

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
CHIRURGIE PLASTICĂ ȘI MICROCHIRURGIE RECONSTRUCTIVĂ

REZUMAT
TEZĂ DE DOCTORAT

*REGENERAREA NERVOASĂ
PRIN ALLOGREFĂ DE NERV PERIFERIC*

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. ACADEMICIAN DAN MIRCEA ENESCU

Doctorand:

DR. MIHAI MEHEDIŢU-IONESCU

București

2017

Cuprins :

Parte generala:

1. Considerente generale
2. Istoria Traumatismelor Nervoase
3. Fiziologia nervilor periferici
4. Anatomia Nervoasă Și Elementele Clinice Operatorii
5. Leziunile nervoase, moduri de producere și clasificarea lor
6. Clasificarea Leziunilor Nervoase
7. Tratamentul Nervilor Periferici
8. Complicații
 - 8.1. Evoluția leziunilor nervoase

Partea speciala:

9. Premizele studiului
 10. Obiectivele studiului
 11. Studiul experimental
 - 11.1. Materiale și Metode
 - 11.2. Etapa Chirurgicală
 - 11.3. Evaluarea Statistică
 - 11.4. Urmărire Subiecți Postoperator
 12. Proba Amprentei
 - 12.1. Corelații Histologice
 13. Discuții
 14. Concluziile Studiului
- Anexa Parte Speciala
Bibliografie

PARTEA SPECIALĂ

9. PREMIZELE STUDIULUI

Repararea nervoasă corectă, eficientă și fără vicii este rară sau tinde spre zero, dacă pacientul nu este supus unei intervenții chirurgicale care este efectuată pentru a stabili traiectul nervos normal și de a înlătura obstacolele unei regenerări vicioase.

Metoda în cazul lucrări de fata propune, experimental în laborator, o alternativă terapeutică la tratamentul convențional prin sutura sau greșirea leziunilor nervoase cu defect de substanță nervoasă, defecte ce depășesc minim 4 cm, înlocuite (sutura directă și greșirea de nerv de la același individ) cu allogrefă de la individ de aceeași specia și cu aceleași constante biologice. Acest fapt poate fi la un moment dat transpus și în activitate clinică și o practică curentă în serviciile de traumatologie. Avantajele aplicării procedurii în practică clinică ar presupune recoltarea greșoanelor nervoase de același tip ca și nervul traumatizat sau care a suferit și pierdere de substanță, de la cadavrul proaspăt sau pacienții aflați în moarte clinică.

Subiectul de cercetare rămâne actual și de mare complexitate deoarece regenerarea nervoasă este încă o enigmă din care îmi permit a emite premiza că nu o cunoaștem mai mult de 50%. Astfel se propune un protocol experimental desfășurat pe șobolanul de laborator Wistar, o testare experimentală, iar apoi să analizeze și să evalueze rezultatele acestui protocol, cu speranța că într-o zi se va putea transpune și în practica chirurgicală.

10. OBIECTIVELE STUDIULUI

Teza este realizată în baza unui studiu experimental care și-a propus să analizeze în primul rând eficiența unei allogrefe nervoase. Pentru aceasta am folosit două eșantioane de câte 22 și respectiv 24 animale de laborator (șobolani Wistar) care au fost supuse unor intervenții chirurgicale, în care a fost trasplantată o allogrefă de dimensiune standard (lungime=1cm). La fiecare eșantion, a fost folosit un șobolan Wistar drept martor. Repararea defectului de nerv sciatic a fost făcută folosind metoda de elecție, folosită la ora actuală și anume sutura allogrefei nervoase epi-perineural.

Deși, din punct de vedere al tehnicii chirurgicale, există similarități în cele trei metode de reparare a leziunilor de nervi periferici cu defect de substanță, durata intervenției, interesarea unei zone donoare și recoltarea unor structuri de la un alt nivel implică o serie de avantaje și dezavantaje. Acestea au fost analizate în funcție de fiecare intervenție în parte.

Postoperator am propus efectuarea de teste care vor acoperi cele mai importante aspecte ale regenerării nervoase. Eficiența regenerării nervoase a fost analizată din punct de vedere funcțional comparând rezultatele obținute prin proba amprentei cu sobolanul martor atât în cadrul fiecărui lot, cât și între cele două loturi.

După efectuarea probei amprentei, nervul sciatic a fost recoltat de la nivelul membrului operat, de la ambii șobolani aflați în aceeași “echipă”, și s-a efectuat examenul histopatologic, rezultatele fiind comparate atât în cadrul fiecărui lot în parte, cât și între cele două loturi.

După analizarea tuturor rezultatelor se va stabili dacă, experimental allogrefa poate fi modelul optim de conduct nervos.

Astfel, obiectivele acestui studiu sunt:

1. Analiza eficienței allogrefei nervoase prin calea de abord chirurgical desfășurată pe cele două eșantioane;
2. Stabilirea avantajelor și dezavantajelor fiecărei căi de abord chirurgical în parte;
3. Evaluarea comparativă și în evoluție, prin proba amprentei și ulterior prin examenul histopatologic efectuat asupra nervului recoltat după sacrificarea șobolanului;
4. Producerea unui defect nervos la nivelul nervului sciatic al șobolanului de 1 cm ce ar echivala la o persoană adultă umană cu un defect situat între 9-13 cm. Acest raționament a fost făcut din punct de vedere anatomic pe baza măsurării nervului sciatic la o persoană adultă (cca 40 de cm) și măsurarea nervului sciatic la șobolanul Wistar (cca 3cm). Astfel am considerat că 1 cm din nervul sciatic al șobolanului echivalează cu circa 11cm de nerv sciatic uman.
5. Stabilirea variantei optime pentru calea de abord chirurgical care presupune un stress minim șobolanului și o regenerare cât mai rapidă a nervului sciatic.

