

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI  
FACULTATEA DE MEDICINĂ



*Tehnici moderne în reconstrucția nervilor  
periferici*

**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător științific:**

**Acad. Prof. Univ. Dr. Dan Mircea Enescu**

**Doctorand:**

**Dr. Andrei Marin**

**BUCUREȘTI**

**2019**

## Cuprins

<b>Introducere.....</b>	<b>2</b>
<b>I. Partea generală.....</b>	<b>4</b>
<b>II. Partea specială.....</b>	<b>10</b>
<b>1. Ipoteza de lucru și obiectivele generale.....</b>	<b>11</b>
<b>2. Material și metodă.....</b>	<b>11</b>
<b>2.1. Intervenția chirurgicală.....</b>	<b>13</b>
<b>2.2. Evaluarea regenerării nervoase.....</b>	<b>15</b>
<b>3. Rezultate .....</b>	<b>18</b>
<b>4. Discuții.....</b>	<b>28</b>
<b>5. Concluzii.....</b>	<b>32</b>
<b>Bibliografie.....</b>	<b>34</b>

## INTRODUCERE

Lucrarea abordează un subiect mult dezbătut în a doua jumătate a secolului 20, privit însă din perspectiva anilor curenți, atât din punct de vedere al diagnosticului, cât mai ales prin conduita terapeutică. Un aspect însă rămâne constant – deficitul funcțional datorat leziunilor nervilor periferici poate genera, în lipsa unui tratament adecvat, o morbiditate semnificativă cu scăderea calității vieții. Aceasta constituie în epoca noastră principalul trigger care ne îndeamnă de a căuta noi soluții pentru rezolvarea unor probleme vechi.

Odată cu progresul tehnologic, metodele tradiționale de diagnostic și tratament au fost completate și chiar comparate cu noile tehnici, pentru a vedea care oferă cele mai bune rezultate. În acest sens, examenul clinic a putut fi susținut prin studii de electrofiziologie. Tehnica clasică de reparare a defectelor de nerv a fost comparată cu metode mai noi – diverși conductori nervoși, în care au fost adăugate diferite soluții biologice.

Spre deosebire de microchirurgia vasculară, unde efectele intervenției chirurgicale sunt vizibile imediat, în cazul reconstrucției nervilor periferici, rezultatele nu se pot vedea decât la distanță. De aceea, tehnica operatorie mult exersată anterior este cheia pentru o recuperare funcțională optimă.

Pe lângă aspectul chirurgical, esențial în repararea nervoasă, o bună înțelegere a fenomenelor biomoleculare care au loc la nivelul zonei de leziune poate constitui un element neoadjuvant în intervenția chirurgicală efectuată.

Astfel, cercetarea experimentală, cu descoperirea unor noi factori care să stimuleze o creștere mai rapidă și o direcționare mai corectă a fasciculelor nervoase, constituie o premisă ce trebuie luată în calcul în domeniul microchirurgiei nervilor periferici.

Prin gradul ridicat de similitudine dintre om și șobolan în domeniul nervilor periferici, experimentele în laborator pe aceste animale reprezintă un important domeniu de cercetare în prezent, în scopul înțelegerii mecanismelor lezionale, de degenerare și regenerare nervoasă.

Evaluarea recuperării funcționale este una dintre etapele importante, care totuși este mai dificilă de obținut la animale. În condiții experimentale, recuperarea leziunilor nervoase periferice este studiată prin metode electrofiziologice, histologice și morfometrice.

Având în vedere faptul că regenerarea nervoasă este departe de a fi perfectă, chiar și în condiții optime de tratament, este de datoria noastră să continuăm studiul în acest domeniu pentru a ajunge la rezultate cât mai apropiate de varianta normală, fără leziune.

## I. PARTEA GENERALĂ

Nervii periferici reprezintă legătura dintre sistemul nervos central și organele senzitive/motorii din periferie. Funcțional, nervii sunt purtători de informații senzitive/senzoriale – pe cale aferentă sau motorii pe cale eferentă. Nervii periferici se împart în nervi cranieni (12 perechi) și nervi spinali – 31 de perechi cu distribuție metamerică - 8 cervicali, 12 toracali, 5 lombari, 5 sacrali și o pereche de nervi coccigiană.

Histologic, țesutul nervos este alcătuit din două tipuri de celule – neuronii (rol funcțional) și celulele gliale (rol trofic, susținere și protecție). Un neuron este format din corp celular și prelungirile sale citoplasmatică – dendritele și axonul. Corpul celular cuprinde: nucleu, membrană (neurolema), citoplasmă (neuroplasmă), organite celulare și citoschelet specializat.

Axonii constituie prelungiri cilindrice unice ale citoplasmei cu rol de transmitere a impulsurilor nervoase. Aceștia pot avea lungimi variabile de la câțiva microni la 1m, făcând legătura între corpul neuronal și organele țintă. Fibrele nervoase prezintă în periferie teaca de mielină cu rol izolator, impulsul nervos având o natură electro-chimică. [1]

Nervii periferici sunt formați din axoni și celulele Schwann adiacente, la nivelul unei membrane bazale [2]. Axonul nu deține capacitatea de sinteză proteică, motiv pentru care el conține un sistem de transport. Transportul axonal se face bidirecțional, atât anterograd cât și retrograd, în 2 sisteme – rapid și lent. Celulele Schwann reprezintă singurele celule gliale ale sistemului nervos periferic. Acestea au distribuție longitudinală de-a lungul axonilor. Celulele Schwann sunt responsabile de procesul de mielinizare, iar zona de tranziție amielinizată este reprezentată de nodul Ranvier, conducerea fiind saltatorie la acest nivel. Teaca de mielină conferă neuronilor o proprietate importantă - conductibilitatea. Viteza de transmitere a impulsului nervos este direct proporțională cu grosimea tecii de mielină.

Nervii prezintă un înveliș fibros - țesut conjunctiv dens (ce formează **epinervul**); acesta ocupă spațiul dintre fasciculele de fibre nervoase. Fiecare fascicul e delimitat de **perinerv** – un set de celule aplatizate similare celulelor epiteliale. Fiecare fibră nervoasă este delimitată de **endonerv** (teaca lui Henle) ce constituie un strat de reticulină elaborat de

celulele Schwann. **Mezonervul** localizat superficial în raport cu epinervul, asigură vascularizația nervilor periferici. [3]

Din punct de vedere anatomic, nervii spinali emit mai multe ramuri în regiunea toracică, lombară și sacrală, ramuri care se interconectează dând naștere unor plexuri. **Plexul brahial** se formează din nervii spinali C5-T1, care dau naștere la 3 trunchiuri (superior, mijlociu, inferior), din care se formează cordoanele posterior, lateral și medial. Ramurile terminale ale plexului brahial sunt reprezentate de: nervul axilar (C5-C6), nervul radial (C5-C8), nervul median (C5-T1), nervul cutanat antebrahial medial (C8-T1), nervul cutanat brahial medial (C8-T1) și nervul musculocutan (C5-C7). Ramurile colaterale ale plexului brahial sunt reprezentate de nervii: toracic lung (C5-C7), subclavicular (C5-C6), dorsal al scapulei (C3-C5), suprascapular (C5-C6), pectorali lateral (C5-C7) și medial (C8-T1), subscapulari superior și inferior (C5-C6), toracodorsal (C6-C8).

Ramurile anterioare ale nervilor spinali L1-L3, împreună cu o ramură comunicantă de la T12 și parțial din L4 formează **plexul lombar**. Ramurile anterioare T12 și L1 dau naștere nervilor iliohipogastric și ilioinghinal. Ramura inferioară a trunchiului T12-L1, împreună cu ramura superioară L2 formează nervul genitofemural. Diviziunile anterioare ale nervilor L2, L3 și L4 formează nervul obturator, diviziunile posterioare L2-L3 – nervul femural cutanat lateral, iar L2-L3-L4 – nervul femural. Ramura anterioară L4 împreună cu L5 dau naștere la trunchiul lombosacral.

**Plexul sacral** se formează prin unirea trunchiului lombosacral cu ramurile anterioare S1-S3 și o parte din ramura S4. Ramurile plexului sacral sunt reprezentate de nervii: fesier superior (L4-S1), fesier inferior (L5-S2), femuro-cutanat posterior (S1-S3) și ischiadic (L4-S3). Nervul ischiadic are ca și ramuri terminale nervul peronier comun (L4-S2) și nervul tibial (L4-S3).

Nervul peronier comun se divide în ramurile sale terminale: n. sural cutanat lateral (inervează senzitiv gamba și genunchiul pe partea laterala), ramura comunicanta peroniera (care se anastomozează cu n. sural cutanat medial), n. peronier superficial și n. peronier profund. Nervul peronier superficial emite ramuri motorii pentru cei 2 mm peronieri precum și nervii cutanat dorsal intermediar și medial. N. cutanat dorsal medial se divide în 2 nn digitali dorsali – pentru haluce medial, respectiv pentru spațiul dintre degetele 2-3. N. cutanat dorsal intermediar inervează senzitiv spațiul dintre degetele 3-4. Nervul peronier profund se împarte

în nn digitali dorsali pentru halucele lateral, degetul 2 medial și articulațiile metatarsofalangiene ale degetelor 2-4.

Nervul tibial se divide în ramurile sale terminale – nn. plantar medial și lateral. N. plantar medial se divide în 3 nn digitali plantari comuni care se împart mai departe în nervi digitali plantari proprii ce inervează spațiile dintre degetele 1-4, bordul medial al halucelui fiind inervat direct din n. plantar medial. N. plantar lateral se împarte în ramura superficială (din care se desprind 2 nervi digitali plantari proprii pentru spațiul 4 interdigital, respectiv pentru bordul lateral al degetului 5) și ramura profundă.

