



SOCIETÀ ITALIANA DI MICROCHIRURGIA

Sito ufficiale della Società : www.microchirurgia.org

XIX CONGRESSO NAZIONALE S.I.M.
Roma, 14-15 dicembre 2001

ATTI della TAVOLA ROTONDA

“LESIONI NERVOSE PERIFERICHE E RICERCA”

Venerdì 14 dicembre 2001
Università La Sapienza Roma

Coordinatori

Pierluigi TOS - Bruno BATTISTON (Torino)

Moderatori

Adolfo VIGASIO (Brescia) - Filippo SENES (Genova)

INVITED SPEAKERS

<i>A. Bottin (Torino)</i>	<i>R. Garofalo (Roma)</i>
<i>B. Battiston (Torino)</i>	<i>R. Garcea (Roma)</i>
<i>G. Bonaspetti (Brescia)</i>	<i>S. Geuna (Torino)</i>
<i>G. Brunelli (Brescia)</i>	<i>M. Guerra (Roma)</i>
<i>E. Boux (Torino)</i>	<i>M. Lanzetta (Monza)</i>
<i>M. Calcagni (Milano)</i>	<i>G. Larosa (Torino)</i>
<i>G. Cavallaro (Messina)</i>	<i>M. Liberini (Brescia)</i>
<i>S. Coppolino (Messina)</i>	<i>I. Papalia (Messina)</i>
<i>A. de Castro-Rodrigues (Bauru, SP, Brasile)</i>	<i>G. Risitano (Messina)</i>
<i>M. Del Bene (Legnano)</i>	<i>G. Salimbeni (Pisa)</i>
<i>G. De Maria (Brescia)</i>	<i>A. Sard (Torino)</i>
<i>M. Fornaro (Torino)</i>	<i>P. Tos (Torino)</i>
	<i>A. Varejão (Vila Real, Portogallo)</i>



SOCIETÀ ITALIANA DI MICROCHIRURGIA

Sito ufficiale della Società : www.microchirurgia.org

Presidente Onorario

G. Brunelli
Brescia

Presidente

A. Ortensi
Roma

Past President

A. Vigasio
Brescia

Next President

M. Innocenti
Firenze

Segretario

B. Battiston
Torino

Consiglieri

R. Adani - Modena
A. Atzei - Verona
B. Battiston - Torino
F. Boccardo - Genova
G. Cavallaro - Messina
G. De Santis - Modena
M. Lanzetta - Monza
S. Podrecca - Milano
S. Puleo - Catania

Tesoriere

P. Tos - Torino

Proviviri

C. Campisi - Genova
A.L. Gaspari - Roma
G. Salimbeni - Pisa

Segretario alla Presidenza

G. Donati - Roma

Revisori dei conti

L. Delcroix - Firenze
A. Lentini - Roma
R. Nolli - **Monza**

PROGRAMMA

TAVOLA ROTONDA
Venerdì 14 dicembre 2001

“LESIONI NERVOSE PERIFERICHE E RICERCA”

Coordinatori : Pierluigi TOS - Bruno BATTISTON (Torino)

Moderatori : Adolfo VIGASIO (Brescia) - Filippo SENES (Genova)

UN LABORATORIO PER LO STUDIO DELLA RIGENERAZIONE NERVOSA ORGANIZZAZIONE

M. Lanzetta (Monza)

TECNICHE DI VALUTAZIONE DEI RISULTATI DELLA CHIRURGIA SPERIMENTALE

- **Metodi morfologici per la valutazione dei risultati delle tecniche microchirurgiche di riparazione dei nervi**
S. Geuna (Torino) - A. de Castro-Rodrigues (Bauru, SP, Brasile)
- **Valutazione della reinnervazione dei recettori periferici in seguito ad interventi di riparazione nervosa**
M. Calcagni (Milano) - M. Fornaro (Torino)
- **Tecniche elettrofisiologiche di valutazione del recupero motorio**
G. De Maria - M. Liberini - G. Bonaspetti (Brescia)
- **Metodi di valutazione del recupero della funzione nervosa periferica**
P. Tos (Torino) - A. Varejão (Vila Real, Portogallo) - E. Boux - (Torino)

PROSPETTIVE FUTURE NELL'IMPIEGO DELLE TECNICHE DI TUBULIZZAZIONE: EVIDENZE SPERIMENTALI E CLINICHE

- **Tubulizzazione mediante l'impiego di vene risultati clinici e sperimentali**
G. Cavallaro - G. Risitano (Messina)
- **La tecnica del Muscolo in Vena risultati clinici e sperimentali**
B. Battiston - P. Tos (Torino)
- **Impiego clinico dei tubuli sintetici riassorbibili**
A. Sard - G. Larosa (Torino)
- **Tubulizzazione mediante sostituto di dura madre bovina : risultati clinici**
R. Garofalo - M. Guerra - R. Garcea (Roma)

LE SUTURE NERVOSE TERMINO-LATERALI

- **La ricerca sperimentale**
I. Papalia - S. Coppolino (Messina)
- **Applicazioni cliniche**
G. Salimbeni (Pisa) - M. Del Bene (Legnano)

RIPARAZIONE DELLE LESIONI DEL MIDOLLO SPINALE CONNESSIONE SNC-SNP

G. Brunelli (Brescia)

ELETTROMIOGRAFIA DI SUPERFICIE (sEMG) CON SCHIERA DI ELETTRODI

A. Bottin (Torino)

TECNICHE DI VALUTAZIONE DEI RISULTATI DELLA CHIRURGIA SPERIMENTALE

METODI MORFOLOGICI PER LA VALUTAZIONE DEI RISULTATI DELLE TECNICHE MICROCHIRURGICHE DI RIPARAZIONE DEI NERVI

MORPHOLOGICAL RESEARCH TOOLS FOR THE ASSESSMENT OF MICROSURGICAL TECHNIQUES IN EXPERIMENTAL PERIPHERAL NERVE REPAIR

Stefano GEUNA* and Antonio de CASTRO RODRIGUES**

* *Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche, Università di Torino, Ospedale San Luigi, Regione Gonzole 10, Orbassano (TO), I-10043, Italy* E-mail: stefano.geuna@unito.it

** *Centro de Pesquisa e Pós Graduação, Universidade do Sagrado Coração, Rua Irmã Arminda 10-50, 17044-160 Bauru/SP, Brasil*

Abstract

It has been demonstrated that the effectiveness of a microsurgical technique for peripheral nerve repair can not be assessed on the basis of one single "gold" parameter. Therefore, it is important that the researchers who want to investigate a given microsurgical approach know the various tools that are presently available for assessing the outcome of experimental nerve repair and select the most appropriate ones for their own research purposes. In this paper we will focus on morphological methods with the aim of giving to the reader a brief overview on the many potential sources of information that can be obtained from the employment of modern morphological investigation tools.

INTRODUCTION

The experimental assessment of the effectiveness of a microsurgical technique for peripheral nerve repair is a complex task that can be done with various methods (Dellon and Mackinnon 1989; Kanaya et al. 1996; Mackinnon 1996). Focusing on morphological methods, we can recognize at least three different levels at which the assessment can be carried on: (1) the repaired nerve; (2) the reinnervated periphery (both motor and sensory: in this paper we will deal only with motor periphery since sensory innervation is treated in another paper); (3) the neuronal cell bodies from which the regenerated axons belong (both motoneurons and primary sensory neurons).

(1) MORPHOLOGICAL ASSESSMENT OF THE REPAIRED NERVES

Traditional staining techniques

The use of traditional staining procedures is still today a valuable tool for investigating most tissues and organs. In the case of peripheral nerve research, myelinated nerve fibers can be easily studied after ematoxylin and eosin staining in the case of nerves embedded in paraffin. However, the best traditional procedure to analyse a nerve is resing embedding of osmium-tetroxide-post-

fixed nerves and subsequent staining of semithin sections by toluidine blue (Richardson method) for 1-4 minutes. With this procedure, the morphology of myelinated nerve fibers (even the smallest ones) can be clearly analysed by means of a high resolution light microscope equipped with an oil immersion objective. This method should be regarded as the first choice one for any study on nerve repair.

Immuno-histochemistry

Although the traditional staining procedures are still a valuable tool for morphological research, answers to some scientific question can be obtained only by the employment of modern immunohistochemical methods which allows the specific detection of single molecules (neurotransmitters, hormones, etc.) in the tissue under investigation. Antibodies directed against a number of different molecules are now commercially available and their employment is not so difficult (from a technical viewpoint) as it was some year ago. In the case of nerve repair studies, immunohistochemistry can be particularly useful to investigate the complex mechanisms that regulate the early stages of the regeneration process (Fornaro et al. 2001). In fact, by means of multiple labelling procedures it is now possible to co-localize and follow up the sequence of expression of the various molecules that play a role in early nerve fiber regeneration.

