *Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. 2^a ed. São Paulo (Brasil): Serviço de Biblioteca e Documentação – SBD/FMUSP; 2005.*

Terminologia e definições estatísticas conforme Associação Brasileira de Normas Técnicas, Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial, Sociedade Brasileira de Metrologia, Programa RH-Metrologia. Guia para expressão da incerteza de medição: segunda edição

brasileira do “*Guide to the expression of uncertainty in measurements*”. 2ª ed. Rio de Janeiro (Brasil): ABNT, INMETRO, SBM; 1998. (Edição revisada em agosto de 1998 da primeira edição em português de 1997 da versão em inglês de 1993, corrigida e republicada em 1995 do ISO/IEC Guide 98: 1995. Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM)).

Apresentação de tabelas e gráficos estatísticos conforme *Lang TA, Secic M. How to report statistics in medicine: annotated guideline for authors, editors, and reviewers. 2nd ed. Philadelphia: American College of Physicians, 2006. e. Governo do Estado do Paraná. Normas para apresentação gráfica de dados: tabelas. Curitiba (Brasil): Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social; 1995.*

As abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of journals indexed in Index Medicus (1992)* e *LILACS - Literatura Latino-americana e do Caribe em Ciências da Saúde (1995)*.

Referências segundo o *International Committee of Medical Journal Editors [http://www.icmje.org/faq.pdf]. Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication [acessado em 19 de dezembro de 2008] Obtido de: <http://www.ICMJE.org>. (“Vancouver” - versão atualizada em novembro de 2008).*

AGRADECIMENTOS

Aos Professores Doutores Tarcísio Eloy Pessoa de Barros Filho, Arnaldo Valdir Zumioti e Olavo Pires de Camargo, pela oportunidade da realização deste projeto.

Ao Dr. Reginaldo Perilo Oliveira, especial agradecimento e homenagem por seus ensinamentos, sua amizade, enriquecimento profissional e orientação neste trabalho.

Ao Dr. Paulo Eduardo de Carvalho Galvão, pela sua amizade, sua imensurável capacidade intelectual, pelos ensinamentos sobre as enfermidades da coluna vertebral e pelo estímulo para exercer a especialidade e para realizar a pós-graduação.

À Dra. Cláudia Regina G.C.M. de Oliveira, pela participação efetiva neste trabalho.

Ao Dr. Almir Fernando Barbarini, pelo incentivo, sugestão e amizade.

Ao Dr. Diogo Rath F. Barbosa por suas opiniões e sugestões.

Aos Srs. Carlos Fernando Saito e Sérgio Antonio Barbosa do Nascimento,
pelo auxílio nos exames anatomopatológicos.

Ao Engenheiro Tomaz Puga Leivas, por sua presença e pelo seu auxílio
efetivo na análise dos dados para elaboração deste trabalho.

A Sra. Lucia Maria Evangelista Ferraz, pelo auxílio nas análises e correções
deste projeto, de importância vital.

Ao Sr. Gustavo Bispo dos Santos, pela ajuda, apoio, participação e
incansável disposição na ativa realização desse trabalho.

A Sra. Veroneide de Andrade Folha, pela ajuda no cuidado dos animais.

SUMÁRIO

RESUMO

SUMMARY

1.	INTRODUÇÃO.....	01
2.	OBJETIVOS.....	07
3.	REVISÃO DA LITERATURA.....	09
4.	MÉTODOS.....	35
	Modelo Experimental de Lesão Medular.....	37
	Análise Estatística.....	48
5.	RESULTADOS.....	52
6.	DISCUSSÃO.....	62
7.	CONCLUSÕES.....	82
8.	REFERÊNCIAS.....	84

RESUMO

Barcelos FC. *Histologia comparativa das alterações medulares provocadas pela reparação da dura-máter em ratos* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2009. 91p.

A durotomia accidental, na cirurgia da coluna lombar, é uma das mais comuns complicações, com uma prevalência de 1 a 17%. As fraturas da coluna também podem apresentar-se com lesão dural, chegando a 19% nas fraturas tipo explosão da coluna torácica ou lombar com lesão associada da lâmina vertebral. Procurou-se avaliar as alterações medulares que ocorreram após a reparação de lesão dural com pontos do tipo simples, com cola de fibrina e com colágeno bovino, através de análise histológica. Mantive-se um grupo controle, sem reparação. Utilizaram-se 70 ratos da raça Wistar, sendo que 34 foram excluídos por problemas anestésicos ou intra-operatórios. Mantiveram-se nove ratos por grupo. Abordaram-se os segmentos vertebrais T8 e T9, para efetuar a lesão, que foi reparada pelos três diferentes métodos avaliados. Os animais permaneceram confinados por 24 dias, sendo submetidos à eutanásia com a coleta de material para análise histológica. O Serviço de Patologia avaliou e graduou (ausente, discreto, moderado e acentuado) os casos quanto à hiperemia, degeneração medular, necrose e infiltrado celular. De forma geral, as técnicas de reparo apresentaram resultados com maior grau de alteração, principalmente em relação ao infiltrado celular, onde todas as técnicas mostraram resultados bem piores. A sutura apresentou graus mais severos de necrose, hiperemia e infiltrado celular. A membrana de colágeno apresentou resultados com graus mais elevados de alteração em relação à hiperemia, à degeneração da substância nervosa e ao infiltrado celular. A reparação com cola de fibrina apresentou piora em relação ao grau de necrose e de infiltrado celular. A presença de alterações medulares em todos os grupos, até mesmo no grupo controle, levou a cogitar algumas possíveis causas para os resultados: as alterações medulares seriam geradas pela técnica cirúrgica ocorrendo uma lesão iatrogênica medular, mas sem repercussão clínica; os materiais estudados poderiam causar alterações no tecido neural; o simples contato do tecido neural com o meio extra-dural, após a lesão, seria a causa das alterações levando à mesma cascata de alterações que ocorre nas lesões medulares traumáticas. Apesar de todos os grupos apresentarem alterações medulares, ficou evidente que as de maior intensidade ocorreram nos grupos que utilizaram materiais de fechamento dural. Os métodos de reparação dural ainda não são os ideais, mas existe o consenso que a lesão deve ser reparada sempre na forma aguda, a fim de evitar e prevenir complicações e seqüelas.

Descritores: Dura-máter; Lesões; Reparação; Colágeno; Fibrina; Suturas

SUMMARY

Barcelos FC. *Comparative histological analysis of spinal cord alterations caused by dura mater repairing in Wistar rats* [dissertation]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2009. 91p.

This study aimed to evaluate spinal cord alterations after dural repair with: simple interrupted suture, collagen membrane or fibrin glue using histopathological analysis. All activities were performed in the São Paulo University Medical School General Hospital Traumatology and Orthopedic Division. Seventy Wistar rats were used, but 34 were excluded due to anesthetic or surgery problems. Animals were kept isolated for 24 days, then killed and histological samples collected. Pathology Division assessed and graduated hyperemia, spinal cord degeneration, necrosis and cellular infiltration. Repair techniques provided higher alteration, mostly in cellular infiltration. Suture showed more severe necrosis, hyperemia and cellular infiltrates graduations. Collagen membrane provided higher alterations related to hyperemia, nerve degeneration and cellular infiltrates. Fibrin glue reparation had worse results in necrosis and cellular infiltrates graduation. Spine cord alterations in all groups, including control group, made us suppose possible reasons for the results: spine cord changes would be caused by surgical technique as iatrogenic injury, without clinical meaning; studied material would cause alterations in neural tissue; contact of neural tissue with extra dural environment, after injury, leading to the same mechanisms present in spinal cord traumatic injury. Despite all groups showed spinal cord alterations it was clear a higher intensity of injury when dural closing material were used. There is no ideal choice for dural repair material and more research is warranted to find better form of repairing dura mater.

Descriptors: Dura mater; Injury; Repair; Collagen; Fibrin; Suture.

1 INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A durotomia acidental, na cirurgia da coluna lombar, é uma das complicações mais comuns **(Wang et al., 1998; Cain et al., 1988)**. A lesão dural tem como causa mais freqüente o traumatismo, seja de forma direta, por lesão iatrogênica, com uma prevalência de 1 a 17% **(Wang et al., 1998)**, ou indireta, por lesão secundária a fratura da coluna lombar **(Wang et al., 1998; Cain et al., 1988; Bosacco et al., 2001; Carl et al., 2000; Audili et al., 2001; Cammisa et al., 1989; Carl et al., 2000)**. As lesões durais relacionadas com as fraturas da coluna apresentam prevalência de 19% nas fraturas explosivas da coluna, torácica ou lombar, com lesão associada da lâmina vertebral **(Carl et al., 2000; Audili et al., 2001)**.

A quantidade e a complexidade dos procedimentos cirúrgicos tem aumentado, levando a um aumento do número de lesões durais **(Bosacco et al., 2001; Morris e Marshall, 1999)**. São mais freqüentes em procedimentos de revisão **(Wang et al., 1998; Bosacco et al., 2001; Morris e Marshall, 1999)**. Outros fatores que aumentam a incidência da lesão são: a falta de atenção aos princípios das cirurgias modernas, a inexperiência dos cirurgiões e a pressa para finalizar o procedimento cirúrgico **(Morris e Marshall, 1999)**.

O aumento na frequência das laminectomias lombares nas doenças dos discos intervertebrais é apontado como a causa mais comum de lesão dural nos Estados Unidos e ocorre, geralmente, no momento da abertura do ligamento amarelo **(Morris e Marshall, 1999)**.

A maioria das lesões da dura-máter são detectadas no intra-operatório, mas em 0,28% das cirurgias da coluna vertebral **(Cammisa et al., 2000)** podem não ser identificadas.

Algumas lesões que afetam apenas a dura-máter, sem atingir a aracnóide, podem não ser reconhecidas no ato cirúrgico por não provocarem vazamento liquórico, entretanto podem levar à ruptura sob pequenos esforços no pós-operatório **(Bosacco et al., 2001)**. Quando a lesão dural é reconhecida e prontamente reparada durante a cirurgia não ocorre o aumento da morbidade peri-operatória ou alteração no resultado final **(Wang et al., 1998; Bosacco et al., 2001; Nakamura et al., 2005)**.

As lesões durais são tratadas com sucesso através do reparo primário seguido de repouso no leito em decúbito dorsal **(Wang et al., 1998; Bosacco et al., 2001; Carl et al., 2000; Nakamura et al., 2005)**.

Várias formas de reparo são utilizadas: sutura com pontos separados **(Wang et al., 1998; Cain et al., 1988; Audili et al., 2001)**, sutura com pontos contínuos **(Cain et al., 1988; Bosacco et al., 2001)**, enxerto

autólogos de fáscia (**Bosacco et al., 2001**), cola de fibrina, matriz de colágeno bovino (**Hag et al., 2005**) e dura-máter liofilizada de cadáveres humanos, nesta última, entretanto existe a desvantagem do risco de transmissão de doenças infecciosas (**Hoffman et al., 1985; Tamaki et al., 1988**).

Atualmente, utilizam-se muitos materiais no reparo da lesão dural, incluindo gordura autóloga, fáscia lata, dura-máter liofilizada e materiais sintéticos (**Abbott e Dupree, 1971; Cantore e Guidetti, 1987; Collins et al., 1991; Keller et al., 1978; Maurer e McDonald, 1985**). Tecidos autólogos levam à mínima resposta inflamatória (**Maurer e McDonald, 1985**), no entanto estes materiais podem não ser a alternativa ideal para todos os tipos de reparação de lesão dural. Nas cirurgias de reparo de defeitos da dura-máter, principalmente nos casos de mielomeningoceles, a prevenção da adesão pós-operatória é um aspecto importante (**Hoffman et al., 1985; Tamaki et al., 1988**).

Muitos estudos sobre substitutos derais são direcionados ao lado cranial da medula, porém estudos experimentais sobre a duroplastia espinhal são poucos (**Maurer e McDonald, 1985; Keller et al., 1984**).

O primeiro relato da utilização de cola de fibrina para a anastomose de nervos periféricos em ratos é feita por **Matras et al. (1972)**, no qual utiliza volumes iguais de trombina e de solução de crioprecipitado, rico em fatores

de coagulação. Quando esses dois líquidos são colocados em contato, forma-se um gel com fortes propriedades adesivas **(Morris e Marshall, 1999)**. Seu uso mostra bons resultados quando associado ao reparo primário. Utiliza-se, de preferência, fibrina autóloga devido ao risco de transmissão infecciosa das fibrinas heterólogas **(Wang et al., 1998; Cain et al., 1988; Bosacco et al., 2001; Nakamura et al., 2005)**.

A matriz de colágeno bovino é um produto desenvolvido recentemente, constituída de colágeno tipo I bovino, semelhante ao humano, e atua como um arcabouço quimiotático para fibroblastos. Esta reação tem início entre o terceiro e quarto dias e final em torno do 14^o dia **(Narotam et al., 2003)**. Já a reação fibrótica ocorre no intervalo de três a oito semanas **(Akeson et al., 2005)**. O reparo de lesão da dura-máter com a utilização de matriz de colágeno bovino é um método recente, com poucos estudos no mundo, e necessita ser comparado com os métodos tradicionais e com as novas alternativas defendidas por vários outros pesquisadores.

O reparo dural aumenta de 20 a 30 minutos o tempo total da cirurgia da coluna **(Wang et al., 1998)**. A técnica de reparo adequada deve ser rápida e de fácil aplicação **(Bosacco et al., 2001)**. As lesões na região anterior ou lateral podem dificultar o reparo simples e obrigar o uso de outros tipos de técnicas **(Bosacco et al., 2001; Carl et al., 2000)**. A associação de métodos é preconizada por alguns pesquisadores **(Wang et al., 1998; Cain et al., 1988; Bosacco et al., 2001)**.

As seqüelas da lesão da dura-máter são de alto custo econômico e social **(Galvão, 2003)**. As mais freqüentes são as fístulas liquóricas, a aracnoidite, a meningite, o pseudocisto meningeal e o aprisionamento da raiz nervosa em lesões persistentes **(Wang et al., 1998; Cain et al., 1988; Bosacco et al., 2001; Nakamura et al., 2005)**. O risco da meningite ou da aracnoidite parece ser baixo **(Wang et al., 1998; Cain et al., 1988)**. A meningite pode desenvolver-se em decorrência da persistência de lesão dural e fístula cutânea **(Wang et al., 1998; Bosacco et al., 2001)**. A mortalidade e morbidade são baixas em pacientes jovens e em procedimentos de hérnia discal, porém em pacientes idosos e naqueles com procedimentos de estenose espinhal, doença degenerativa e reoperações há relatos de mortalidade em torno de 1% **(Bosacco et al., 2001)**.

Há grande dificuldade em comparar os diferentes tipos de tratamento da lesão dural, uma vez que existem poucos estudos na área e que os mesmos são baseados em pequeno número de pacientes **(Wang et al., 1998)**.

Não existe consenso, entre os pesquisadores, sobre os melhores métodos de tratamento e nem sobre os novos materiais que estão surgindo para sua reparação. Não existem, também, estudos experimentais suficientes.

2 OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

Procurou-se avaliar e comparar as alterações medulares decorrentes da lesão dural sem reparação (controle) e da reparação da dura-máter com o emprego da sutura simples, da membrana de colágeno bovino e da cola de fibrina em ratos submetidos à lesão experimental ao nível torácico, através de análise histológica.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3. REVISÃO DA LITERATURA

Abbott et al. (1971) apresentam um estudo retrospectivo com 170 pacientes submetidos à reparação dural com dura-máter de cadáveres, entre janeiro de 1953 e fevereiro de 1968. A dura-máter foi obtida de cadáveres do The National Naval Medical Center in Bethesda (Maryland), mantidas inicialmente sob 70 graus Celsius negativos e, após liberação, liofilizada e armazenada a vácuo. Os pacientes formam três grupos conforme o tipo de cirurgia: casos sem contaminação (ressecções tumorais); casos com potencial contaminação (traumatismo aberto e fístula cerebrospinal) e casos contaminados (abscesso cerebral). O sucesso no tratamento ocorre em 98% dos casos, 100% no grupo submetido à cirurgias sem contaminação, 95% no grupo submetido à cirurgias potencialmente contaminadas e 75% no grupo submetido à cirurgias contaminadas. Apenas um caso é reoperado devido fístula líquórica. Nos casos de fechamento de defeito líquórico prévio, ocorrem duas (8%) complicações. Em 13 casos submetidos à avaliação “post-mortem”, encontram mínima reação inflamatória no local da reparação, a qual é normalmente absorvida. Afirmam que não é possível responsabilizar a dura-máter liofilizada pelos casos de infecção, independente do método de esterilização.

Matras et al. (1972) realizam um dos primeiros estudos para a utilização cirúrgica da cola de fibrina. Utilizam um alto concentrado de fibrinogênio humano em combinação com trombina bovina para obter um efeito adesivo na anastomose de nervos periféricos em ratos.

La Rocca et al. (1974) publicam o primeiro trabalho de fibrose peridural pós-operatória após laminectomia em cães. Realizam laminectomia lombar simples com intervenção no anulo e forâmen intervertebral em 18 cães. Os cães são sacrificados aos três, sete, 21, 42, 63 e 140 dias após a cirurgia. A análise histopatológica é feita em cortes transversos. No final da primeira semana, observa-se atividade fibroblástica na extensão do hematoma pós-operatório. Todos os casos apresentam fibrose e a extensão da fibrose é proporcional ao tamanho da laminectomia.

