

Estudo experimental da influência da atividade muscular da face sobre o esqueleto da mesoestrutura facial em coelhos

Experimental study on the influence of facial muscle activity on the facial mesostructure bones in rabbits

Andre Ricardo Mateus¹, José Eduardo Lutaif Dolci², Henrique Olavo de Olival Costa³, Flávia Coelho Sousa⁴, Noemi di Biase⁵

Palavras-chave: face, músculos faciais, paralisia facial.
Keywords: face, facial muscles, facial palsy.

Resumo / Summary

A partir do conceito da matriz funcional, surgiu a hipótese de que são os tecidos moles atuando sobre determinada peça óssea que determinam o processo de crescimento facial. A possibilidade de modificar a influência muscular, seja na fase de desenvolvimento facial, seja em pós-operatórios de cirurgia corretiva é de grande importância preventiva e deveria ser mais bem investigada, uma vez que poderia subtrair o número e magnitude destes procedimentos. **Desenho do Estudo:** Experimental em coelhos. **Objetivo:** Estimar a relevância da atividade muscular sobre o esqueleto facial, em coelhos de experimentação, durante sua fase de desenvolvimento facial. **Material e Método:** Foram estudados 37 coelhos de 2 meses de idade, divididos em grupo de estudo e grupo controle e seguidos por um período de 4 meses. Os animais do grupo de estudo tiveram seus nervos faciais seccionados no seu ramo cervical unilateralmente. O esqueleto da mesoestrutura facial era retirado para estudo morfométrico por programa de computação gráfica em fotografias digitalizadas realizadas nas peças. Os resultados obtidos sofreram análise estatística comparativa. **Conclusão:** Ausência de atividade muscular em uma metade da face produz desvio lateral da mesoestrutura facial para o mesmo lado em coelhos em desenvolvimento.

Based on the functional matrix concept, scientists developed the hypothesis that soft tissue acting on certain bone pieces determines the process of facial growth. The possibility to modify muscle influence in the phase of facial development, or in postoperative of corrective surgery is of great preventive importance and it should be better investigated, since it could reduce the number and impact of these procedures. **Study design:** experimental in rabbits. **Aim:** to estimate the relevance of facial muscle activity on facial bones in lab rabbits. **Materials and Methods:** 37 rabbits of two months of age were studied, divided in a study group and a control group, were followed up for a period of 4 months. The study group animals had their facial nerves cut at the cervical root in one side. The facial mesostructure of the animals was removed in block for later morphometric studies through computer graphics made out of the digital pictures of the specimens. Results were submitted for comparative statistical analysis. **Conclusion :** The lack of muscle activity in half of the face produces an ipsilateral shift of the facial mesostructure in developing rabbits.

¹ Mestre, otorrinolaringologista do Hospital Santa Catarina, São Paulo, SP.

² Doutor, Diretor do Departamento de Otorrinolaringologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo.

³ Doutor, Coordenador do Conselho do Curso de Pós-graduação em Otorrinolaringologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo.

⁴ Veterinária, Responsável pelo biotério do ICAO, Instituto de Ciências Avançadas em Otorrinolaringologia.

⁵ Doutora, otorrinolaringologista.

Este artigo foi submetido no SGP (Sistema de Gestão de Publicações) da RBORL em 4 de junho de 2007. cod.4584

Artigo aceito em 15 de julho de 2008.

INTRODUÇÃO

O estudo da embriologia e do crescimento cranio-maxilofacial têm trazido conceitos de importância fundamental na compreensão e tratamento das deformidades congênicas e adquiridas da face¹.

A partir das constatações de que a face cresce para frente e para baixo, e que cada peça óssea que a compõe apresenta sítio de ossificação com início e velocidade de formação distintas, diversas teorias tentam explicar como se dá este fenômeno².

A face do ser humano se desenvolve numa projeção para anterior e inferior³.

Segundo a teoria do septo nasal é o crescimento endocondral desta cartilagem que promove uma força física de deslizamento sobre a crista nasal o que desloca a maxila para frente e para baixo promovendo, assim, essa forma de crescimento³.