11. STUDIUL EXPERIMENTAL

S-a desfășurat în cadrul “Universitatea de Științe Agronomice și Medicină Veterinară din București”, implicând catedra de histologie și chirurgie cu, concursul catedrei de anestezie terapie intensivă, fără de care nu s-ar fi putut desfășura timpii operatori.

Modelul animal a fost ales “Șobolanul Wistar “, care este de elecție pe plan mondial datorită rapidității sale adaptative, suportului anatomic de bună calitate și răspunsul corect atât în timpul intervenției chirurgicale cât și postoperator.

11.1. Materialele și metodă

Eșantioane de studiu (șobolanii Wistar) : două eşantioane la care s-au aplicat două tehnici operatorii având același scop, dar cu două căi de abord diferite și cu rezultate comparativ diferite.

Lotul 1 – a fost creat în anul 2014 cu șobolani Wistar, masculi în număr de 22 de indivizi. Aceștia au fost grupați câte 2 (pereche) în funcție de anumite constante biologice expuse în rândurile de mai jos. Au fost tratați conform principiilor internaționale cu privire la experimentele pe animale.

Fiecare șobolan a fost cântărit și apoi grupat cu alt șobolan ce a avut o greutate asemănătoare cu a lui. O altă constantă biologică care a fost luată în calcul a fost vârsta șobolanului. Amintim că aceștia aveau o vârstă minimă de 3 luni și nu depășeau vârsta de 6 luni. Greutatea lor minimă în lot a fost de 250 de grame și maximul atins a fost de 300 de grame.



Fig. 8 Cazare loturi șobolani 1 . Sursa-autor.

Astfel s-au creat 11 perechi ținute în cuști separate și marcate cu aceeași culoare pentru a evidenția perechea. Primele 10 perechi vor fi experimentale, care vor suferi intervenția chirurgicală de încrucișare a allogrefei. Perechea a 11 a este o pereche de martori. Ei vor fi cei ce vor defini proba amprente.

Lotul 2 - a fost creat în anul 2015, masculi în număr de 24 de indivizi. Ca și în cazul primului lot, și aceștia au fost tratați conform principiilor internaționale cu privire la experimentele pe animale.

Au fost grupați în 12 perechi. Și aceștia au fost cazați în cuști diferite și au fost marcați cu aceeași culoare pentru aceeași echipă. Primele 11 perechi de șobolani vor fi supuși intervenției chirurgicale, în timp ce ultima pereche au fost considerată martor pentru proba amprente.



Fig. 10 Cazare lot șobolani 2. Sursa -autor.

Pentru a putea forma perechile și acești șobolani au primit același tratament ca lotul 1, au fost cântăriți și greutatea lor a fost între 250 și 350 de grame. Cealaltă constantă biologică ca și la primul lot, a fost vârsta șobolanului. S-a respectat vârsta minimă de 10 săptămâni și maximă de 26 de săptămâni.

Proiectul de cercetare s-a desfășurat în 4 etape. În prima etapă au fost realizate intervențiile chirurgicale. Condițiile de asepsie și timpul anestezic a fost respectat atât de chirurg dar și de medicul anestezist. Timpul operator a presupus identificarea nervului sciatic, secționarea nervului și recoltarea unui grefon nervos din acesta, de 1 cm și încrucișarea cu celălalt grefon recoltat de la șobolanul pereche. Acest protocol a fost implementat ambelor loturi, cu diferența căi de abord a nervului sciatic.

Etapa a doua, au fost urmărirea postoperatorie a șobolanilor operați și notarea evenimentelor desfășurate pe perioadă regenerării nervoase până la proba funcțională. Mențiunea care poate fi făcută, este aceea că, fiecare lot s-a comportat diferit ca unitate de timp până la apariția regenerării nervoase.

În cea de-a treia etapă, cele două loturi au fost evaluate din punct de vedere al funcționării membrului operat și al aspectului macro al plagii operate.

În cea de-a patra etapă, s-a efectuat recoltarea nervului sciatic pe o lungime ce a depășit grefonul nervos, cuprinzând și nerv nativ, astfel am apreciat că o recoltare de aproximativ 2 cm, va include central și allogrefa nervoasă dar și procesele de remaniere și nerv sciatic nativ. Recoltarea s-a realizat în perechi și au fost comparate histologic.

Anestezia s-a realizat cu ketamine-dexmedetomidine-butorphanol (K, 80 mg/kg; D, 0.25 mg/kg, B,0.5 mg/kg) injectată intraperitoneal. Este un protocol ce s-a implementat în cadrul acestei teze de doctorat .(88)

11.2. Etapa Chirurgicală

Intervențiile chirurgicale au fost efectuate în clinica de chirurgie, blocul operator, în cadrul facultății de medicină veterinară.



Fig12 Blocul operator. Sursa-autor

Anestezia Generală

A fost asigurată de medic anestezist (Dr.Ruxandra Costea) și a presupus un protocol ce a fost implementat în clinică, în cadrul acestei teze și adaptat nevoilor chirurgului plastician (Dr. Mehedințu-Ionescu Mihai) care a operat.

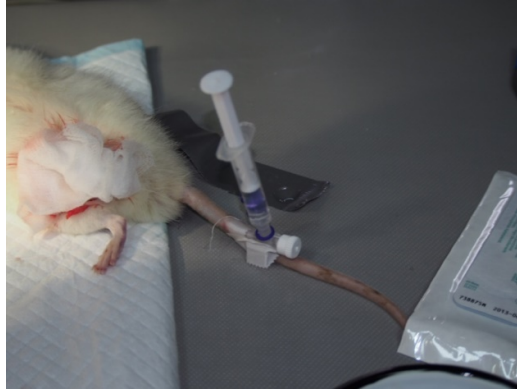


Fig.13 Aspect intraoperator, administrare medicația , branulă. Sursa –Autor.