Keller et al. (1978) realizam estudo experimental em 20 cães, com peso variando entre 10 e 15 kg. Realizam uma laminectomia em três níveis lombares não contínuos com dimensão de 1,5x1,0cm. No nível superior, colocam tecido adiposo sobre o defeito, no intermediário, aplicam Gelfoan® e no inferior, como controle, não utilizam substituto. Sacrificam quatro animais na terceira, sexta, 12^a, 18^a e 24^a semana de pós-operatório. A laminectomia com interposição de tecido adiposo não apresenta compressão neural. Tecido cicatricial é visto em todos os casos, mas o menor volume ocorre nos locais nos quais se aplicam os tecidos adiposos. Reportam intensa formação de tecido de cicatrização em 10 (50%) casos do grupo controle e em 17

(85%) do grupo Gelfoan[®]. No grupo com tecido adiposo não aparece resposta inflamatória ou necrose e a cicatrização evolui até a lâmina vertebral em 15 (75%) casos. A formação do tecido cicatricial ocorre até a terceira semana e na sexta, 12^a, 18^a e 24^a semana de pós-operatório apenas ocorre o amadurecimento cicatricial.

Keller et al. (1984) apresentam outro estudo experimental comparativo de três técnicas de reparação dural em 19 cães com peso entre 10 e 15 kg. Realizam laminectomia em três níveis não contínuos com microscópio cirúrgico. Fazem excisões elípticas na dura-máter com dimensão de 1,0x0,5cm e reparam-nas com técnicas diferentes em cada nível: tecido adiposo autólogo, Dura Film[®] (filme de Dacron[®] com revestimento de silicone) e Mersilene[®] (fibra de poliéster). Todos os materiais são suturados com Vycril[®] 4-0. Sacrificam cinco animais com três, seis e 12 semanas de pós-operatório e quatro animais com 24 semanas. As excisões da dura-máter são adequadamente fechadas em todos os casos. Após três semanas, forma-se uma neomembrana dural, independente do material. Em um animal do grupo Mersilene[®], a cicatriz de fechamento sobrepõe as estruturas neurais. Não se verificam diferenças quanto à cicatrização entre três e 24 semanas. Não há sinais de aracnoidite. No grupo que utiliza Dura Film[®], ocorre conexão total dos tecidos, mas com larga protusão ventral na face reparada da dura-máter, distorcendo o formato da mesma em 74% dos casos.

Hoffman et al. (1985) avaliam, retrospectivamente, 97 pacientes portadores de lipomielomeningocele operados entre janeiro de 1960 e dezembro de 1982. Excluem os pacientes com lipoma intra-espinhal sem defeito dural e aqueles com lipoma subcutâneo sem acometimento medular. Propõem uma classificação para as seqüelas neurológicas. Para a avaliação, os pacientes são agrupados conforme a idade e adequação do tratamento. Dos 97 pacientes, 62 recebem um tratamento inicial adequado, dos quais 34 pacientes realizam o tratamento cirúrgico na idade abaixo de 6 meses e 28 pacientes não realizam a cirurgia na idade adequada (6 meses ou mais velhos). Vinte e quatro não recebem tratamento adequado e necessitam reparação e 11 pacientes recebem tratamento inicial inadequado e submetem-se às reparações posteriores. Afirmam que quando os pacientes são tratados com idade abaixo de 6 meses, as complicações neurológicas e a necessidade de novo procedimento cirúrgico é menor que nos casos cuja cirurgia ocorre além dos 6 meses de idade. Na tenra infância, o déficit neurológico se reverte. A capacidade de reversão de déficits neurológicos se reduz com o aumento da idade.

Maurer et al. (1985) apresentam um estudo experimental em 12 cães adultos, submetidos à reparação dural com Vicryl® (Polyglactin 910). Não utilizam antibióticos e esteróides. Produzem, cirurgicamente, uma janela de 3cm de diâmetro no osso temporal. A dura-máter foi retirada e re-suturada em cinco cães, aplicam Gelfoan® sobre o defeito em dois cães e a fáscia temporal em outros dois cães. Os cães são sacrificados a partir do primeiro

mês até o 14º mês. No primeiro mês, não se observam adesões, forma-se uma neomembrana. No 45º dia, constatam adesão entre a sutura e o sistema nervoso central. No 12º mês e no 14º mês, confirmam uma neomembrana sem adesões. O exame histopatológico, com hematoxilina e eosina, mostra que o Gelfoan® gera inflamação elevada e que a fáscia temporal, uma resposta inflamatória moderada.

Cantore et al. (1987) publicam artigo no qual avaliam 11.373 neurocirurgias realizadas entre janeiro de 1967 e dezembro de 1984. Referem a utilização da dura-máter humana esterilizada com raios gama e conservada em álcool em 804 (7,7%) casos. Informam que o primeiro relato de uso do método foi em 1958 e que nenhum caso de rejeição foi reportado na literatura. Dos 804 casos nos quais se utilizam dura-máter de cadáver, não se observam complicações em 755 casos (93,9%), em 50 casos (6,2%) ocorrem infecções, dos quais infecção tardia em 28 (3,5%) e meningite em 22 (2,7%). Essas complicações ocorrem principalmente nos casos de cirurgias de traumatismo cranial, de fístulas fluidas cérebro-espinhais e de tumores da base cranial. Apontam como vantagens, a diversidade de tamanhos, o método de esterilização, a diminuição dos custos, que consideram acessível, e a possibilidade de utilização do material que sobra, após re-esterilização pelo mesmo método.

Cain et al. (1988) realizam estudo experimental comparativo “in vitro” e “in vivo” para comparar a resistência proporcionada por diferentes técnicas

de fechamento dural. O estudo “in vitro” utiliza segmentos de dura-máter “fresca” obtidos do sistema nervoso central de cadáveres (doações). Preparam-se segmentos quadrangulares de 5x5cm e realizam uma incisão longitudinal de 4mm no centro. A incisão é reparada com as oito técnicas diferentes: pontos isolados simples (separados), pontos contínuos ancorados, pontos isolados simples (separados) reforçados com cola de fibrina, pontos isolados simples (separados) reforçados com adesivo a base de polímero de cianocrilato, pontos contínuos ancorados reforçados com cola de fibrina e pontos contínuos ancorados reforçados com adesivo a base de polímero de cianocrilato, colagem centralizada de uma membrana com 8mm de diâmetro com fibrina e colagem centralizada de uma membrana com 8mm de diâmetro com polímero de cianoacrilato. As suturas, com 1mm de distância entre pontos, são feitas com monofilamento de poliamida (Nylon®) e lupa com magnificação da imagem de 4,5 vezes. Os segmentos são fixados na abertura de uma câmara preenchida por fluído que possibilita o aumento progressivo da pressão, munida de transdutor digital e monitor para o controle da pressão no momento da ocorrência de vazamento de fluído no sítio reparado. Os segmentos de dura-máter humana reparados constituem os corpos de provas para o ensaio de pressão. O estudo “in vivo” é realizado em 36 coelhos Nova Zelândia submetidos à craniotomia bilateral de 2x3cm, no sentido para-sagital, e uma incisão na dura-máter de 3mm. As lesões são reparadas com os seguintes métodos: pontos isolados simples (separados), pontos isolados simples reforçados com cola de fibrina, pontos isolados simples reforçados com cola a base de polímero de cianocrilato e

cola de fibrina. Os pontos são executados com monofilamento de poliamida 6-0 (Nylon[®]). No estudo “in vitro”, os melhores resultados são da sutura com pontos contínuos ancorados associados com cola a base de polímero de cianocrilato cuja pressão média atinge 290,5mmHg e, em seguida, os pontos isolados simples associados com cianocrilato com pressão de 240mmHg. O pior resultado é o do grupo com pontos isolados simples, 10,8mmHg. No estudo “in vivo”, a cola de fibrina apresenta a menor resposta inflamatória. Nas suturas com associação da cola a base de polímero de cianocrilato, ocorre intensa resposta inflamatória e necrose na porção cortical do sistema nervoso central logo abaixo da reparação. Caracteriza toxicidade tecidual e impossibilita seu uso como biomaterial.

Tamaki et al. (1988) revisam 60 casos de mielomeningocele reparados. Realiza-se controle pós-operatório com ressonância magnética em 29 destes. Os casos são distribuídos em dois grupos. O grupo A é formado com oito pacientes submetidos a tratamento da síndrome neural e o grupo B com 21 pacientes que não desenvolvem síndrome neural tardia. Dos 60 pacientes, nove (15%) apresentam deterioração neural tardia, todos estes com presença de espinha bífida e três com escoliose. Todos os pacientes estudados apresentam cone medular baixo, dois casos terminando em L5, seis casos em S1 e um caso em S3. Sete pacientes são operados com “release”, quatro tem lipoma associado e em outros dois, o filum terminale. Após a cirurgia, quatro pacientes sofrem com dor nas costas e nos membros inferiores. A ressonância magnética demonstra potencial

adesão no lado da reparação da mielomeningocele nos 29 pacientes avaliados, com implantação baixa do cone medular.

Cammisa et al. (1989) publicam um estudo retrospectivo referente a 60 pacientes, 47 homens e 17 mulheres, com idade média de 34 anos, submetidos a cirurgias para tratamento de fraturas explosivas dos corpos vertebrais da coluna dorsal entre 1984 e 1988. Todas as cirurgias são realizadas duas semanas após o traumatismo. Trinta pacientes não apresentam fratura da lâmina vertebral associada e nem lesão dural no intra-operatório. Esse dado é significativo e indicativo de que a lesão dural posterior ocorre só com a presença de fratura da lâmina associada. Dos outros 30 pacientes que apresentam fratura da lâmina associada, cinco apresentam fratura do segmento torácico e 16 (53%) tem lesão neural. Dos 16 pacientes com lesão neural, 11 (69%) tem lesão dural associada. A lesão neural associada com a fratura explosiva e com a fratura da lâmina tem 100% de sensibilidade e 74% de especificidade como indicador de lesão dural.

Sakas et al. (1990) realizam pesquisa experimental em 36 coelhos Nova Zelândia brancos. O principal objetivo é determinar o material que reduz a adesão, do cérebro e ao local da reparação da dura-máter. Utilizam dois tipos de implantes para substituição dural: Tecoflex® (resina termoplástica sintetizada) e o filme de resina LR® (elastômero termoplástico). O grupo de animais cuja dura-máter é reparada com Tecoflex é formado por

24 animais, dos quais 12 são usados para reparação dural no sistema nervoso central, após lesão de 3x10mm, e reparação com uma placa de 10x10mm. Na região lombar, realiza-se uma laminectomia de L3 a L5 e, após, a lesão e a implantação de um filme de Tecoflex[®] de 3x10mm. No grupo que recebe o filme de resina LR[®], utilizam-se 12 coelhos, com implantação no sistema nervoso central de um filme de 7x7mm. Os resultados são similares em todos os grupos. Não há aderências ou qualquer reação. Concluem que os filmes de resina Tecoflex[®] e LR[®] são biocompatíveis.

Collins et al. (1991) apresentam os resultados preliminares de pesquisa sobre reparação dural com membrana de colágeno do tipo I insolúvel em 11 coelhos Nova Zelândia brancos com peso variando entre 3 e 4kg. Do lado esquerdo da dura-máter, como controle, corta-se e levanta-se um retalho (“flap”) e, imediatamente a seguir, recoloca-se no mesmo local e sutura-se com Vicryl[®] 2-0. Do lado direito, o retalho é retirado e substituído por uma membrana de colágeno bovino do tipo I, também suturada com fio de Vicryl[®] 2-0. Sacrificam os animais aos 16, 28, 42 e 56 dias após a implantação do filme de colágeno e submetem amostras de tecidos à análise histopatológica. Após 16 e 28 dias, não se observam sinais de reação inflamatória ou de fibrose no lado controle. Após 42 dias, verificam pequena presença de células inflamatórias. Após 56 dias, intensa conexão do tecido depositado, aderência pio-aracnoidal, mas com a barreira dural totalmente restabelecida. Aos 16 dias, a membrana de colágeno se comporta de forma

semelhante. Não são encontrados sinais de necrose ou de inflamação no sistema nervoso central. Aos 28 dias, verifica-se a maior infiltração de fibroblastos. Aos 42 dias, apresenta acelularidade e avascularidade no local do implante, de forma muito semelhante ao controle. Aos 56 dias o filme encontra-se intensamente infiltrado com células de tecido conectivo e depósitos de colágeno novo. Notam-se adesões e células de tecido inflamatório. O filme parece formar uma barreira continua semelhante ao da dura-máter. Após 21 dias, o colágeno encontra-se totalmente remodelado. Referem a facilidade de produção e esterilização de filmes de variadas formas, dimensões e espessuras e a sua substituição em aproximadamente dois meses sem apresentar resposta inflamatória significativa e mínimo risco de complicações a longo prazo, ao contrário do que pode ocorrer com os aloenxertos devido aos contaminantes antigênicos encontrados.

Foyt et al. (1996) publicam artigo no qual apresentam os resultados de experimentos “in vitro” e “in vivo” sobre técnicas de reparação dural. Produzem lesão dural ao nível cranial em cadáveres “frescos” após três horas “post-mortem”. A reparação da lesão é efetuada com três diferentes formas: sutura com fio de seda 4-0, sutura com fio de seda 4-0 associado com reforço de fusão tecidual à laser e apenas com fusão tecidual à laser. Os tecidos reparados com essas técnicas são submetidos a ensaios de pressão hidrostática. O grupo submetido à reparação com sutura com fio de seda 4-0 associado com reforço de fusão tecidual à laser apresenta o melhor resultado e o grupo reparado apenas com o laser, o pior resultado. O estudo

“in vivo” é realizado em 15 ratos da linhagem Lewis (LEW), cinco animais por grupo. O experimento também é feito ao nível cranial e com as mesmas técnicas. Realizam-se suturas isoladas simples, porém o fio de seda 4-0 é substituído pelo Prolene[®] 9-0. Produz-se um defeito dural de 1cm. Dois animais em cada grupo são submetidos à eutanásia imediatamente após o reparo e os demais, em duas semanas. O uso do laser leva a alterações histológicas na superfície do córtex cerebral em uma camada de células superficiais, em dois casos, dos 10 espécimes submetidos, ocorrem lesões por queimadura.

Park et al. (1998) apresentam os resultados de um estudo prospectivo, randomizado, com 72 ratos Wistar, fêmeas, com o objetivo de avaliar os substitutos duros (membranas) de Gore-Tex[®], de filme de colágeno e de dura-máter liofilizada de ratos Wistar doadores. Realizam a laminectomia ao nível de L1 e uma durotomia elíptica de 3x1mm. A reparação da dura-máter, ou duroplastia, é feita com os três tipos de membrana, sendo todas suturadas com fio de poliamida (Nylon[®]) 10-0 e agulha atraumática. A metade dos animais de cada grupo é submetida à compressão medular no ponto médio da duroplastia através de pinçamento (“clip”) de 25g por um minuto. Metade dos animais são submetidos a eutanásia após oito semanas. Não se observam diferenças na função neurológica entre os três grupos sem compressão medular. Todos os animais apresentam alguma adesão entre o material de implante e o tecido neural. Não se constata desmielinização ou perda axonal na medula

espinhal dos animais sem lesão. Degeneração medular ocorre em uma pequena área na região dorsal em um rato do grupo de filme de colágeno e em três animais do grupo de dura-máter liofilizada. Não há diferença entre as medulas dos grupos sem compressão medular. Nos grupos com compressão medular, a degeneração neural é severa, mas, também, não se comprova diferença entre as medulas dos três grupos. O grupo tratado com Gore-Tex® mostra a menor reação celular em comparação com os demais, com mínima fibrose. O grupo reparado com filme de colágeno apresenta a maior reação inflamatória e de “corpo estranho”.

Wang et al. (1998) realiza estudo retrospectivo com 641 pacientes submetidos à descompressão lombar entre julho de 1989 e julho de 1994, examinados por avaliadores independentes. Oitenta e oito pacientes apresentam lesão medular intra-operatória. A prevalência varia de acordo com o diagnóstico, sendo que as cirurgias de revisão após laminectomia, são as maiores causas de lesão, seguidas da estenose degenerativa lombar. Os pacientes com lesão dural são submetidos à reparação com sutura contínua com fio de seda 4-0 ou 5-0 e Gelfoan® sobre a sutura e uso de dreno subfacial. Apenas um caso apresenta lesão dural anterior e não possibilita a reparação. Oitenta e seis pacientes evoluem com sucesso após a reparação intra-operatória, dos quais 76 pacientes mostram excelentes e bons resultados. Nenhum paciente apresenta déficit neurológico ou sintomas nas extremidades. Um paciente evolui com aracnoidite, mas recebe vários procedimentos e exames invasivos prévios.

Aliredjo (1999) descreve o caso de um paciente com 5 anos de idade, nascido prematuramente, que apresenta diagnóstico de doença do trato respiratório e do pâncreas e defeito espinhal no segmento de L3, L4 e L5, sem alterações neurológicas no nascimento. Aos 3 anos de idade, o paciente apresenta um quadro de dor lombar e deformidade no membro inferior direito. Realiza o fechamento do defeito lombar com sutura dural e membrana de Gore-Tex®. Não identifica fibrose e adesão neural. Afirma ser uma importante opção no tratamento das alterações espinhais.

Cammisa et al. (2000) publicam um estudo com a análise retrospectiva de 2.144 pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos espinhais entre janeiro de 1989 e dezembro de 1998, desses 422 são cervicais (338 anteriores e 84 posteriores), sete torácicos posteriores e 1.715 lombares (1.646 posteriores e 69 anteriores). Durotomia é observada em 74 pacientes, dos quais 28 (37,8%) submetem-se a cirurgias prévias, de uma a seis procedimentos. Ocorrem 66 casos (3,1%) de laceração dural acidental, dois em cirurgias cervicais e as demais em procedimentos lombares. Nenhum caso em procedimento torácico. Em 60 casos, o defeito é reparado no trans-operatório, todos reparados usando fio Prolene® 5-0, com sutura continua ancorada. Dependendo do lado do defeito, da qualidade do reparo e da qualidade do tecido, associa-se, na sutura, músculo ou tecido adiposo em 10 pacientes, cola de fibrina em 17 pacientes e tampão de fibrina em 17 pacientes. A incidência varia de acordo com procedimento cirúrgico

específico, mas foi maior no grupo com revisão cirúrgica. Nos pacientes sem detecção previa da lesão dural, seis são submetidos à reparação cirúrgica. Nenhum paciente apresenta seqüelas ou complicações a longo prazo, comparados com os pacientes submetidos a procedimentos sem lesão dural.