Transmiterea informațiilor se realizează prin semnale electrice ce poartă informație – influxuri nervoase (impulsuri). [4] Membrana neuronală are un dublu strat lipidic și asigură controlul ionilor așezați de-o parte și de alta a acesteia. În urma unui stimul ce depășește valoarea prag, are loc deschiderea canalelor de Na cu depolarizarea membranei și generarea potențialului de acțiune. Membrana neuronală se repolarizează ulterior cu ajutorul pompelor și a canalelor pentru a reveni la starea de echilibru ionic. Potențialul de acțiune generează un impuls care se propagă de-a lungul axonului, pentru ca în final să ajungă la nivelul plăcii motorii. Depolarizarea în membrana presinaptică la acest nivel determină golirea veziculelor ce conțin acetilcolina în fanta sinaptică, care se leagă la membrana postsinaptică generând un potențial de acțiune muscular, propagarea acestuia determinând contracția musculară.

Injuria unui nerv determină modificări structurale și biochimice în 2 etape: degenerare și regenerare. Întreruperea conexiunii dintre axon și corpul neuronal determină inițierea unor procese de dezintegrare axonală distal de locul leziunii. Acest fenomen se numește degenerare Walleriană, fiind un proces autolitic de curățare a capătului distal. Axoplasma și teaca de mielină vor fi dezintegrate, proces urmat de fagocitarea resturilor de către macrofage și de către celulele Schwann. [5] Degenerarea Walleriană are loc strict în cazul fibrelor mielinizate din nervul distal. În lipsa contactului axonal, celulele Schwann mielinizante devin celule suport, pierzându-și funcția de mielinizare și exprimând factori neurotrofici. [6] Celulele Schwann vor prolifera, modificându-și fenotipul și scăzând sinteza de mielina. Acestea se vor alinia pentru a forma benzile Bugner (structuri tubulare endoneurale capabile de a direcționa fibrele regenerative). Rolul lor este de a ghida mugurii neurali din capătul proximal pe traseul corespunzător către organul țintă.

La vârful unui mugure regenerativ se afla conul de creștere, cu rol în ghidare și motilitate. [7] După ce traversează zona lezională, mugurii neuritici ajung la nivelul celulelor Schwann și se contopesc cu benzile Bungner, ajungând să fie învelți de citoplasma acestora. Contactul axonilor regeneranți cu celulele Schwann inițiază procesul de mielinizare. Elongarea axonală se produce pe zona de minimă rezistență, conul de creștere fiind obligat să își creeze un traseu printre celule și matricea extracelulară. Odată ce axonii regeneranți se conectează cu periferia, aceștia supraviețuiesc în detrimentul celor care nu stabilesc acest contact și care se degradează. Axonii supraviețuitori se vor matura, își vor mări calibrul prin asigurarea substanțelor trofice posibil provenite chiar de la organele țintă. Finalizarea creșterii neurale are loc atunci când mugurele neural primește multiple potențiale de acțiune, moment în care filopodiile din conul de creștere se retrag, iar elongarea se sfârșește. Influxul de calciu prin activarea unor mesageri secunzi determină terminarea creșterii neuritice când conexiunile stabilite devin funcționale.[8]

Principalii factori influențează regenerarea nervilor periferici sunt: factori care țin de pacient (vârsta, fumatul, diferite afecțiuni – diabet, boli vasculare), tehnica operatorie și gradul experienței operatorului (corecta abordare și tensiune), utilizarea instrumentelor corespunzătoare și a microscopului, timingul reparării nervoase, gradul injuriei nervoase, mecanismul lezional, nivelul leziunii nervoase și chiar tipul de reparare a leziunii.

În ceea ce privește timingul, există 3 variante: repararea primară (primele 72 de ore de la injurie), reparare primară amânată (între 72 de ore și 7 zile) și reparare secundară (după prima săptămână). Gradul injuriei nervoase a fost descris de Sir Herbert Seddon, grupând leziunile în 3 tipuri histologice: neurapraxia (axonul rămâne în continuitate), axonotmesis (întreruperea continuității axonale), neurotmesis (întreruperea completa a nervului). Ulterior Sunderland a făcut o nouă clasificare cu 5 grade de leziune nervoasă, care se suprapun peste clasificarea lui Seddon, fiind mult mai specifice, iar Mackinnon a adăugat un al șaselea grad (nevromul în continuitate).

Mecanismul lezional și regiunea afectată influențează în mod direct timpul și gradul de regenerare nervoasă. După mecanism, aceste leziuni se pot împărți în: leziuni închise (contuzii) sau leziuni deschise (penetrante). [9] Această clasificare influențează atât prognosticul recuperator, cât și atitudinea terapeutică. Leziunile proximale necesită o perioadă mai lungă de regenerare, viteza de creștere a nervului fiind de 1mm/zi; de asemenea, nervii în

zonele proximale, deși au un calibru mai mare, sunt adesea micști, motiv pentru care o bună aliniere fasciculară constituie premisa unei bune recuperari.

Din punct de vedere al tipului de reparare nervoasă, trebuie analizată forma injuriei. În cazul în care aceasta nu presupune un defect nervos, sutura este cea mai bună opțiune și cu rezultate favorabile. Principalele tipuri de sutura nervoasă folosite în practica clinică sunt reprezentate de: sutura epineurală, sutura pe grupe fasciculare și neurorafia fasciculară. Toate tehnicile presupun 4 etape: prepararea (îndepărtarea zonei lezate și a fragmentelor de țesut anormal), aproximarea, coaptarea (neurorafia) și menținerea coaptării capetelor nervoase.

Elementele primordiale de tehnica chirurgicală fundamentale în realizarea unei suturi nervoase corecte sunt: alinierea corectă a fasciculelor, distribuția uniformă a firelor de sutură, tranșe egale pe ambele bonturi nervoase, tensiune egală și moderată în toate firele de sutură. Alinierea corectă a fasciculelor se face atât pe baza desenului vascular din mezonerv, cât și pe baza analizei distribuției fasciculelor pe cele 2 tranșe de secțiune.

În cazul defectelor nervoase, există mai multe abordări chirurgicale pentru rezolvarea problemei. Grefa de nerv sau conductorii nervoși biologici sau sintetici sunt constituie principalele opțiuni.

Există mai multe tipuri de grefe – grefe nervoase pediculate, grefe nervoase libere vascularizate, grefe interfasciculare, grefe fasciculare, grefe sub formă de cabluri și grefe tronculare.[10] Din punct de vedere histopatologic, o grefă autologă are aceeași soartă ca și capătul distal al nervului secționat. Are loc degenerarea Walleriană, cu menținerea intactă a celulelor Schwann. În cazul grefei, deosebirea față de sutura nervoasă directă constă în faptul că mugurii axonali trebuie să mai traverseze o barieră pentru refacerea capătului distal al nervului. Grefa nervoasă se constituie ca o cărare pe care axonul o străbate, fiind susținut trofic de celulele Schwann.

Diametru grefei are un impact important asupra reușitei transferului, întrucât la o dimensiune peste 3mm, din cauza unei revascularizări necorespunzătoare, grefa va suferi procese ischemice care se vor solda cu necroze centrale. Studii comparative pe șobolan au demonstrat o bună recuperare în cazul utilizării lambourilor nervoase convenționale și a lambourilor neurovenoase arterializate în condițiile austere ale unui mediu de creștere nervoasă slab vascularizat. [11]

Grefele de nerv sunt frecvent utilizate în clinică în paralizia facială, în proceduri de tip baby-sitter, în care reinervarea facială se face utilizând o grefă atașată la nervul facial sănătos, iar până la momentul reinervării capătului distal al grefei, un alt nerv este preluat pentru a asigura troficitatea musculaturii denervate (frecvent n. hipoglos, dar și n. maseter, n. accesoriu). O altă implicație la fel de importantă în restabilirea funcționalității o reprezintă procedurile de reparare nervoasă după avulsiile de plex brahial. Acestea presupun multiple transferuri nervoase și musculare pentru a restabili funcția motorie și senzitivă a membrului afectat. [12]

## II. PARTEA SPECIALĂ

Contribuția personală a constat într-o etapă de studiu anatomic al plexului brahial cu principalele sale ramuri pe cadavre.



Nerv median și nerv ulnar la nivel ARC și palmar



Plexul brahial

## 1. Ipoteza de lucru și obiectivele generale

Contribuția personală a constat și dintr-un proiectul de cercetare in vivo care a urmărit compararea a 4 tipuri diferite de reparare a unui defect de nerv sciatic la șobolan, atât din punct de vedere al variabilelor intraoperatorii, cât și din punct de vedere al rezultatelor la diferite evaluări. Cele 4 loturi au fost reprezentate de: autogrefă, [13] conductul vascular, [14], [15], [16], conduct vascular cu PRP (platelet rich plasma – plasma bogată în trombocite) [17],[18],[19],[20] și conduct vascular cu celule stem umane. [21],[22],[23],[24]

## 2. Material și metodă

Pentru a desfășura un proiect de cercetare in vivo, care presupune urmărirea ulterioară a subiecților pe o perioadă mai lungă de timp a fost necesar accesul la o biobază. Pentru aceasta, a fost redactat un protocol de colaborare între Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila” – Școala Doctorală și Facultatea de Medicină Veterinară din cadrul Universității de Științe Agronomice și Medicină Veterinară București. De asemenea a fost obținut avizul Comisiei de Etică, precum și avizul Direcției Sanitar Veterinare și pentru Siguranța Alimentelor București.