Ca și anestezice s-au folosit ketamine, dexmedetomidina și butorphanol. A fost preparat un “cocktail” care, pentru fiecare subiect, a fost injectat intraperitoneal.(90)(91)

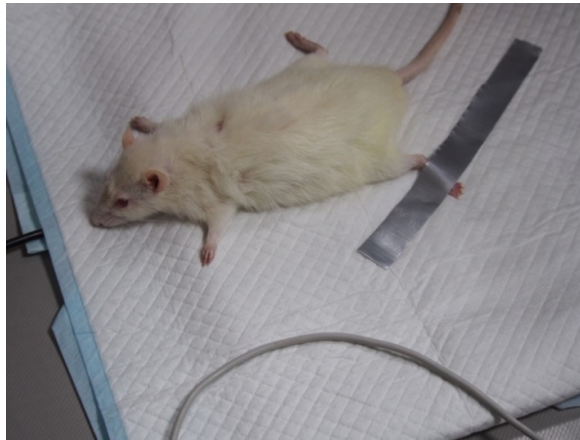


Fig.14 Aspect intraoperator, poziționare subiect. Sursa-Autor

Funcțiile vitale au fost urmărite și eventuale probleme intraoperatorii au fost corectate prin calea venoasă. Ochii subiecților au fost umectați o dată la 5 minute pentru a nu suferii o uscăre a globului ocular.

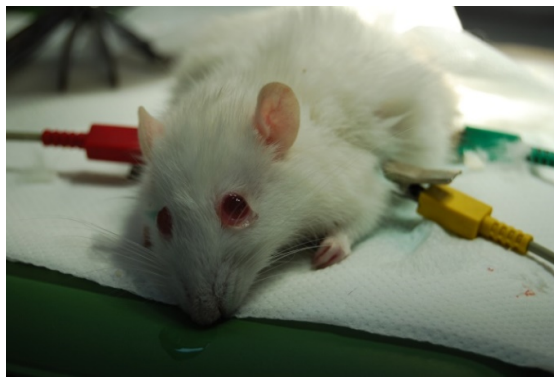


Fig15. Administrare oculară. Sursa-autor.

Șobolani din aceeași pereche au fost anesteziați și așezați pe câmpul operator, fixați conform protocolului. Au fost toaletate zonele unde urmează a se practica incizia prin tundere și dezinfectare a tegumentului expus.



Fig. 16 Toaletarea câmpului operator , Sursa-autorul.



Fig.17 Montare electrozi EKG. Sursa-autorul.



Fig.18 Monitorizare funcții vitale subiect. Sursa- autorul.

Lot 1- timpii operatori

Instrumentar: microchirurgical și instrumentar comun chirurgie plastice.

Magnificare: lupe de lucru cu mărire 2.6X.

Sutura: grefa nervoasă- 7-0; 8-0; 9-0, tegumente- 4-0; 5-0 pentru ambele suturi s-au folosit fire neresorbabile.

Subiecți operați: 10 perechi

Protocolul operator: a presupus poziționarea subiectului (șobolan) în decubit ventral iar membrul pelvin este poziționat și fixat în abducție. Fixarea se face pe un plan dur.

Poziționarea subiectului în această poziție se face după instalarea anesteziei care a fost făcută intraperitoneal. Câmpul operator (membrul posterior stâng) este tuns și apoi ras cu mașina de tuns. Curățat cu alcool pentru a avea și condiții de asepsie.

După instalarea anesteziei se practică o incizie ce nu poate fi definită ca și direcție, dar va fi efectuată în toate cazurile pe planul mușchiului biceps femural. Precizam acest amănunt pentru a explica faptul că nu am putut identifica elemente anatomice în tehnica operatorie ce ar defini lungimea inciziei sau punctele de reper. Incizia tegumentului va fi urmată de ancorarea celor două lambouri cutanate cu fire ce vor fi orientate ca plaga să expună mușchiul.

Mușchiul se secționează cu bisturiul și urmează a fi refăcut ulterior. Prin secționarea acestuia se va observa un plan fibros ce separă planul profund al adductorului și fascia posterioară a bicepsului femural.

Planul este unul avascular, fără sângerare, conferă un confort operator, dar va afecta regenerarea nervoasă. Menționăm acest aspect deoarece deschiderea acestui plan relevă nervul sciatic în treime sa medie. Altă mențiune este aceea că tot nervul este în tensiune datorită poziționării membrului în decubit ventral.

Nervul reparat cu trei puncte de sutură poziționate în “stea Mercedes” (orele 12, 4, 8) va fi poziționat în planul avascular mai sus descris.

Martori: perechea 11. Menționăm că nu au fost supuși nici unei intervenții de natură chirurgicală și au primit hrană și apă din abundență, cu mențiunea de a nu depăși greutatea maximă admisă în studiu.

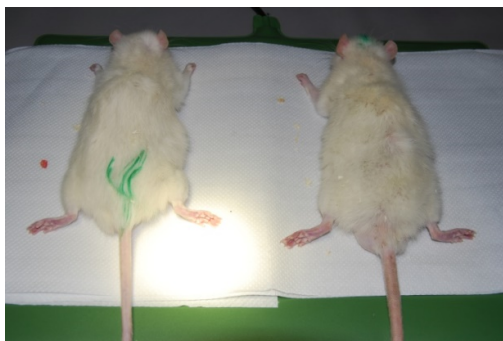


Fig.19 Șobolani pereche câmpul operator. Sursa-autor.