Quantitative morphology (morphometry)

A recent study has shown that some morphological parameters (namely myelin thickness and the ratio between myelin thickness and axon diameter) are directly related with functional recovery of a repaired nerve (Kanaya et al. 1996). This result points to morphometric parameters as one of the most important element in peripheral nerve recovery evaluation. Various parameters can be quantified. First of all, the total number and the density of nerve fibers give us an idea on the entity of regeneration occurred. In addition, various size parameters can be assessed. In fact, the size of a myelinated nerve fiber can be expressed by various geometrical parameters: the diameter (maximum, minimum, circle-equivalent), the perimeter and the cross-sectional area. If the quality of the histological material is good and allows high-resolution optical observation (as is usually obtained with resin-embedded nerves), the same parameters can also be measured for the axon, thus making it possible to calculate myelin thickness. Finally, some further valuable size parameters (namely the myelin-thickness/axon-diameter ratio, the fiber-diameter/axon-diameter ratio and the g-ratio), can be derived from the above mentioned measurements by simple mathematical calculations. Some notes on the recent advancements in quantitative morphology are given in appendix.

Electron microscopy

Electron microscopy has represented over the last forty years one of the most powerful techniques for the study of experimental nerve repair. In particular, it allows to obtain many important information on a repaired nerve (Geuna et al. 2000b). First of all, the quality of the regenerated nerve fibers can be assessed at the ultrastructural level: the axoplasm, the myelin sheath (with special regard to the number and appearance of the lamellae), the Schwann cells, etc. In addition, electron microscope analysis can provide us with information on the nerve environment (endoneurial and perineurial) that represents a particularly important element in the case of nerves repaired by means of non-nervous tubes (Geuna et al. 2000b).

A new powerful implementation in the employment of electron microscopy for peripheral nerve studies is represented by electron immuno-cytochemistry, i.e. the possibility to use antibodies in order to label, by means of gold particles, some specific molecules (e.g. cell guidance molecules) and then observe them in electron microscopy. This technology makes it possible to study the molecular basis of the nerve repair process and can provide important information when different surgical techniques are experimentally compared.

(2) MORPHOLOGICAL ASSESSMENT OF THE REINNERVATED MOTOR PERIPHERY

Gross anatomy and traditional staining techniques

A first element for the assessment of the entity and quality of reinnervation of the motor periphery can be obtained by measuring the weight of the muscles innervated by the repaired

nerve. Further on, the most important informations on the degree of muscle atrophy (and the trophic recovery of muscles after the nerve regeneration process) can be obtained by the histological examination of the muscles: ematoxylin and eosin stained muscle slices can serve very well to this end. Finally, histochemical reactions (especially those aimed at revealing the motor plates) can provide us with important information on the progression of the reinnervation process.

Immuno-histochemistry

Various antigens, that can be detected in the muscles by specific antibodies, can be useful for the assessment of the repair process. Among these, we will just mention the acetylcholine receptor (to assess the recovery of the motor plates) and the myosin chains (fast and slow). As regards the latter proteins, it has been shown that the process of denervation and reinnervation is accompanied by peculiar changes in the myosin chain composition.

Quantitative morphology (morphometry) and electron microscopy

The degree of muscle atrophy and the trophic recovery of muscles after the nerve regeneration process can be evaluated by morphometry of the muscle fibers innervated by that nerve. If the rules for unbiased quantitative morphology are respected (see appendix), morphometrical data on muscles will provide the researcher with a valuable source of information on the effectiveness of a nerve repair process. Similarly, electron microscope evaluation of a reinnervated muscle can give us important information on the trophic recovery of that muscle after the regeneration process.

(3) MORPHOLOGICAL ASSESSMENT OF THE NEURONAL CELL BODIES

Traditional staining techniques

Ematoxylin and eosin and toluidine blue staining methods are good and simple tools for the study of the changes occurring to the neuronal somata of the repaired nerve fibers (motorneurons and spinal ganglion sensory neurons). Among these changes, we will just mention chromatolysis, a morphological phenomenon that transiently occurs after axotomy and that allows to recognize the axotomized nerve cells.

Immuno-histochemistry: Retrograde tracers

Immunohistochemistry can be particularly useful to investigate the neuronal cell bodies of the injured nerve fibers. First, it makes it possible to detect axotomy-related changes in the expression of various neuronal molecules. Second, it allows to detect the molecules involved in the regeneration process. Finally, the use of immunostaining in association with the use of fluorescent retrograde tracers (administered at the target organ level) makes it possible, in experimental studies on peripheral nerve repair, to compare original and post-operative innervation of peripheral targets (Popratiloff et al. 2001).

Quantitative morphology (morphometry) and electron microscopy

Morphometry, at both light and electron microscope level, can be used to evaluate the presence and entity of cell hypertrophy that occurs to nerve cells bodies during the process of axon regeneration. In addition, cell counting by means of modern unbiased stereological methods allows to assess the possible changes in the number of nerve cells and thus to detect the presence of neuron loss and/or neurogenesis in relation to axotomy and axon regeneration.

CONCLUSIONS

In this paper we have briefly overviewed the morphological research methods for the assessment of experimental peripheral nerve repair. We wish to suggest all researchers that aim to investigate the outcome of a given microsurgical technique for peripheral nerve repair to always take into consideration the opportunity to employ several morphological research tools, in association with functional tests.

REFERENCES

- Battiston B, Tos P, Cushway T, Geuna S (2000a) Nerve repair by means of vein filled with muscle grafts. II. Clinical results. *Microsurgery* 20:35–39
- Battiston B, Tos P, Geuna S, Giacobini-Robecchi MG, Guglielmone R (2000b) Nerve repair by means of vein filled with muscle grafts. II. Morphological analysis of regeneration. *Microsurgery* 20:40–44
- Cruz Orive LM, Weibel ER (1981) Sampling designs for stereology. *J Microsc* 122:235–257
- De Castro Rodrigues A, Dal Pai Silva M (2001) Inside-out versus standard artery graft to repair a sensory nerve in rats. *Microsurgery* 21:102–107
- Dellon AL, Mackinnon SE (1989) Selection of the appropriate parameter to measure neural regeneration. *Ann Plast Surg* 23:197–202
- Ferrari F, De Castro Rodrigues A, Malvezzi CK, Dal Pai Silva M, Padovani CR (1999) Inside-out vs. standard vein graft to repair sensory nerve in rats. *Anat Rec* 256:227–232
- Fornaro M, Tos P, Geuna S, Giacobini-Robecchi MG, Battiston B (2001) Confocal imaging of Schwann cell migration along muscle-vein-combined grafts used to bridge nerve defects in the rat. *Microsurgery* 21:153–155.
- Geuna S (2000) Appreciating the difference between design-based and model-based sampling strategies in quantitative morphology of the nervous system. *J Comp Neurol* 427:333–339
- Geuna S, Tos P, Battiston B, Guglielmone R (2000a) Verification of the two-dimensional disector, a method for the unbiased estimation of density and number of myelinated nerve fibers in peripheral nerves. *Ann Anat* 182:23–34
- Geuna S, Tos P, Battiston B, Guglielmone R, Giacobini-Robecchi MG (2000b) Morphological analysis of peripheral nerve regenerated by means of vein grafts filled with fresh skeletal muscle. *Anat Embryol* 201:475–482
- Geuna S, Tos P, Battiston B, Guglielmone R, Giacobini-Robecchi MG (2001) Methodological issue in size estimation of myelinated nerve fibers in peripheral nerves. *Anat Embryol* 204:1–10.
- Gundersen HJG (1977) Notes on the estimation of the numerical density of arbitrary profiles: The edge effect. *J Microsc* 111:219–223
- Gundersen HJG (1978) Estimators of the number of objects per area unbiased by edge effects. *Microsc Acta* 81:107–117
- Gundersen HJG (1986) Stereology of arbitrary particles. *J Microsc* 143:3–45
- Gundersen HJG, Jensen EB (1987) The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microsc* 147:229–263
- Gundersen HJG, Bendtsen TF, Korbo L, Marcussen N, Møller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B, Sørensen FB, Vesterby A, West MJ (1988a) Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research. *APMIS* 96:379–394
- Gundersen HJG, Bagger P, Bendtsen TF, Evans SM, Korbo L, Marcussen N, Møller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B, Sørensen FB, Vesterby A, West MJ (1988b) The new stereological tools: Disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS* 96:857–881
- Hyman BT, Gomez-Isla T, Irizarry MC (1998) Stereology: A practical primer for neuropathology. *J Neuropathol Exp Neurol* 57:305–310
- Ide C (1996) Peripheral nerve regeneration. *Neurosci Res* 25:101–121
- Kanaya F, Firrel JC, Breidenbach WC (1996) Sciatic function index, nerve conduction tests, muscle contraction, and axon mophometry as indicators of regeneration. *Plast Reconstr Surg* 98:1264–1271
- Larsen JO (1998) Stereology of nerve cross sections. *J Neurosci Meth* 85:107–118
- Lundborg G (1988) *Nerve Injury and Repair*. Churchill Livingstone, Edinburgh
- Mackinnon SE (1996) Sciatic function index, nerve conduction tests, muscle contraction, and axon mophometry as indicators of regeneration [Discussion]. *Plast Reconstr Surg* 98:1272–1273
- Mayhew TM (1992) A review of recent advances in stereology for quantifying neural structure. *J Neurocytol* 21:313–328
- Mayhew TM, Sharma AK (1984a) Sampling schemes for estimating nerve fibre size. I. Methods for nerve trunks of mixed fascicularity. *J Anat* 139:45–48
- Mayhew TM, Sharma AK (1984b) Sampling schemes for estimating nerve fibre size. II. Methods for unifascicular nerve trunks. *J Anat* 139:59–66
- Mayhew TM, Gundersen HJG (1996) 'If you assume, you can make an ass out of u and me': A decade of the disector for stereological counting of particles in 3D space. *J Anat* 188:1–15
- Miles RE (1978) The sampling, by quadrats, of planar aggregates. *J Microsc* 113:257–276