Au fost asigurate și respectate toate normele în vigoare cu privire la bunăstarea și protecția animalelor. Procesul de planificare a constat în dotarea laboratorului cu toate elementele necesare recreării unui spațiu „spitalicesc” - asigurarea condițiilor de cazare pentru șobolani (cuști, adaptoare, consumabile – mâncare, talaș), logistica necesară înființării unei săli de operație (microscop operator, consumabile, instrumentar corespunzător), procurarea medicamentelor necesare pentru intervențiile chirurgicale.

### Clădirea unde s-a desfășurat proiectul



### Sala postoperatorie



Fiecare șobolan a avut o fișă proprie în care au fost înregistrate datele generale ale acestora, precum și data specifică referitoare la intervenția chirurgicală și la evoluția postoperatorie ulterioară.

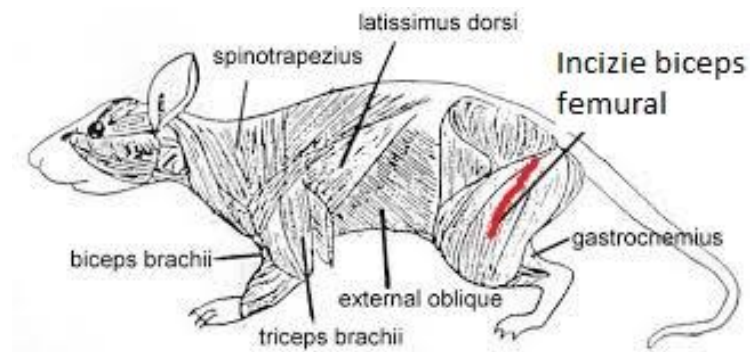
Pentru intervențiile chirurgicale din studiu am folosit un protocol pe baza de ketamină și xilazină, injectat intraperitoneal. Doza utilizată intraperitoneal a fost de 75mg/kg corp ketamină cu 10mg/kg corp de xilazină. [26] Înainte de fiecare intervenție chirurgicală, șobolanii au fost cântăriți folosind un cântar electronic pentru a administra doza corectă. Fiecare intervenție a fost cronometrată din momentul injectării intraperitoneale până la momentul suturii tegumentare. Astfel, am observat timpul de pregătire a șobolanului, timpul de expunere a nervului, timpul de disecție și timpul de anastomoză în fiecare dintre cele 40 de operații.

Timpul de pregătire (T1) a reprezentat timpul de la prima doză de anestezie până la momentul inciziei și presupune timpul necesar raderii zonei de operat, precum și timpul necesar așezării câmpului steril și dezinfectiei zonei. Timpul de expunere a nervului (T2) a fost reprezentat de incizia tegumentară, disecția musculară și plasarea depărtătoarelor până la momentul în care nervul a putut fi bine vizualizat, iar timpul de disecție (T3) a constituit disecția microchirurgicală propriu-zisă a nervului. Al patrulea timp înregistrat – timpul de anastomoză (T4) - timpul scurs de la momentul secționii nervoase, a cuprins timpul anastomozei distale, urmată de secțiunea nervului proximal și de anastomoza proximală. O dată ce anastomoza a fost finalizată în ambele capete, timpul T5 a reprezentat sutura musculară și a tegumentului, TT – timpul total, reprezentând însumarea T1-T5.

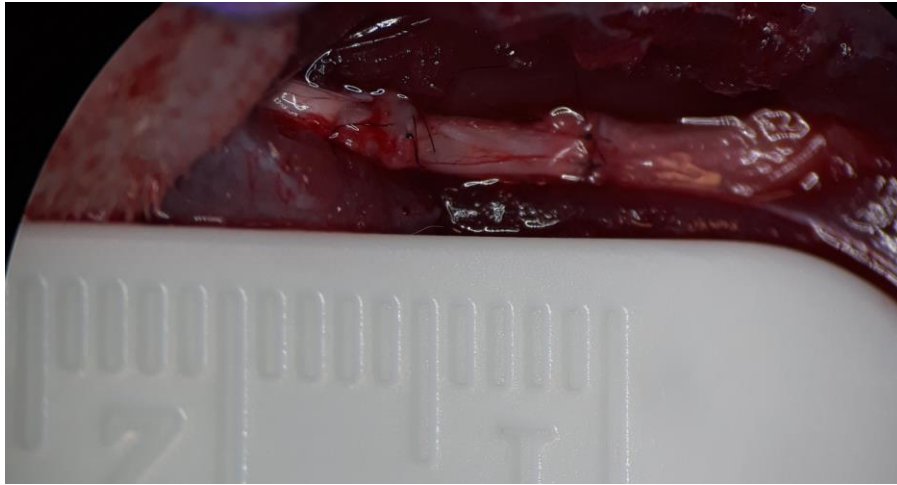
Prin înregistrarea fiecărui timp de administrare a unei noi doze de anestezic, acestea au putut fi corelate cu unul dintre cei 5 timpi înregistrați. De asemenea, prin înregistrarea datelor operațiilor am putut evalua distribuția intervențiilor de-a lungul celor 4 săptămâni: șobolanii din primul lot au fost operați în 3 zile diferite de-a lungul primei săptămâni (1 șobolan în prima zi, 4 șobolani în ziua a 2a, 5 șobolani în ziua a 4a). Șobolanii din lotul 2 au fost operați în 4 zile de-a lungul celei de-a 2a săptămâni (2 șobolani prima zi, 2 șobolani ziua a 4a, 2 șobolani ziua a 5a, și 2 ziua a 6a). În cazul loturilor 3 și 4, din necesitatea utilizării de PRP, respectiv celule stem, aceștia au fost operați câte 5 pe zi pe parcursul a 2 zile consecutive din săptămânile 3 și 4.

## 2.1. Intervenția chirurgicală.

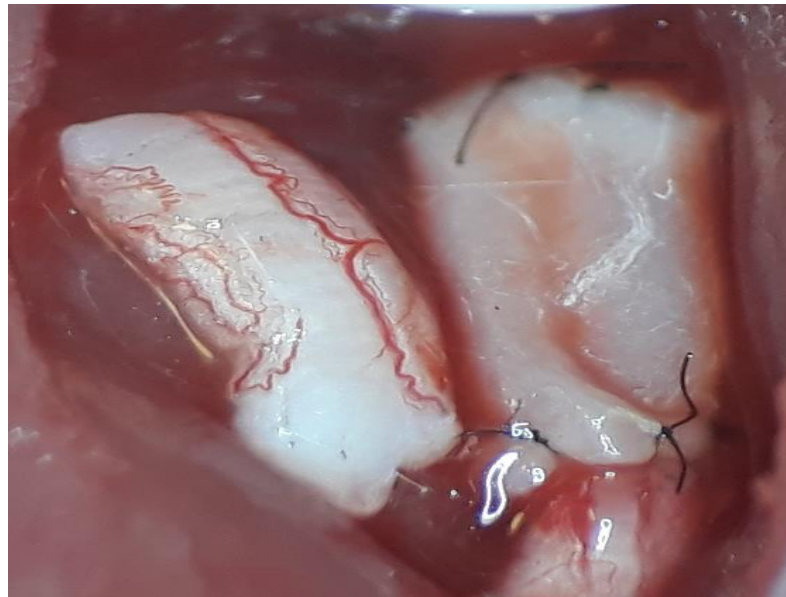
După dezinfectia zonei, s-a practicat incizia tegumentului, cu expunerea mușchiului biceps femural, care s-a incizat la 0,5 cm inferior de femur. Pentru a preveni lezarea nervului aflat imediat sub musculatura bicepsului, după crearea bresei prin incizie s-a utilizat o foarfecă boantă cu care s-a disecat în lungul fibrelor mușchiului biceps femural.



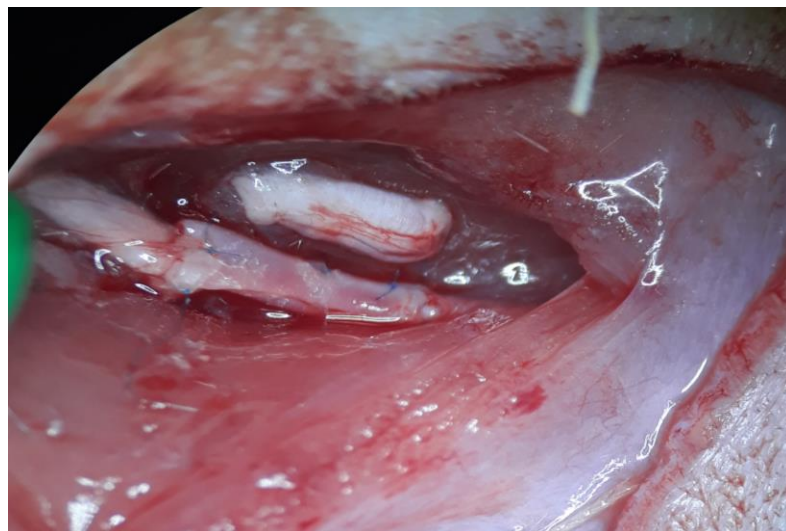
După expunerea nervului, s-a trecut la disecția sub microscop, folosind instrumentele de microchirurgie. Înainte de secțiunea nervoasă s-a adăugat local lidocaină. S-a efectuat incizia nervului cu crearea unui defect cu lungime de 0,5cm. În primul lot, grefa secționată a fost suturată in situ, în lotul 2 am folosit un conductor de aortă recoltat de la un șobolan pe care l-am suturat în locul defectului, în lotul 3 am folosit conductor aortic și PRP, iar în lotul 4 am utilizat celule stem recoltate din cordonul ombilical uman. Fiecare intervenție a urmat o procedură standard. După repararea defectului nervos, s-a efectuat miorafie urmată de sutură tegumentară. Postoperator s-au administrat un antibiotic și un antiinflamator.