Pentru a sintetiza timpii operatori am creat un protocol operator desfășurat pe fiecare pereche, ce a încadrat timpul scurs de la începerea manevrei chirurgicale până la terminarea acesteia. Protocoalele pot fi urmărite în paginile de mai jos (Anexa Studiului)

Perechile subiecților au fost operate în decursul a 3 zile pentru a nu vicia rezultatele studiului. O perioadă lungă de timp între intervențiile chirurgicale de grefare nervoasă ar fi modificat proba amprentei.

Timpii operatori pot fi consultați în capitolul 15 Anexa Studiului Clinic.



Fig.22 Disecție și identificare nerv sciatic. Sursa-autor.

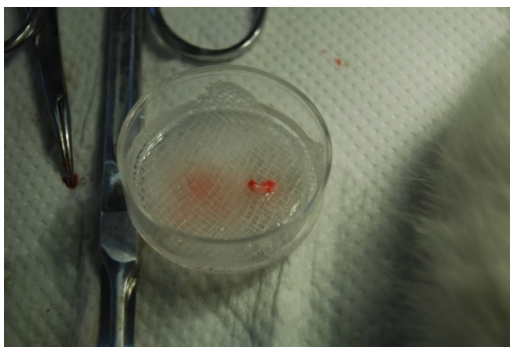


Fig.23 Allogrefa.Sursa-autor.



Fig.24 Sutura allogrefa.Sursa-autor.



Fig.25 Grefa nervoasă, aspect după recoltare. Perechea 2. Sursa-autor.

Lot 2 - timpii operatori

Instrumentar: microchirurgical și instrumentar comun chirurgie plastică.

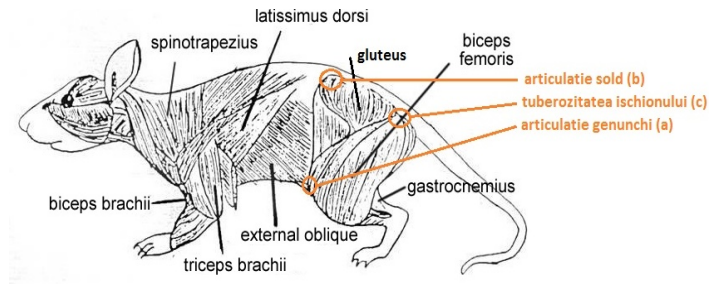
Magnificare: lupe de lucru cu mărire 2.6X.

Sutura: grefă nervoasă- 7-0; 8-0; 9-0 , tegumente- 4-0; 5-0 pentru ambele suturi s-au folosit fire neresorbabile.

Subiecti operati: 11 perechi

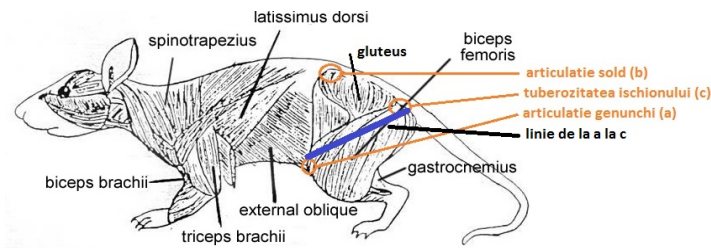
Protocolul operator: coada șobolanului va fi plasată sub membrul ce urmează a fi operat, punând în tensiune planul muscular al gluteusului și ridicând nervul sciatic. Dacă coada nu are volumul corespunzător sau în cazul tezei noastre, coada avea montată o branulă, aceasta va fi înlocuită cu o seringă de volum 2ml sau maxim 5ml.

Urmează etapa marcări preoperatorii care se realizează după instalarea anesteziei și tunderea membrului ce urmează a fi operat. Marcarea se face cu marker permanent și presupune 3 puncte : articulația genunchiului (a); articulație sold (b); tuberozitatea ischionului (c).

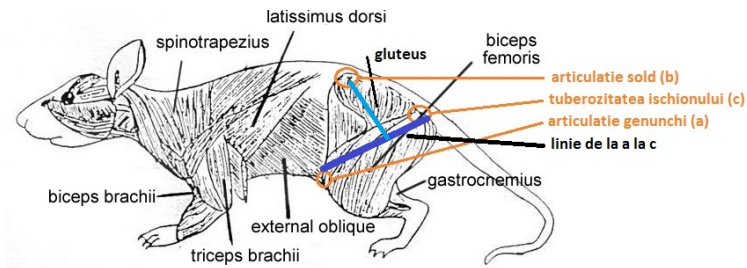


Schemă picior. Sursa-internet modificat..

Se va marca cu o linie ce unește punctul “a” cu punctul “c”. O altă linie va fi proiectată perpendicular pe linia trasată anterior.



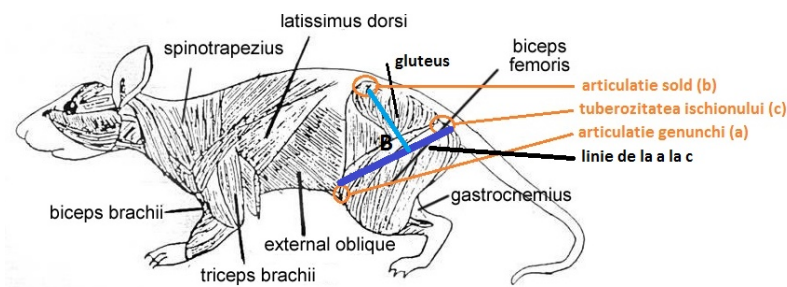
Marcaje operatori. Sursa-internet modificat



Marcaje operatori. Sursa-internet modificat

Linia ce pleacă din punctul ”c” către punctul “a” este punctul de unde pleacă și nervul sciatic.

La circa 2mm de punctul “B” dinspre “c” spre “a”, nervul sciatic își desprinde ramurile (peronier, tibial posterior).