- Popratiloff AS, Neiss WF, Skouras E, Streppel M, Guntinas-Lichius O, Angelov DN (2001) Evaluation of muscle re-innervation employing pre- and post-axotomy injections of fluorescent retrograde tracers. *Brain Res Bull* 54: 115–123
- Schmitz C (1998) Variation of fractionator estimates and its prediction. *Anat Embryol* 198:371–397
- Terzis JK, Sun DD, Thanos PK (1997) Historical and basic science review: Past, present and future of nerve repair. *J Reconstr Microsurgery* 13:215–225
- Torch S, Stoeber P, Usson Y, D'Aubigny GD, Saxod R (1989) There is no simple adequate sampling scheme for estimating the myelinated fibre size distribution in human peripheral nerve: A statistical ultrastructural study. *J Neurosci Meth* 27:149–164
- Tos P, Battiston B, Geuna S, Giacobini-Robecchi MG, Hill MA, Lanzetta M, Owen ER (2000) Tissue specificity in rat peripheral nerve regeneration through combined skeletal muscle and vein conduit grafts. *Microsurgery* 20:65–71
- West MJ (1993) New stereological methods for counting neurons. *Neurobiol Aging* 14: 275–286
- West MJ (1999) Stereological methods for estimating the total number of neurons and synapses: Issues of precision and bias. *Trends Neurosci* 22:51–61

Appendix

Notes on the recent advances in quantitative morphology of the peripheral nerves

Quantitative morphology has undergone great developments over recent years and several new technical procedures have been devised and applied successfully to morphological research. Description and critical evaluation of such methods has been addressed extensively in many dedicated works (e.g. Mayhew and Gundersen, 1996 ; Coggeshall and Lekan, 1996; Hyman et al., 1998; West, 1999; Geuna, 2000, Geuna et al., 2001). The concepts and principles that underlie the new approach to quantitative morphology are relatively complex and it is not possible to address these issues in details here. For those who are interested in examining these issues in a greater depth, a higher level of detail and technical complexity can be found in several further studies (Mayhew and Sharma 1984a,b; Gundersen et al. 1988a,b; Mayhew 1992; West 1999; Mayhew and Gundersen 1996; Larsen 1997; Schmitz 1997,1998; Hyman et al. 1998; Geuna 2000; Geuna et al. 2000a).

To give an example, here we will just focus on a point that is particularly relevant in the quantitative evaluation of nerve fibers, namely the location-related bias.

Location-related bias can originate from heterogeneity in the distribution of fibers throughout the nerve cross-sectional profile (Torch et al. 1989). In most papers reporting quantitative data on nerve fibers, no information is given on the procedure used to select the sampling fields (often defined as "representative") where the fibers are measured (usually consisting in a total sample of about 100-200 myelinated nerve fiber profiles for each nerve cross-section). If larger fibers are preferentially located in some parts of the nerve (e.g. its axial part), size estimates would strongly depend on the position where the sampling fields are placed: If fibers are sampled mainly in the axial part of the nerve, fiber size estimation will be biased towards overestimation even if fibers are measured in a very careful and accurate way, and *vice versa*. To cope with the bias originated at this study level, the investigator needs to respect a general "golden rule" of design-based sampling, i.e. every part of the structure (the nerve cross-section profile in this case) should have an equal chance of being sampled (Cruz-Orive and Weibel 1981; Larsen 1998; Geuna 2000). To reach this goal, in biological quantitative morphology systematic random sampling should be considered definitely more efficient than independent random sampling for both theoretical and experimental reasons (Mayhew and Sharma 1984a,b; Gundersen and Jensen 1987; Torch et al. 1989; West 1993). This sampling scheme consists in choosing a random starting sampling field and then systematically selecting the following sampling fields throughout the region by systematically "jumping" to the following fields placed automatically at a fixed distance. In this way three elements are accomplished that contribute to cope with the biasedness of quantitative data: 1) all parts of the structure have the same chance of being sampled; 2) fields are systematically distributed through various parts of the region (thus increasing the probability of detecting heterogeneity in the location of fibers; 3) subjectivity by the investigator in placing the fields is

avoided because the position of the fields is automatically determined once the first field has been randomly selected. Practical guidelines to perform systematic random sampling on nerve cross-section profiles can be found in: Geuna et al. 2000a, 2001.

Sito ufficiale della Società : www.microchirurgia.org

VALUTAZIONE DELLA REINNERVAZIONE DEI RECETTORI PERIFERICI IN SEGUITO AD INTERVENTI DI RIPARAZIONE NERVOSA

EVALUATION OF PERIPHERAL REINNERVATION AND STUDY ON RECEPTORS AFTER NERVE REPAIR

Maurizio CALCAGNI - Michele. FORNARO *

Div. Chirurgia della Mano - Istituto Multimedica - Milano

** Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche, Università di Torino, Ospedale San Luigi, Regione Gonzole 10, Orbassano (TO), 10043, Italy*

Il fenomeno iniziale delle attività dell'apparato nervoso è la trasformazione delle condizioni dell'energia esterna o interna all'organismo in impulsi nervosi che vengono inviati al sistema nervoso centrale per lo svolgimento delle sue attività ai diversi livelli d'integrazione.

Tutte le strutture anatomiche deputate alla funzione iniziale di genesi degli impulsi vengono studiate nell'ambito degli "organi ed apparati sensitivi" che, insieme ai nervi cranici, spinali e ai gangli sensitivi cerebro-spinali, costituiscono il sistema nervoso periferico.

In primo luogo deve essere rilevato che nell'attività di qualsiasi dispositivo di senso si rintraccia sempre un fenomeno elementare che ha la sua base in elementi strutturali specifici: il fenomeno è detto *traduzione*, cioè trasformazione delle diverse forme di energia in segnali nervosi, mentre la struttura elementare che la attua è definita *recettore*.

In secondo luogo le risposte adattative, specie dei livelli più elevati di integrazione non possono essere ottenute da semplici segnali anche ripetuti di recettori: per esempio le sensazioni sono frutto della sintesi e decodificazione di un insieme di impulsi definiti nel complesso codice dei segnali periferici. Questo codice dipende ed è il frutto dell'organizzazione di molti recettori in strutture gerarchiche più complesse definite *organi ed apparati sensitivi*.

I recettori sono quindi dispositivi anatomici presenti in modo ubiquitario nell'organismo per la evidente ragione che in tutti gli organi devono esistere strutture recettoriali, fonte delle informazioni necessarie per la regolazione delle loro attività tramite i riflessi nervosi. Le organizzazioni delle sensibilità generali corporee hanno una sede ben stabilita, legata alla sensibilità alle quali danno origine.

Così, l'organizzazione per la sensibilità generale somatoestesica, che è l'argomento affrontato in questo lavoro, è localizzato in sede cutanea.

I recettori sensoriali della cute sono presenti nell'uomo in una vastissima gamma di forme e strutture: tenendo conto dei fondamentali dati costitutivi anatomici i recettori possono essere classificati in due categorie: le *espansioni nervose libere* e i *corpuscoli di senso*.

Si possono poi notare elementi di transizione che si collocano a metà di queste categorie.

Molti studi sono stati fatti sulle lesioni e sui meccanismi di riparazione nel sistema nervoso periferico prendendo in esame soprattutto i nervi spinali. E pur vero che anche una lesione a valle del nervo spinale e cioè a livello delle strutture recettoriali inficerebbe la normale trasmissione degli impulsi nervosi. Questo lavoro, che si inserisce dunque nell'ambito degli studi delle lesioni e dei meccanismi di riparazione nel sistema nervoso periferico, prende in esame i recettori presenti a livello della cute e mostra evidenze di una plasticità degli elementi sensitivi che sono capaci di rigenerare in seguito a lesione.