Carl et al. (2000) realizam um estudo retrospectivo com 60 pacientes com fraturas explosivas, na região lombar e toracolumbar, que são submetidos à descompressão e fusão vertebral anterior de um a 12 dias após a fratura. A idade media dos pacientes é de 32 anos, variando entre 16 e 66 anos. Avaliam-se os pacientes pela escala de Frankel na admissão e no pós-operatório. Realizam, também, exames radiográfico e tomográfico. A indicação para cirurgia por via anterior dá-se nos casos de lesão neural incompleta devido à compressão por disco ou fragmento ósseo, comprometimento do canal medular maior que 50% do diâmetro e assintomático, em pacientes com idade abaixo de 40 anos. São documentados seis casos (10%) de laceração dural anterior, todas reparadas com sutura não absorvível com Nylon® 4-0, técnica difícil e trabalhosa. Em cinco pacientes, não se verifica qualquer intercorrência, mas um evolui com fistula liquórica, tratada com sucesso através de drenagem subaracnóidea.

Bosacco et al. (2001) fazem uma revisão bibliográfica sobre as técnicas, tratamentos e estratégias nos casos de lesão dural. Constatam que a durotomia accidental é a complicação mais freqüente, variando de 1,8% até

17,4% em função do tipo de procedimento, e que as re-operações apresentam a maior freqüência de lesão. Relatam que o trauma espinal, também, é uma importante causa de lesão dural, principalmente, nas fraturas explosivas da coluna. Afirmam que a detecção da lesão dural no pós-operatório é difícil e que se deve associar o exame clínico (fístula líquórica, fraqueza, náuseas, vômitos, diplopia, visão turva e cefaléia postural) com os exames de imagem (a tomografia computadorizada com contraste intratecal e a ressonância magnética, exame sensível para averiguar o acúmulo de líquido). Defendem que quando detectado no intra-operatório, o reparo é obrigatório. Indicam a sutura com material não absorvível, sem o uso de drenagem. Os reparos pós-operatórios podem ser feitos com drenos subaracnóideos, mantidos por quatro dias. O tampão de sangue, também, pode ser usado. Informam que alguns estudos indicam até 97,5% de sucesso. A cola de fibrina com aplicação percutânea, guiada por tomografia, também, é uma alternativa, mas com poucos estudos e taxa de sucesso em torno de 50%. Concluem que a lesão dural, quando tratada adequadamente, não leva a alterações quanto a morbidade a longo prazo.

Aydinli et al. (2001) avaliam 45 pacientes que sofreram fraturas explosivas (47 fraturas) com tempo de segmento médio de 52 meses, 18 homens e 27 mulheres, com idade média de 33 anos, variando entre 15 e 70 anos. Trinta e três pacientes (73%) sofrem fratura após queda de altura e 12 (27%) por acidente de trânsito. A maior parte das fraturas ocorrem na junção toracolumbar. A lesão dural está associada com a fratura explosiva. A lesão

neurológica é reportada em 30% a 60% dos pacientes com fratura toracolombar explosiva.

Kanamori et al. (2001) publicam um artigo no qual avaliam 22 pacientes, 16 homens e seis mulheres, com idade entre 17 e 79 anos, submetidos a cirurgia descompressiva, dos quais 16 realizam discectomia e seis, laminectomia apenas. Não incluem pacientes submetidos às cirurgias de fusão. Em todos os pacientes, utiliza-se tecido gorduroso sobre a área descomprimida, com diâmetro de 5mm. Realizam ressonâncias magnéticas aos três, sete, 21 e 42 dias de pós-operatório e após um ano. Dos 22 pacientes estudados, apenas oito tem avaliação de um ano de pós-operatório. Em todos os pacientes observa-se uma redução de 52% do tecido adiposo após 42 dias de pós-operatório e de 33%, após um ano. Concluem que ocorre remodelação do tecido adiposo e que este se mantém vivo, protegendo a dura-máter.

Black (2002) descreve uma técnica de reparação da dura-máter, um aperfeiçoamento da técnica de Mayfield, e defende que o transplante autólogo de tecido adiposo serve como excelente selante. Relata a reparação de 27 lesões durais anteriores, iatrogênicas, em 1.650 procedimentos extradurais. A técnica de reparação emprega uma combinação de tecido adiposo selado com cola de fibrina e Gelfoan® ou Surgicel®. Afirma que o tecido adiposo sobrevive por um longo período de tempo e apresenta revascularização.

Galvão (2003) defende sua dissertação de mestrado junto ao Departamento de Ortopedia e Traumatologia da FMUSP na qual apresenta um estudo experimental prospectivo randomizado para avaliar os efeitos da terapia por oxigênio hiperbárico em 17 ratos Wistar, machos, com peso entre 265 gramas e 426 gramas, submetidos à lesão medular. Os animais são submetidos a laminectomia de T8 e T9 em aparelho computadorizado de impacto por queda de massa NYU Impactor, desenvolvido pela New York University para promover uma lesão medular padronizada. Após a lesão, os animais são distribuídos entre dois grupos: 10 ratos no grupo tratado com oxigênio hiperbárico e 10 ratos no grupo controle, sem tratamento. Todos os ratos dos grupos controle e submetidos a terapia por oxigênio hiperbárico são avaliados no segundo, nono, 16^o, 23^o e 30^o dia de pós-operatório através da escala BBB e submetidos à eutanásia no 30^o dia. Realiza a análise histológica da medula e classifica a hiperemia, a degeneração da substância nervosa, a necrose e o infiltrado celular em ausente, discreto, moderado e acentuado. Demonstra melhora da recuperação locomotora nos ratos tratados com oxigênio hiperbárico nas fases iniciais de avaliação, mas, que ao final do período de avaliação, não se comprova diferença entre os grupos, ou seja, a melhora inicial não se mantém.

Narotam et al. (2003) descrevem uma técnica de reparação da dura-máter, após durotomia, com esponjas de matriz de colágeno (DuraGen[®]). Referem a realização dos primeiros estudos experimentais para reparo dural

em primatas em 1993 e que, em 1995, os estudos clínicos e patológicos confirmam a eficiência da esponja de matriz de colágeno.

Akeson et al. (2004) apresentam um estudo comparativo randomizado para investigar a inibição da fibrose lombar pós-operatória com o uso de membranas de gel de ácido hialurônico de alto peso molecular (gel HMW HA) e de barreiras bioabsorvíveis de proteção dural. Utilizam 98 ratos da raça Halam Sprague-Dawley, distribuídos em cinco grupos: grupo controle sem cirurgia, grupo submetido à laminectomia sem tratamento e lesão do disco intervertebral, grupo submetido à laminectomia e lesão do disco intervertebral e à tratamento com gel HMW HA, grupo submetido à lesão do disco intervertebral e laminectomia e à tratamento com barreira bioabsorvível com fechamento dos músculos paraespinhais e grupo submetido à lesão do disco intervertebral e laminectomia, sem fechamento dos músculos paravertebrais. Nos grupos experimentais, realiza-se a laminectomia no nível L5-L6, com lesão do disco intervertebral unilateral. O número de animais variou de seis a 13 por grupo. O período de manutenção dos animais foi de três a oito semanas. A fibrose aparece mais intensamente na oitava semana. Não se comprovam diferenças entre os grupos no período de três a oito semanas.

Megyesi et al. (2004) comparam a integridade do fechamento dural proporcionado por diferentes técnicas de reparação dural “in vitro”. Formam oito grupos experimentais com 10 segmentos de dura-máter craniana de

cadáveres (doação) cada. Avaliam a eficácia da reparação de lesões lineares de 2cm por quatro técnicas de sutura diferentes e da reparação de “janelas” de 1x3cm por duroplastia com retalhos de dura-máter suturadas pelas mesmas quatro técnicas: sutura com pontos isolados simples (separados); com pontos contínuos simples; com pontos contínuos ancorados e com pontos helicoidais verticais (chuleio ou tipo “colchoeiro”). Cada segmento de dura-máter é fixado sobre a abertura (“boca”) de um recipiente de vidro com 6,7cm de diâmetro (vaso comunicante) preenchido com solução salina com corante (azul de Evans). Em cada segmento, produz-se uma incisão linear de 2cm de comprimento ou uma “janela” de 1x3cm para, em seguida, reparar-se com uma das referidas técnicas de sutura ou pela duroplastia, respectivamente. As suturas são feitas com fios de seda 3-0. Após a reparação, injeta-se soro sob pressão no interior do recipiente e mede-se a pressão necessária para o extravasamento do líquido pelas suturas. Medem-se as pressões para produzir o primeiro (vazamento primário) e o segundo (vazamento secundário) vazamentos. A pressão medida para produzir o segundo vazamento avalia a capacidade residual de fechamento após a primeira falha. Entre as técnicas de reparação de lesão linear por suturas, a sutura com pontos isolados simples (separados) é a mais eficaz e o extravasamento primário de líquido ocorre ao atingir, em média, uma pressão de 20mmHg. Não há diferença significativa entre as pressões (vazamento primário) dos demais pontos. As pressões necessárias para produzir o vazamento secundário são significativamente menores em todas as técnicas e não se comprovam diferenças entre elas. O vazamento

ocorre principalmente pelas bordas da linha da sutura (sítio da incisão linear). Dentre as técnicas de reparação com duroplastias, as mais eficazes são as que utilizam a sutura do segmento de dura-máter com pontos isolados simples (separados) e com pontos contínuos ancorados. Suportam uma pressão de extravasamento primário, em média, de cerca de 12mmHg. As outras duas apresentam extravasamento primário em torno de 8mmHg. Não se comprova diferença entre as pressões para o vazamento secundário, porém são sempre menores que as pressões dos vazamentos primários. O vazamento ocorre principalmente pelos furos da sutura no caso de utilizar pontos isolados simples (separados) e pela borda da linha da sutura nas demais técnicas. Os cantos (ou “ângulos da janela”) são pontos críticos para ocorrência de vazamentos com qualquer técnica.

Narotam et al. (2004) apresentam um estudo retrospectivo com 110 pacientes, 77 homens e 33 mulheres, com a idade média de 50,7 anos, submetidos à reparação dural usando técnica com DuraGen® após um período de segmento de oito anos. Dos pacientes incluídos no estudo, 66% são operados devido a degeneração discal, 12% devido à traumatismos e 13%, tumores. Posiciona-se uma membrana de DuraGen® para cobrir diretamente o defeito, com margem de 1cm além do limite da lesão e uma peça para cobrir a laminectomia. Em quatro pacientes, associa-se o uso de cola de fibrina e DuraGen®. Ocorrem três (2,7%) casos de complicações por fistula, quatro (3,6) por pseudomeningocele e dois (1,8%) por infecção, uma profunda e outra superficial. Concluem que a utilização de membranas de

DuraGen[®] é compatível com o uso de cola de fibrina e sutura, com eficiência em 95% dos casos.

Stambough (2004) publica artigo de revisão da literatura no qual relata que a sutura da lesão dural associada com a cola de fibrina não é um método 100% efetivo. Refere que, segundo Shafrey et al, ocorrem falhas em cerca de 7% dos casos, que o cirurgião necessita de experiência para realizar essa técnica e que há um aumento do tempo cirúrgico. Defende que o DuraGen[®] depositado diretamente sobre o sitio de lesão, quando esta é menor que 1cm, apresenta índice de sucesso de 95% e economia do tempo de reparação. Recomenda a realização de estudos prospectivos randomizados para comparar a sutura dural, a cola de fibrina e o DuraGen[®] devido às diferenças entre as doenças de base dos pacientes incluídos nos trabalhos de avaliação da sutura e da cola.

Haq et al. (2005) realizam estudo prospectivo comparativo com 26 porcos, dos quais, seis foram sacrificados antes do período programado de oito semanas devido a complicações. Distribuem os animais em quatro grupos, conforme o material de reparação dural: Surgicel[®], DuraGen[®], Durasis[®] e Preclude[®]. A análise histopatológica avalia adesão, formação de fibrose, resposta inflamatória e mudanças na medula. Os materiais de reparação dural são implantados na região lombar alta (L2). A dura-máter é exposta e faz-se uma lesão na linha média. Produzem-se membranas com os materiais substitutos nas dimensões padronizadas de 2x1cm que são

colocadas diretamente no sítio de lesão e fixadas com sutura local com Prolene® 6-0. Após oito semanas, efetuam a eutanásia. Preparam cinco lâminas por animal. A fibrose local, a inflamação crônica, a reação de “corpo estranho” e as mudanças na medula são graduadas em ausente, mínima, moderada e severa. As membranas de Surgicel® e de DuraGen® são completamente absorvidas e não se evidencia qualquer formação inflamatória nos tecidos dos cortes avaliados. As lâminas de tecido oriundas do grupo Preclude® apresentam o maior índice de reação de “corpo estranho”, fibrose e reação inflamatória crônica. Também, é o único material que apresenta encapsulamento e neomembrana. Os melhores resultados são observados nas amostras de tecido dos grupos DuraGen®, Surgicel®, Durasis® e Preclude®, nesta ordem.

Nakamura et al. (2005) apresentam um estudo prospectivo randomizado em 39 pacientes com tumoração na região medular. Procuram avaliar a eficácia da cola de fibrina autóloga. Distribuem os pacientes em três grupos: fechamento dural, fechamento dural associado com cola autóloga, fechamento dural associado com Beriplast® P. Dos 39 pacientes, em 16 emprega-se, também, dura-máter artificial (Gore-Tex®) devido ao tipo de incisão – transversal – na dura-máter, por ocasião da tumoração. Medem o volume de líquido cérebro-espinhal pós-operatório drenado no local da cirurgia. Utiliza-se drenagem fechada externa, sem pressão negativa, até o terceiro pós-operatório. Comparam os volumes drenados nos níveis cervical, torácico e lombo-sacro. No grupo controle (sem cola), verifica-se uma

drenagem de 1.026ml, em média, de 429ml com cola autóloga e de 639ml com Beriplast® P. Nos pacientes com Beriplast® P, aumento da drenagem, independente do nível. O local da atuação cirúrgica (nível) interfere no volume resultante da drenagem. Na região cervical o volume drenado é maior e na lombar, menor. Em nenhum grupo ou nível ocorre fistula de líquido. O custo de 10ml da cola biológica é de US\$ 55 e de 1ml da Beriplast® é US\$ 210. O volume drenado do grupo com adesivo autólogo é o menor. Não observaram complicações. A segurança do uso dos dois tipos de adesivo, autólogo e comercial, é equivalente.

Oliveira (2005) realiza estudo prospectivo randomizado (dissertação de mestrado defendida no Departamento de Ortopedia e Traumatologia da FMUSP) para a avaliação da compressão medular em 50 ratos Wistar, machos, com peso entre 250 e 480 gramas. Formam cinco grupos: um grupo controle submetido à laminectomia nos níveis de T8 a T12, sem lesão medular; um grupo submetido à laminectomia com compressão medular por fita (compressão por redução perimetral da fita ou do diâmetro da medula) de compressão e descompressão após cinco minutos; um grupo submetido à laminectomia por fita e descompressão após 24 horas da lesão; um grupo submetido à laminectomia com fita e descompressão após 72 horas e um grupo submetido à laminectomia com fita por todo o período até a eutanásia. Realiza-se a avaliação funcional da marcha utilizando a escala de Basso, Beattie and Bresnahan (escala BBB) no primeiro e no 28º dia de pós-operatório, após o qual realiza-se a eutanásia dos animais. Realiza, também,

o potencial evocado motor dos ratos e a análise histológica da medula. A análise histológica classifica as alterações da medula quanto ao grau de hiperemia, ao grau de degeneração da substância nervosa, ao grau de necrose e ao grau de infiltrado celular em ausente, discreto, moderado e acentuado. Demonstra haver relação direta entre a capacidade de recuperação neurológica avaliada pelos três métodos e o período de tempo sob compressão medular (momento da descompressão).

Saxler et al. (2005) publicam estudo retrospectivo com 1.280 pacientes submetidos à discectomia para remoção de hérnia discal, dos quais 41 apresentam durotomia acidental. A lesão é reparada no intra-operatório com fio Prolene® 5-0 em 24 casos e com tecido adiposo associado com Gelfoan® em 11 casos. A lesão da dura-máter não é reparada em seis casos. Selecionam 41 pacientes, ao acaso, dentre aqueles submetidos à ressecção de hérnia discal, sem lesão dural, para compor o grupo controle e realizar estudo comparativo. Após 10 anos de pós-operatório, 90,2% do grupo controle e 75,6% do grupo experimental não apresentam qualquer alteração. No pós-operatório imediato, a cefaléia está presente em 31,7% dos pacientes com lesão e em 9,8% dos pacientes do grupo controle. A dor lombar é referida por 60,9% dos pacientes do grupo com lesão e por 51,2% do grupo controle. Quanto ao retorno ao trabalho e a prática de esportes, 63,4% dos pacientes com lesão e 46,3% dos pacientes sem lesão dural não retornam. No grupo com lesão, 19,5% dos pacientes foram submetidos a reoperação e, no controle, 12,2%. Concluem que os

pacientes que sofreram uma durotomia acidental apresentam resultados clínicos piores e seqüelas clínicas a longo prazo.

4 MÉTODOS

4. MÉTODOS

O projeto de pesquisa foi avaliado e aprovado, através do *protocolo 172/06*, pela Comissão de Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo em 25 de maio de 2006.