Marcaje operatori. Sursa-internet modificat

Incizia practică este din punctul “a” către punctul “c”.

Ridicarea lambourilor cutanate și ancorarea lor, observăm două tipuri de fibre musculare, una plasată superior liniei “a→c”, fibre musculare așezate cranio caudal, aparținând mușchiului gluteus și plasate sub linia sus menționată, orientate longitudinal, ale mușchiului biceps femural.

Marcarea corectă preoperatorie, duc la disecție exactă, precis implementată, cu identificarea nervului sciatic, imediat separări celor doi mușchi. Tensiunea în plaga operatorie este minimă, nervul este relaxat din plex.

În cadrul abordării nervului pe această cale, nu întâlnim septul fibros dintre adductorul femural și bicepsul femural, situat anterior planului de disecție.

Lipsa tensiunii în planurile de sutură nervoasă, limitează traumatizarea elementelor epineurale.

Grefa nervoasă este “prinsă” în planurile musculare separate anterior (gluteus/biceps femural) și care nu au nevoie de sutura pentru a fi reparate. Aceste 2 mase musculare se comportă ca două paturi vasculare pentru grefa nervoasă dar și pentru capatul proximal și distal al nervului sciatic.

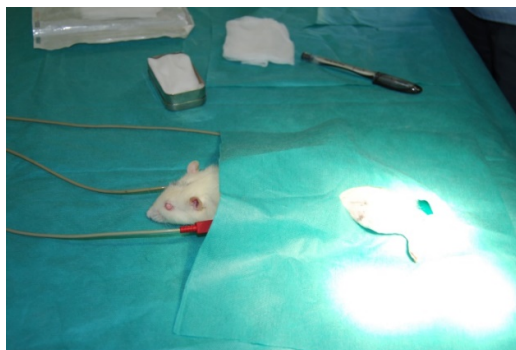


Fig.26 Sobolan pregătit pentru recoltare. Sursa-autor.

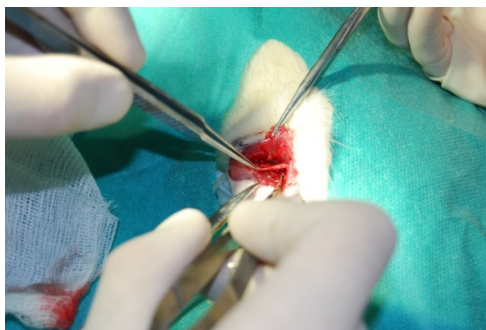


Fig.27 Disectie și identificare nerv sciatic. Sursa-autor.

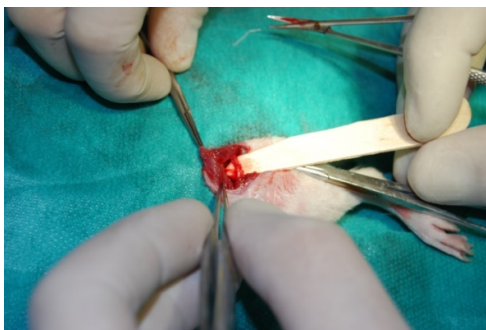


Fig.28 Recoltare greșa nerv sciatic. Sursa-autor.

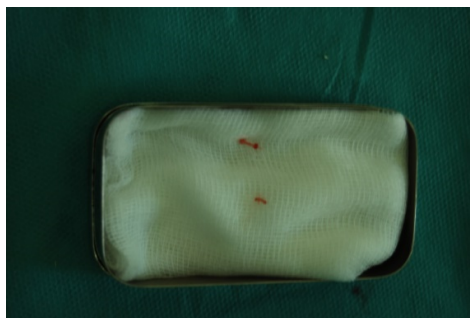


Fig.29 Allogrefe nerv sciatic.Sursa-autor.

Timpii operatori în lotul 2 au fost mai scurți datorită acestei căi de abord și recunoașterea reperelor anatomice mai ușoare datorită fixării lor și marcării cu marker permanent. Putem spune că tehnica folosită în primul lot presupunea o orientare în orb în planul muscular și depindea mai mult de experiența chirurgului în microchirurgia experimentală. Cea de a doua tehnică definește o incizie bine stabilită pe repere anatomice bine definite.



Fig.30 Sutura allogrefa. Sursa-autor.

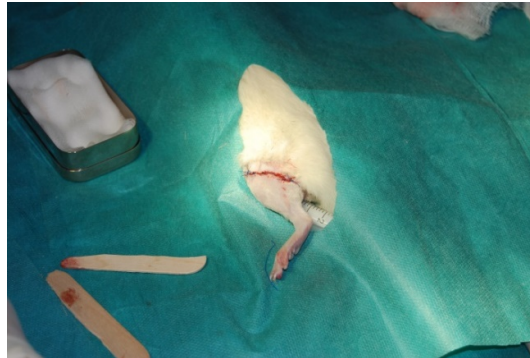


Fig.31 Inchidere transa de sutura. Sursa-autor.

Și în cazul lotului 2 s-a folosit același protocol anestezic dar protocolul operator a fost cel descris mai sus. Perechile, în număr de 11, au fost și ele împărțite pe 4 zile . Timpul pentru instalarea anesteziei și pregătire câmp operator rămâne același ca la lotul 1.

Desfășurarea timpilor ulteriori nu a produs evenimente ieșite din comun ce ar trebui menționate.

Timpii operatori pot fi consultați în anexa studiului clinic.