Molti illustri anatomici, a partire dalla seconda metà dell'ottocento, hanno descritto diversi tipi di recettori cutanei utilizzando colorazioni istologiche e in particolar modo l'impregnazione con sali d'argento o di altri metalli pesanti. Tuttavia l'analisi con queste tecniche lascia adito a molti dubbi,

soprattutto per quanto riguarda il decorso delle fibre più sottili e, in particolar modo quelle epidermiche.

In seguito, l'analisi ultrastrutturale e l'avvento delle tecniche immunocistochemiche ha messo in luce i limiti dell'impregnazione argentea che spesso ha creato degli artefatti. Inoltre, molte delle strutture descritte come classi di recettori ben distinte si sono rivelate essere delle strutture di transizione tra le vere espansioni libere ed i corpuscoli sensitivi.

Date queste considerazioni preliminari, in base a criteri anatomici strutturali, i recettori sensitivi della cute si possono classificare in:

- espansioni nervose libere
 - dermiche
 - intraepidermiche

- corpuscoli sensitivi
 - corpuscolo di Meissner
 - corpuscolo di Merkel
 - clave di Krause (simple coiled)

A questi deve essere aggiunto l'apparato sensitivo del bulbo pilifero.

Le tecniche immunocistochemiche invece sono basate sull'uso di antisieri diretti contro proteine specifiche del sistema nervoso, come la protein-gene-product 9.5 (PGP 9.5), le proteine dei neurofilamenti (NF), la neuron-specific-enolase (NSE), la growth-associated protein 43 (GAP43) e la proteina gliale fibrillare acida (GFAP), contro proteine gliali come la proteina basica della mielina (MPB) e la S-100, contro neuropeptidi quali la sostanza-P (SP), il neuropeptide-Y (NPY), il calcitonine-gene-related peptide (CGRP) e contro neurotrasmettitori classici come la serotonina.

A tutt'oggi la PGP 9.5 sembra essere ancora il marker più adatto per una fine descrizione della distribuzione di fibre e recettori nella cute umana. Il suo impiego ha dato risultati riproducibili sia nella cute sana che in quella trapiantata o reinnervata. La proteina S-100 non essendo espressa dalle fibre nervose, ma solo dalle cellule gliali, non è adatta allo studio delle terminazioni più fini e delle fibre intraepiteliali e non permette di studiare la porzione assonale dei recettori capsulati tipo Meissner e Meissner-like per l'assenza di rivestimento gliale. Inoltre visualizza elementi cellulari epidermici come le cellule di Langerhans.

La distribuzione del CGRP è scarsa a livello epidermico e in quantità maggiore nel derma papillare e profondo. Non si osservano fibre a CGRP per ghiandole, vasi e recettori capsulati. Le fibre a CGRP hanno una disposizione a reticolo subepiteliale con alcune immagini di fibre avvolte a gomitolino che potrebbero essere corpuscoli semplificati. Questi reperti suggeriscono l'ipotesi che le fibre a CGRP potrebbero costituire afferente nocicettive, termocettive e forse in alcuni casi anche nocicettive. Inoltre è stato osservato che la maggior parte delle fibre peptidergiche della cute sono positive per il CGRP e il VIP (vasoactive-intestinal-peptide). Questo fatto avvalorava l'ipotesi secondo cui il CGRP ed altri peptici come la SP, la neurokinina A, il VIP e la neurotensina potrebbero partecipare ai processi infiammatori della cute. L'attivazione dei nocicettori (neuroni sensitivi primari) è seguita dalla stimolazione antidromica dei rami collaterali (riflesso massonico), con rilascio di neuropeptidi dalle terminazioni periferiche con effetti locali come edema e induzione di vasodilatazione persistente. Inoltre il CGRP interagirebbe con il sistema immunitario aumentando la risposta fitogena degli elementi mononucleati del sangue.

Nella cute esiste anche un sistema di fibre (comunque in piccolo numero) a NPY nel derma papillare e profondo e soprattutto intorno ai vasi. L'NPY è un neuropeptide del sistema autonomo che coesiste nei neuroni periferici noradrenergici, potendo forse partecipare alla inibizione del rilascio di noradrenalina mediante un'inibizione pre-sinaptica.

Nella cute reinnervata si osserva un sostanziale diradamento delle strutture positive alla PGP 9.5, sia per quanto riguarda l'architettura delle fibre costituenti i plessi, sia per la densità dei recettori.

In campioni di cute reinnervata sono state osservate numerose fibre a livello dermico, sia papillare che profondo, e un piccolo numero di corpuscoli di Meissner e complessi di Merkel. Le strutture capsulate mostrano però alterazioni strutturali con la componente assonale in posizione eccentrica o l'innervazione da parte di più fibre.

Le fibre a CGRP e SP sono molto più numerose che nella cute normale nelle prime fasi della reinnervazione per poi ridursi progressivamente fino al 60° giorno a livelli simili o inferiori alla cute sana. Questo andamento suggerisce un possibile ruolo di questi peptici nel controllo dei processi riparativi e trofici della cute.

Un ultimo marker di relativamente recente descrizione è la GAP 43 che viene considerata un marker della plasticità neuronale. La distribuzione nella cute normale è modesta nel derma profondo, mentre è molto abbondante a livello del plesso sub-epidermico e intraepidermico, dove ha una densità simile a quella della PGP 9.5. Questa abbondante presenza nella cute normale suggerisce l'ipotesi che le fibre intraepidermiche siano in continua evoluzione e rigenerazione e possano avere funzioni diverse da quelle puramente sensitive come il controllo del trofismo o del turn-over cellulare.

In conclusione l'identificazione delle strutture nervose periferiche può avvenire attraverso la forma, la localizzazione o la funzione. L'immunoistochimica aggiunge una dimensione funzionale allo studio morfologico ed è quindi più adatta allo studio di fenomeni particolari come la degenerazione, la rigenerazione o lo sviluppo, dove la sola forma non è in grado di descrivere in modo sufficiente la funzione.

Gli sviluppi futuri degli studi morfologici del sistema nervoso periferico sono difficili da immaginare, ma la strada più importante è sicuramente quella di riuscire a definire in modo più preciso le attribuzioni funzionali dei diversi markers e di quelli che vengono continuamente scoperti

TECNICHE ELETTROFISIOLOGICHE DI VALUTAZIONE DEL RECUPERO MOTORIO

ELECTROPHYSIOLOGICAL TECHNIQUES OF MOTOR RECOVERY

Giovanni DE MARIA – Marco LIBERINI * – Giovanni BONASPETTI **

*Servizio di Neurofisiopatologia - Spedali Civili Brescia Piazza Ospedale, 1- 25100 Brescia
e-mail : magidemia@libero.it*

** I[^] Neurologia - Spedali Civili Brescia*

*** Clinica Ortopedica Università di Brescia*

La valutazione elettrofisiologica del recupero motorio si basa, sia in ambito clinico che in ambito sperimentale, sull'analisi delle proprietà elettriche dei nervi e dei muscoli. Pur con le differenze determinate dalla possibilità di utilizzare diversi animali da esperimento, dai piccoli roditori al babbuino, la valutazione elettrofisiologica del recupero motorio si basa sullo studio dell'attività del muscolo e, prevalentemente, sullo studio della conduzione del nervo. Le procedure di indagine possono variare in base all'apparecchiatura disponibile, ai differenti tipi di elettrodi, all'animale da esperimento utilizzato. La stimolazione elettrica del nervo genera un potenziale d'azione motorio composto che rappresenta l'attività delle fibre muscolari innervate dal nervo motore stimolato. Latenza distale, velocità di conduzione motoria massima, ampiezza, durata, area della risposta, sono i principali parametri considerati, indici delle condizioni funzionali. Al fine di ottimizzare la sensibilità della valutazione elettrofisiologica, è necessario prendere in considerazione alcune variabili, quali temperatura e lunghezza del segmento nervoso ed evitare fonti di errori utilizzando una rigorosa standardizzazione del metodo. E' così possibile ottenere un buon grado di correlazione tra valutazione morfologica e valutazione elettrofisiologica del recupero motorio.

METODI DI VALUTAZIONE DEL RECUPERO DELLA FUNZIONE NERVOSA PERIFERICA

EVALUATION TESTS TO ASSESS FUNCTIONAL RECOVERY IN PERIPHERAL NERVE REPAIR STUDIES

Pierluigi TOS - Artur S.P. VAREJÃO * - Elena BOUX

Gruppo Interdivisionale di Microchirurgia (GIM), U.O.S. Microchirurgia, Ospedale C.T.O. Torino, Via Zuretti 29, 10126, Torino. e-mail : tospilu@hotmail.com

** Department of Pathology and Veterinary Clinics, UTAD, Vila Real, Portugal. avarejao@utad.pt*

INTRODUZIONE

Il recupero della funzione motoria e sensitiva è lo scopo principale della ricostruzione chirurgica del sistema nervoso periferico. Il lavoro presentato descrive brevemente i metodi di valutazione attualmente utilizzati a questo scopo.