Para a teoria da matriz funcional seria a influência das partes moles atuando sobre as diferentes peças ósseas que compõem a face o fator determinante da sua forma de crescimento e desenvolvimento anterior e inferior⁴.

A compressão do perióstio diminui o aporte sanguíneo tecidual local e leva a ativação dos osteoclastos e, conseqüentemente, a reabsorção óssea subjacente. De maneira inversa, a força de tração sobre o perióstio leva à ativação dos osteoblastos com aposição óssea no esforço de manter o osso aderido a sua membrana de revestimento⁵.

A força imprimida pelo desenvolvimento da cartilagem do septo nasal³ é útil somente na fase de crescimento e desenvolvimento intra-uterino, e perderia importância para as forças extrínsecas promovidas pelas partes moles após o nascimento⁴⁻⁶.

Toda remodelação externa numa peça óssea é invariavelmente acompanhada por um fenômeno fisiológico inverso no sítio interno correspondente. Isso garante que a peça óssea seja remodelada e não apenas espessada⁶.

A Figura 1 representa a disposição anterior e inferior dos grupos musculares que atuam na mesoestrutura facial dos coelhos e dos humanos.

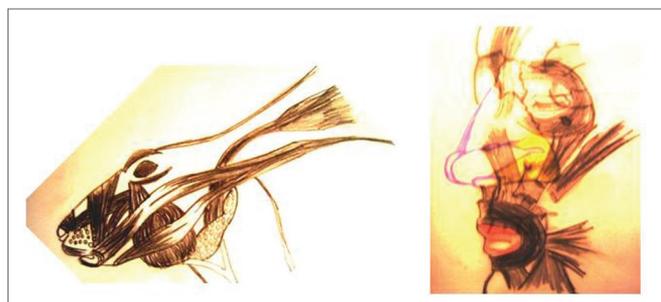


Figura 1. Representação esquemática comparativa dos músculos da mesoestrutura facial em humanos e em coelhos (Mateus, 2007).

A partir da compreensão da teoria da matriz funcional⁴⁻⁶ e da sua provável influência sobre a projeção anterior e inferior da face durante o seu crescimento e desenvolvimento^{3,5} surge a possibilidade de uma diferença entre a força produzida pela contração dos músculos de cada uma das metades da face induzir uma assimetria facial⁷.

A Figura 2 demonstra os vetores das forças produzidas pela atividade muscular facial em cada uma das metades da face:

A susceptibilidade da unidade esquelética do complexo nasomaxilar, devido a sua situação na linha mediana e no centro da face, a esta influência teria grande importância para a cirurgia reconstrutiva da face e, em particular, para a rinologia. Em virtude disto, resolvemos realizar um estudo experimental para estimar a influência da atividade muscular facial sobre o esqueleto da mesoestrutura da face.

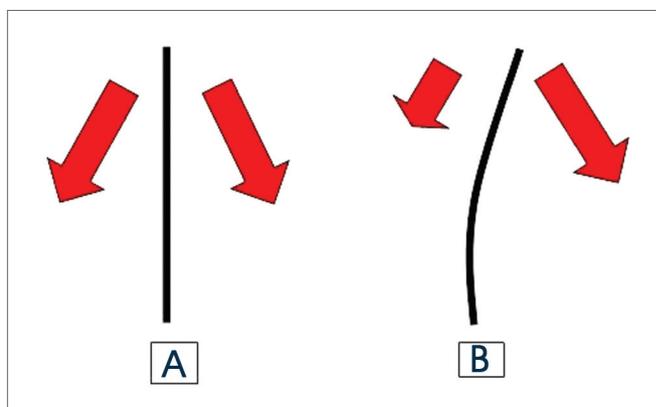


Figura 2. Setas representam os vetores das forças produzidas pelos músculos que atuam em ambas as metades da face. (A) de forma simétrica, e (B) de forma assimétrica (Mateus, 2007).

OBJETIVO

Estimar a influência da atividade muscular facial sobre o crescimento e o desenvolvimento do esqueleto da mesoestrutura da face em coelhos.