Esta pesquisa foi realizada no Laboratório de Traumatismo Raquimedular e Nervos – LETRAN do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Os experimentos com animais foram realizados de acordo com a legislação brasileira em vigor, atenderam-se às exigências previstas no projeto de Lei nº 11.794 (**Brasil, Lei nº 11.794, 2008**), aprovado em outubro de 2008, que ***estabelece os procedimentos para o uso científico de animais***, e aos 12 artigos postulados nos “Princípios éticos na experimentação animal” do COBEA (**Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, 1991**).

MODELO EXPERIMENTAL DE LESÃO DURAL

Animais de Experimentação:

Foram utilizados 70 ratos (*Rattus norvegicus*) machos da linhagem Wistar, com, no mínimo, doze semanas de idade, pesando entre 300 e 350 gramas, dos quais 34 foram excluídos do estudo de acordo com os critérios de exclusão. Todos os animais foram oriundos do Centro de Bioterismo da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

No momento da recepção, todos os ratos foram avaliados quanto aos critérios de inclusão:

- Ratos da linhagem Wistar;
- Machos adultos jovens (entre 12 e 25 semanas de vida, inclusive);
- Peso entre trezentos e trezentos e cinquenta gramas, inclusive;
- Condição clínica e motricidade normais.

Formação dos grupos experimentais:

Distribuíram-se os ratos aleatoriamente (por sorteio) pelos quatro grupos experimentais, identificados através de marcação ou não da cauda, sendo que após o procedimento cirúrgico, repuseram-se os animais excluídos, sempre que necessário, de forma a manter um número mínimo de 9 animais por grupo:

- Grupo 1, controle, sem marcação – ratos submetidos à lesão da dura-máter, sem tratamento posterior (Tabela 1 - animais de um a nove);
-

- Grupo 2, marcação com listras pretas – lesão dural reparada com pontos isolados simples (separados) (Tabela 1 - animais de 10 a 18);
- Grupo 3, marcação com listras pretas e vermelhas – lesão dural reparada com membrana de colágeno bovino - DuraGen[®] (Tabela 1 - animais de 19 a 27).
- Grupo 4, marcação com listras vermelhas – lesão dural reparada com cola de fibrina - Beriplast[®] P (Tabela 1 - animais de 28 a 36);

Procedeu-se à identificação dos ratos da mesma gaiola e a manutenção dos ratos de uma mesma ninhada ou relacionados, juntos.

Acondicionaram-se até cinco ratos de uma mesma ninhada por gaiola (comprimento de quarenta centímetros e largura de sessenta centímetros), que foram identificadas conforme o grupo experimental. Mantiveram-se as gaiolas em ambiente climatizado, sob condições de higiene, de alimentação e de hidratação adequadas no Laboratório de Estudos do Traumatismo Raquimedular e de Nervos- LETRAN do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Realizou-se o manuseio contínuo dos animais antes da lesão para acostumá-los ao manejo dos experimentadores **(Galvão, 2003)**.

Antibioticoterapia:

Todos os animais receberam antibióticoterapia profilática (25mg/kg de Cefazolina, por via subcutânea), pré-operatória, 24h e 48h após a lesão **(Rodrigues, 1999)**. Nenhum animal apresentou infecção profunda e não foi necessário estender o tratamento.

Procedimentos Anestésicos:

Anestesiaram-se os ratos com pentobarbital intraperitoneal. A dose utilizada foi entre 55 a 75mg/kg **(Rodrigues, 1999)**.

Laminectomia:

Todos os animais foram operados pelo mesmo grupo de pesquisadores.

Realizou-se, inicialmente, a tricotomia da região dorsal da coluna vertebral após a confirmação da efetividade do procedimento anestésico, foi feita a anti-sepsia da região dorsal com produtos à base de iodo e álcool etílico. Identificaram-se, através de contagem dos arcos costais, os níveis de T8 a T12 e procedeu-se a marcação. Após a incisão da pele na linha média dorsal para expor as vértebras torácicas, cortaram e afastaram-se os músculos inseridos nos processos espinhosos de T9 a T11. Utilizou-se um coagulador bipolar para estancar os sangramentos quando necessário.

Realizaram-se as laminectomias da oitava e nona vértebras com um “saca-bocados” microcirúrgico. Iniciou-se a retirada das vértebras pela borda caudal de T9 e seguiu-se retirando pequenos fragmentos, delicadamente, até o final da lâmina de T8. Tomaram-se os devidos cuidados para preservar o saco-dural (Figura 1). Após a dissecação, obteve-se uma exposição da dura-máter de aproximadamente 1cm.

Procedimentos durais:

Com o auxílio de um microscópio cirúrgico, realizou-se a lesão do saco dural, no centro do segmento, com um bisturi com lâmina número 11 (Figura 1). Pressionou-se suavemente o saco dural com o bisturi numa angulação crânio-caudal de 45 graus até o vazamento líquórico. Procedeu-se uma incisão longitudinal de 0,5cm de comprimento. Tomaram-se os devidos cuidados para não provocar qualquer eventual dano ao tecido neural subjacente.

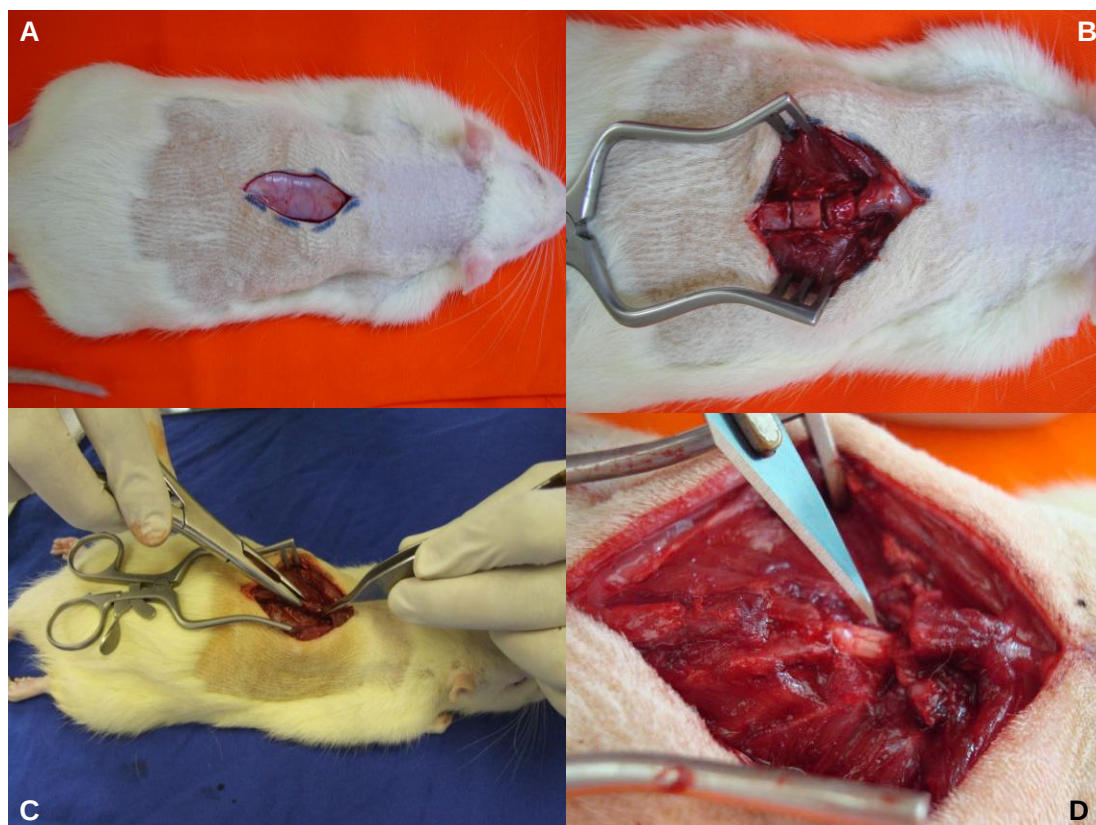


Figura 1 Detalhes da execução da laminectomia: A - incisão na linha média no local previamente preparado, após tricotomia, anti-sepsia, identificação dos níveis de T8 a T12 e marcação; B - corte e afastamento dos músculos inseridos nos processos de T9 a T11; C - laminectomias da oitava e nona vértebras com um “sacabocados” microcirúrgico; D - exposição da dura-máter de aproximadamente 1cm

Procedimentos de reparação da dura-máter:

Repararam-se as durotomias através de três métodos diferentes: sutura com pontos isolados simples, reparação com membrana de colágeno e reparação com cola de fibrina.

Utilizaram-se os seguintes instrumentos e materiais para a reparação cirúrgica da dura-máter: porta-agulha, pinças de microcirurgia, fios de sutura monofilamento de poliamida (Nylon[®]) 8-0 com agulhas atraumáticas, membrana esponjosa de colágeno bovino, porosa, absorvível, para enxerto dural da marca DuraGen[®] (matriz de enxerto dural DuraGen[®] da Integra LifeSciences Corporation[®], Plainsboro, Estados Unidos da América) e cola de fibrina da marca Beriplast[®] P (selante de fibrina Beriplast[®] P da ZLB Behring[®] GmbH, Marburg, Alemanha, atual Aventis Behring[®]).

Na reparação com sutura, utilizaram-se fios de sutura monofilamento de poliamida (Nylon[®]) 8-0 com agulhas atraumáticas **(Riew et al., 2003)** e realizaram-se os pontos isolados simples (separados) com espaçamento de 1mm (Figura 2).

Na reparação com membrana de colágeno, utilizaram-se segmentos retangulares de membrana de DuraGen[®], medindo 1,0cm de comprimento e 0,5cm de largura, depositadas diretamente na dura-máter, de forma centralizada, no sítio da lesão e fixadas através de gotejamento de soro

fisiológico (solução isotônica de NaCl a 0,9%). Foram necessárias cerca de 10 gotas de soro fisiológico para a embebição e fixação da membrana de DuraGen® (Figura 2).

Na reparação com cola de fibrina, aplicou-se aproximadamente 0,25ml de selante Beriplast® P diretamente no sítio de lesão conforme as instruções do fabricante, com o gotejador próprio, quantidade suficiente para formar uma camada sobre a incisão (Figura 2).

Seguiram-se as instruções de utilização e as precauções descritas pelos fabricantes da membrana de colágeno (**Integra LifeSciences Corporation®**, 2007) e da cola de fibrina (**Rodrigues**, 2007).

Procedimento após a reparação:

Realizou-se a aproximação dos planos: muscular, da fáscia e da pele com sutura de pontos isolados simples com fio de sutura monofilamento de poliamida (Nylon®) 4-0. Procedeu-se a analgesia por um período de 24 horas pós-operatórias, ministrando 0,1ml de dipirona sódica, a cada doze horas, por via intraperitoneal. Não se administraram antiinflamatórios para evitar interferência nos resultados.

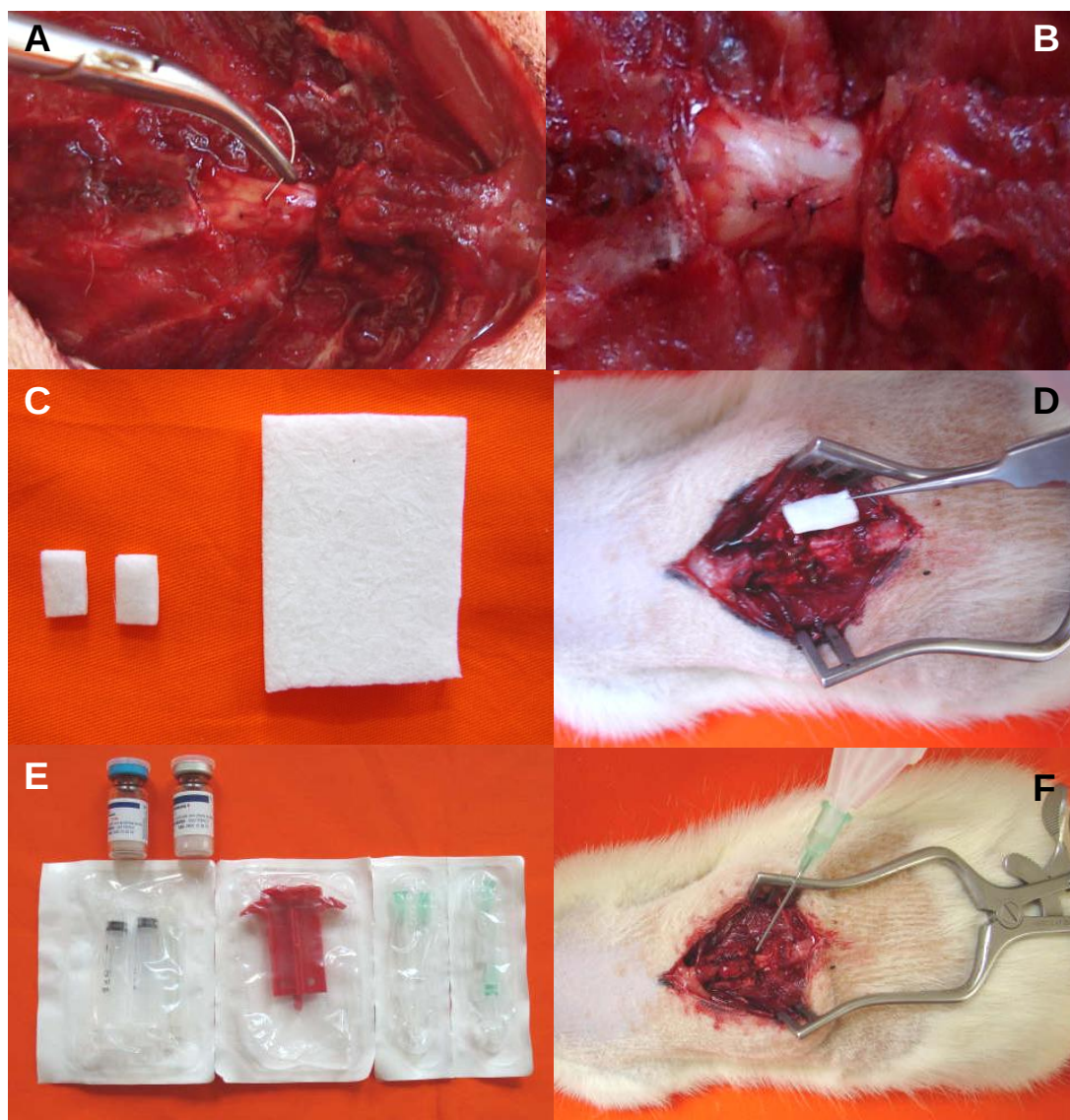


Figura 2 Técnicas de reparação dural: A – sutura com pontos isolados simples (separados) com fios de sutura monofilamento de poliamida (Nylon®) 8-0 e agulha atraumáticas; B - detalhe do fechamento dural com distância entre pontos de aproximadamente 1,0mm; C – corte dos segmentos retangulares de membrana de colágeno bovino DuraGen®, medindo 1,0cm de comprimento e 0,5cm de largura; D – detalhe da colocação do retalho de DuraGen® diretamente sobre a dura-máter, de forma centralizada, no sítio da lesão; E – selante de fibrina Beriplast® P ; F – detalhe do processo de gotejamento de aproximadamente 0,25ml de cola de fibrina sobre o sítio da lesão dural

Manutenção dos animais:

Retornaram-se os ratos às mesmas gaiolas de origem, mantendo os mesmos grupos de até 5 animais. No pós-operatório, todos os animais foram mantidos nas mesmas condições ambientais **(Rodrigues, 1999)** em local com temperatura constante em torno de 28°C, com ciclo circadiano constante (períodos cíclicos de luz-escuridão de 12 horas), reposição de água e ração apropriada para a espécie uma vez ao dia (acesso “ad libitum”) e limpeza da gaiola e troca da maravalha periódicas até o final do experimento.

Critérios de exclusão, de interrupção (suspensão) e de encerramento:

Adotaram-se os seguintes critérios de exclusão:

- Óbito após lesão;
- Perda de tecido na área lesada;
- Autofagia ou mutilação entre os animais;
- Infecção profunda ou refratária à antibioticoterapia após a lesão;
- Ausência de controle de esfíncter anal ou vesical;
- Ausência ou alteração de atividade motora nos membros após a lesão.

Os critérios de exclusão foram verificados durante a abordagem cirúrgica e o pós-operatório dos animais.

Caso ocorressem índices elevados e não justificáveis de perda (óbito ou exclusão) ou de sofrimento extremo dos animais, o experimento seria suspenso e a metodologia revista. Caso as causas não pudessem ser identificadas e sanadas adequadamente, o experimento seria encerrado.

Eutanásia:

Os animais de todos os grupos foram sacrificados no 24^º dia de pós-operatório. Utilizou-se uma dose letal de pentobarbital (140mg/kg) por via intraperitoneal, sob anestesia.

Coleta e preparação das amostras de tecido medular:

Os animais foram posicionados em decúbito ventral e expôs-se, por planos, o local da reparação prévia da dura-máter. A medula de cada rato foi retirada em bloco, juntamente com tecidos adjacentes, com uma margem de um centímetro das bordas, cefálica e caudal, da lesão dural. A seguir, as medulas retiradas foram fixadas em solução tamponada de formaldeído a 10% e colocadas em frascos devidamente identificados. Os frascos com as amostras de tecido foram encaminhados para a Seção de Anatomia Patológica do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Na seção, retiraram-se todas as estruturas ósseas e ligamentares. As medulas foram separadas, procedas e englobadas em blocos de parafina. A partir dos blocos, realizaram-se os cortes histológicos e prepararam-se as lâminas para as análises histológicas.

Análise histológica:

A análise histológica foi feita através de lâminas coradas com hematoxilina e eosina, nos segmentos cranial, central e caudal das medulas enviadas, visualizadas por microscopia óptica **(Galvão, 2003)**.

O Serviço de Patologia graduou como ausente, discreto, moderado e acentuado a alteração observada em cada amostra de tecido **(Galvão, 2003)** quanto a:

- Grau de necrose medular;
- Grau de hemorragia;
- Grau de hiperemia;
- Grau de degeneração da substância neural;
- Infiltrado celular.