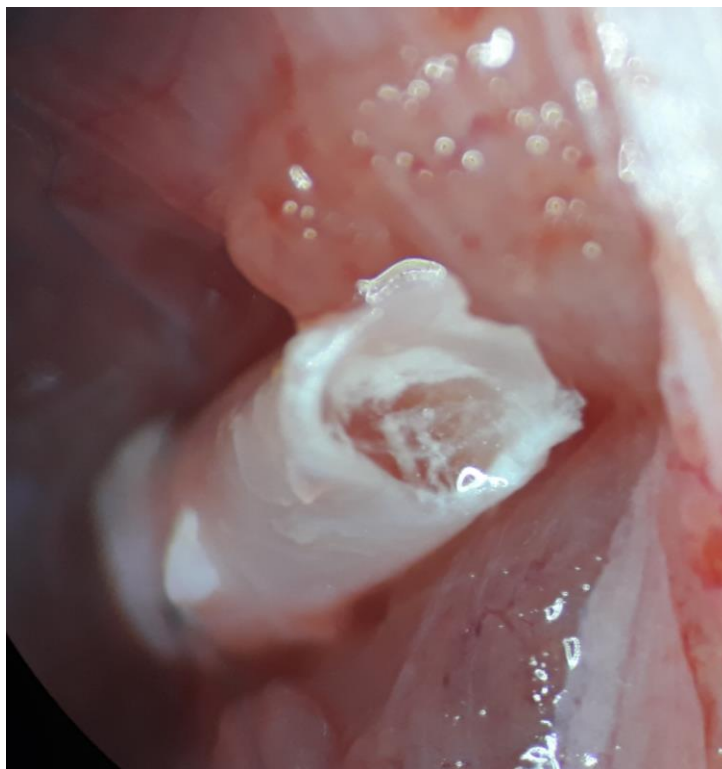
Lot 1 –Autogrefa



Lot 2 – Conduct vascular (allogrefa de aorta)



Lot 3 – conduct vascular cu PRP



Lot 4 - Conduct vascular cu celule stem

Complicațiile de tipul plăgilor dehiscente au fost tratate local, fiind autolimitante, la fel ca și automutilărilor la nivelul membrului operat. La 2 luni de la începutul studiului șobolanii au prezentat ca și complicație o pediculoză cu parazit din clasa *Polyplax* spp, pentru care s-a efectuat deparazitare externă, repetată la 2 săptămâni.

## **2.2. Evaluarea regenerării nervoase**

Evaluarea s-a realizat atât clinic la 2, 4, 6, 8, 10 și 12 săptămâni (prin teste de mers, testarea mobilității și a sensibilității), cât și paraclinic la 12 săptămâni prin RMN, index muscular gastrocnemian și evaluare histopatologică a nervilor operați.

Pentru testarea sensibilității șobolanul s-a urmărit refacerea acesteia în 3 regiuni diferite – la nivelul treimii medii a gambei, la nivelul gleznei și la nivelul regiunii plantare, o reacție de retragere a membrului fiind o reacție pozitivă și notată cu un punct (scala fiind de la 0 la 3 puncte maxim). Pentru testarea mobilității au fost acordate puncte pe o scală de la 0 la 3 astfel: nicio mișcare – 0 puncte; flexie sau minime mișcări – 1 punct; abducția degetelor – 2 puncte; abducție și extensie degete – 3 puncte.

Amprente plantare au fost evaluate prin testele de mers – șobolanul a călcat întâi pe o tușieră impregnată cu cerneală sau betadine, apoi trecând printr-un tunel deschis inferior, a lăsat urmele pe un bloc de hârtie A3. Aceste amprente au fost utilizate apoi pentru a calcula indexul funcțional sciatic.



Amprente plantare

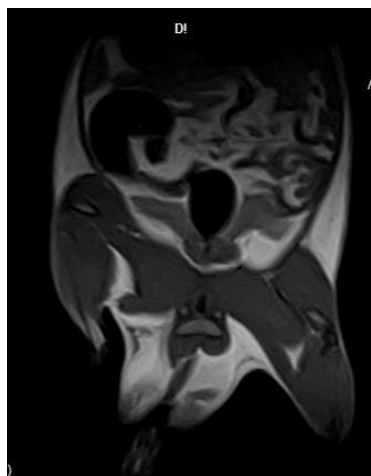


RMN

La 12 săptămâni, șobolanii au fost evaluați RMN, iar după eutanasiere a fost excizat nervul sciatic operat cu o marja 0,5 cm proximal și distal pentru prelucrare histopatologica. Nervul a fost marcat proximal și s-au efectuat secțiuni transversale și longitudinale, care au fost colorate cu hematoxilina-eozina și van Gieson. De asemenea a fost excizat mușchiul gastrocnemian, cântărit și raportat la cel contralateral. Pe RMN s-a evaluat diametrul gambei operate, raportat la cea neoperată.



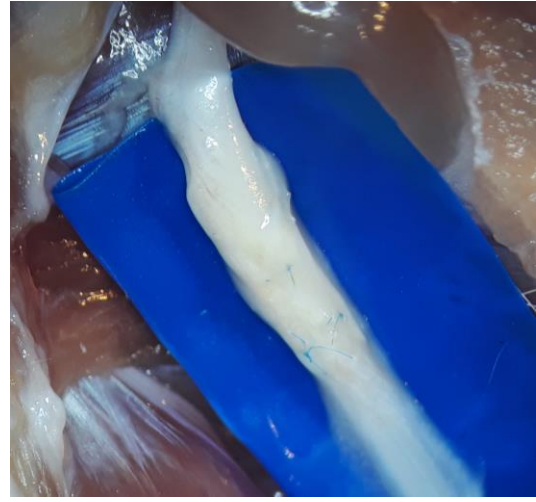
Cantărire mușchi gastrocnemian



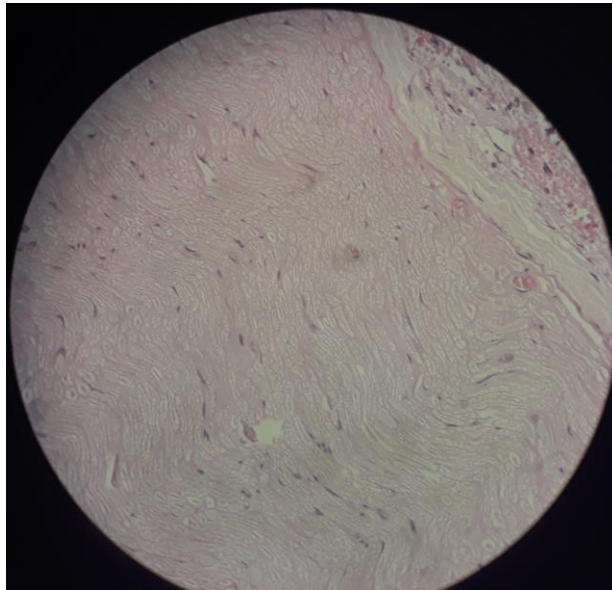
Evaluare RMN (membrul extins operat)



Autogrefa la 12 săptămâni



Conductor vascular la 12 săptămâni



Aspect histologic normal nerv sciatic de șobolan în colorație HE

### 3. Rezultate

S-au introdus în studiu 40 de șobolani tip Wistar, masculi, împărțiți în 4 loturi de câte 10 șobolani/lot astfel: lot 1 – autogrefă, lot 2 - grefă vasculară, lot 3 - grefă vasculară cu PRP (platelet rich plasma – plasma bogată în trombocite), lot 4 - grefă vasculară cu celule stem umane.

Toți șobolani au fost operați la nivelul nervului sciatic drept. Din studiu au fost excluși 2 șobolani din primul lot, unul pe motiv de deces postoperator, celălalt din cauza rupturii postoperatorie a nervului.

#### Prezentarea generală a loturilor și timpii operatori

<b>n=38</b>	<b>Lotul 1</b>	<b>Lotul 2</b>	<b>Lotul 3</b>	<b>Lotul 4</b>	<b>Total</b>
<b>Variabila</b>	<b>Median (IQR)</b>	<b>Median (IQR)</b>	<b>Median (IQR)</b>	<b>Median (IQR)</b>	<b>Median (IQR)</b>
Vârsta	52 (4)	51 (1)	55 (2)	60 (2)	55 (9)
Greutate	269 (28)	245 (18)	250 (5)	298 (30)	258.5 (34)
Timp pregătire	43 (17)	23 (9)	28 (18)	25.5 (9)	28.5 (14)
Timp expunere nerv	5.5 (2)	7 (8)	5.5 (2)	6.5 (8)	6 (3)
Timp disecție nerv	9 (4)	8 (6)	5 (6)	6 (1)	7 (5)
Timp anastomoze	37 (9)	29 (16)	31.5 (9)	31.5 (10)	33 (10)
Timp total	93 (43)	71.5 (30)	73 (24)	74 (23)	76 (24)
Nr. total de suturi	6 (3)	8 (3)	6 (2)	6 (0)	6 (2)
Nr. de anestezii administrare	2 (1)	2 (2)	2 (1)	1,5 (1)	2 (2)

### Testul Median pentru datele generale și timpii operatori

Variabila	Test Median (Degree of freedom)	Valoare p
Vârsta	22.9 (3)	<b>P&lt;0,001</b>
Greutate	22.5 (3)	<b>P&lt;0,001</b>
Timp de pregătire	11.2 (3)	P=0,011
Timp expunere nerv	4.9 (3)	P=0.177
Timp disecție nerv	4.5 (3)	P=0.214
Timp anastomoze	3.1 (3)	P=0.376

În ceea ce privește mediana de vârstă și greutate, comparativ pentru cele 4 loturi s-a observat o diferență semnificativă statistic.