Il ratto rimane tuttora il modello animale migliore per lo studio della rigenerazione del sistema nervoso periferico.

Il modello "sciatico" e "arto inferiore" è il più utilizzato per gli studi sulla rigenerazione del SNP; tuttavia negli ultimi anni si è registrato un aumento del numero di ricerche che impiegano il modello "arto superiore". Quest'ultimo come vedremo in seguito ha diversi vantaggi rispetto all'arto inferiore. Di seguito verranno dati alcuni cenni di anatomia per meglio comprendere i modelli e i tests funzionali relativi.

Cenni d'anatomia nervosa dell'arto superiore

Il plesso brachiale, nel ratto, origina dal ramo inferiore delle ultime quattro radici cervicali e della prima radice toracica, che, emergendo tra i ventri dei muscoli scaleni, si portano verso il cavo ascellare.

Il nervo muscolocutaneo innerva il muscolo bicipite. Il n. radiale innerva i muscoli estensori del braccio e avambraccio.

Il nervo mediano è costituito dalla convergenza della branca posteriore della radice dorsale di C VII (1a radice) con la radice ventrale di C VIII; esso decorre nel braccio affiancato dall'arteria ascellare e dal nervo radiale (muscolospirale). A livello del gomito, emette due collaterali: una branca muscolare che, decorrendo tra i muscoli flessori profondo e superficiale delle dita, innerva questi ed il muscolo palmare lungo; il nervo interosseo volare per i muscoli pronatore quadrato e flessore profonda delle dita. Proseguendo nell'avambraccio insieme ai vasi comitanti, giunto al di sopra del legamento collaterale del carpo si divide nei tre nervi digitali palmari comuni, dai quali originano i nervi digitali palmari propri.

Il nervo ulnare, più piccolo e situato dorsalmente al nervo mediano, è separato da questo dall'arteria brachiale. Prima di giungere al gomito, passa a ponte sull'arteria collaterale ulnare e, decorrendo al di sotto del muscolo anconeale, penetra nell'avambraccio; qui si divide in un ramo dorsale ed uno volare. Dopo aver emesso un collaterale cutaneo, il ramo volare decorre in direzione distale, passa al di sotto dell'osso pisiforme e, giunto al palmo, si divide in un nervo digitale palmare comune per il IV spazio interdigitale, ed un nervo digitale palmare proprio per il lato ulnare del V dito. Un ramo profondo, motorio, innerva i muscoli interossei, parte dei muscoli lombricali, ed i muscoli adduttore breve e flessore breve del pollice.

Il ramo dorsale del nervo ulnare decorre tra il capo ulnare del muscolo flessore profondo delle dita e il muscolo flessore ulnare del carpo che innerva, portandosi sulla superficie dorsale dell'avambraccio. Dopo aver emesso un collaterale cutaneo, si divide in due nervi digitali dorsali per il IV e V dito.

Cenni d'anatomia nervosa dell'arto inferiore

Il nervo sciatico, nel ratto, ha origine dal plesso sacrale e si divide in due branche, nervo peroneale comune e nervo tibiale, ognuna delle quali emette una serie di collaterali.

E' il modello di gran lunga più utilizzato per lo studio della rigenerazione nervosa del SNP.

A livello del grande trocantere, dal nervo peroneale comune si staccano un ramo per l'articolazione del ginocchio ed il nervo surale, destinato all'innervazione sensitiva della gamba.

Il tronco nervoso principale si dirige quindi verso il cavo popliteo, lo attraversa e penetra nella gamba passando tra i muscoli bicipite femorale e gastrocnemio (gemello esterno); a questo livello si suddivide in due rami, nervo peroneale superficiale e nervo peroneale profondo.

Il nervo peroneale superficiale procede addossato ai muscoli peroniero lungo e breve innervandoli e si unisce ai vasi peroneali; giunto al terzo distale della gamba diventa superficiale e si dirige verso il dorso del piede, distribuendosi alle superfici adiacenti delle dita, dal secondo al quinto (sensitivo).

Il nervo peroneale profondo (tibiale anteriore) si approfonda tra i fasci del muscolo peroniero e raggiunge i vasi tibiali anteriori. Innerva i muscoli tibiale anteriore ed estensore lungo delle dita prima di dirigersi verso il tarso lungo il margine laterale della membrana interossea; a questo livello decorre al di sotto del legamento crurale trasverso tra i tendini dei muscoli tibiale anteriore e estensore proprio dell'alluce.

Il nervo tibiale dopo la sua origine dal nervo sciatico si dirige verso il cavo popliteo e si approfonda tra i due capi del muscolo gastrocnemio; a questo livello emette tre rami muscolari. Il primo di essi innerva i muscoli plantare, soleo e gemello esterno, il secondo innerva il gemello interno ed il terzo si distribuisce ai muscoli flessore lungo dell'alluce, tibiale posteriore e flessore lungo delle dita insieme ai vasi tibiali posteriori. I due rami terminali sono il nervo plantare laterale destinato alla superficie plantare ed alla muscolatura flessoria di 4° e 5° dito, ed un nervo plantare mediale che si suddivide in quattro nervi digitali plantari comuni.

TEST FUNZIONALI PER LA VALUTAZIONE DEL RECUPERO DELLA SENSITIVO

Sono sostanzialmente due le tecniche che permettono di valutare il recupero della sensibilità in seguito ad una "lesione" nervosa mediante l'impiego di uno stimolo nocicettivo: l'applicazione di uno stimolo elettrico e l'applicazione di una fonte di calore.

Entrambe le tecniche studiano la risposta riflessa di allontanamento dell'arto sottoposto allo stimolo; questo riflesso è l'indice dell'avvenuta reinnervazione (sensibilità profonda) dell'area cutanea presa in esame. Questi tests possono essere applicati a tutti gli arti.

ELETTROSTIMOLAZIONE : Nel ratto normale si evoca una risposta positiva per una stimolo di 0.1 mA che viene applicato usualmente con un elettrostimolatore simile a quello utilizzato per i blocchi periferici. Si innalza l'intensità della corrente di 0.1 mA per volta (max 1.0 mA) e viene considerato come positivo il primo stimolo utile ad evocare il riflesso di allontanamento (es. il controllo effettuato dopo 3 mesi in seguito ad interventi di innesto di 1 cm è di 0.33 mA; SD 0.19 mA).

CALORE : Il ratto viene sospeso con un telino e l'arto inferiore preso in esame appoggiato a una fonte di calore di 56°C. Si ripete la prova per tre volte. La WRL (Withdrawal Reflex Latency) è il tempo di latenza tra l'applicazione dello stimolo e la risposta riflessa di allontanamento dell'arto. Il ratto normale allontana la zampa entro 2 secondi dall'applicazione dello stimolo; il tempo massimo di applicazione dello stimolo è di 12 secondi (soglia lesione tissutale).

TEST FUNZIONALI PER LA VALUTAZIONE DEL RECUPERO MOTORIO DELL'ARTO INFERIORE

I metodi più utilizzati per la valutazione del recupero funzionale motorio nell'arto inferiore sono :

- WALKING TRACK ANALYSIS e derivazione dello Sciatic Functional Index (SFI)
- EXTENSOR POSTURAL THRUST (EPT)
- COMPUTERIZED RAT GAIT ANALYSIS

WALKING TRACK ANALYSIS : si tratta di una metodica non invasiva con la quale è possibile quantificare, mediante lo studio dell'impronta del ratto, il grado di recupero funzionale dei muscoli innervati dal nervo sciatico. Lo studio dell'impronta mediante la misurazione di alcuni parametri permette di calcolare l'indice di funzionalità del nervo sciatico (Sciatic Functional

Index SFI), introdotto per la prima volta da De Medinaceli (1982) e modificato da Harel (1990).

Per ottenere l'impronta del ratto, lo si fa camminare in un corridoio di 8,2 x 42 cm.

L'acquisizione delle impronte viene effettuata mediante tre metodiche con differenti livelli di affidabilità e precisione (pellicola, carta normale, videocamera).

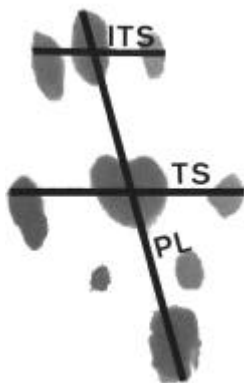
- La prima descritta da De Medinaceli nel 1982 utilizza come superficie di *una pellicola fotografica* per raggi X . Altri autori utilizzano pellicole fotografiche. La zampa posteriore del ratto viene bagnata con liquido di sviluppo miscelato a glicerolo (all'80%); l'animale viene quindi posto ad un'estremità del percorso ed inizia a camminare verso l'estremità opposta, lasciando le sue impronte sulla pellicola. Questa viene quindi fissata per 1 min., lavata con acqua e asciugata per 4 ore prima di essere analizzata.
- La seconda metodica prevede l'impiego di *carta normale* ed inchiostro (Johnston 1991), (almeno 5 impronte misurabili). Questo metodo sembra essere meno costoso e più efficace del precedente.
- La terza metodica prevede la registrazione dell'impronta per mezzo di una *videocamera*. Sono state descritte due metodiche.