MATERIAL E MÉTODO

O projeto desta pesquisa foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal de acordo com protocolo número 137.

A vivisseção dos animais obedeceu aos princípios éticos na experimentação postulados pelo Código Brasileiro de Experimentação em Animais (COBEA) e de acordo com a Lei Federal nº 6638 de oito de maio de 1979.

Foi realizado um pré-estudo com 5 coelhos para padronizar a técnica cirúrgica utilizada neste trabalho. Um desses coelhos foi dissecado para estudo anatômico⁸⁻¹⁰.

Foram selecionados 37 coelhos Nova Zelândia com idade de dois meses (fase de maior crescimento do animal),

sem distinção pelo sexo e com bom estado nutricional, pesando entre 1300 gramas e 1670 gramas. A musculatura perinatal teve sua atividade conferida bilateralmente e em todos os animais através da pesquisa do parâmetro clínico do movimento das vibrissas nasais¹¹.

A amostra de coelhos foi dividida de forma aleatória em dois grupos:

Controle - composta de 19 coelhos que se desenvolveram durante o período do estudo sem qualquer interferência.

Operados - composta de 18 coelhos que foram submetidos a procedimento cirúrgico que promoveu paralisia facial periférica unilateral do grupo muscular perinatal. O lado a ser operado foi definido de forma randomizada, sendo 13 coelhos operados do lado direito e 5, do lado esquerdo.

A vivisseção foi realizada após período de adaptação dos animais ao biotério. O procedimento foi orientado por veterinária com experiência no trato de animais de laboratório.

Todas as cirurgias foram realizadas por um mesmo cirurgião, o pesquisador, que utilizou técnica cirúrgica padronizada com o objetivo de promover ressecção de segmento do nervo facial com origem no forame estilomastóideo e que caminhasse em direção ao grupo muscular perinatal de uma das metades da face.

Os coelhos do grupo de estudo foram submetidos a hipnose profunda com ZoletilR (cloridrato de tiletâmida 125 mg/5 ml e cloridrato de zolazepam 125mg/5ml) na dose de 0,5 ml/Kg e NilperidolR (citrato de fentanila 50 mcg/ml e droperidol 2,5 mg/ml) na dose de 0,3 ml/Kg, aplicados por via intramuscular.

Não foi necessária a intubação traqueal de nenhum animal, sendo todos mantidos sob ventilação espontânea durante todo o procedimento.

Realizou-se, então, tricotomia da região retroauricular a ser abordada com auxílio de aparelho elétrico utilizado para tosa de animais.

Promoveu-se o posicionamento do animal na mesa operatória em decúbito lateral com a cabeça em extensão e, utilizando material asséptico, iniciava-se o procedimento, realizando a antisepsia do local a ser abordado com PovidiniR de uso tópico.

Com iluminação artificial obtida através de fotóforo com luz de halogênio de 15 Watts, da marca Welch-AllynR, realizamos a aplicação de dois ml de Xylocaína 2%R (cloridrato de lidocaína) na pele da região a ser incisada para complementar a analgesia intra-operatória.

Todos os coelhos operados receberam antibiótico-terapia profilática com penicilina G procaína (0,1 ml/ Kg) e analgesia com dipirona com dose de início já no pós-operatório imediato, e outras duas a cada 24 horas.

Pesando entre 3600 e 4050 gramas aos seis meses de vida (início da idade adulta do animal), todos os

coelhos receberam dose letal de dois ml de KCl (cloreto de potássio) 19,1% intracardíaco após hipnose profunda com mesmas drogas e doses utilizadas no procedimento cirúrgico.

Os coelhos foram, então, decepados e dissecados para obtermos o seu esqueleto craniofacial. As peças eram mantidas em potes de plástico sob conservação com formaldeído a 70 % e refrigeração a 4 graus Celsius.

Demarcações padronizadas, que permitissem avaliação a simetria da mesoestrutura facial, foram realizadas nas peças com o uso de alfinetes com extremidade esférica de cor preta com 3 milímetros de diâmetro.