Referitor la medianele pentru timpii de pregătire, T2, T3, T4 și timpul total, nu s-au observat diferențe semnificative statistic.

### Corelații între timpii operatori, număr de suturi și număr de anestezii

n=38	Total	
Corelații	Coef corelație (r) Kendall Tau	P
Timp de pregătire – nr. de anestezii	0.323	<b>0.013</b>
Timp expunere nerv – nr. de anestezii	0.277	0.09
Timp disecție nerv – nr. de anestezii	0.277	0.092
Timp anastomoză – nr. de suturi	0.302	0.06
Timp anastomoză – nr. de anestezii	0.310	<b>0.017</b>
Timp total – nr. de anestezii	0.505	<b>&lt;0.001</b>
Timp total – nr. de suturi	0.04	0.752
Nr. de suturi – nr. de anestezii	0.186	0.26

Din tabelul de mai sus reiese că timpul de pregătire s-a corelat cu numărul de anestezii. (r=0.323, p=0.013). De asemenea, timpul de anastomoză s-a corelat cu numărul de anestezii

administrare ( $r=0.310$ ,  $p=0.017$ ). Ultima corelație semnificativă statistic a fost reprezentată de cea dintre timpul total și numărul de anestezii ( $r=0.505$ ,  $p<0.001$ ).

În ceea ce privește mediana masei gastrocnemianului drept, între cele 4 loturi nu s-au observat diferențe semnificative statistic. Cea mai mare mediană s-a observat pentru lotul 1 (autogrefa), urmată de lotul 3 (PRP), apoi lotul 4 (celule stem) și, în final, lotul 2 (grefa vasculară simplă).

Referitor la mediana indexului gastrocnemian, cele mai bune rezultate s-au obținut în lotul cu PRP, urmat de lotul cu celule stem, apoi de lotul cu autogrefă și în final lotul cu conductor vascular, însă fără diferențe semnificative statistic.

Cea mai mare mediană pe rezultatul procentual dintre masa mușchiului gastrocnemian drept și cea a șobolanului la 12 săptămâni a fost obținută în cadrul lotului cu PRP, toate celelalte 3 loturi obținând același rezultat, fără diferențe semnificative statistic.

**Analiza medianelor: masele musculaturii gastrocnemiene drepte și stângi, index gastrocnemian, greutatea finală a șobolanului (G6) și a procentul dintre masa gastrocnemianului drept și G6**

<b>n=38</b>	<b>Lotul 1</b>	<b>Lotul 2</b>	<b>Lotul 3</b>	<b>Lotul 4</b>	<b>Total</b>
<b>Variabila</b>	<b>Median(IQ R)</b>	<b>Median(IQ R)</b>	<b>Median(IQ R)</b>	<b>Median(IQ R)</b>	<b>Median(IQ R)</b>
Masa gastrocnemian drept	1.415 (0.25)	1.28 (0.45)	1.33 (0.31)	1.285 (0.13)	1.31 (0.21)
Masa gastrocnemian stâng	2.62 (0.55)	2.425 (0.24)	2.41 (0.26)	2.55 (0.30)	2.445 (0.29)
Indexul gastrocnemian	0.5 (0.15)	0.49 (0.18)	0.51 (0.17)	0.505 (0.03)	0.5 (0.07)
Greutatea finală a șobolanului (G6)	465 (59)	442 (61)	434.5 (28)	455 (57)	446.5 (39)
Procent dintre masa gastrocnemian drept și G6	0.29 (0.09)	0.29 (0.07)	0.31 (0.08)	0.029 (0.02)	0.029 (0.05)

**Testul Median pentru masele musculaturii gastrocnemiene drepte și stângi, index gastrocnemian, greutatea finală a șobolanului (G6) și a procentului dintre masa gastrocnemianului drept și G6**

<b>Variabila</b>	<b>Test Median (Degree of freedom)</b>	<b>Valoare p</b>
Masa gastrocnemian drept	0.9 (3)	0.825
Masa gastrocnemian stâng	4.1 (3)	0.251
Indexul gastrocnemian	1.2 (3)	0.753
Greutatea finala a șobolanului	2.5 (3)	0.475
Procentul masa gastrocnemian drept/ G6	6.2 (3)	0.102

**Analiza medianei sumei mișcării și a sensibilității pentru cele 4 loturi pe 12 săptămâni**

<b>n=38</b>	<b>Lotul 1</b>	<b>Lotul 2</b>	<b>Lotul 3</b>	<b>Lotul 4</b>	<b>Total</b>
<b>Variabila</b>	<b>Median(IQR)</b>	<b>Median(IQR)</b>	<b>Median(IQR)</b>	<b>Median(IQR)</b>	<b>Median(IQR)</b>
Suma test sensibilitate	11 (4)	9.5 (4)	12 (2)	11.5 (3)	11 (3)
Suma test mobilitate	6.5 (4)	4.5 (6)	6.5 (3)	6.5 (3)	6 (4)

**Testul Median pentru suma mișcării și sensibilității pentru cele 4 loturi pe 12 săptămâni**

<b>Variabila</b>	<b>Test Median (Degree of freedom)</b>	<b>Valoare p</b>
Suma test sensibilitate	11 (3)	0.36
Suma test mobilitate	6 (3)	1.2

Suma testelor de sensibilitate, respectiv de mobilitate s-a realizat adunând toate rezultatele obținute pentru cele 2 teste la 2, 4, 6, 8, 10 și 12 săptămâni.

Cele mai bune rezultate pe partea de sensibilitate a fost înregistrat în lotul PRP, urmat de cel cu celule stem, apoi autogrefă și ultima grefă vasculară simplă. Pentru mobilitate, loturile

cu autogrefă, grefă vasculară cu PRP și celule stem au înregistrat același rezultat, ultima poziție fiind tot în lotul cu grefă vasculară simplă.

Între medianele sumei testelor sensibilității, precum și cea pentru suma testelor de mobilitate nu au existat diferențe semnificative statistic între cele 4 loturi.

#### **Analiza medianei sensibilității, mobilității și IFS la 12 săptămâni**

<b>n=38</b>	<b>Lotul 1</b>	<b>Lotul 2</b>	<b>Lotul 3</b>	<b>Lotul 4</b>	<b>Total</b>
<b>Variabila</b>	<b>Median(IQ R)</b>	<b>Median(IQ R)</b>	<b>Median(IQ R)</b>	<b>Median(IQ R)</b>	<b>Median(IQ R)</b>
Sensibilitate la 12 săptămâni	3 (0)	3 (0)	3 (0)	3 (0)	3 (0)
Mobilitate la 12 săptămâni	2.5 (1)	2 (2)	2 (1)	2 (1)	2 (1)
IFS la 12 săptămâni	- 57.5 (9)	-58.5 (12)	-55.5 (10)	-57 (5)	-57 (6)

#### **Test Median pentru sensibilitate, mobilitate și IFS la 12 săptămâni**

<b>Variabila</b>	<b>Test Median (Degree of freedom)</b>	<b>Valoare p</b>
Sensibilitate la 12 săptămâni	-	-
Mobilitate la 12 săptămâni	0.7 (3)	0.862
IFS la 12 săptămâni	2 (3)	0.572

Sensibilitatea la 12 săptămâni a înregistrat rezultatul maxim în toate cele 4 loturi, fără diferențe.

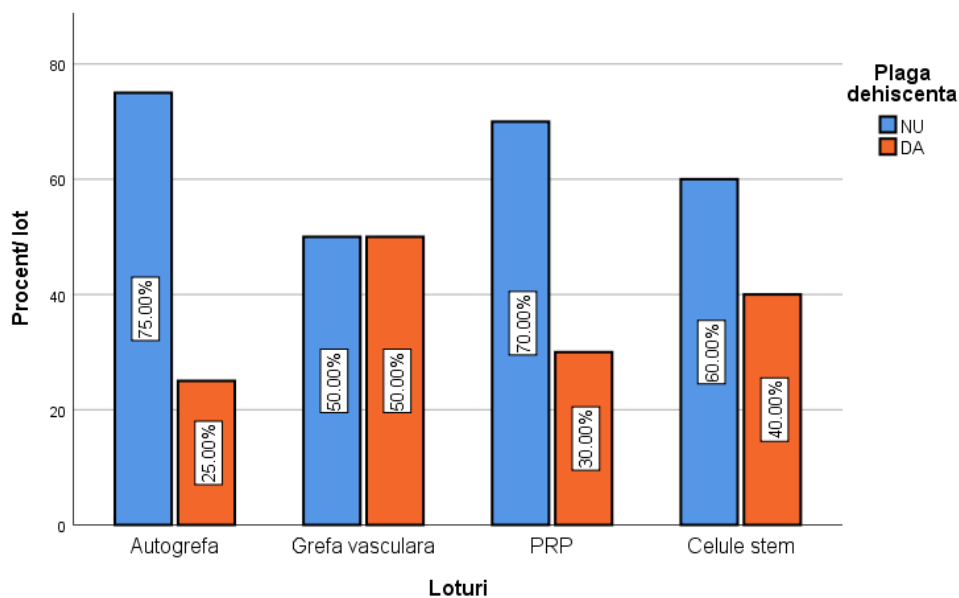
Mobilitatea la 12 săptămâni a avut cele mai bune rezultate în cadrul autogrefei, fiind urmată de celelalte 3 loturi în proporții egale, fără diferențe semnificative statistic.