Os patologistas não foram informados quanto ao grupo de origem das medulas avaliadas.

Descarte dos animais:

As carcaças dos animais submetidos à eutanásia foram colocadas em sacos plásticos brancos para lixo contaminado, adequadamente identificados, e descartados no lixo do LETRAN. Esse lixo contaminado é retirado do hospital conforme o plano de gerenciamento de resíduos sólidos do HCFMUSP (classe A, resíduo infectante) e encaminhado para incineração por serviço terceirizado de coleta e tratamento de lixo hospitalar.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise dos dados enumerativos (atributos), realizou-se a distribuição de frequência absoluta (n) das características nominativas da graduação da análise histológica: ausente (0), discreto (1), moderado (2) e acentuado (3).

Os resultados de cada animal foram apresentados em tabela geral quanto aos atributos (qualidade): grau de necrose da substância nervosa, grau de hemorragia, grau de hiperemia, grau de degeneração da substância nervosa e grau de infiltrado de células inflamatórias na substância nervosa, conforme a região relativa do tecido na amostra de avaliada, cranial, central ou caudal, e o grupo experimental (Tabela 1).

Foram elaborados tabelas sumárias para apresentar os resultados das comparações das freqüências entre os grupos experimentais e o controle (amostras), aos pares, segundo graduação da alteração e atributo avaliado, pelo teste de Qui-quadrado, ou na sua impossibilidade (célula com $n < 5$), pelo teste exato de Fisher para tabelas de contingência (Tabelas 2 e 3).

Para possibilitar a aplicação dos testes estatísticos de Qui-quadrado ou de Fisher, agruparam-se os resultados de cada atributo e compararam-se as freqüências de ocorrência do resultado ausente (0) em relação aos demais resultados, discreto, moderado e acentuado (1+2+3), exceto para o atributo *degeneração da substância nervosa* no qual compararam-se as freqüências de ocorrência dos resultados ausente e discreto (0+1) em relação aos resultados moderado e acentuado (2+3) (Tabelas 2 e 3).

Apresentaram-se as freqüências de ocorrência dos resultados das graduações histológicas de cada atributo, conforme o grupo experimental, nas regiões cranial (A), central (B) ou caudal (C) em tabela de contingência sumária. Para cada atributo e grupo experimental, compararam-se, aos pares, as freqüências de ocorrência. Não se comprovaram diferenças estatisticamente significantes ($p > 0,05$) entre as regiões. (Tabela 2).

Ao comprovar a equivalência entre as regiões cranial (A), central (B) e caudal (C), pôde-se agrupar os resultados das graduações histológicas de cada atributo e realizar as comparações das graduações dos diferentes grupos experimentais, resultados de cada técnica de reparação em relação ao controle (Tabela 3). As frequências relativas (%), ou percentagens, da ocorrência de cada graduação (ausente, discreto, moderado e acentuado) segundo o atributo (necrose, hemorragia, hiperemia, degeneração da substância e infiltrado celular) foram representadas graficamente na forma de diagramas de empilhamento de 100% (Gráficos de 1 a 5).

Utilizou-se o arredondamento científico. Os valores dos resultados dos testes estatísticos foram apresentados com até duas casas após a vírgula ou até o primeiro número significativo.

Adotou-se nível de confiança de 5% ($\alpha = 0,05$).

Adotaram-se testes bilaterais ou bicaudais. ($H_0 = \mu_1 - \mu_2 = 0$).

As diferenças comprovadas estatisticamente foram evidenciadas por asteriscos (*) nas tabelas.

Utilizou-se o programa estatístico GraphPad Prism[®], versão 2.01 (1996) da GraphPad Software Incorporated[®].

5 RESULTADOS

5. RESULTADOS

Os resultados das avaliações e das graduações histopatológicas de cada animal segundo a região analisada, o grupo experimental e o atributo foram apresentadas na tabela geral (Tabela1).

As distribuições de frequência absoluta da ocorrência das graduações histopatológicas segundo as regiões cranial, central e caudal, agrupados, foram apresentadas nas tabelas de contingência (Tabelas 2 e 3).

Os resultados dos testes estatísticos, comparando os grupos experimentais segundo os atributos avaliados, foram apresentados numa tabela sumária (Tabela 3).

As respectivas frequências relativas (%), ou percentagens, de ocorrência de cada atributo foram representadas graficamente na forma de diagramas de empilhamento de 100% (Gráficos de 1 a 5).

TABELA 1 RESULTADO GERAL DA ANÁLISE HISTOLÓGICA DAS ALTERAÇÕES MEDULARES PROVOCADAS PELAS REPARAÇÕES COM SUTURA SIMPLES, MEMBRANA DE COLÁGENO E COLA DE FIBRINA

CASO	NECROSE			HEMORRAGIA			HIPEREMIA			DEGENERAÇÃO DA SUBSTÂNCIA NERVOSA			INFILTRADO CELULAR		
	Cranial	Central	Caudal	Cranial	Central	Caudal	Cranial	Central	Caudal	Cranial	Central	Caudal	Cranial	Central	Caudal
CONTROLE															
1	0	0	0	2	2	1	0	0	1	2	2	2	1	1	0
2	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
5	1	1	1	3	3	3	2	2	2	2	2	2	1	1	1
6	0	0	2	0	0	0	1	1	3	2	2	3	0	0	2
7	0	2	2	0	2	2	0	1	1	2	3	3	0	2	2
8	1	1	1	0	0	0	1	1	1	2	2	2	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0
SUTURA COM PONTO ISOLADO SIMPLES – FIO POLIAMIDA (NYLON®) MONOFILAMENTO 8-0															
10	2	2	2	0	0	0	2	2	2	2	2	2	1	1	1
11	0	1	0	0	0	0	3	3	3	2	2	2	0	1	0
12	3	3	3	0	0	0	3	3	3	2	2	2	2	2	2
13	3	3	3	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3
14	1	2	1	0	1	0	1	2	1	1	3	1	1	2	1
15	1	1	1	0	0	0	2	2	2	2	2	2	0	0	0
16	0	1	0	0	0	0	1	2	1	1	1	1	0	1	0
17	1	1	1	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1
18	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0
MEMBRANA DE COLÁGENO BOVINO – DURAGEN®															
19	1	1	1	0	0	0	2	2	2	2	2	2	0	0	0
20	0	2	0	0	1	0	1	2	1	1	2	1	0	2	0
21	1	1	1	0	0	0	1	1	1	2	2	2	0	0	0
22	1	1	1	0	0	0	2	2	2	3	3	3	1	1	1
23	1	3	1	0	0	0	2	2	2	2	3	2	1	2	1
24	1	1	1	2	2	2	2	2	2	3	3	3	1	1	1
25	0	1	0	0	1	0	2	2	2	1	2	1	1	1	1
26	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	0	0	0
27	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	1	1	1
COLA DE FIBRINA – BERIPLAST® P															
28	0	0	2	0	0	1	2	2	2	2	2	2	1	1	1
29	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0
30	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
31	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	2	2	2
32	1	1	1	0	0	0	2	2	2	2	2	2	1	1	1
33	2	2	2	1	1	1	2	2	2	1	1	1	2	2	2
34	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
35	1	1	1	0	0	0	0	0	0	3	3	3	2	2	2
36	2	2	2	2	2	2	3	3	3	1	1	1	0	0	0

TABELA 2 DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIA ABSOLUTA (N) DOS RESULTADOS HISTOLÓGICOS. COMPARAÇÃO DO GRAU DE ALTERAÇÃO MEDULAR DE ACORDO COM A REGIÃO ANALIZADA, CRANIAL, CENTRAL OU CAUDAL.

NECROSE																			
CONTROLE					SUTURA					MEMBRANA DE COLÁGENO					COLA DE FIBRINA				
GRAU	A	B	C	TOTAL	GRAU	A	B	C	TOTAL	GRAU	A	B	C	TOTAL	GRAU	A	B	C	TOTAL
0	7	6	5	18	0	3	1	3	7	0	6	8	6	20	0	1	1	0	2
1+2+3	2	3	4	9	1+2+3	6	8	6	20	1+2+3	3	1	3	7	1+2+3	8	8	9	25

HEMORRAGIA																			
CONTROLE					SUTURA					MEMBRANA DE COLÁGENO					COLA DE FIBRINA				
GRAU	A	B	C	TOTAL	GRAU	A	B	C	TOTAL	GRAU	A	B	C	TOTAL	GRAU	A	B	C	TOTAL
0	7	6	6	19	0	7	6	7	20	0	7	5	7	19	0	6	6	5	17
1+2+3	2	3	3	8	1+2+3	2	3	2	7	1+2+3	2	4	2	8	1+2+3	3	3	4	10

HIPEREMIA																			
CONTROLE					SUTURA					MEMBRANA DE COLÁGENO					COLA DE FIBRINA				
GRAU	A	B	C	TOTAL	GRAU	A	B	C	TOTAL	GRAU	A	B	C	TOTAL	GRAU	A	B	C	TOTAL
0	3	2	1	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	6
1+2+3	6	7	8	21	1+2+3	9	9	9	27	1+2+3	9	9	9	27	1+2+3	7	7	7	21

DEGENERAÇÃO DA SUBSTÂNCIA NERVOSA																			
CONTROLE					SUTURA					MEMBRANA DE COLÁGENO					COLA DE FIBRINA				
GRAU	A	B	C	TOTAL	GRAU	A	B	C	TOTAL	GRAU	A	B	C	TOTAL	GRAU	A	B	C	TOTAL
0+1	4	4	4	12	0+1	4	3	4	11	0+1	2	0	2	4	0+1	5	5	5	15
1+2	5	5	5	15	1+2	5	6	5	16	1+2	7	9	7	23	1+2	4	4	4	12

INFILTRADO CELULAR																			
CONTROLE					SUTURA					MEMBRANA DE COLÁGENO					COLA DE FIBRINA				
GRAU	A	B	C	TOTAL	GRAU	A	B	C	TOTAL	GRAU	A	B	C	TOTAL	GRAU	A	B	C	TOTAL
0	7	6	6	19	0	4	2	4	10	0	4	3	4	11	0	3	3	3	9
1+2+3	2	3	3	8	1+2+3	5	7	5	17	1+2+3	5	6	5	16	1+2+3	6	6	6	18

TABELA 3 GRAU DE ALTERAÇÃO MEDULAR DETERMINADO PELA ANÁLISE HISTOLÓGICA. COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS DO GRUPO CONTROLE EM RELAÇÃO AOS DE CADA TÉCNICA DE REPARAÇÃO, SUTURA, MEMBRANA DE COLÁGENO E COLA DE FIBRINA, AOS PARES, PELO TESTE DE QUI-QUADRADO OU, NA IMPOSSIBILIDADE DE SEU USO, PELO TESTE EXATO DE FISHER ($\alpha=0,05$ – BILATERAL)

			NECROSE					
GRAU	CONTROLE	SUTURA	GRAU	CONTROLE	MEMBRANA COLÁGENO	GRAU	CONTROLE	COLA FIBRINA
0	18	7	0	18	20	0	18	2
1+2+3	9	20	1+2+3	9	7	1+2+3	9	25
Qui-quadrado		p=0,003*	Qui-quadrado		p=0,55	Fisher		p=0,00*
			HEMORRAGIA					
GRAU	CONTROLE	SUTURA	GRAU	CONTROLE	MEMBRANA COLÁGENO	GRAU	CONTROLE	COLA FIBRINA
0	19	20	0	19	19	0	19	17
1+2+3	8	7	1+2+3	8	8	1+2+3	8	10
Qui-quadrado		p=0,76	Qui-quadrado		p=1,00	Qui-quadrado		p=0,56
			HIPEREMIA					
GRAU	CONTROLE	SUTURA	GRAU	CONTROLE	MEMBRANA COLÁGENO	GRAU	CONTROLE	COLA FIBRINA
0	6	0	0	6	0	0	6	6
1+2+3	21	27	1+2+3	21	27	1+2+3	21	21
Fisher		p=0,02*	Fisher		p=0,02*	Qui-quadrado		p=1,00
			DEGENERAÇÃO DA SUBSTÂNCIA NERVOSA					
GRAU	CONTROLE	SUTURA	GRAU	CONTROLE	MEMBRANA COLÁGENO	GRAU	CONTROLE	COLA FIBRINA
0+1	12	11	0+1	12	4	0+1	12	15
2+3	15	16	2+3	15	23	2+3	15	12
Qui-quadrado		p=0,78	Fisher		p=0,04*	Qui-quadrado		p=0,41
			INFILTRADO CELULAR					
GRAU	CONTROLE	SUTURA	GRAU	CONTROLE	MEMBRANA COLÁGENO	GRAU	CONTROLE	COLA FIBRINA
0	19	10	0	19	11	0	19	9
1+2+3	8	17	1+2+3	8	16	1+2+3	8	18
Qui-quadrado		p=0,01*	Qui-quadrado		p=0,03*	Qui-quadrado		p=0,007*

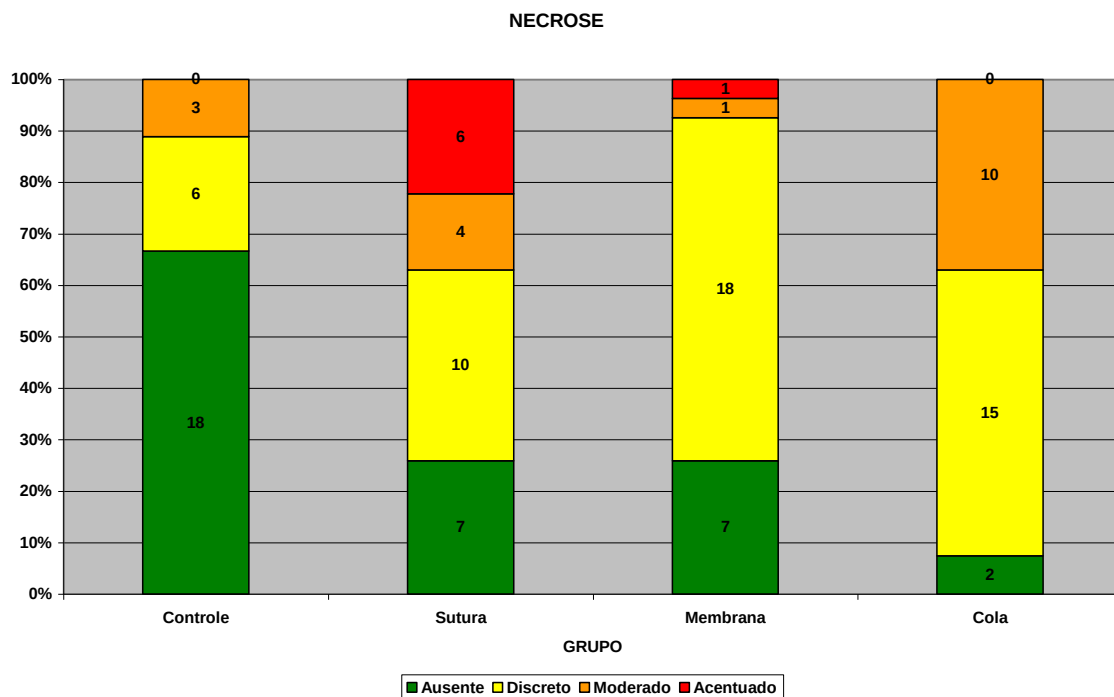


Gráfico 1 Distribuição de frequência relativa (%) do grau de necrose da substância nervosa decorrente da lesão da dura-máter no grupo controle e nos grupos reparados com sutura isolada simples, membrana de colágeno e cola de fibrina. Diagramas de empilhamento de 100%.