11.3. Evaluare Statistică:

Discuții asupra lotului 1:

- Toți subiecții s-au încadrat în limita de greutate, ceea ce a respectat premisele studiului
- Subiecții au avut o medie de greutate de 291.00 grame ceea ce este la jumătatea limitei noastre de greutate, considerăm o greutate ideală medie pentru a permite emiterea unor concluzii pertinente asupra lotului 1

- Media greutății marțorilor este situată în partea superioară a greutății lotului, dar se încadrează în limitele studiului și nu pot influența rezultatele finale ale studiului, ei fiind doar marțori pentru aprențe și importanța lor este aceea de a arăta amprenta normală a șobolanului și arhitectura normală a nervului sciatic la șobolanul cu greutate între 250 și 350 grame.

Discuții asupra lotului 2:

- Se poate păstra premiza studiului referitoare la studiu și respectata de lotul 1
- Media greutății subiecților este foarte apropiată de media celor din lotul 1 (291.00 versus 286.95) astfel nu putem vicia rezultatele obținute în lotul 2 și discutate în paginile de mai jos.
- Media greutății marțorilor este sub valoarea medie aritmetică a mediei greutăților marțorilor, drept urmare putem compara amprenta marțorilor lotului 2 cu amprenta marțorilor lotului 1 și sperăm să observăm același tip de amprentă, ceea ce va emite ipoteza că între același valori de greutate, static mișcările membrului inferior al șobolanului nu se modifică și drept urmare nu vor vicia concluziile studiului.

Timpul total operator în lotul I este semnificativ statistic mai mare ca timpul operator în lotul II ($p < 0,05$)

După prezentarea tuturor timpilor operatori putem formula câteva concluzii care sunt ușor de urmărit:

- S-a preferat expunerea în tabele deoarece nu poate fi făcut un model cu timpi perfect controlabili
- Se pot contura ca și premise de lucru, eficiența fiecărui abord chirurgical a nervului sciatic, în funcție de lot
- Urmărirea timpilor operatori în ambele loturi, poate previziona ca și predictibili doar etapa anestezică, și pregătirea câmpului operator, raderea zonei ce urmează a fi operată, dezinfectia sa și montarea câmpului steril
- Timpul de instalare a anesteziei în cazul tuturor subiecților a fost același, 5 minute, ceea ce ne face să fim îndreptățiți a crede că protocolul pus la punct pentru teză este unul corect, eficiența în cazul șobolanului Wistar cu greutate de 250-350 grame.
- Un alt timp operator expus în tabelul intervențiilor chirurgicale, este acela al treziri subiecților. Acesta este constant dar nu în cazul celor două loturi, ci separate, lotul 1 versus lotul 2. Putem concluziona că o data cu un timp operator mai mare, timpul de

trecere în starea de conștiența este mai mare. Timp operator mai scurt, recuperarea coștiencei este mai rapida.

O dată cu prezentarea statisticii timpilor operatori, precizăm că am terminat prima etapă a părții speciale a tezei.

11.4. Urmărirea Subiecților Postoperator

Etapa a doua a presupus urmărirea subiecților în fiecare zi, la aproximativ aceeași ora. Protocolul de urmărire a fost compus din următoarele elementele:

- Starea subiectului: prezent/absent
- Activitatea subiecților: activ/inactiv
- Apetit : prezent/absent
- Consum lichide: da/nu
- Urmărirea plagii operatorii: evoluție favorabilă/nefavorabilă
- Urmărirea integralității membrului operat
- Recuperarea funcțională a membrului operat, cu mai multe variabile

Lotul subiecților din anul 2014 . Proba amprentei s-a desfășurau la 31 de zile de la momentul operator al ultimei perechi din lotul respectiv.

Lotul al doilea, operat în anul 2015, proba amprentei s-a desfășurat la 28 de zile de la prima zi operatorie.

Sistematizarea datelor anterior prezentate arată astfel:

- Momentul de începere a urmăririi subiecților în evoluția postoperatorie a fost definit ca T0.
- Zilele 1 și 2 nu au prezentat elemente definitorii ale studiului, subiecții au desfășurat o activitate fizică mai restrânsă dar nu au renunțat la hrană și adăpare.
- Identificarea membrului operat a fost făcută din ziua a 3 a fără a putea să explicăm acest fenomen, mai exact nu înțelegem de ce în ziua 1 și 2 postoperator, subiecții nu au manifestat nici un interes față de membrul operat.
- Identificarea a fost una de tip “non self” și cum am precizat pentru ambele loturi s-a produs în ziua a 3 a. Toți subiecții au avut manifestările asemănătoare: și-au autoamputat membrul operat prin roaderea propriilor degete. Această etapa “non self” a durat ca și unitate de timp în ambele loturi, 3 zile. Reprezentarea grafica este definită astfel:

12. PROBA AMPRENTEI

Bain(89) elaborează o formulă ce exprimă indexul funcțional al nervului sciatic:

$$IFS = 38,3 \frac{(EPL - NPL)}{NPL} + 109,5 \frac{(ETS - NTS)}{NTS} + 13,3 \frac{(EIT - NIT)}{NIT} - 8,8$$

- formula a fost creată pentru a putea aprecia rata refacerii funcționale.

- IFS=indicele de funcționare sciatică
- N=dimensiunea normală a amprentei
- E=dimensiunea amprentei experimentale
- PL=print lentgh - lungimea aprenteii, măsurată de la vârful deget 1 la călcâi
- TS=total spending – lățimea amprentei, măsurată de la jumătatea degetului 1 la jumătatea degetului 2
- IT=intermediary toe spread – distanța dintre degetele 2 și 4.

Aplicat pe fiecare subiect obținem o cuantificare exprimată într-un număr ce poate avea limita maximă "0" și minimă "-100". Limita maximă reprezintă refacerea funcției normale și limita minimă reprezintă pierderea totală a funcției.

Poate fi definită și în prezent cea mai completă măsurare a regenerării nervoase la animalul de laborator.