Os pontos padronizados para demarcação se localizavam na face inferior da peça, por ser a região com maior número de reparos anatômicos visíveis na anatomia de superfície. Além disso, tanto pela fácil identificação dos pontos escolhidos para demarcação, quanto pelas maiores possibilidades de relação topográfica com outras estruturas anatômicas observadas nesta face de visão, possibilitaria melhor avaliação da simetria da mesoestrutura facial.

Os pontos escolhidos foram:

- ponto de intersecção entre os dentes incisivos maiores e menores, na linha mediana.
- ponto de intersecção das suturas palatinas transversa e mediana.
- face anterior de ambos os primeiros dentes molares.

As peças, previamente demarcadas, foram fotografadas por câmera digital de forma padronizada. Foi utilizada máquina digital Sony DSC - P8 Cyber shot com 3.2 Megapixel de resolução e zoom óptico de 3 vezes. Esta foi posicionada, com auxílio de tripé, a 50 centímetros da superfície plana revestida com fundo de cor verde e opaco, onde estava alojada a peça a ser fotografada. A peça era alinhada orientando o sulco longitudinal palatino no mesmo sentido de linha de cor branca, desenhada paralela ao tripé, no plano de fundo. O equipamento foi disposto sob a luz solar do dia que adentrava à janela de sala com paredes e teto de cor branca onde foram realizadas as fotografias.

As fotografias foram transportadas para notebook da marca Toshiba, Satellite, com processador Intel com 30 Gbytes de HD e 256 Kbytes de memória RAM utilizando sistema operacional WindowsRXP.

As fotografias foram, então, submetidas a análise geométrica da disposição de suas demarcações, através do uso de programa de computação gráfica CorelDRAW 12. Para tanto, traçava-se linha imaginária que unisse a demarcação da intersecção das suturas palatinas ao orifício correspondente ao canal central da medula e que seguisse orientação mediana sobreposta ao traçado da sutura palatina longitudinal. Partindo desta linha imaginária demarcada como parâmetro, iniciava-se a medição do ângulo de desvio lateral, partindo-se do ponto de demar-

ção da intersecção das suturas palatinas e traçando nova linha imaginária que unia este ponto ao da intersecção dos dentes incisivos. O ângulo de abertura entre as linhas imaginárias era determinado pelo programa de computação gráfica e representava o grau de desvio lateral da extremidade anterior da mesoestrutura facial.

Foi realizada, então, disposição em gráficos e Tabelas dos resultados obtidos e sua análise estatística, comparando os dois grupos, de controle e de estudo, através do uso do Teste T, e do Teste F.

RESULTADOS

Apresentação dos dados obtidos

A Tabela 1 demonstra que não encontramos nenhum desvio lateral com 4 graus ou mais documentado no grupo controle, ao passo que representaram 8 dos 18 animais do grupo dos operados o que significa 44,44% do total deste grupo.

Se levarmos em consideração desvios laterais maiores ou igual a 3 graus, encontramos cerca de 26% do grupo controle e, praticamente, metade do grupo dos operados (Tabela 1).

Tabela 1. Angulação em graus dos desvios laterais do esqueleto da mesoestrutura facial.

Angulação	Controle	%	Operado	%
0	4	21,05	5	27,77
1	1	5,2	1	5,55
2	9	47,36	3	16,66
3	5	26,31	1	5,55
4 ou	0	0	8	44,44
TOTAL	19	100	18	100

A Figura 3 demonstra através de gráfico onde o eixo dos valores (X) representa a angulação do desvio lateral do esqueleto da mesoestrutura facial, e o eixo dos valores (Y), os animais distribuídos em cada grupo em distribuição crescente pelo grau de seu desvio.

Podemos observar a distribuição mais homogênea do grupo controle (representado em azul) com angulações ao redor de 2 graus de desvio lateral. Já no grupo dos operados (representado em vermelho), encontramos grande parte com 4 graus de desvio ou mais, sendo a maioria ao redor de 6 graus, e o maior desvio encontrado de 11 graus.