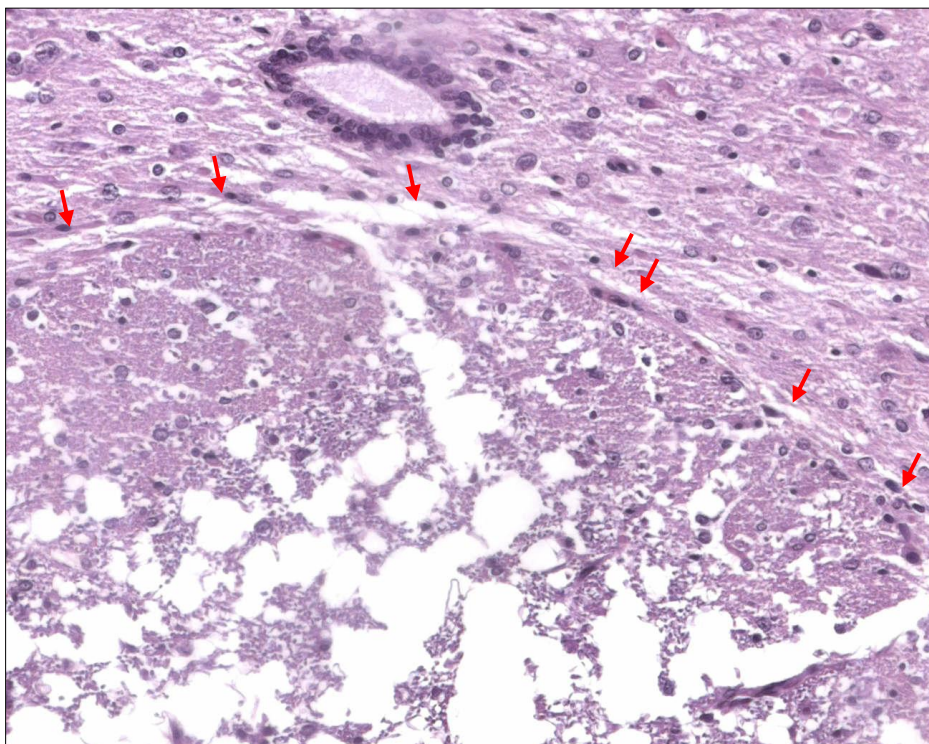


Figura 3 Imagem típica de um corte histológico de tecido medular corado com hematoxilina e eosina submetido à avaliação histológica para avaliação do grau de necrose. As setas delimitam uma região de necrose tecidual

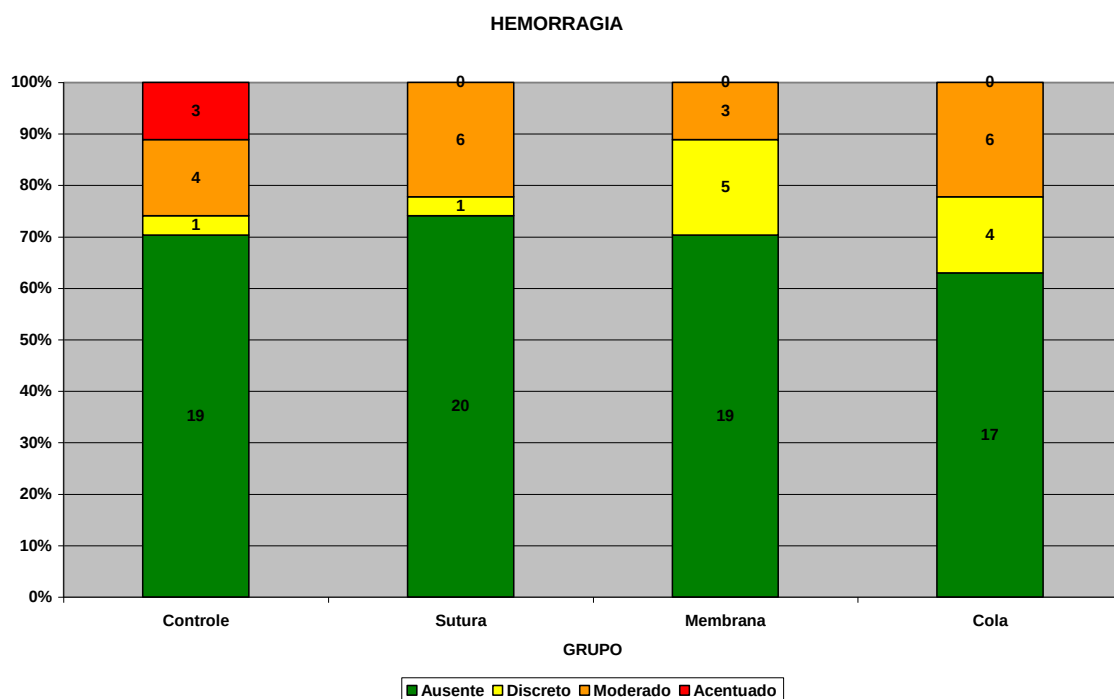


Gráfico 2 Distribuição de freqüência relativa (%) do grau de hemorragia decorrente da lesão da dura-máter no grupo controle e nos grupos reparados com sutura isolada simples, membrana de colágeno e cola de fibrina. Diagramas de empilhamento de 100%.

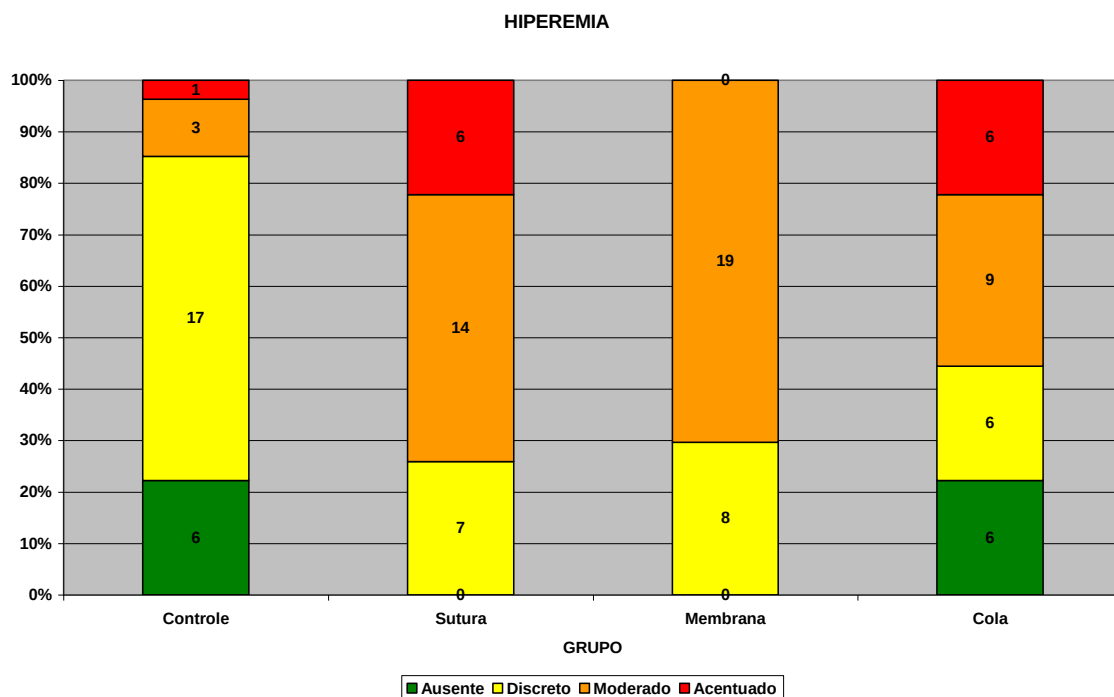


Gráfico 3 Distribuição de frequência relativa (%) do grau de hiperemia decorrente da lesão da dura-máter no grupo controle e nos grupos reparados com sutura isolada simples, membrana de colágeno e cola de fibrina. Diagramas de empilhamento de 100%.

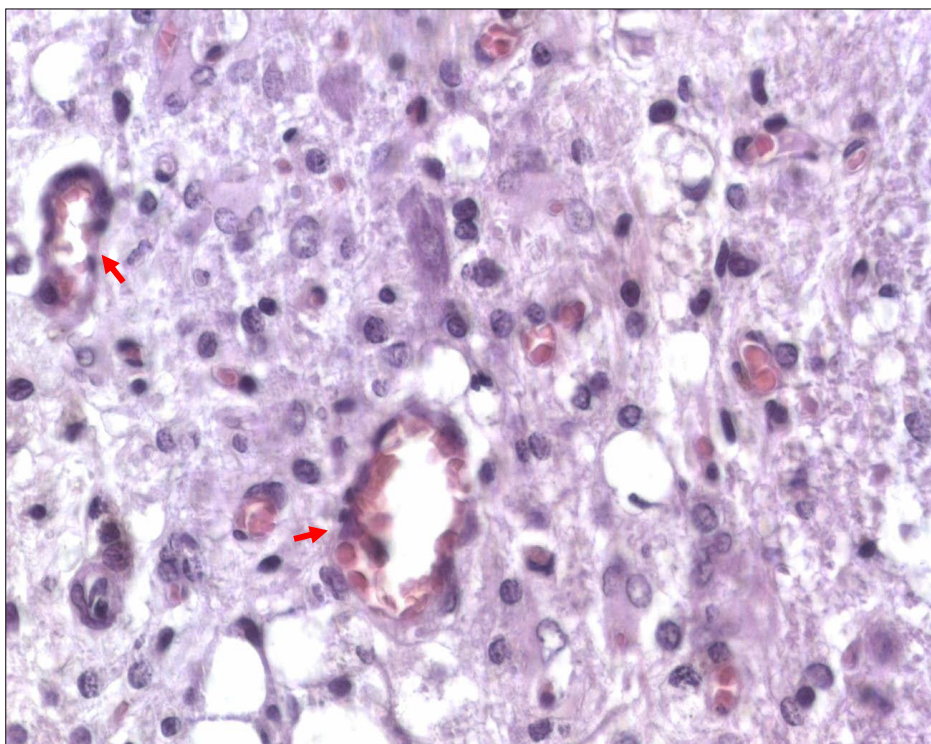


Figura 4 Imagem típica resultante de um corte histológico de tecido medular corado com hematoxilina e eosina submetido à avaliação histológica para avaliação do grau de hiperemia. As setas indicam a ocorrência de hiperemia

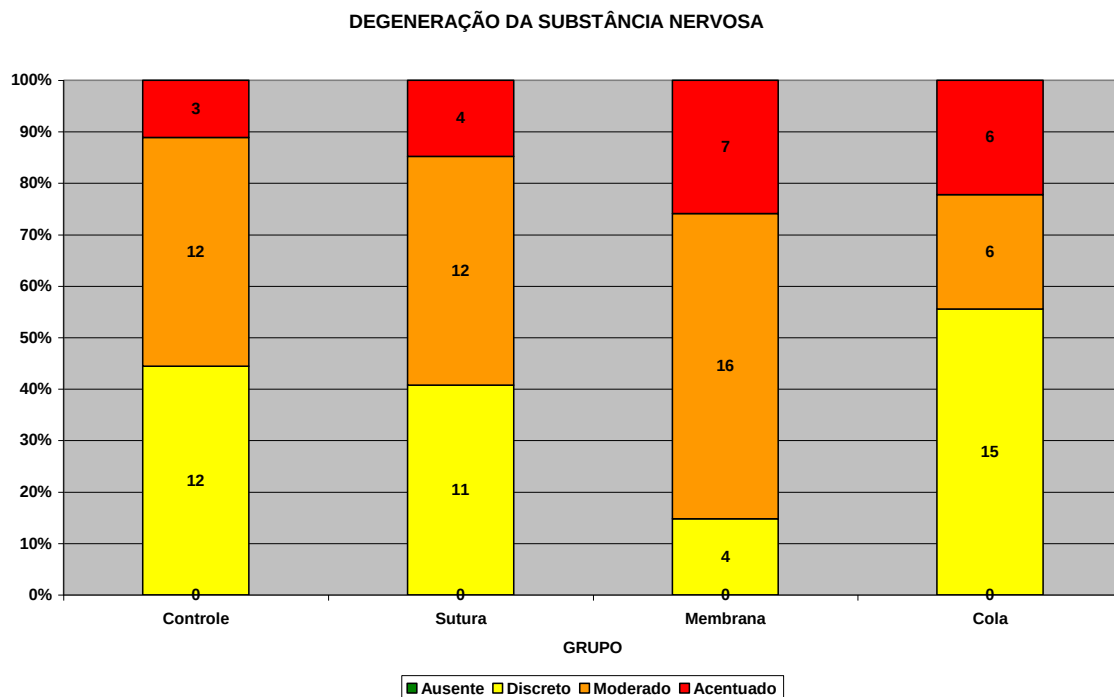


Gráfico 4 Distribuição de frequência relativa (%) do grau de degeneração da substância nervosa decorrente da lesão da dura-máter no grupo controle e nos grupos reparados com sutura isolada simples, membrana de colágeno e cola de fibrina. Diagramas de empilhamento de 100%.

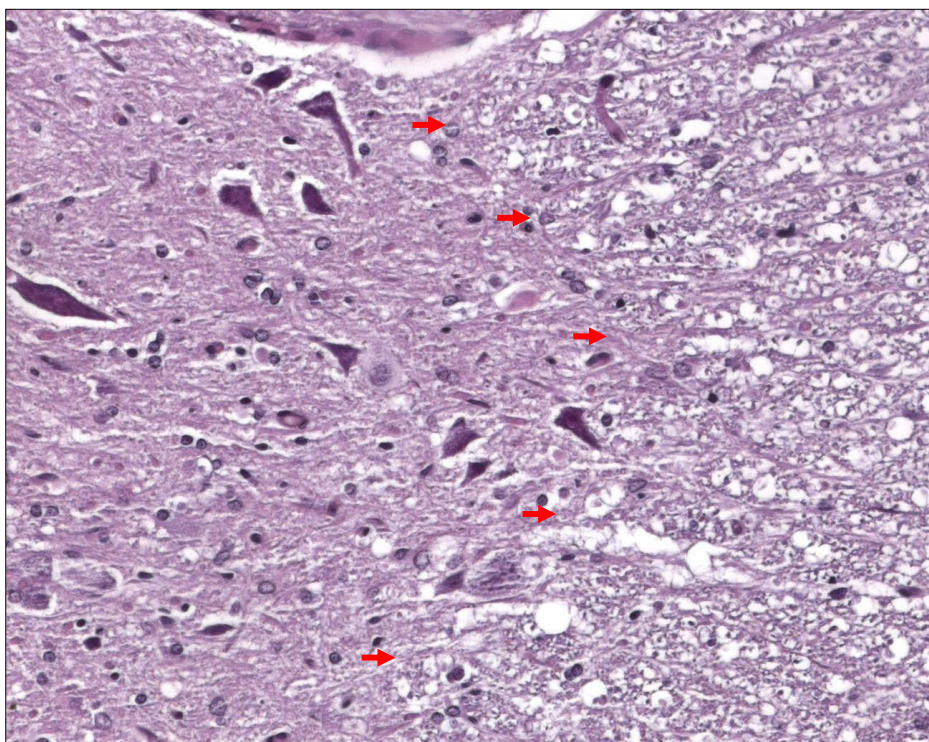


Figura 5 Imagem típica resultante de um corte histológico de tecido medular corado com hematoxilina e eosina submetido à avaliação histológica para avaliação do grau de degeneração nervosa. As setas delimitam uma área de tecido degenerado

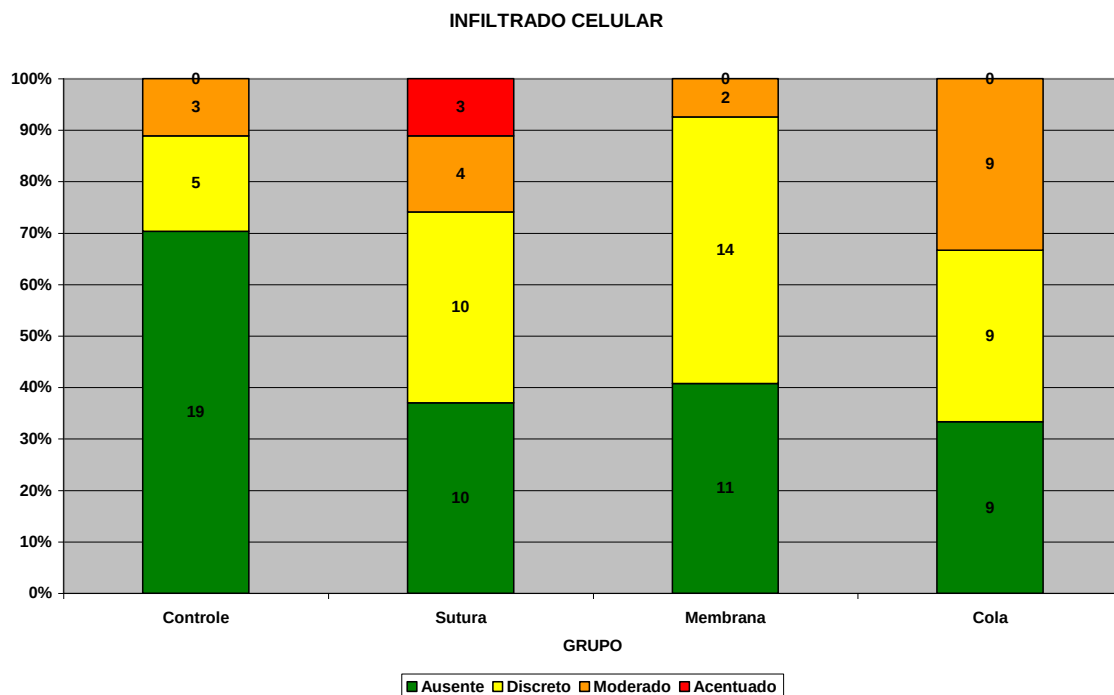


Gráfico 5 Distribuição de frequência relativa (%) do grau de infiltrado de células inflamatórias na substância nervosa decorrente da lesão da dura-máter no grupo controle e nos grupos reparados com sutura isolada simples, membrana de colágeno e cola de fibrina. Diagramas de empilhamento de 100%.

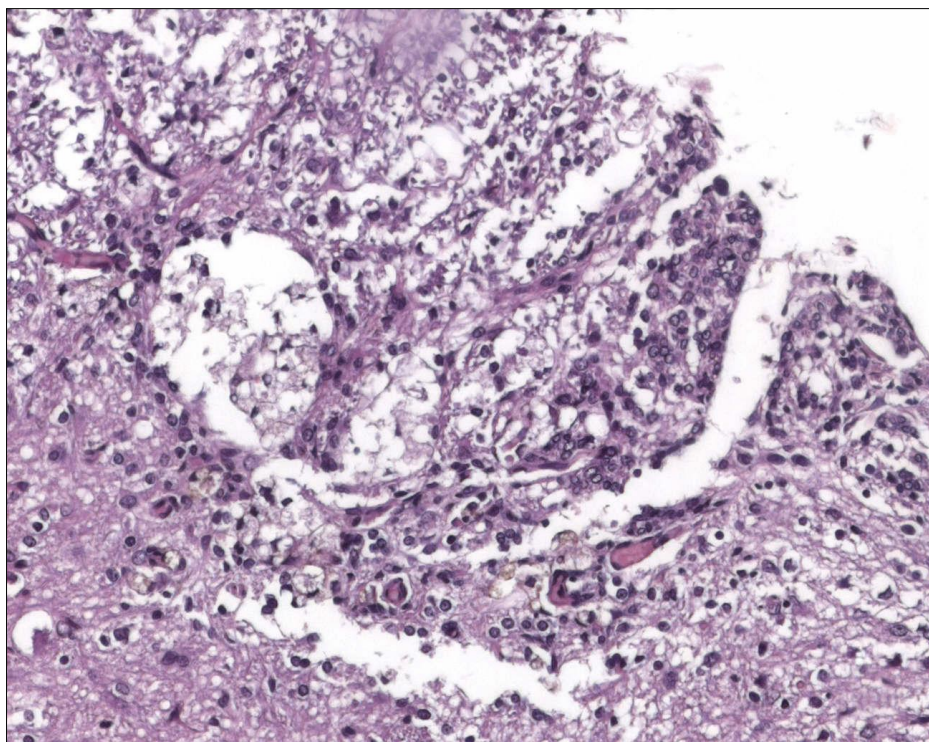


Figura 6 Imagem típica resultante de um corte histológico de tecido medular corado com hematoxilina e eosina submetido à avaliação histológica para avaliação do grau de infiltração celular. As setas indicam regiões com infiltrado de células inflamatórias

6 DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

Os fenômenos que ocorrem após a lesão da membrana dural, em qualquer nível medular, ainda não são completamente compreendidos. As publicações são insuficientes e, na maioria dos artigos, com pequenas casuísticas ou baixo número de casos (**Maurer e McDonald, 1985; Keller et al. 1984**). Não há consenso, na literatura mundial, sobre os resultados alcançados pelas técnicas e pelos materiais disponíveis no mercado para a reparação dural. Necessita-se realizar pesquisas adicionais, desenvolver melhores modelos experimentais de lesão dural em animais, estabelecer e padronizar dos métodos de avaliação e comparar continuamente as novas técnicas e materiais para a reparação dural.