Graficele anterior prezentate, arătau și momentul apariției funcției senzitive urmate de graficele refacerii funcției motrice.

Co-contrația este un fenomen neurologic ce presupune integrarea funcției motorii pe mai multe grupe musculare care, într-o succesiune produc mersul în cazul nostru. Pentru un mers normal funcția senzitivă este integrată alături de cea motorie.

Proba amprentei s-a desfășurat cu urmatoarea logistică:

- Tunel de traversare cu două guri de vizitare prevăzute cu ușă blocantă a fiecărei dintre cele două guri de traversare. Gura spre care șobolanul merge și are hrană pentru această posedă și o ușă de blocare a întoarcerii șobolanului, astfel se limitează amprentarea necorespunzătoare a probei desfășurate.
- Tușieră pentru amprentarea membrului aflat în studiu
- Hartie hidrofilă pentru vizualizarea amprentei.



Fig.37 Tunel proba amprentei. Sursa:autor

Fiecare dintre subiecții loturilor , în ziua a 31 a în cazul lotului 1 și ziua 28 în cazul lotului 2 , a efectuat proba amprentei.

Subiecții au fost poziționați în tunel, cu posibilitatea unei singure direcții și trecerea cu membrul operat prin tusiera. Ulterior au amprentat foaia hidrofila.

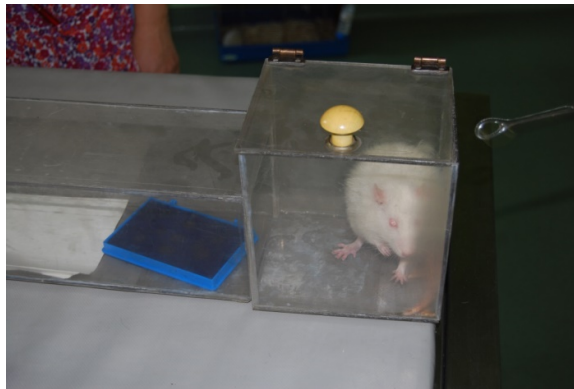


Fig.38 Poziționare subiect. Sursa:autor.

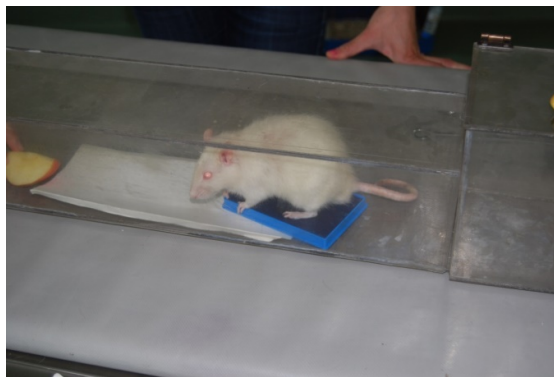


Fig. 39 Amprentare membrului operat. Sursa:autor

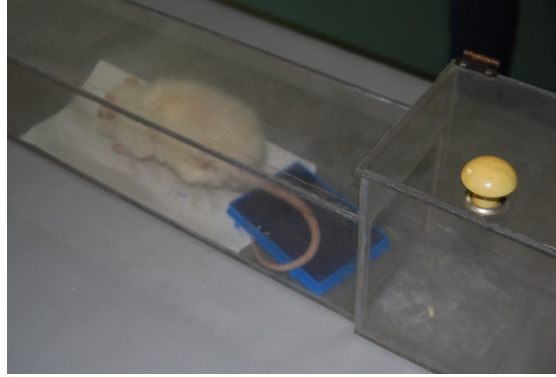


Fig.40 Replicare amprentă. Sursa:autor

Dupa fiecare trecere , a fiecărui subiect, a fost notat un număr și lotul din care a aparținut.



Fig.41 Proba amprenta 2014. Sursa:autor

Ulterior desfășurării probei, fiecărei dintre amprente i s-a efectuat măsurarea. Au fost exprimate constantele N, E, PL, TS, IT.

La introducerea datelor:

$$IFS = -38,3 \frac{(1,0X0,9) - (1,4X0,9)}{1,4X0,9} + 109,5 \frac{(1,0X0,7) - (1,4X0,7)}{1,4X0,7} + 13,3 \frac{(1,0X0,2) - (1,3X0,2)}{1,3X0,2} - 8,8$$

*datele aparțin lotului 1

$$IFS = -38,3 \frac{(1,2X1,1) - (1,4X1,1)}{1,4X1,1} + 109,5 \frac{(1,2X0,9) - (1,4X0,9)}{1,4X0,9} + 13,3 \frac{(1,2X0,3) - (1,4X0,3)}{1,4X0,3} - 8,8$$

*datele aparțin lotului 2

Ulterior înlocuiri acestor termeni în ecuația lui Bain vom obține următoarele rezultate:

LOT	IPS
2014 (1)	-25,559
2015 (2)	-20,631

Reamintim faptul că Bain precizează rezultatul ecuației ca fiind cât mai aproape de “0” pentru a confirma o regenerare nervoasă cât mai bună iar faptul că ar tinde spre “-100”, lipsa regenerării. Ca și concluzie putem spune că ne aflăm în primul sfert, apropiat lui “0” ca și regenerare nervoasă, apreciind o regenerare de bună calitate în cazul ambelor loturi. Iar dacă am compara doar lotul 2, cu, calea de abord alternativă propusă de către teza de față, putem spune că ne aflăm în prima 1/5 a constantelor ce se apropie de “0”.

12.1. Corelații histologice

Pentru o confirmare a regenerării nervoase, subiecții din ambele loturi au fost sacrificați. Au fost construit un protocol pentru a nu putea vicia rezultatele histologice.