La prima prevede che l'animale venga fatto camminare in un box trasparente illuminato da due lampadine da 120 W; la telecamera digitale connessa a un computer è posizionata al di sotto del box.

La seconda utilizza un corridoio, come quello descritto precedentemente, ma trasparente e con uno specchio posto a 45° posto al di sotto del box. Il ratto viene ripreso mentre cammina. Per l'analisi delle impronte, il filmato viene suddiviso in frames singoli; con questa metodica è possibile inoltre valutare altri due parametri : il tempo di permanenza dell'arto al suolo e l'angolo della caviglia - dati utili per eseguire la gait analysis (vedi dopo).

L'impiego della videocamera permette di misurare la durata della fase di stato e della fase attiva di ogni singolo passo e di calcolarne il rapporto tra arto operato e arto controlaterale sano.

Una volta ottenuta l'impronta (carta o video) vengono misurate alcune lunghezze dell'impronta stessa :



- PL (print length) : distanza calcagno - apice terzo dito
- TS (toe spread) : distanza 1° dito - 5° dito
- IT (intermediate toe spread) : distanza 2° - 4° dito

Questi parametri vengono valutati sia per l'arto sano (NPL, NTS, NIT), che per quello operato (EPL, ETS, ETI). Il calcolo dell'indice di funzionalità viene effettuato inserendo i valori calcolati nell'equazione sviluppata da De Medinaceli e successivamente modificata da Bain e Hare :

$$\text{SFI} = - 38.3 \times (\text{PLF}) + 109.5 \times (\text{TSF}) + 13.3 \times (\text{ITF}) - 8.8$$

$$\text{PLF} = (\text{EPL} - \text{NPL}) / \text{NPL}$$

$$\text{TSF} = (\text{ETS} - \text{NTS}) / \text{NTS}$$

$$\text{ITS} = (\text{EIT} - \text{NIT}) / \text{NIT}$$

Un valore pari a – **100** corrisponde ad un deficit funzionale totale, un valore uguale a **0** è indice di normalità.

Sono stati descritti anche gli indici di funzionalità del nervo Tibiale (TFI) e del nervo Peroneale (PFI) :

$$\mathbf{TFI} = - 37.2 \times (\text{PLF}) + 104.4 \times (\text{TSF}) + 45.6 \times (\text{ITF}) - 8.8$$

$$\mathbf{PFI} = 174.9 \times (\text{PLF}) + 80.3 \times (\text{TSF}) - 13.4$$

Il maggior limite di questa metodica è che la maggior parte degli animali già dopo 2 settimane dall'intervento presentano segni di automutilazione dell'arto operato; inoltre si osservano spesso contratture articolari e muscolari nei controlli eseguiti a 10 settimane.

Per prevenire l'automutilazione, alcuni hanno proposto di applicare sull'arto operato una soluzione normalmente utilizzata nei bambini per evitare che si mangino le unghie o altre soluzioni repellenti (senza peraltro grandi risultati). Alcuni studi evidenziano che i ratti femmina tipo Lewis hanno minore tendenza all'automutilazione rispetto ai maschi e rispetto alla razza Wistar.

EXTENSOR POSTURAL THRUST : consiste nella misurazione del peso di ciascun arto mediante il posizionamento dello stesso su una superficie con scala digitale di misurazione. Il range di normalità è compreso tra 0 e 500 gr.

La formula per calcolare la percentuale di deficit dell'arto controlaterale è la seguente :

$$\text{Percent motor deficit} = (\text{NEPT-EEPT}) / \text{NEPT}$$

N = normal; E = Experimental.

Si tratta di una procedura poco affidabile per la difficoltà a mantenere condizioni standard ogni volta che il test viene ripetuto.

COMPUTERIZED RAT GAIT ANALYSIS : è un'analisi condotta con l'ausilio di una videocamera che permette la valutazione di tre parametri :

- Sciatic Functional Index (SFI)
- Stance Factor (tempo di permanenza dell'arto al suolo)
- Ankle Angle (angolo della caviglia)

Una telecamera ad elevata velocità permette di riprendere l'animale nell'atto di deambulare lungo un percorso predeterminato; uno specchio inclinato di 45° viene posizionato al di sotto del ratto per riprenderne la superficie ventrale (vedi prima).

- Lo *SFI* viene calcolato impiegando la formula di De Medinaceli precedentemente descritta.
- Lo *Stance Factor* misura la durata del contatto di entrambe le zampe (operata e controlaterale sana) con il suolo. Il valore registrato per l'arto operato risulta ridotto rispetto ai controlli; questo risultato è attribuibile esclusivamente al deficit nervoso, senza alcuna correlazione con un'eventuale sintomatologia algica.
- Per calcolare *l'angolo di flessione della caviglia* vengono utilizzati come vettori la gamba ed il piede. La valutazione viene effettuata sia durante la fase di stato (stance) che durante la fase attiva (swing).

In conclusione, nonostante gli studi morfometrici evidenzino un'adeguata reinnervazione della muscolatura dell'arto inferiore, tuttavia, a seguito di riparazione di un tronco nervoso periferico, le fibre rigeneranti si distribuiscono in maniera disordinata, determinando così un significativo squilibrio muscolare.

A seguito di ciò, le alterazioni osservabili a distanza di 1 anno o più dalla lesione (inversione o eversione del piede, contrattura delle articolazioni, dorsiflessione della caviglia) rendono la

valutazione del recupero funzionale mediante Walking Track scarsamente attendibile (Dellon - Mackinnon 1989) soprattutto in quegli studi dove è provocata una lesione completa (e non solo una schiacciamento) o dove vengono testati innesti e tubuli (lungo recupero funzionale e maggior probabilità di sviluppare contratture ed automutilazioni).

TEST FUNZIONALI PER LA VALUTAZIONE DEL RECUPERO MOTORIO DELL'ARTO SUPERIORE

L'arto superiore al contrario dell'arto inferiore non è soggetto a fenomeni di automutilazione e contrattura muscolare.

E' quindi considerato il modello migliore da impiegare per l'esecuzione dei tests funzionali. Negli ultimi anni è sempre più utilizzato per lo studio delle lesioni del sistema nervoso periferico.

Il recupero della funzione motoria viene effettuato mediante due tests comportamentali : il groomig test e il grasping test. Il primo valuta la funzionalità del muscolo bicipite ed è quindi utile nello studio delle lesioni del plesso brachiale e del nervo muscolocutaneo. Il secondo permette di valutare la funzione dei muscoli flessori delle dita (superficiali e profondi) ed è quindi impiegato per studiare il recupero della funzione del nervo mediano.

GROOMING TEST : inizialmente introdotto da Bertelli e Mira (1993), è stato successivamente modificato da J. Terzis al fine di ottenere un test riproducibile e garantire misurazioni corrette.

Il test consiste nello schizzare da 1 a 3 ml di acqua sul muso di un ratto e nell'osservazione della reazione comportamentale successiva. L'animale normale solleva entrambi gli arti superiori dietro le orecchie per poi portarli sul muso; il movimento viene ripetuto per alcuni secondi. La registrazione è effettuata mediante telecamera. A seconda della posizione raggiunta dalle zampe viene assegnato un determinato punteggio. (Fig)

Essendo il movimento bilaterale, il deficit funzionale di uno dei due arti risulta facilmente evidenziabile.

GRASPING TEST : permette la valutazione del recupero funzionale volontario dopo riparazione del nervo mediano o del plesso brachiale, ponendo in relazione il tempo trascorso dalla lesione con il grado di recupero. Si tratta inoltre di una procedura non invasiva e ripetibile ad libitum, anche se è stato osservato un certo adattamento a seguito di test ripetuti (il ratto esita ad effettuare il grasping quando "riconosce" l'apparecchiatura).

Il sistema elaborato da Bertelli consiste in una griglia montata su una bilancia da laboratorio opportunamente tarata. L'animale viene afferrato per la coda e posto a contatto con la griglia sulla quale esercita una trazione il cui valore, espresso in grammi, appare sul display della bilancia. L'arto controlaterale è bloccato al torace con un nastro adesivo.

A seguito di una lesione da schiacciamento del tronco nervoso, il recupero funzionale nel territorio di innervazione è osservabile a partire dal 9° giorno e raggiunge valori simili ai controlli a distanza di 4 settimane dalla lesione (Bertelli e Mira).