A procura de melhores formas de tratamento das lesões durais obriga o desenvolvimento de modelos experimentais nos quais se possam reproduzir as novas técnicas desenvolvidas para utilização em humanos e avaliar os efeitos provocados pelos implantes e as reações produzidas nos tecidos dural e medular.

Existem inúmeros modelos de experimentação animal para o desenvolvimento das técnicas e dos materiais para a reparação dural, para a

realização dos testes de segurança, de eficácia, de eficiência e de resolutividade dos materiais implantáveis e para a avaliação da degeneração medular em modelos experimentais. Os modelos experimentais que empregam ratos são usados por muitos pesquisadores **(Galvão, 2003; Oliveira, 2005; Maurer e McDonald, 1985; Riew e Khanna, 2003)**. Usam-se, também, coelhos **(Sakas et al., 1990; Collins et al., 1991; Cain, 1988)** e modelos experimentais com animais de maior porte como cães **(Maurer e McDonald, 1985; La Rocca e Macnab, 1974)**, porcos **(Haq et al., 2005)** e primatas **(Narotam et al., 2003)**.

Os modelos experimentais para o estudo das alterações medulares em primatas, talvez, fossem mais recomendáveis devido a sua proximidade com a espécie humana na escala evolutiva e ao maior diâmetro da medula (facilidade técnica). Os altos custos, os problemas de disponibilidade e de reposição (critérios de exclusão), a maior variação do peso, da idade e das condições individuais e de motricidade, a inexistência de espaços tecnicamente adequados (dimensões, isolamento, etc), a necessidade de profissionais altamente especializados e treinados, os riscos à saúde e à integridade física desses profissionais e as considerações éticas inviabilizaram seu uso.

Decidiu-se, no entanto, pela utilização de ratos da linhagem Wistar devido à disponibilidade e qualidade dos animais e à facilidade de manejo e

armazenamento no pós-operatório. Os animais foram fornecidos pelo Centro de Bioterismo da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. O Centro de Bioterismo da FMUSP atende às exigências do International Council for Laboratory Animal Science (ICLAS) e foi o primeiro centro de reprodução e fornecimento de animais de experimentação científica na América Latina credenciado pela Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International (AAALAC). Os ratos foram fornecidos de acordo com as normas e padrões internacionais rigorosos de reprodução e manutenção (controle clínico e higiene). O controle de reprodução possibilitou obter ratos de mesmas ninhadas com controle de gênero, idade e peso. O custo de manutenção foi baixo, e a manutenção dos animais exigiu pequenos espaços, permitindo assim a manutenção simultânea de todos os animais necessários ao desenvolvimento projeto de pesquisa. A manutenção, o manejo e a eutanásia dos animais atenderam a legislação em vigor e as condições postuladas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal **(Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, 1991)**.

As análises seguiram os protocolos e procedimentos estabelecidos pelo Laboratório de Estudos do Traumatismo Raquimedular e de Nervos – LETRAN do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – IOT-HC-FMUSP. O LETRAN padronizou e vem utilizando um modelo de experimentação

animal para o estudo de alterações medulares com ratos da linhagem Wistar desde o trabalho inicial de **Rodrigues (1999)**.

Devem-se adotar critérios de inclusão rígidos, necessários para reduzir os fatores externos que podem interferir na análise dos resultados e exigir tamanhos de amostra maiores: ratos de mesma raça (linhagem) e gênero, faixa etária e de peso limitadas, controle das condições clínicas e de motricidade, segundo proposto por **Galvão (2003)**.

O estabelecimento de rigorosos critérios de exclusão levou ao descarte de um grande número de animais. A maioria devido a grande dificuldade técnica em lesar apenas a membrana dural, sem acometer o tecido neural, mesmo com todos os cuidados adotados e com a experiência dos pesquisadores do LETRAN com cirurgia em ratos e em microcirurgia. Realizou-se um rígido acompanhamento durante todo o período de manutenção dos animais e não se aceitou nenhuma alteração motora nos membros. Foram descartados 34 animais, dos quais 30 devido a lesão medular iatrogênica intra-operatória e quatro, por problemas durante os procedimentos anestésicos. Não se perdeu nenhum animal por problemas relacionados com os cuidados pós-cirúrgicos e durante o período de tempo de manutenção pós-operatória. Definiu-se um número mínimo de nove animais por grupo, repondo-os quando necessário, para manter a qualidade da análise estatística. A definição do tamanho da amostra de cada grupo

experimental baseou-se na constatação da adequação do poder-eficiência da análise estatística apresentada nos trabalhos anteriormente desenvolvidos no LETRAN **(Rodrigues, 1999; Galvão, 2003; Oliveira, 2005)**.

A maioria dos autores utiliza a região lombar **(Park e Taylor, 1998; La Rocca e Macnab, 1974; Keller et al., 1984; Hag et al., 2005)** e a região cranial **(Sakas et al., 1990; Maurer e McDonald, 1985; Collins et al., 1991)** como locais de escolha para realização de testes com substitutos duros.

A opção pela produção de uma lesão dural através de laminectomia na região torácica deveu-se à maior facilidade de identificação de possíveis lesões iatrogênicas na medula vertebral, causadas pela técnica cirúrgica, através de parâmetros clínicos, permitindo a exclusão de animais com quaisquer alterações motoras. Optou-se pelo nível torácico devido a constatação de que a grande maioria dos casos de lesão dural iatrogênica ocorrem ao nível lombar e que a ocorrência de lesões com acometimento dural, no caso de fraturas, equivalem-se quanto a região, lombar e torácica **(Carl et al., 2000; Aydınli et al., 2001)**.

A escolha do anestésico para ser utilizado em trabalhos experimentais com animais é importante. Necessita-se que seja seguro, que não interfira nos sinais vitais, que possa ser administrado por várias vias, que não seja tóxico ou que interfira nos resultados finais. A utilização do pentobarbital por

via intraperitoneal mostra-se seguro e eficiente para a realização dos procedimentos cirúrgicos em estudos experimentais e é adotado por vários autores. A dose ótima pode variar, dependendo de muitos fatores. O início do efeito da anestesia nos ratos ocorre em torno de cinco minutos após a aplicação. O plano anestésico profundo é confirmado pela ausência dos reflexos da córnea e pela ausência de reação à compressão da cauda **(Rodrigues, 1999; Galvão, 2003; Oliveira, 2005)**. A escolha do anestésico seguiu a padronização desenvolvida e adotada no LETRAN. A dose de pentobarbital empregada foi suficiente para anestesiá-los por aproximadamente duas horas.

Todo processo cirúrgico foi realizado com técnicas de anti-sepsia, materiais e instrumental cirúrgico estéril. Realizou-se a tricotomia da região dorsal.

Ao realizar a laminectomia, deve-se evitar a ressecção dos processos articulares e pedículos. Mantém-se, assim, a estabilidade local e evita-se uma compressão medular decorrente de uma cifose nos segmentos ressecados **(Oliveira, 2005; Rodrigues, 1999)**. Realizou-se a laminectomia de duas lâminas torácicas contíguas, expondo um tamanho adequado e suficiente da medula, para a realização dos procedimentos durais.

Devido às pequenas dimensões das estruturas e ao espaço extremamente restrito entre as lâminas vertebrais e a medula espinhal, utilizou-se um microscópio cirúrgico durante a laminectomia,

A lâmina de bisturi escolhida foi a de número 11. A ponta cortante tornou possível a atuação em espaços restritos. Confirmou-se a ocorrência da lesão dural no momento em que se constatou o extravasamento de líquido pelo ferimento causado.

Decidiu-se comparar as técnicas de reparação dural que utilizam os materiais comerciais mais citados e testados na literatura médica (**Cammisa et al., 2000; Narotam et al., 2004; Narotam et al., 2003; Nakamura et al., 2005; Cammisa et al., 1989; Matras et al., 1972; Riew e Khanna, 2003**), seguros (contaminação e reação de tecido hospedeiro) e disponíveis no Brasil. Procurou-se comparar as técnicas de reparação dural através de sutura com pontos isolados simples, com membrana de colágeno e com cola de fibrina

A sutura dural é um método consagrado. Pode ser associada a outros métodos. No entanto, apresenta técnicas de fechamento extremamente variáveis. Podem variar o tipo, diâmetro e material dos fios de sutura e a técnica de realização dos pontos (número, espaçamento e tipo de pontos). Utilizam-se pontos isolados simples (**Riew e Khanna, 2003; Bosacco et al., 2001; Morris e Marshall, 1999; Carl et al., 2000**), contínuos (**Megyesi et**

al., 2004; Foyt et al., 1996; Wang et al., 1998; Cain et al., 1988) ou contínuos ancorados (Cammisa et al., 2000; Saxler et al., 2005). O trabalho de Megyesi et al. (2004) demonstra uma maior eficácia da sutura com pontos isolados simples em testes “in vitro” de avaliação da resistência do fechamento da dura-máter submetida à pressão hidrostática. A possibilidade de variação dos fios, também, é grande. Os fios mais utilizados são os monofilamentos de poliamida (Nylon®) 4-0 (Carl et al., 2000), de Prolene® 6-0 (Hag et al., 2005) e de seda 3-0 (Megyesi et al., 2004), 4-0 (Foyt et al., 1996) ou 5-0 (Wang et al., 1998). Realizou-se a sutura dural com fio de poliamida (Nylon®) monofilamento 8-0 com agulha atraumática (Cain et al., 1988). O fechamento foi conseguido com três pontos isolados simples, com espaço de, aproximadamente, 1mm entre eles (Cain et al., 1988), devido ao diminuto tamanho das estruturas neurais.

A membrana de colágeno bovino escolhida foi a DuraGen® devido à disponibilidade e a facilidade de utilização. Não foi necessário suturá-la na dura-máter (não possibilita sutura). Sua fixação à dura-máter é conseguida depositando-a diretamente no sitio da lesão e gotejando solução fisiológica de NaCl à 0,9% (Narotam et al., 2003; Integra LifeSciences Corporation®, 2007). O uso de DuraGen®, como substituto ou selante de defeitos derais, é considerado seguro (contaminação e reações de tecido hospedeiro) (Narotam et al., 2003; Narotam et al., 2004; Haq et al., 2005; Stambough, 2004),

A durotomia efetuada foi de 0,5cm devido às limitação de uso do DuraGen[®] cuja aplicação é restrita às lesões de até 1cm de comprimento sem outro dispositivo de reparação dural associado **(Narotam et al., 2004; Stambough, 2004; Integra LifeSciences Corporation[®], 2007).**

Escolheu-se a cola de fibrina Beriplast[®] P devido a sua disponibilidade no mercado brasileiro e à facilidade de preparação dos dois compostos (trombina e solução de crioprecipitado) que fazem parte do kit de aplicação. Para a sua aplicação não foram necessários dispositivos especiais **(Rodrigues, 2007).**

Da mesma forma que a membrana de colágeno, a cola de fibrina, também, é considerada segura (contaminação e reação do tecido hospedeiro) **(Cantore e Guidetti, 1987; Black, 2002; Cain et al., 1988; Nakamura et al., 2005; Bosacco et al., 2001).**

Durante o período de manutenção dos ratos, não houve óbitos, infecção cirúrgica ou autofagia. Apenas os animais com alterações motoras foram excluídos. Os cuidados com o controle de temperatura, a administração de antibiótico pré e pós-operatórios e com a alimentação foram vitais. Durante este período, não se administraram antiinflamatórios para que não ocorressem alterações e interferência nos resultados.

O período de proliferação fibroblástica após lesão dural ocorre do terceiro ao décimo quarto dias **(Narotam et al., 2003)** e a resposta fibrótica natural ocorre entre a terceira e oitava semanas após a cirurgia **(Akeson et al., 2005; Keller et al., 1978)**. Determinou-se realizar a eutanásia no 24^o dia de pós-operatório, aguardando as alterações orgânicas naturais que ocorrem após as lesões do tecido dural e assegurando que o tecido estivesse no momento correto para a avaliação.

A eutanásia foi realizada de acordo com os preceitos éticos e salvaguardando os animais de qualquer dor ou sofrimento. Todos os ratos foram submetidos à eutanásia conforme legislação em vigor **(Brasil, Lei nº 11.794, 2008)** e seguindo os princípios preconizados pelo COBEA **(Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, 1991)**.

Após a eutanásia, amostras do tecido medular foram retiradas do sítio da lesão, coradas com hematoxilina e eosina e submetidas ao exame histológico. A escolha por essa coloração deveu-se a sua comprovada eficácia, ao baixo custo, à sua normalização, à familiaridade dos profissionais da Seção de Anatomia Patológica do IOT-HC-FMUSP com o método e à experiência prévia em avaliações de amostras de tecidos vertebrais de ratos das pesquisas realizadas no LETRAN **(Galvão, 2003; Oliveira, 2005)**. Essa técnica de coloração é amplamente utilizada para a avaliação histológica dos tecidos dural e medular nas pesquisas experimentais com a finalidade de identificar as alterações causadas no

tecido nervoso após a reparação da membrana dural (**Keller et al., 1984; Park e Taylor, 1998**).

A avaliação histológica classificou em ausente, discreto, moderado e acentuado o grau de necrose, de hemorragia, de hiperemia, de degeneração da substância nervosa e de infiltrado celular observadas nas lâminas dos cortes de tecido medular corados com hematoxilina e eosina (**Oliveira, 2005**). A análise foi realizada por uma única profissional, habilitada e acostumada com este tipo de avaliação.

Os resultados obtidos foram homogêneos em relação à região de origem da amostra do tecido analisado, cranial, central e caudal (Tabela 1). Compararam-se entre si, dois a dois, todos os resultados obtidos nas regiões cranial, central e caudal (comparações realizadas aos pares: cranial↔central, cranial↔caudal e central↔caudal), segundo o atributo e o grupo experimental, pelo teste de Qui-quadrado ou, na sua impossibilidade, pelo teste exato de Fisher. Nenhum resultado foi estatisticamente significativo. A menor probabilidade calculada foi $p=0,51$. Pôde-se, portanto, considerar as regiões equivalentes, agrupar os resultados e avaliar 27 lâminas (regiões) ao invés de nove ratos por grupo (Tabelas 2 e 3).

Os resultados da graduação histológica quanto ao grau de necrose, de hemorragia, de hiperemia, de degeneração da substância nervosa e de infiltrado celular no tecido medular originado dos ratos segundo o grupo

experimental (controle, sutura com pontos isolados simples, membrana de colágeno e cola de fibrina) foram apresentados na Tabela 3 e nos Gráficos de 1 a 5. Na Tabela 3, agruparam os resultados de forma a permitir a montagem de tabelas de 2x2 e possibilitar a realização de testes estatísticos. Determinou-se, assim, reunir os graus 1, 2 e 3 (discreto, moderado e acentuado, respectivamente), ou seja, os graus nos quais constatou-se a ocorrência do atributo (necrose, hemorragia, hiperemia, degeneração da substância nervosa e infiltrado celular), em relação ao grau 0 (ausência), grau no qual constatou-se a ausência da ocorrência, para todos os atributos, exceto para a *degeneração da substância nervosa*. Nos resultados do atributo *degeneração da substância nervosa* constataram-se freqüências significativas de ocorrência de alterações nas graduações mais elevadas, na maioria dos grupos. Para este atributo, optou-se por agrupar os graus de alteração de menor intensidade (0+1 ou graus ausente e discreto) e compará-los aos mais elevados (2+3 ou graus moderado e acentuado).

Analisando os resultados quanto à *necrose*, as técnicas de reparação com sutura e com a cola de fibrina apresentaram graus mais severos de necrose (1+2+3) em relação aos do grupo controle. O grau de necrose produzido pela técnica de reparação com a membrana de colágeno não diferiu do observado no grupo controle. Nos grupos controle e membrana de colágeno, prevaleceu a ausência de necrose. A técnica de reparação da dura-máter utilizando a membrana de colágeno mostrou-se mais segura e eficiente.

Quanto à *hemorragia*, não se comprovaram diferenças significativas na comparação entre os grupos em relação ao controle. Predominou a ausência de sua ocorrência no grupo controle e em todos os grupos experimentais.

Quanto a *hiperemia*, o grupo controle apresentou uma prevalência dos graus mais elevados (1+2+3). Apenas um terço dos resultados não apresentou hiperemia (grau 0). O grupo reparado com a cola de fibrina apresentou resultado semelhante e não diferiu do controle. Os grupos reparados com sutura e com membrana de colágeno, no entanto, diferiram e apresentaram a totalidade dos casos com graduação elevada de hiperemia.