Indexul funcțional sciatic la 12 săptămâni a prezentat rezultate similare în cele 4 loturi, pe prima poziție fiind lotul cu PRP, urmat de cel cu celule stem, apoi de autogrefă și, în final, de grefa vasculară simplă.

În ceea ce privește procentul șobolanilor ce au prezentat plăgi dehiscente, s-a observat o prevalență crescută în lotul 2, urmată de lotul 4, fără a avea însă semnificație statistică ( $\chi^2 = 1.479$  (3);  $p=0.687$ ).

### Prezența/absența plăgii dehiscente pentru cel 4 loturi

Lot		Plagă dehiscentă		Total șobolani/lot
		Nu	Da	
Autogrefă	Nr.	6	2	8
	Procent	75%	25%	100%
Grefă vasculară	Nr.	5	5	10
	Procent	50%	50%	100%
PRP	Nr.	7	3	10
	Procent	70%	30%	100%
Celule stem	Nr.	6	4	10
	Procent	60%	40%	100%
Total per plagă	Nr.	24	14	38
	Procent	63.2%	36.8%	100%

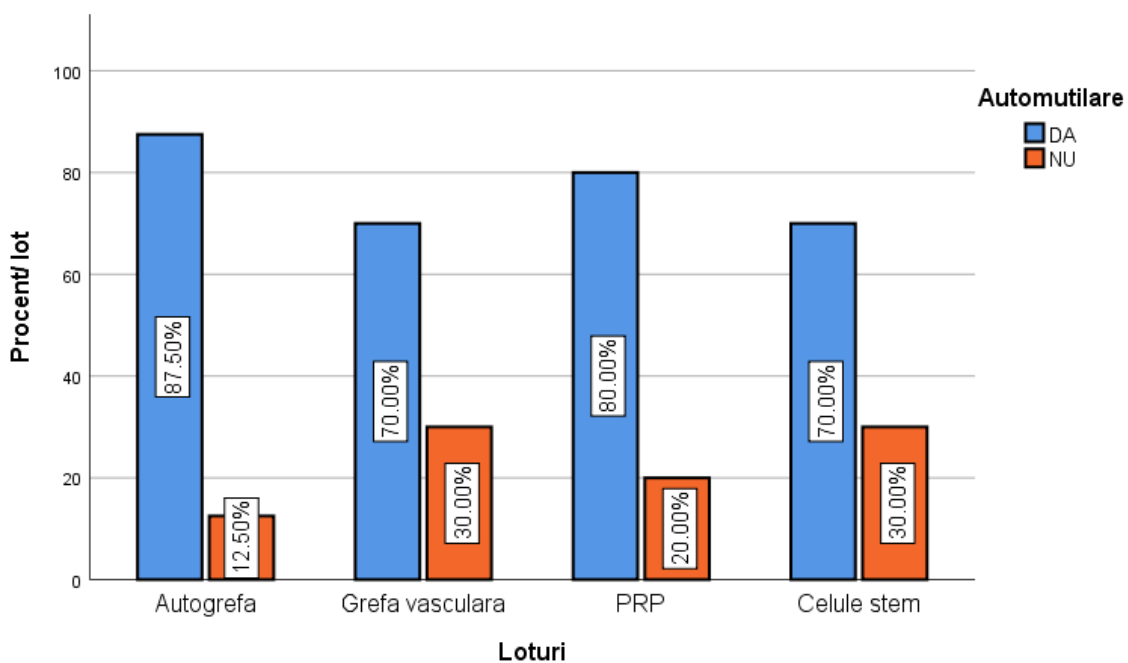


Grafic distribuție plăgi dehiscente în cele 4 loturi

### Prezența/absența leziunilor prin automutilare pentru cele 4 loturi

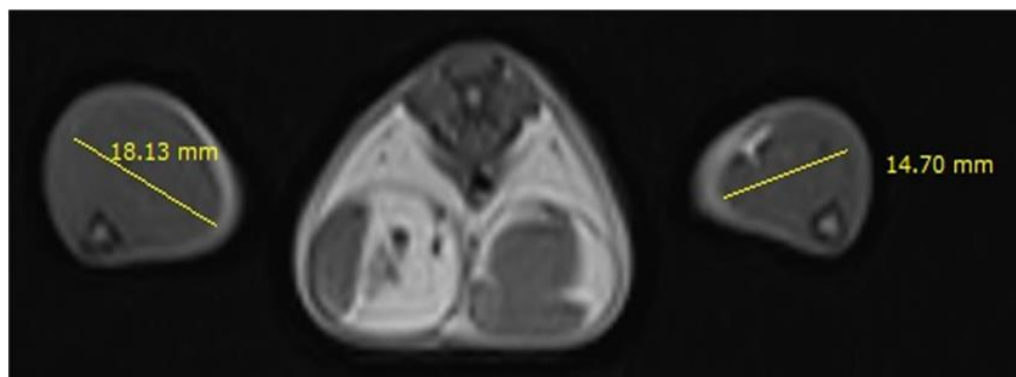
Lot		Automutilare		Total șobolani/lot
		Nu	Da	
Autogrefă	Nr.	7	1	8
	Procent	87.5%	12.5%	100%
Grefă vasculară	Nr.	7	3	10
	Procent	70%	30%	100%
PRP	Nr.	8	2	10
	Procent	80%	20%	100%
Celule stem	Nr.	7	3	10
	Procent	70%	30%	100%
Total automutilări	Nr.	29	9	38
	Procent	76.3%	23.7%	100%

În ceea ce privește procentul șobolanilor ce au prezentat automutilări, s-a observat o prevalență crescută în loturile 2 și 4, însă fără semnificație statistică ( $\chi^2 = 1.132$  (3);  $p = 0.769$ ).



**Grafic distribuție automutilări în cele 4 loturi**

Analiza RMN a evidențiat un grad de atrofie în cazul musculaturii membrului inferior drept denervat comparativ cu membrul contralateral. Prin măsurarea diametrelor gambiere (drept și stâng) s-a realizat un raport menit să evalueze indirect gradul regenerării nervoase.



**Măsurători efectuate ale diametrelor gambiere în plan transversal pe secvența T1 în lotul cu grefă vasculară simplă**

#### Analiza medianei diametrelor gambiere

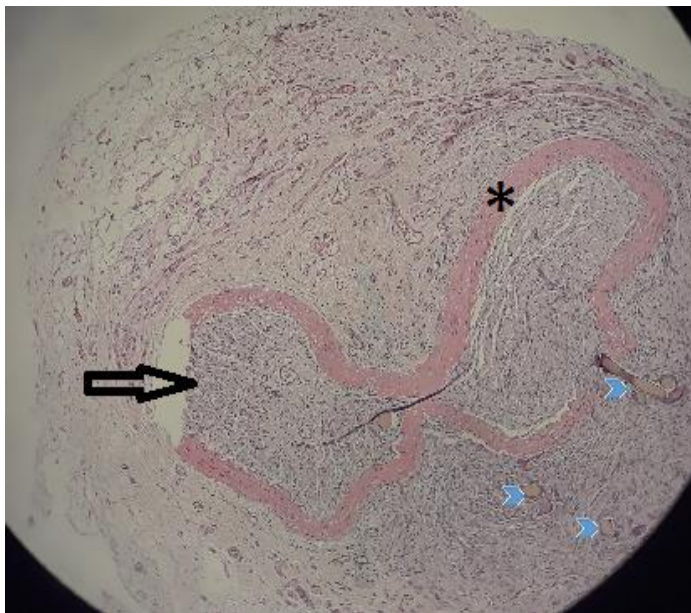
n=38	Lotul 1	Lotul 2	Lotul 3	Lotul 4	Total
Variabilă	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)
Diametru gambă dreaptă pe RMN	17.06 (2.3)	16.4 (3.38)	16.39 (0.98)	16.94 (1.4)	16.67 (1.5)
Diametru gambă stângă pe RMN	21.45 (1.26)	20.82 (2.18)	20.63 (0.96)	21.38 (1.61)	21.1 (1.45)
Raport diametre gambe drept/stâng pe RMN	0.794 (0.064)	0.784 (0.072)	0.803 (0.066)	0.799 (0.017)	0.798 (0.049)

#### Test Median pentru diametrele gambiere

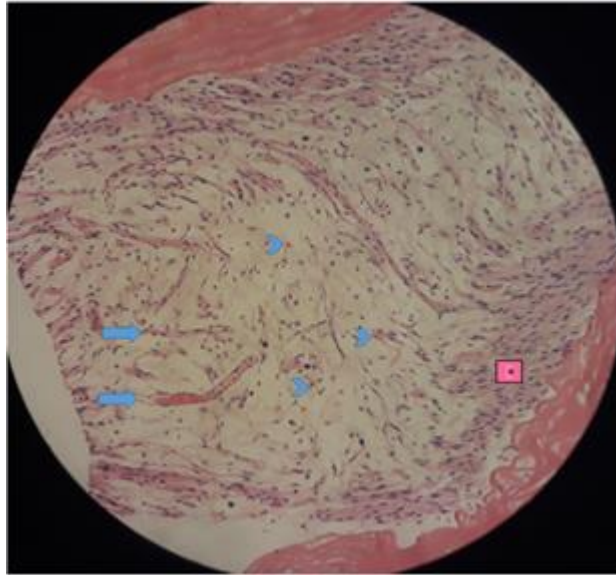
Variabilă	Test Median (Degree of freedom)	Valoare p
Diametru gambă dreaptă pe RMN	4.1 (3)	0.251
Diametru gambă stângă pe RMN	6.8 (3)	0.079
Raport diametre gambe drept/stâng pe RMN	1.2 (3)	0.753

Cel mai bun raport al diametrelor gambiere drept/stâng a fost înregistrat în cadrul lotului cu PRP, urmat de lotul cu celule stem, apoi de cel cu autogrefă, fără a exista diferențe semnificative statistic. ( $p=0.753$ ).