A Figura 4 demonstra através da altura das colunas que a maioria dentre os coelhos do grupo controle (representado em azul) apresentou 2 graus de desvio lateral. Já no grupo dos operados (representado em vermelho), a maioria apresentou desvios de 4 graus ou mais, categoria, inclusive, onde não encontramos nenhum dentre os do

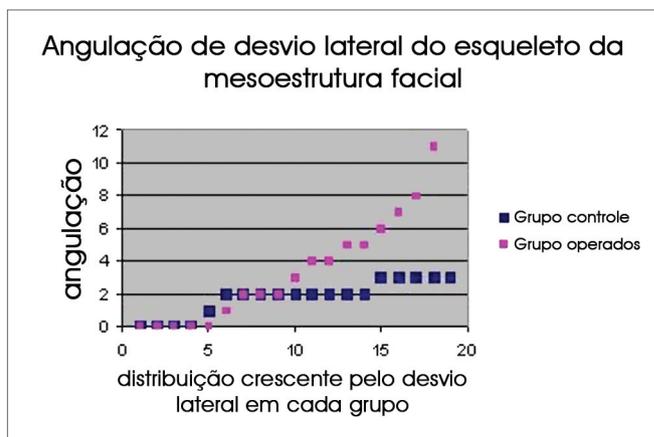


Figura 3. Gráfico demonstra desvios laterais da mesoestrutura facial em ambos os grupos de estudo.

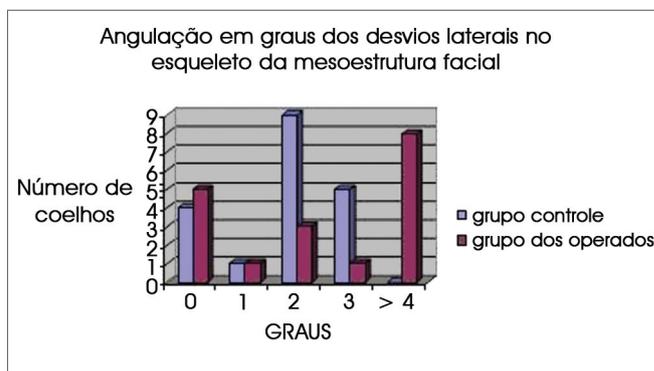


Figura 4. Gráfico demonstra número de coelhos que apresentaram cada grau de desvio lateral da mesoestrutura facial, em ambos os grupos de estudo.

grupo controle (representado no gráfico na altura do eixo dos valores Y).

A Tabela 2 demonstra que de todos os animais do grupo controle que apresentaram alguma angulação de desvio lateral do esqueleto de sua mesoestrutura facial, esta se deu, invariavelmente, para o lado direito.

Tabela 2. Lado do desvio lateral da estrutura facial em cada grupo.

	OPERADOS	CONTROLES
DIREITA	8	15
ESQUERDA	5	0
NENHUM	5	4
TOTAL	18	19

A Tabela 3 demonstra que o lado acometido pela ausência de atividade muscular correspondeu ao lado para o qual se dirigiu a extremidade anterior do esqueleto da mesoestrutura facial nos coelhos operados.

Tabela 3. Comparação entre o lado da ausência de atividade muscular e o lado do desvio apresentado nos coelhos operados.

	LADO OPERADO	SEM DESVIO	MESMO LADO	LADO OPOSTO
DIREITO	12	4	8	0
ESQUERDO	6	1	5	0
TOTAL	18	5	13	0

Análise estatística

Análise comparativa das amostras de forma não-pareada através do teste F demonstrou $P < 0,001$, e do teste T demonstrou $P = 0,05$, considerados como estatisticamente significantes.

DISCUSSÃO

A constatação de que o esqueleto facial cresce para frente e para baixo nos chama a atenção para o estudo do crescimento e o desenvolvimento do complexo nasomaxilar. A compreensão da substituição da influência das forças produzidas pelo crescimento da cartilagem quadrangular^{2,5} pelas forças produzidas pelas estruturas que preenchem os conceitos da teoria da matriz funcional³⁻⁴ nos dá o embasamento para a compreensão do crescimento facial após o nascimento. A influência das partes moles, em particular da musculatura facial, sob as peças ósseas que compõem o esqueleto craniofacial controla o grau de reabsorção e deposição ósseas, determinando, por fim, a conformação esquelética facial e, portanto, sua simetria.