Na análise da *degeneração da substância nervosa* verificou-se que a maioria dos casos apresentou alterações em graus mais elevados. Mesmo alterando-se a forma de agrupar, quase a metade dos casos apresentaram graduação elevada (2+3). Os resultados dos grupos reparados com sutura e com cola de fibrina não diferiram daqueles do grupo controle. O grupo reparado com membrana de colágeno mostrou resultados ainda mais severos e apresentou diferença significativa em relação aos do grupo controle.

Quanto ao *infiltrado celular*, o grupo controle apresenta prevalência de ausência de infiltrado (grau 0) enquanto todos os demais grupos

apresentaram maior ocorrência de alterações (graus 1+2+3). Todos os grupos apresentaram diferenças em relação ao controle.

De forma geral, as técnicas de reparação apresentaram alterações mais intensas, principalmente em relação ao infiltrado celular, onde todas as técnicas mostraram resultados bem piores (infiltração celular intensa).

A sutura isolada simples apresentou graus mais severos de necrose, hiperemia e infiltrado celular. Não diferiu em relação à hemorragia e à degeneração da substância nervosa. Não apresentou qualquer resultado superior ao do grupo controle.

A membrana de colágeno apresentou resultados semelhantes aos do grupo controle em relação à necrose e hemorragia. Apresentou resultados com graus mais elevados de alteração em relação à hiperemia, à degeneração da substância nervosa e ao infiltrado celular. Não apresentou resultados melhores do que os do grupo controle em relação a qualquer atributo.

A reparação com cola de fibrina apresentou piora em relação ao grau de necrose e de infiltrado celular. Não apresentou diferença em relação aos demais atributos. Não apresentou melhora em nenhum atributo.

Os resultados do estudo, após a análise estatística, foram diferentes daqueles vistos na literatura. A presença de alterações medulares em todos os grupos, até mesmo no grupo controle, nos levou a cogitar algumas possíveis causas para os resultados: as alterações medulares seriam geradas pela técnica cirúrgica ocorrendo uma lesão iatrogênica medular, mas sem repercussão clínica; os materiais estudados poderiam causar alterações no tecido neural; o simples contato do tecido neural com o meio extra-dural, após a lesão, seria a causa das alterações, levando a mesma cascata de alterações que ocorre nas lesões medulares traumáticas. Apesar de todos os grupos terem apresentado alterações medulares, ficou evidente que a maior intensidade ocorreu nos grupos em que se utilizaram materiais de fechamento dural, gerando polemica. Mesmo que tivesse ocorrido uma lesão iatrogênica da medula em todos os grupos, não haveria justificativa para o aumento de alterações nos grupos com materiais.

Apesar de não existir uma forma ideal para a reparação dural, existe o consenso que a lesão deve ser sempre reparada na forma aguda, a fim de evitar e prevenir complicações e seqüelas.

As seqüelas de uma lesão dural a curto prazo são apontadas na literatura mundial, podendo ocorrer meningite, aracnoidite, fistula líquórica e pseudocisto (**Wang et al., 1998; Cain et al., 1988; Bosacco et al., 2001; Nakamura et al., 2005**). A longo prazo, as complicações não apresentam consenso. Os trabalhos prospectivos são poucos e as casuísticas limitadas.

Não são relatadas alterações na qualidade de vida dos pacientes quando a lesão da dura-máter é reparada adequadamente no intra-operatório (**Cammisa et al., 2000; Bosacco et al., 2001; Wang et al., 1998**). **Saxler et al. (2005)**, após estudo retrospectivo em 1.280 pacientes, com acompanhamento de 10 anos, refere um aumento significativo de queixas de dores na região lombar e a incapacidade de retorno ao trabalho e às práticas esportes. O estudo retrospectivo de **Tamaki et al. (1988)**, com reparação e fechamento dos casos de mielomeningoceles, mostra que, a longo prazo, ocorre um grande potencial de adesão no local da reparação, o que pode provocar dorsalgia, presente em 14% dos casos.

A literatura internacional não apresenta consenso sobre as alterações medulares que podem ocorrer após a reparação dural espinal. Alguns trabalhos mostram desde nenhuma alteração até áreas de necrose, associadas, ou não, com fibrose e aderência local. Os trabalhos que avaliam as alterações do sistema nervoso central, também, não chegam a um consenso. **Park (1998)** mostra que todos os animais submetidos à reparação da dura-máter com substitutos duros apresentam alguma adesão entre o material implantado e o tecido neural na medula espinal. Não se verifica desmielinização ou perda axonal, mas em um animal cuja dura-máter é reparada com filme de colágeno e em três reparados com enxerto de dura-máter liofilizada, ocorre degeneração medular em uma pequena área na região dorsal, após oito semanas. **Sakas et al. (1990)**, com dois tipos de substitutos duros a base de membrana de colágeno, no sistema

nervoso central, em coelhos da raça Nova Zelândia, não detectam aderências ou qualquer alteração tecidual. **Maurer et al. (1985)**, realizam estudo com dois métodos de reparação dural no sistema nervoso central, um com fascia temporal retirada e recolocada e outro com Gelfoan[®]. O Gelfoan[®] apresenta alto grau de inflamação. Esses resultados são corroborados por **Keller et al. (1984)** que realizam estudo com materiais de reparação e mostram que no grupo que utiliza Dura Film[®] ocorre uma larga protusão ventral na face reparada da dura-máter. **Haq et al. (2005)** realizam a reparação dural, ao nível de L1, com os materiais Surgicel[®], DuraGen[®], Preclude[®] e Durasis[®]. Afirmam que no grupo reparado com DuraGen[®], a medula não apresenta nenhuma alteração histológica. O DuraGen[®] é o material que produz o melhor resultado. A reparação com Preclude[®] apresenta o maior índice de reação tecidual, fibrose e reação inflamatória crônica. **Tamaki et al. (1988)** demonstram que a reparação de mielomeningocele apresenta, tardiamente, aderência em todos pacientes. **Collins et al. (1991)** avaliam a reparação de dois grupos. No primeiro reparam a lesão do sistema nervoso central com colágeno bovino tipo 1 e no segundo, deixam a lesão sem reparação. Não detectam sinal de necrose ou de inflamação. **Nakamura et al. (2005)** apresentam estudo em pacientes submetidos à ressecção tumoral medular com reparação dural com sutura associada aos materiais Beriplast[®] P, DuraGen[®] e cola de fibrina autóloga. Os pacientes com DuraGen[®] apresentam um aumento da drenagem local de secreção. **La Rocca e Macnab, 1974** afirmam que quanto maior a extensão da laminectomia, maior a extensão da fibrose. **Aliredjo et al. (1999)** relatam

um caso com paciente submetido a fechamento de defeito dural congênito com Gore-Tex® e não identificam fibrose ou adesão neural. **Tamaki et al. (1988)** detectam fibrose e aderência, através da ressonância magnética, em todos os casos de fechamento de mielomeningocele, sendo que 15% dos pacientes apresentam deterioração neural tardia. **Hoffman et al. (1985)** realizam um estudo retrospectivo com pacientes com lipomielomeningocele reparada e defendem que, quanto mais precoce a reparação, as seqüelas neurológicas serão menores.

O material de reparação dural ideal deve ser a própria dura-máter do paciente, porém a realização de enxerto autólogo não é possível. Trabalhos com dura-máter liofilizada de cadáveres apresentam resultados positivos importantes e baixo custo. Não é possível estabelecer correlação entre os casos de infecção e o material implantado, conforme os estudos de **Cantore et al. (1987)** e **Abbott e Dupree (1971)**. **Kanamori et al. (2001)** utiliza tecido adiposo para a proteção da dura-máter com bons resultados. Os aspectos legais, a pressão econômica e as dificuldades que existem na captação de tecidos e para garantir a segurança desses tecidos quanto ao risco de transmissão de doenças, diminuem o uso destes importante material (enxertos homólogos).

Alguns métodos de reparação dural produzem maus resultados que, apenas, são identificados após muito tempo de uso. Os adesivos de cianoacrilato, usados por mais de 20 anos no tratamento de aneurismas

intracraniais, geram necrose e lesão da substancia neural **(Cain et al., 1988)**, da mesma forma, o laser **(Foyt et al., 1996)**.

Os materiais sintéticos e biológicos (enxertos homólogos e heterólogos) de reparação dural devem ser exaustivamente testados através de vários modelos experimentais e em várias regiões do sistema nervoso de forma a aumentar a segurança e evitar possíveis danos ao paciente.

As técnicas avaliadas não se mostraram adequadas. Todas provocaram alterações teciduais intensas.

Após os resultados obtidos neste estudo e, apesar da vasta revisão bibliográfica, perguntas mantêm-se sem respostas. Qual a causa das alterações medulares encontradas em todos os grupos estudados? A exposição medular ao meio externo tem alguma relação com os resultados? Como se certificar da ocorrência de uma lesão iatrogênica, quando não há repercussão clínica imediata?

Novos estudos são necessários. Devem realizar-se estudos com objetivo de identificar as causas das alterações medulares após a lesão dural. São necessários, também, estudos complementares com os materiais utilizados para reparação dural (duroplastias), principalmente os de origem sintética, para certificar-se sobre sua inércia tecidual. São realmente inócuos? Como evitar ou prevenir essas alterações?

7 CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

- A lesão da dura-máter produziu alterações na medula, principalmente hiperemia;
 - Os métodos de reparação da dura-máter provocaram alterações medulares mais intensas;
 - Os métodos de reparação da dura-máter com sutura e com cola de fibrina agravaram a necrose;
 - Os métodos de reparação da dura-máter com sutura e com membrana de colágeno agravaram a hiperemia;
 - Todos os métodos de reparação apresentaram graus mais intensos de infiltração celular;
 - O método de reparação da dura-máter com membrana de colágeno agravou a degeneração da substância nervosa.
-

8 REFERÊNCIAS

8. REFERÊNCIAS

Abbott WM, Dupree EL Jr. Clinical results of lyophilized human cadaver dura transplantation. J. Neurosurg. 1971; 34: 770-73.

Akeson WH, Massie JB, Huang B, Giurea A, Sah R, Garfin SR, Kim CW. Topical high-molecular-weight hyaluronan and a roofing barrier sheet equally inhibit postlaminectomy fibrosis. The Spine Journal 2005; 5:180-190.

Aliredjo RP, de Vries J, Menovsky T, Grotenhuis JA, Merx J. The use of Gore-Tex membrane for adhesion prevention in tethered spinal cord surgery: Technical case reports. Neurosurgery. 1999, 44(3): 674-77.

Aydınlı U, Karaeminogulları O, Tiskaya K, Ozturk C. Dural tears in lumbar burst fractures with greenstick lamina fractures. Spine. 2001; 26:E410-E415.

Black P. Cerebrospinal fluid leaks following spinal surgery: use of fat grafts for prevention and repair. J. Neurosurg (Spine). 2002; 96: 250-52.

Bosacco SJ, Gardner MJ, Guille JT. Evaluation and treatment of dural tears in lumbar spine surgery: A Review. Clin Orthop. 2001; 389:238-47.

Brasil. Leis etc. Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 8

de maio de 1979; e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília (DF). 2008 9 out.; Seção 1:1.

Cain JE, Dryer RF, Barton BR. Evaluation of dural closure techniques. Suture methods, fibrin adhesive sealant, and cyanoacrylate polymer. Spine. 1988;13:720-5.

Carl AL, Matsumoto M, Whalen JT. Anterior dural laceration caused by thoracolumbar and lumbar burst fractures. J Spinal Disord. 2000; 13:399-403.

Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Princípios éticos na experimentação animal. COBEA; 1991 jun. [acessado em 2006]. Disponível em <http://www.cobea.org.br/etica.htm#3>.

Cammisa FP, Eismont FJ, Green BA. Dural laceration occurring with burst fractures and associated laminar fractures. J Bone and Joint Surg 1989; 71-A: 1044-52.

Cammisa FP, Girardi FP, Sangani PK, Parvataneni HK, Cadag SBS, Sandhu SH. Incidental durotomy in spine surgery. Spine. 2000, 25(20): 2663-7.

Cantore G, Guidetti B, Delfini R. Neurosurgical use of human dura mater sterilized by gamma rays and stored in alcohol: long-term results. J Neurosurg. 1987; 66: 93-95.

Collins RLL, Christiansen D, Zananis GA, Silver FH. Use of collagen film as a dural substitute: Preliminary animal studies. J Biomed Mater Res 1991; 25: 267-276.

Foyt D, Johnson JP, Kirsch AJ, Bruce JN, Wazen JJ. Dural closure with laser tissue welding. Otolaryngology -Head and Neck Surgery. 1996; 513-8.

Galvão PEC. Avaliação funcional e histológica do efeito da oxigenoterapia hiperbárica em ratos com lesão medular contusa. São Paulo, 2003. 35-50. Tese (mestrado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

Haq I, Cruz-Almeida Y, Siqueira EB, Norenberg M, Green BA, Levi AD. Postoperative fibrosis after surgical treatment of the porcine spinal cord: a comparison of dural substitutes. Invited submission from the Joint Section Meeting on Disorders of the Spine and Peripheral Nerves. J Neurosurg Spine 2005; 2(1): 50-4.

Hoffman HJ, Taecholarn C, Henderick EB, Humphreys RP. Management of lipomyelomeningoceles: Experience at the Hospital for Sick Children, Toronto. J Neurosurg 1985; 62: 1-8.

Integra LifeSciences Corporation. DuraGen[®]: matriz de enxerto dural [instruções de utilização]. Plainsboro: Integra LifeSciences Corporation; 2008. [acessado em 2007]. Disponível em <http://www.integrals.com/PDFs/Duragen%20International%20PI.pdf>.

Kanamori M, Kawaguchi Y, Ohmori K, Kimura T, Ysuji H, Matsui H. The Fate of Autogenous Free-Fat Grafts After Posterior Lumbar Surgery. *Spine* 2001, 26 2258-2263.

Keller JT, Dunsker SB, McWhorter JM, Ongkiko CM Jr, Saunders MC, Mayfield FH. The fate of autogenous grafts to the spinal dura: An experimental study. *J Neurosurg* 1978; 49: 412-418.

Keller JT, Ongkiko CM Jr, Saunders MC, Mayfield FH, Dunsker SB. Repair of spinal dural defects: An experimental study. *J Neurosurg* 1984; 60: 1022-1028.

La Rocca H, Macnab I. Laminectomy membrane: studies in its evolution, characteristics, effects, and prophylaxis in dogs. *J Bone Joint Surg (Br)* 1974, 56: 545-50.

Matras VH, Dinges HP, Lassmann H, Mamoli B. Suture-free interfascicular nerve transplantation in animal experiments. *Wien Med Wochenschr*, 1972, p. 517-23.

Maurer PK, McDonald JV: Vicryl (polygalactina 910) mesh as a dural substitute. *J Neurosurg* 1985; 63: 448-452.

Megyesi JF, Ranger A, MacDonald WB, Del Maestro RF. Suturing Technique and the Integrity of Dural Closures: An in Vitro Study. *Neurosurgery* 2004 55(4):950-955.

Morris GF, Marshall LF. Cerebrospinal fluid leaks: etiology and treatment. In: Herkowitz HN, Garfin SR, Balderston RA, Eismont FJ, Bell GR, Wiesel SW. Rothman-Simeone, The spine. Philadelphia: W.B. Saunders Company 1999; p.1733-9.

Nakamura H, Matsuyama Y, Yoshihara H, Sakai Y, Katayama Y, Nakashima S, Takamatsu J, Ishiguro N. The effect of autologous fibrin tissue adhesive on postoperative cerebrospinal fluid leak in spinal cord surgery: a controlled trial. Spine 2005; 30:E347-51.

Narotam PK, José S, Nathoo N, Taylon C, Vora Y. Collagen matrix (DuraGen®) in spinal durotomy. Apresentado no 18th Annual Meeting of the North American Spine Society .October 21-25, 2003.San Diego, Califórnia.

Narotam PK, José S, Nathoo N, Taylon C, Vora Y. Collagen Matriz (DuraGen®) in Dural Repair: Analysis of a New Modified Technique. Spine 2004, 29(24): 2861-2867.

Oliveira AR. Efeitos do tempo da descompressão medular no traumatismo raquimedular: estudo experimental em ratos São Paulo, 2005. 36-37. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

Park YK, Taylor CH. Prevention of Arachnoiditis and postoperative Tethering of the Spinal Cord with Gore-Tex® Surgical Membrane: An Experimental Study with Rats. Neurosurgery 1998, 42(4): 813-23.

Rodrigues MAIL. Beriplast® P: selante de fibrina [bula de produto implantável]. São Paulo: ZLB Behring Comércio de Produtos Farmacêuticos Ltda.; 2007.

Rodrigues, NR. Padronização da lesão medular espinal em ratos Wistar. São Paulo, 1999. 92p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

Riew KD, Khanna N. Treatment of Cerebrospinal fluid leaks. In: Vacarro AR, Betz RR, Zeidman SM. Principles and practice of spine surgery. Philadelphia: Mosby; 2003. p.735-43.

Sakas DE, Charnvises K, Borges LF, Zervas NT. Biologically inert synthetic dural substitutes. Appraisal of a medical-grade aliphatic polyurethane and a polysiloxane-carbonate block copolymer. J. Neurosurg 1990; 73: 936-940.

Stambough F. Point of View. Spine 2004, 29(24): 2868-9.

Saxler G, Krämer J, Barden B, Kurt A, Pförtner J, Bernsmann K. The Long-term Clinical Sequelae of Incidental Durotomy in Lumbar Disc Surgery. Spine 2005, 30(20): 2298-02.

Tamaki N, Shirataki K, Kojima N, Shoue Y, Matsumoto S: Tethered cord syndrome of delayed onset following repair of myelomeningocele. J Neurosurg 1988; 69: 393-398.

Wang JC, Bohlman HH, Riew KD. Dural tears secondary to operations on the lumbar spine: management and results after a two-year-minimum follow-up of eighty-eight patients. *J Bone Joint Surg* 1998; 80-A:1728-1732.