Examenul histopatologic a relevat un grad mai redus de țesut nervos la nivelul zonei de anastomoză, cât și în zona distală comparativ cu zona proximală, dar regenerarea nervoasă a fost vizibilă în toate loturile. De asemenea s-a mai observat o dezorganizare celulară, precum și țesut de fibroză în zona de anastomoză și în zona distal de aceasta.



**Lot 2: Perete aortic (eozinofilic, central, alcătuit din strat endotelial intern și fibre musculare netede concentrice extrinseci, asterisc). Endoluminal – fasciculele nervoase (săgeată). Periferic – fire de sutură (vârfuri de săgeată, HE 10x)**



**Lot 4: Țesut conjunctiv lax imatur (fenotip embrionar) cu celule stem mezenchimale (vârfuri de săgeată), cu aspect „stelat”, datorat prelungirilor citoplasmatiche delicate; adiacent, vase de neoformație (săgeți). Periferic – fibre nervoase cu expansiune în țesutul mezenchimal (asterisc, HE 40x)**

## 4. Discuții

Reconstrucția defectelor nervoase periferice reprezintă o problemă intens studiată în domeniul microchirurgiei, în literatură fiind prezentate numeroase componente artificiale sau biologice de tip conductor care să faciliteze creșterea neurală. Apariția unor noi factori de creștere, prelucrați prin inginerie moleculară, constituie o abordare futuristă care a creat noi orizonturi în regenerarea nervoasă. Totuși utilizarea lor în practica curentă este limitată, gold standardul rămânând grefa de nerv.

Lucrarea de cercetare urmărește aplicarea informațiilor obținute în urma studiului în practica clinică. Înainte de începerea unui proiect de cercetare în microchirurgie este de dorit ca operatorul să își aloce o perioadă de antrenament, pentru ca operațiile să se desfășoare în cele mai bune condiții. Tehnica chirurgicală cât și instrumentarul utilizat (microscop operator și instrumente de microchirurgie) influențează rezultatele obținute.

Fișa de operație standardizată a fost concepută pentru a preveni omiterea anumitor pași importanți parachirurgicali, cât și pentru a înregistra într-un mod eficient toate informațiile referitoare la intervenția și evoluția postoperatorie a fiecărui șobolan. Ea a servit ulterior la notarea rezultatelor periodice la evaluările sensibilității și mobilității membrului operat.

Alegerea conductorului nervos se face în funcție de diametrul nervului lezat, precum și de lungimea defectului. Există situații în care, pentru obținerea unor lungimi mai mari, se poate interpoziționa un segment mai scurt de grefa de nerv. Francel et al au descris un studiu în care defecte de 1,5cm reparate cu conductor siliconic, conductor siliconic și nerv în interior, precum și autogrefa, evidențiind beneficiile grefei de nerv în conductor. [26]

Grefonul aortic a fost soluția optimă pentru un conductor nervos, fiind recoltat de la un șobolan cu vârsta și greutate similare cu șobolanii din loturile operate. Alegerea aortei de la un alt șobolan ca și conductor pentru regenerare nervoasă a fost motivată de mai mulți factori: diametru similar, un singur timp operator fără alte comorbidități pentru șobolanii din studiu, sacrificarea numărului minim de șobolani pentru obținerea materialului biologic.

Datele obținute în ceea ce privește utilizarea de PRP au fost asemănătoare cu datele din literatură, lotul în care s-a folosit această soluție având cel mai bun rezultat pe regenerarea nervoasă. În acest sens, Quertainmont et al susțin regenerarea nervoasă atât prin PRP, cât și prin celule stem, prima variantă înregistrând rezultate ușor mai bune comparativ cu celulele

stem. [27] Același studiu militează pentru utilizarea combinată de celule stem și PRP, aceasta opțiune având și rezultatele cele mai bune. Lotul cu celule stem a înregistrat rezultate care s-au corelat cu alte studii prin evidențierea unei ușoare superiorități a PRP în cazul reparării directe a unui nerv. Per ansamblu, folosirea de PRP sau/și celulelor stem promovează regenerarea nervoasă periferică, cu potențial de aplicabilitate clinică. Totodată rămâne de cercetat combinarea celor două în defectele de nerv, întrucât un studiu pe leziuni nervoase simple suturate a evidențiat că cele două substanțe împreună se completează, iar rezultatele regenerării sunt superioare oricărei dintre cele 2 metode folosite individual.

Un aspect particular a fost acela că utilizarea unor materiale biologice non-self în studiu - allogrefă de aortă, PRP și xenogrefă de celule stem - nu au generat nicio reacție clinică generală de tipul grefă contra gazdă (chiar și în lipsa medicației imunosupresoare). Din literatură reținem că grefele vasculare la șoareci sunt relativ bine tolerate, comparativ, la om fiind rapid respinse.

Cele de mai sus sunt explicate prin faptul că celulele prezentatoare de antigen la om au o moleculă costimulatoare, CD 58 care se leagă cu CD 2 și determină activarea limfocitelor T. La șoareci se formează legături între CD2-CD48 care sunt de 40-50 ori mai slabe. O altă explicație ar fi evoluția diferită filogenetic dintre cele 2 specii, șoarecii fiind expuși la alte antigene față de om, ceea ce explică răspunsul imun diferit. [28]

În ceea ce privește timpii operatori, se poate afirma că neexistând diferențe semnificative statistic între medianele timpilor operatori pentru cele 4 loturi, recuperarea postoperatorie nu a fost influențată de durata operației.

Leziunile de nervi periferici la oameni sunt diagnosticate preponderent clinic sau prin studii de electrofiziologie. Există însă uneori cazuri de traumatisme complexe, în care diagnosticul poate fi dificil de stabilit. În astfel de situații, imagistica nervilor periferici poate suplimenta armamentariul tehnicilor de diagnostic. Pe lângă sonografia de nervi periferici, relativ accesibilă dar care necesită experiență, neurografia prin rezonanță magnetică este soluția salvatoare în cazurile complexe. Dispoziția spațială a nervilor periferici ajută la clasificarea tipului de leziune nervoasă, fiind cu precădere utilă în plexopatii traumatice sau în neuropatii parțiale ale fasciculelor. [29]

Analiza RMN a fost o metodă fiabilă de analiză indirectă a regenerării nervoase. Un RMN mai performant, cu o capacitate de mai multe slice-uri ar fi putut surprinde imagini mai

detaliate și din zona de anastomoză. Atrofia musculară a fost apreciată prin măsurătorile volumelor pe RMN, care s-au corelat statistic cu măsurătorile maselor musculare examinate postmortem.

Analiza histopatologică a urmărit nervul în porțiunea proximală, cât și în cea distală. Aceasta a relevat un grad apreciabil de fibroza vizibila la microscop, în special în regiunea distală. Macroscopic, în lotul cu grefa vasculară simplă, diametrul distal al nervului a fost de asemenea mai redus comparativ cu cel proximal, acest raport fiind chiar mai mic decât în cazul autogrefei. Acest aspect ar putea fi interpretat prin faptul că, la 12 săptămâni, maturarea și îngroșarea nervului a fost mai bună în cazul autogrefei decât în cazul conductorului vascular.



Aspecte mușchi gastrocnemieni stâng și drept (de stânga la dreapta S8, S9, S7, S10). Șobolanul 10 (S10) a prezentat ruptura nervului sciatic post intervenție chirurgicală.

Ca și în cazul raportului diametrelor gambiere pe RMN, indexul gastrocnemian a urmărit regenerarea motorie cu prevenirea atrofiei musculare. Corelația pozitivă dintre indexul gastrocnemian și indexul funcțional sciatic se justifică prin faptul că ambii indicatori sunt influențați de gradul de recuperare a musculaturii gambiere.

Șobolanul din cadrul primului lot care a avut ca și complicație ruperea nervului sciatic a fost scos din studiu pentru a nu influența rezultatele regenerării pe cele 4 tipuri de operații, dar aceasta a fost păstrat până la sfârșitul studiului, putând fi luat drept referință din perspectiva gradului de atrofie musculară, pentru comparația indicilor gastrocnemieni la 12 săptămâni (șobolani operați versus leziune fără intervenție chirurgicală), cât și pentru o comparație a rezultatelor anatomopatologice.

În cazul indexului gastrocnemian (la toți cei 38 de șobolani operați rămași în studiu) mediana totală a avut o valoare de 0.5, valoarea indexului gastrocnemian al șobolanului în cazul căruia nervul s-a rupt fiind de 0.18. Neavând însă mai mulți subiecți în care să existe leziune nervoasă nereparată, nu s-a putut efectua o analiză statistică.

## 5. Concluzii

Leziunile de nervi periferici constituie o problemă importantă de sănătate publică prin scăderea calității vieții ca urmare a pierderii sensibilității sau a funcției motorii. Aceste deficite pot impacta atât viața personală cât și cea profesională.

Tehnicile cele mai moderne de reparare nervoasă urmăresc combinarea unui conduct nervos cu o soluție cu potențial în regenerarea nervoasă. Aceasta abordare nu implică comorbidități suplimentare pacientului, putând înlocui cu rezultate similare tradiționala grefă de nerv. Studiul in vivo pe regenerarea nervului sciatic de șobolan constituie cel mai bun model de evaluare a unui nerv după o leziune reparată.