Questa metodica però ha alcuni limiti: il ratto spesso "si distrae" e perde motivazione nell'effettuare il test per la presenza dell'arto controlaterale incrociato; inoltre la griglia permette al ratto di correre più che di tirare.

Per questo motivo Papalia et al. (2001 - in pubblicazione) hanno modificato il sistema impiegato per effettuare il test al fine di ottenere risultati più attendibili e ripetibili. L'arto controlaterale viene denervato per evitare interferenze; inoltre la griglia è sostituita da un parallelepipedo costituito da fili metallici di grosso diametro. L'animale afferra uno dei lati del parallelepipedo e su di esso esercita una trazione; il valore ottenuto esprime esclusivamente la forza di presa dell'arto superiore.

Bibliografia

- Bervar M. Video analysis of standing-an alternative footprint analysis to assess functional loss following injury to the rat sciatic nerve. J Neurosci Methods 2000;102:109-116.

- Bertelli JA, Mira JC. Behavioral evaluating methods in the objective clinical assessment of motor function after experimental brachial plexus reconstruction in the rat. *J Neurosci Methods* 1993 Mar;46(3):203-8
- Bertelli ja, Mira JC : The grasping test : a simple bahavioral method for objective quantitative assesement of peripheral nerve regeneration in the rat, *J Neurosci Methods* 1995, 58, 151-155
- Bertelli JA, Taleb M, Saadi A, Mira JC, Pecot-Dechavassine M.: The rat brachial plexus and its terminal branches: an experimental model for the study of peripheral nerve regeneration. *Microsurgery* 1995;16(2):77-85
- Brown CJ, Mackinnon SE, Evans PJ, Bain JR, Makino AP, Hunter DA, Hare GM. Self-evaluation of walking-track measurement using a Sciatic Function Index. *Microsurgery* 1989;10(3):226-35
- Castillo J, Curley J, Hotz J, Uezono M, Tigner J, Chasin M, Wilder R, Langer R, Berde C. Glucocorticoids prolong rat sciatic nerve blockade in vivo from bupivacaine microspheres. *Anesthesiology* 1996;85: 1157-1166.
- Clarke KA, Heitmeyer SA, Smith AG, Taiwo YO. Gait analysis in a rat model of osteoarthritis. *Physiol Behav* 1997;62:951-954.
- Clarke KA, Parker AJ. A quantitative study of normal locomotion in the rat. *Physiol Behav* 1986;38:345-351.
- Clarke KA. A technique for the study of spatiotemporal aspects of paw contact patterns, applied to rats treated with TRH analogue. *Behav Res Methods Instrum Comput* 1992;24:407-411.
- Clarke KA. Swing times changes contribute to stride time adjustment in the walking rat. *Physiol Behav* 1991;50:1261-1262.
- Curley J, Castillo J, Hotz J, Uezono M, Hernandez S, Lim JO, Tigner J, Chasin M, Langer R, Berde C. Prolonged regional nerve blockade. Injectable biodegradable bupivacaine/polyester microspheres. *Anesthesiology* 1996;84: 1401-1410.
- Dellon AL, Mackinnon SE. Selection of the appropriate parameter to measure neural regeneration. *Ann Plast Surg* 1989 Sep;23(3):197-202
- Dellon AL, Mackinnon SE. Sciatic nerve regeneration in the rat. Validity of walking track assessment in the presence of chronic contractures. *Microsurgery* 1989;10(3):220-5
- Dijkstra JR, Meek MF, Robinson PH, Gramsbergen A. Methods to evaluate functional nerve recovery in adult rats: walking track analysis, video analysis and the withdrawal reflex. *J Neurosci Methods* 2000;96:89-96.
- Hadlock T, Koka R, Vacanti JP, Cheney ML. A comparison of assesments of functional recovery in the rat. *J Periph Nerv Syst* 1999;4:258-264.
- Hadlock T, Koka R, Vacanti JP, Cheney ML. A comparison of assesments of functional recovery in the rat. *J Periph Nerv Syst* 1999;4:258-264.
- Hamers FPT, Lankhorst AJ, Van Laar TJ, Veldhuis WB, Gispen WH. Automated quantitative gait analysis during overground locomotion in the rat: Its application to spinal cord contusion and transection injuries. *J Neurotrauma* 2001;18:187-201.
- Hare GM, Evans PJ, Mackinnon SE, BEST TJ, BAIN JR, SZALAI JP, HUNTER DA : Walking Track Analysis : a long-term assessment of peripheral Nerve Recovery; *Plast Reconstr Surg* 1992, vol 89, n 2, 251
- Hruska RE, Kennedy S, Silbergeld EK. Quantitative aspects of normal locomotion in rats. *Life Sci* 1979;25:171-180.
- Koka R, Hadlock TA. Quantification of functional recovery following rat sciatic nerve transection. *Experimental Neurology* 2001;168:192-195.
- Lin FM, Pan YC, Dinh TA, Sabbahi M, Shenaq S. Functional assessment of tibial-nerve recovery in the cat using gait analysis: preliminary study. *J Reconstr Microsurg* 1997;13:177-183.
- Lin FM, Pan YC, Hom C, Sabbahi M, Shenaq S. Ankle stance angle: A functional index for the evaluation of sciatic nerve recovery after complete transection. *J Reconstr Microsurg* 1996;12:173-177.
- Mackinnon SE, Dellon AL, O'Brien JP, Goldberg N, Hunter DA, Seiler WA 4th, Carlton J. Selection of optimal axon ratio for nerve regeneration. *Ann Plast Surg* 1989 Aug;23(2):129-34
- Parker AJ, Clarke KA. Gait topography in rat locomotion. *Physiol Behav* 1990;48:41-47.
- Rochester JR, Clarke KA. Gait analysis in the rat as a model for the study of peripheral vascular disease. *Physiol Behav* 1994;55:723-726.
- Santos PM, Williams SL, Thomas SS. Neuromuscular evaluation using rat gait analysis. *J Neurosci Methods* 1995;61:79-84.
- Thalhammer JG, Vladimirova M, Bershady B, Strichartz GR. Neurologic evaluation of the rat during sciatic nerve block with lidocaine. *Anesthesiology* 1995;82: 1013-1025.
- Varejao ASP, Meek MF, Ferreira ALA, Patricio JAB, Cabrita AMS : Functional evaluation of peripheral nerve regeneration in the rat : walking track analysis *J Neurosci Methods* 2001;108:1-9.

- Walker JL, Evans JM, Meade P, Resig P, Sisken BF. Gait-stance duration as measure of injury and recovery in the rat sciatic nerve model. *J Neurosci Methods* 1994;52:47-52.
- Walker JL, Resig P, Guarnieri S, Sisken BF, Evans JM. Improved footprint analysis using video recording to assess functional recovery following injury to the rat sciatic nerve. *Restor Neurol Neurosci* 1994;6:189-193.
- Westerga J, Gramsbergen A. Development of locomotion in the rat. *Dev Brain Res* 1990;57:163-174.
- Yu P, Matloub HS, Sanger JR, Narini P. Gait analysis in rats with peripheral nerve injury. *Muscle Nerve* 2001;24:231-239.

PROSPETTIVE FUTURE NELL'IMPIEGO DELLE TECNICHE DI TUBULIZZAZIONE: EVIDENZE SPERIMENTALI E CLINICHE

TUBULIZZAZIONE MEDIANTE L'IMPIEGO DI VENE: RISULTATI CLINICI E SPERIMENTALI

CLINICAL RESULTS AND THOUGHTS ON SENSORY NERVE REPAIR BY AUTOLOGOUS VEIN GRAFT

G. RISITANO, G. CAVALLARO, T. MERRINO, S. COPPOLINO, F. RUGGERI

*Gruppo Interdisciplinare di Chirurgia della Mano, Dipartimento delle Specialità Chirurgiche
Università di Messina, Italia*

SUMMARY

Lesions of the digital and other sensory nerves in the hand are common.

Based on experimental studies on vein graft as a support for peripheral nerve regeneration, the Authors have been using a simple vein graft to bridge sensory nerve gaps when treating acute hand injuries.

This is a retrospective study on the results of 22 sensory nerves repaired using vein grafts in cases in which primary suture was not feasible, in emergency hand reconstruction. Patients were informed that a secondary nerve graft could possibly be necessary in the future. Patients were reviewed by two independent observers at least one year after repair and evaluated using the Highet scale as modified by MacKinnon & Dellon. Evaluation chart included influence of repair on rehabilitation program and presence of painful neuromas and scars as well as patient's satisfaction.

Results were classified according to Sakellarides and 20/22 were classified as very good or good. Cases classified as poor were satisfied and no secondary nerve grafting has been carried out.

Rehabilitation of the associated lesions (tendon lacerations or bone and soft tissue damage) was not influenced by the nerve repair and no painful neuroma was reported in the series.