A descrição do fenômeno fisiológico da remodelação externa de uma peça óssea⁶ nos faz acreditar num contínuo equilíbrio entre a morfologia do esqueleto e a influência das forças produzidas por sua matriz funcional, impedindo ou determinando as assimetrias faciais. Este equilíbrio é o alicerce do estudo experimental que apresentamos.

Com o objetivo de testar a influência do componente muscular da matriz funcional sobre as peças ósseas da mesoestrutura facial, produzimos paralisia facial periférica unilateral em coelhos ainda em fase de crescimento e desenvolvimento para, posteriormente, avaliarmos a simetria do esqueleto facial.

O modelo animal escolhido para este estudo experimental foi o coelho por demonstrar enorme variedade de movimentos musculares faciais e abundante movimentação das partes moles do seu nariz. Além disso, o coelho é um animal que apresenta grande projeção anterior do complexo nasomaxilar na sua conformação esquelética adulta, o que facilitaria a mensuração das possíveis assimetrias produzidas com o experimento.

Como modelo experimental animal, o coelho se demonstrou útil para estudos sobre o crescimento craniofacial e a musculatura facial e de sua inervação motora.

O sucesso no uso das técnicas de computação gráfica para mensuração de valores lineares e angulares demonstrado nas cefalometrias computadorizadas e fotogrametrias é o que nos levou a desenvolver o método de avaliação da simetria do esqueleto do complexo nasomaxilar nos coelhos que participaram do nosso estudo.

Os resultados obtidos em nosso trabalho demonstram a importância da musculatura facial na influência da matriz funcional sobre a determinação da conformação esquelética facial dos coelhos. O fato de optarmos por utilizar coelhos em fase de crescimento e desenvolvimento ajudou-nos a obter os resultados com maior rapidez. Coelhos se tornam adultos já aos seis meses de vida e, assim, pudemos colher os resultados apenas quatro meses após o início do nosso experimento.

O uso da avaliação do movimento das vibrissas nasais espontaneamente ou ao seu toque⁷ nos permitiu avaliar a integridade funcional do grupo muscular perinasal para selecionar os coelhos que participaram do nosso estudo experimental.

A decisão por interferir no ramo cervical do nervo facial nos garantiu influência maior no grupo muscular perinasal dos coelhos. Apesar de não observarmos necessariamente sinais como queda do pavilhão auricular (nossa secção do nervo se dava sem a preocupação de identificar a divisão precoce na altura do forame estilomastóideo formando o nervo auricular posterior) e diminuição do reflexo de piscamento ocular na metade da face em que se produziu a paralisia facial periférica⁷, nossa amostra demonstrou desvio lateral do esqueleto da mesoestrutura facial de forma estatisticamente significativa conforme demonstramos nos testes estatísticos T e F.

A importância da musculatura facial perinasal na conformação do esqueleto nasomaxilar descrita para os coelhos em nosso trabalho nos leva a acreditar na necessidade nos preocuparmos com o conceito da matriz funcional nesta unidade esquelética⁴ quando realizamos o tratamento estético e funcional de pacientes com desvios laterais da pirâmide nasal.

Diferentemente do que imaginávamos, a ação da força muscular da metade da face que permaneceu ativa nos coelhos submetidos a paralisia facial periférica unilateral do nosso estudo não foi a de tracionar a extremidade anterior da face ocasionando desvio lateral para o seu lado (Figura 2).

Perfeitamente justificado pela teoria da matriz funcional³⁻⁴, a ação da força muscular da metade da face íntegra levou a deposição óssea subjacente ao perióstio da região, colaborando para a formação de curvatura da mesoestrutura com convexidade para o lado da força de tração. Desta forma, pudemos observar que o lado acometido pela ausência de atividade muscular apresentou curvatura em concavidade em todos os animais operados que apresentaram algum desvio lateral do esqueleto de

sua mesoestrutura facial (Tabelas 2 e 3). Isto sugere que a esquelito da mesoestrutura facial se comportou em nosso estudo como uma peça óssea em remodelação, respeitando os princípios fisiológicos de reabsorção óssea no sítio inverso ao da superfície em que ocorre aposição óssea⁶.