Grefa de nerv rămâne gold standard pentru partea de recuperare a mobilității. În studiul efectuat însă, lotul cu PRP a surclasat autogrefa atât în prevenirea atrofiei musculare (evidențiat prin indexul gastrocnemian și prin raportul diametrelor gambiere pe RMN), cât și în parte de recuperare a sensibilității pe etape de evoluție, făcând ca acesta să devină o alternativă fiabilă pentru grefa nervoasă.

Lotul cu grefă simplă de aortă a înregistrat cele mai slabe rezultate, atât din punct de vedere al sensibilității, cât și din punct de vedere al mobilității. De aceea, adăugarea fie de celule stem, fie de PRP (și posibil alți factori de creștere) îmbunătățește rezultatele folosirii unui conductor vascular.

Lotul cu celule stem a înregistrat rezultate mai bune în prevenirea atrofiei musculare comparativ cu autogrefa, însă datele nu au avut semnificație statistică.

Investigația RMN este o metoda non-invazivă și fiabilă, putând să aprecieze gradul atrofiei musculare. La om, aceasta poate vizualiza și integritatea nervoasă (în cazul nervilor cu dimensiuni mai mari).

Raportul diametrelor gambiere drept/stâng pe RMN s-a corelat semnificativ statistic cu indexul gastrocnemian (raportul maselor mușchilor gastrocnemieni drept/stâng), cu procentul dintre masa gastrocnemianului drept și greutatea șobolanului la momentul recoltării, precum și cu indexul funcțional sciatic la 6, respectiv 12 săptămâni de la intervenție. Indexul gastrocnemian (raportul maselor gastrocnemienilor drept/stâng) s-a corelat și el semnificativ statistic cu indexul funcțional sciatic la 6, respectiv 12 săptămâni.

Analiza histopatologică susține diagnosticul și gradul de afectare nervoasă, însă nu poate fi utilizată la oameni din motive etice. Regenerarea observată la histopatologie a fost una exemplară în cazul lotului cu celule stem, nervul expandând chiar grefa vasculară și creând breșe prin care acesta și-a continuat creșterea.

O continuare a cercetării ar putea constitui comparația dintre grefa de nerv pe de-o parte și un conductor nervos cu soluție combinată de celule stem și PRP pe de altă parte, pentru a vedea dacă cele 2 soluții combinate au efect cumulativ.

## Bibliografie

1. Johnson JH, Al Khalili Y. Histology, Myelin.
2. Schwartz SI. Principles of Surgery. 7<sup>th</sup> ed. New York, NY: McGraw-Hill; 1999: 2048-53.
3. Townsend PL. Microsurgical techniques in reconstructive surgery. In: Keen G, Farndon JR, eds. Operative Surgery and Management. 3<sup>rd</sup> ed. Oxford, UK: Butterworth-Heinemann; 1994: 434-5.
4. Drukarch B, Holland HA, Velichkov M, Geurts JJG, Voorn P, Glas G, de Regt HW. Thinking about the nerve impulse: A critical analysis of the electricity-centered conception of nerve excitability. Prog Neurobiol. 2018 Oct;169:172-185. doi: 10.1016/j.pneurobio.2018.06.009. Epub 2018 Jul 4. Review.
5. Wilgis EF, Brushart TM. Nerve repair and grafting. In: Green DP, ed. *Operative Hand Surgery*. Vol 2. Toronto, Canada: Churchill Livingstone; 1993:1315-40.
6. Fansa H, Keilhoff G. [Factors influencing nerve regeneration]. Handchir Mikrochir Plast Chir. 2003 Mar; 35(2):72-82.
7. Omotade OF, Pollitt SL, Zheng JQ. Actin-based growth cone motility and guidance. Mol Cell Neurosci. 2017 Oct;84:4-10. doi: 10.1016/j.mcn.2017.03.001. Epub 2017 Mar 6. Review.
8. Mattson MP, Kater SB. Calcium regulation of neurite elongation and growth cone motility. J Neurosci. 1987 Dec;7(12):4034-43
9. Perry EC 3rd, Ahmed HM, Origitano TC. Neurotraumatology. Handb Clin Neurol. 2014;121:1751-72. doi: 10.1016/B978-0-7020-4088-7.00113-9. Review
10. Leclere FM, Eggli S, Mathys L, Vögelin E. Anatomic study of the superficial sural artery and its implication in the neurocutaneous vascularized sural nerve free flap. Clin Anat. 2013 Oct;26(7):903-10. doi: 10.1002/ca.22054. Epub 2012 Mar 29.
11. Safa B, Buncke G. Autograft Substitutes: Conduits and Processed Nerve Allografts. Hand Clin. 2016 May;32(2):127-40. doi: 10.1016/j.hcl.2015.12.012. Review.

12. Limthongthang R, Bachoura A, Songcharoen P, Osterman AL. Adult brachial plexus injury: evaluation and management. *Orthop Clin North Am.* 2013 Oct;44(4):591-603. doi: 10.1016/j.ocl.2013.06.011. Epub 2013 Sep 6. Review.
13. Sabongi RG, De Rizzo LA, Fernandes M, Valente SG, Gomes dos Santos JB, Faloppa F, Leite VM. Nerve regeneration: is there an alternative to nervous graft? *J Reconstr Microsurg.* 2014 Nov;30(9):607-16. doi: 10.1055/s-0034-1372477. Epub 2014 Aug 4.
14. Safa B, Buncke G. Autograft Substitutes: Conduits and Processed Nerve Allografts. *Hand Clin.* 2016 May;32(2):127-40. doi: 10.1016/j.hcl.2015.12.012. Review.
15. Lin MY, Manzano G, Gupta R. Nerve allografts and conduits in peripheral nerve repair. *Hand Clin.* 2013 Aug;29(3):331-48. Doi: 10.1016/j.hcl.2013.04.003. Review.
16. Li CY, Cao DC. [Experimental study on repair of peripheral nerve defect by basic fibroblast growth factor combined with autogenous vein graft conduit]. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.* 2000 Jan;14(1):14-6
17. Ikumi A, Hara Y, Yoshioka T, Kanamori A, Yamazaki M. Effect of local administration of platelet-rich plasma (PRP) on peripheral nerve regeneration: An experimental study in the rabbit model. *Microsurgery.* 2018 Mar;38(3):300-309. Doi: 10.1002/micr.30263. Epub 2017 Nov 2.
18. Teymur H, Tiftikcioglu YO, Cavusoglu T, Tiftikcioglu BI, Erbas O, Yigitturk G, Uyanikgil Y. Effect of platelet-rich plasma on reconstruction with nerve autografts. *Kaohsiung J Med Sci.* 2017 Feb;33(2):69-77. doi: 10.1016/j.kjms.2016.11.005. Epub 2016 Dec 29
19. Sánchez M, Anitua E, Delgado D, Sanchez P, Prado R, Orive G, Padilla S. Platelet-rich plasma, a source of autologous growth factors and biomimetic scaffold for peripheral nerve regeneration. *Expert Opin Biol Ther.* 2017 Feb;17(2):197-212. Doi: 10.1080/14712598.2017.1259409. Epub 2016 Nov 28. Review
20. Bastami F, Vares P, Khojasteh A. Healing Effects of Platelet-Rich Plasma on Peripheral Nerve Injuries. *J Craniofac Surg.* 2017 Jan;28(1):e49-e57. doi: 10.1097/SCS.0000000000003198. Review.
21. Jiang L, Jones S, Jia X. Stem Cell Transplantation for Peripheral Nerve Regeneration: Current Options and Opportunities. *Int J Mol Sci.* 2017 Jan 5;18(1). pii: E94. doi: 10.3390/ijms18010094. Review.
22. Lee DC, Chen JH, Hsu TY, Chang LH, Chang H, Chi YH, Chiu IM. Neural stem cells promote nerve regeneration through IL12- induced Schwann cell differentiation. *Mol Cell Neurosci.* 2017 Mar;79:1-11. doi: 10.1016/j.mcn.2016.11.007. Epub 2016 Nov 16.

23. Guo J, Guo S, Wang Y, Yu Y. Promoting potential of adipose derived stem cells on peripheral nerve regeneration. *Mol Med Rep*. 2017 Nov;16(5):7297-7304. doi: 10.3892/mmr.2017.7570. Epub 2017 Sep 21.
24. Mohamadi F, Ebrahimi-Barough S, Nourani MR, Mansoori K, Salehi M, Alizadeh AA, Tavangar SM, Sefat F, Sharifi S, Ai J. Enhanced sciatic nerve regeneration by human endometrial stem cells in an electrospun poly ( $\epsilon$ -caprolactone)/collagen/NBG nerve conduit in rat. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2018 Dec;46(8):1731-1743. Doi: 10.1080/21691401.2017.1391823. Epub 2017 Nov 8.
25. Lascar I., Zamfirescu D. *Microchirurgie experimentală*, 2000, 34-37
26. Francel PC, Francel TJ, Mackinnon SE, Hertl C. Enhancing nerve regeneration across a silicone tube conduit by using interposed short-segment nerve grafts. *J Neurosurg*. 1997 Dec;87(6):887-92.
27. Quertainmont R, Cantinieaux D, Botman O, Sid S, Schoenen J, Franzen R (2012) Mesenchymal Stem Cell Graft Improves Recovery after Spinal Cord Injury in Adult Rats through Neurotrophic and Pro-Angiogenic Actions. *PLoS ONE* 7(6): e39500.
28. Mestas J, Hughes CC. Of mice and not men: differences between mouse and human immunology. *J Immunol*. 2004 Mar 1;172(5):2731-8. Review.
29. Bäumer P. [Diagnostic criteria in MR neurography]. *Radiologe*. 2017 Mar;57(3):176-183. doi: 10.1007/s00117-017-0213-3. Review. German