Protocolul a presupus:

- Sacrificarea șobolanului după efectuarea de fiecare subiect a probei amprenteii
- S-a marcat coada cu număr și lot și aceleași date au fost trecute și pe recipientul unde se va depozita nervul pentru preparare histologica.
- Poziționarea șobolanului pentru a putea diseca pe vechea incizie
- Disecția planurilor musculare pentru identificarea nervului sciatic.
- Recoltarea nervului sciatic din plex și distal cât există posibilitatea. S-a dorit acest fapt pentru a se putea evidenția și structurile învecinate (proximal și distal) de grea.

Rezultatele histologice au definit un model de regenerare nervoasă a fibrei nervoase, neurilema. În acest model este inclusă și teaca Schwann care a putut fi definită prin următoarele aspecte:

- Identificarea dilacerațiilor neurofibrilare în cadrul unui mase exudative de celule nediferențiate prin fibra nervoasă (grefa)
- Alături de celule sangvine dilacerate și hiperemie, se observă o activitate proliferativă, compusă dintr-o combinație de țesut inflamator și de celule Schwann.
- De asemenea se remarcă o diminuare a fenomenelor menționate mai sus, la intersecția dintre allografă și fasciculul nativ al nervului sciatic, demonstrând, morfologic, expresia clinică a nervului sciatic funcțional recuperat prin proba amprenteii.

13. Discuții

Ne dorim ca regenerarea nervoasă, calitatea actului chirurgical, metoda aplicată în timpul operator, calea de abord să aibă ca rezultat un fapt calitativ, dar, oricât am încerca, la nivelul zonei unde a fost aplicată greafa, o parte din fibrele ce regenerează prin această metodă, nu vor fi capabile să ajungă a fi definite prin tuburile endoneurale, rezultând astfel o amestecare inevitabilă a fibrelor senzitive și motorii.

Adevarata problemă a regenerării nervoase nu stă în momentul regenerării axonilor, al proceselor fiziologice desfășurate la nivel microcelular, ci al capacității acestora de a lega organul țintă și a reuși dezvoltarea unei specificități cu, care vor deservi organul tinta.

În lumea ingineriei biomedicale se vorbește de un varf al tehnicilor de regenerare nervoasă prin materialele protetice nervoase, dar pentru potențarea acestora, tehnicile microchirurgicale, și ele îmbunătățite la maxim, mai pot suferi variațiuni care pot potența regenerarea.

Sunt aproape trei decenii de când metodele alternative de reparare nervoasă au pătruns pe piața medicală. Se vorbește de “tubularizare” care are în momentul actual posibilitatea de a îmbunătăți rezultatele regenerative. Sunt nenumărate materiale biologice dar și sintetice, ușor acceptate de către organism, fără a produce o reacție fibrotică exagerată. Toate acestea au fost testate în laborator și cu rezultate foarte încurajatoare. Așa cum am susținut și în începutul părți speciale, doar o mică parte dintre ele au trecut dincolo de ușa laboratorului experimental.

Revenind la biomateriale regenerative, aș dori să încadrez și allogrefa aici. Puține studii au inclus acest material în zona transplantului. Lucrarea de față a susținut acest aspect, al regenerării nervoase cu allogrefa prin încrucișarea acestora între subiecți dar și prin corecta abordare a nervului ce urma a fi transplantat. Facem referire la cele două căi de abord care au rezultate vizibil diferite atât ca timp operator (lot 1 versus lot 2 : $p < 0,05$), dar ca și rezultat funcțional (proba amprenteii, lot 1 versus lot 2 , $-25,559 < -20,631$).

Rezultatele înregistrate în cadrul studiului experimental scot în evidență faptul că regenerarea nervoasă la nivelul celui de-al doilea lot este mai eficientă ca cea din primul lot.

Putem observa că, deși debutul regenerării nervoase se face în același timp, evoluția ulterioară este mai bună în cadrul celui de-al doilea lot.

Deși diferențele nu au fost mari, în cazul tehnicii operatori, calea de abord cât și patul avascular/vascular unde a fost staționată allogrefa în procesul de regenerarea, a făcut diferența impactului funcțional.

Regenerarea nervoasă în cazul leziunilor de nervi periferici cu defect de substanță, rămâne un subiect intens dezbătut. Avem astăzi un progres tehnologic puternic dar consider că regenerarea nervoasă rămâne un hazard. Singurele elemente care le putem controla sunt tehnica operatorie, calea de abord chirurgical și materialul protetic .

14. Concluziile studiului

1. Utilizarea grefei nervoase reprezintă un “golden standard” în reparația nervoasă în leziunile cu defect chiar dacă există și materiale protetice care ar putea să o înlocuiască.
2. Există progrese evidente în materie de înlocuitori ai allogrefei, dar rezultatele nu sunt comparabile cu acesta.
3. Studiul desfășurat în cadrul lucrării a demonstrat existența regenerării nervoase în cazul reparării nervului sciatic la șobolanul Wistar.
4. Durata intervențiilor chirurgicale este influențată direct de calea de abord aleasă.
5. Calea de abord chirurgical este un punct important al unei regenerări cât mai aproape de funcția normală a nervului. O cale de abord facilă duce la creșterea calității regenerării nervoase.
6. Existența unui pat muscular unde poate fi așezată zona grefată este superioară unei zone fibroase care nu conferă aport nutritiv de bună calitate.
7. Lipsa tensiunii în sutură duce la o calitate mai bună a regenerării .
8. Orientarea corectă a allogrefei și calibrarea corectă a acesteia împreună cu o sutura atraumatică duce la o regenerare de bună calitate și o recuperare funcțională aproape de normal.
9. Neadministrarea imunosupresoarelor nu a influențat calitatea regenerării nervoase.
10. Prezența regenerării nervoase a fost confirmată atât prin proba amprentei cât și prin examenul histologic.