A interferência fisioterápica, medicamentosa ou cirúrgica sobre a musculatura que atua sobre a pirâmide nasal pode, futuramente, demonstrar-se eficiente para diminuir a recidiva das laterorrinias operadas.

A grande dificuldade reside no fato de se decidir sobre qual grupo muscular devemos intervir. Estes músculos acabam por se fundir com aqueles adjacentes e apresentam variabilidade de tamanho e força¹. Diretamente sobre a pirâmide nasal, a hipotrofia do músculo depressor do septo unilateralmente poderia contribuir para recidiva dos desvios de septo caudais operados e, conseqüentemente, desvio lateral da ponta do nariz. Encurtamento das fibras musculares transversais do músculo nasal poderiam favorecer recidivas de desvios laterais da pirâmide nasal que sofreram tratamento cirúrgico. Hipotrofia das fibras longitudinais do músculo levantador do lábio superior e da asa do nariz poderiam dificultar as rinosseptoplastias de portadores de desvios no dorso nasal.

Manobras fisioterápicas - imprimindo forças de estiramento sobre a pirâmide nasal com o objetivo de estimularem o alongamento das fibras musculares - orientadas pouco antes do ato operatório e precocemente após o tratamento cirúrgico poderia ter efeito coadjuvante no tratamento de desvios laterais do nariz.

O uso de toxina botulínica na musculatura esquelética que atua sobre o nariz poderia inibir a possibilidade de um determinado grupo muscular influenciar os resultados de cirurgia para correção de laterorrinia, pelo menos temporariamente, enquanto aguardamos o perío-

do de consolidação das estruturas ósseas e cartilaginosas operadas.

Realização de miotomia de determinadas fibras musculares esqueléticas que atuam sobre o nariz deve produzir inibição de força muscular de tração lateral da pirâmide nasal nos casos das laterorrinias que operamos.

CONCLUSÃO

A ausência de atividade muscular em uma das metades da face produz desvio lateral do esquelito da mesoestrutura facial para o mesmo lado em coelhos em fase de crescimento e desenvolvimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Langman J. Sistema esquelético. In: Embriologia Médica. 4ª ed., São Paulo: Atheneu; 1985. p.121-35.
2. Scott JH. The cartilage of the nasal septum. *Brit Dent J* 1953;95:37.
3. Moss ML. The functional matrix. In: Kraus BS, Riedel RA, ed. *Vistas of Orthodontics*. Philadelphia: Lea and Febiger; 1962.
4. Moss ML, Salentijn L. The primary role of functional matrices in facial growth. *Am J Orthod* 1969;55(6):566-77.
5. Latham RA. Maxillary development and growth: The septo maxillary ligament. *J Anat* 1970;107:471-7.
6. Enlow DH. Processos de Controle do crescimento Facial. In: *Noções básicas sobre crescimento facial*, São Paulo: Santos; 1998. p.201-19.
7. Cardim VLN. Crescimento craniofacial. In: *Osteotomias estéticas da face*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Medsi; 1987. p.25-41.
8. Barone R, Pavaux C, Blin PC, Cuq P. Osteology and Myology. In: *Atlas D'Anatomie Du Lapin. Atlas of Rabbit Anatomy*. Saint German, Paris: Masson Editeurs; 1980. 8-10, 43.
9. Kozma C, Macklin W, Cummings LM, Mauer R. Anatomy, physiology and biochemistry of the rabbit. In: *Weisbroth SH, Flatt RE, Kraus AL: The biology of the laboratory rabbit*. Academic 1974;50-5.
10. Streck JW, Wen GY, Wisniewski HM. Atlas of the rabbit brain and spinal cord. Karger 1986;3-8.
11. Jones KJ. Recovery from facial paralysis following crush injury of the facial nerve in hamsters: differential effects of gender and androgen exposure. *Exp Neurol* 1993;121:133-8.