In conclusion, since the literature shows unsatisfactory results in repair of digital nerves with nerve grafts, since it's been demonstrated that an unrepaired sensory nerve leads to painful scar and painful neuroma and since we're reluctant to use nerve grafts in emergency procedures, we recommend this simple method because it's easy, low-cost and effective.

BACKGROUND

Vein grafts have been used in experimental work by several Authors to bridge nerve ends, alone or filled with muscle fibers, in order to support nerve regeneration (1-3). Tubulization has been demonstrated to be efficient in containing the axonal growth and to re-route it to the appropriate end-organ. This is particularly true if the gap is not too wide and the nerve to reconstruct is not a major nerve trunk, although tubulization of the median, ulnar and radial nerve in the arm and forearm has been proposed and performed with success(4).

Digital and sensory nerves in the hand are commonly involved either in simple cuts or in severe hand trauma. If a digital or other sensory nerve is left unrepaired, the dispersed axonal growth would lead to neuroma formation and this would definitely interfere with rehabilitation and restoration of function. Moreover the sensory deficit is a problem in the pulp, especially for digits that are involved in pinch and gnostic function. Very few papers in the literature are dealing with the natural history of a digital nerve left unrepaired (5). In many cases, however, during emergency hand reconstructive procedure the hand surgeon, whenever unable to perform an end-to-end nerve repair, is reluctant to sacrifice a sensory nerve to use it as a graft to immediately reconstruct a digital nerve.

Our interdisciplinary hand group, in the latest 10 years, has been using autogenous vein grafts to bridge the gap between two nerve ends with apparently good results. Therefore we decided to look at the cases we treated by this technique to get a scientific approach according to the data emerging from the most recent literature (9-12).

Materials and Methods

We studied retrospectively 22 cases of acute lesions of sensory nerve in the hand.

The lesions were mainly digital nerve lesions occurring in simple cuts, often associated with flexor tendon lesions. Extensor tendon laceration on the dorsum of the hand and at the wrist level also brought some cases of nerve lesions with gapping. We also treated a number of cases of painful neuromas by the same technique but these cases were treated as elective cases and therefore are not included in this study. Digital nerve lesions occurring in complex injury of the fingers or replantation cases were not included in this study either.

All cases have been treated in emergency (between 0 and 72 hours) in a third level General Hospital (Policlinico Universitario di Messina) by an experienced Hand and Micro-Surgeon.

In all cases where the nerve ends were found retracted or with a loss of substance a vein graft was harvested from the volar or dorsal aspect of the wrist, matching as much as possible the size of the cut nerve. The length of the gap ranged from 10 to 35 mm. The vein was irrigated with saline solution and was not processed or filled by anything. We tried to position the graft distal to proximal and we performed an end-to-end coaptation using the operating microscope and putting 3 to 4 stitches of 8 or 9/0 nylon from each side of the vein to the epineurium of the nerve. In some cases the nerve ends were buried inside the vein lumen and secured by a single stitch. In all cases a good soft tissue coverage has been provided and the associated lesions were treated in such a way that an early active mobilisation protocol could be offered to the injured hand (8).

Patients have been reviewed by 2 independent observers.

The minimum follow-up was 12 months. The outcome measures used were as follows:

- Highest scale as modified by Mackinnon and Dellon (6)
- Sakellarides classification of results (7)
- Complications (if any)
- Patients satisfaction

In some cases electrophysiological studies were performed but are not included in this study.

Data obtained by the Authors are summarized in table I.

The overall results showed that 11 patients had a very good result, 9 cases were classified as good and 2 patients as poor. The percentage of very good and good results (20/22) was about 90%.

Results

n	AGE	SITE	Gap (cm)	FW months	Sensory scale	Result
1	30	Dig palm	1	60	S4	VG
2	35	Dig palm	1.5	12	S4	VG
3	16	P1	2	24	S4	VG
4	18	P1	1	16	S4	VG
5	22	P2	1.5	18	S3	G
6	70	Dig palm	1	18	S2+	G
7	15	P1	2	6	S4	VG
8	18	Dorsum	1	6	S2	P
9	36	P1	2	12	S3	G
10	70	Palm	2	30	S2+	G
11	44	Wrist	1	10	S2+	G
12	55	P2	0.5	24	S3	G
13	47	Palm	1	12	S2	P
14	15	P1	1.5	12	S4	VG
15	27	P1	1	20	S4	VG
16	24	P2	3	25	S4	VG
17	40	P2	2	32	S4	VG
18	30	P2	2	30	S4	VG
19	22	P1	0.5	20	S3	G
20	17	Palm	1	40	S4	VG
21	55	Dorsum	2	12	S2+	G
22	65	Palm	2	24	S2+	G

Table 1 - Results

DISCUSSION

According to data from the literature we found in our retrospective study that autologous vein grafting is a tubulization technique that permits a:

- Easy
- Low-cost
- Effective

sensory nerve reconstruction.

All patients have been able to undergo the rehabilitation program proposed.

All were informed that a secondary procedure using a nerve graft would be necessary in case of unsatisfactory results.

No patient required nor requested a secondary procedure either for neuroma or for severe pain or sensation impairment in their hands.

We therefore strongly suggest our method as the method of choice in dealing with nerve repair in emergency, especially in those cases where a end-to-end repair is not feasible and in all cases where a nerve graft (sural or lateral antibrachial) seems an unnecessary sacrifice. We also use

vein grafts as temporary spacers in those procedures, like replants or complex lesion in the forearm, where a secondary cable grafting is indicated.

BIBLIOGRAPHY

1. Risitano G, Cavallaro G, Lentini M :Autogenous vein and nerve grafts: a comparative study of nerve regeneration in the rat ; *J Hand Surg* ,1989,14B:102-104.2. Chiu DTW,
2. Strauch B : A prospective clinical evaluation of autogenous vein graft used as a nerve conduit for distal sensory nerve defects of 3 cm or less. *Plast Reconstr Surg*,1990, 86: 928-934.
3. Brunelli GA, Battiston B, Vigasio A, Brunelli G, Marocolo D. : Bridging nerve defects with combined skeletal muscle and vein conduits. *Microsurgery* ,1993, 14 (4): 247-251.
4. Lundborg O, Rosen B, Dahlin L, Danielsen N, Holmberg J. :Tubular versus conventional repair of median and ulnar nerves in the human forearm: early results from a prospective, randomized, clinical study; *J Hand Surg* , 1997, 22A : 99-106.
5. Chow SP, Ng C. : Can a divided digital nerve on one side of the finger be left unrepaired? *J Hand Surg B* ,1993,18(5):629-630.
6. Mackinnon SE, Dellon AL : Clinical nerve reconstruction with a bio absorbable polyglycolic acid tube.*Plast Reconstr Surg* , 1990, 85: 419-424.
7. Sakellarides H. : A follow up of 173 peripheral nerve injuries of the upper extremity of civilians. *J Bone Joint Surg* , 1962, 44 : 140-148.
8. Savage R, Risitano G : Flexor tendon repair using a "six strand" method of repair and early active mobilisation. *J Hand Surg*, 1989, 14B: 396-399.
9. Tang JB, Gu YQ, Song YS : Repair of digital nerve defect with autogenous vein graft during flexor tendon surgery in zone 2; *J Hand Surg B*, 1993, 18(4): 449-453.
10. Malizos KN, Dailiana ZH, Anastasiou EA, Sarmas I, Soucacos PN : Neuromas and gaps of sensory nerves of the hand: management using vein conduits; *Am J Orthop*, 1997, 26(7): 481-485.
11. Kelleher MO, Al_Abri RK, Eleuterio ML, Lenihan Dv, Glasby MA : The use of conventional and invaginated autologous vein grafts for nerve repairs by means of endotubulation ; *Br J Plast Surg*, 2001, 54 (1) :53-57.
12. Miloro M. : The use of autogenous vein grafts for inferior alveolar and lingual nerve reconstruction, *J Oral Maxillofac Surg*, 2001, 59:988-993.

Supported by a grant from: *Regione Siciliana, Assessorato Regionale dei Beni Culturali, Ambientali e della Pubblica Istruzione*

MUSCLE-VEIN-COMBINED-GRAFT: CLINICAL AND EXPERIMENTAL RESULTS

LA TECNICA DEL MUSCOLO IN VENA RISULTATI CLINICI E SPERIMENTALI

Bruno BATTISTON - Pierluigi TOS

Gruppo Interdivisionale di Microchirurgia (GIM), U.O.S. Microchirurgia, Ospedale C.T.O. Torino, Via Zuretti 29, 10126, Torino.

ABSTRACT

Peripheral nerve lesions with a long segment defect need a grafting conduit to heal. Although autogenous nerve grafting is still considered the best method for bridging nerve defects, several alternative types of conduits (biological and synthetic) have been studied. We have demonstrated in previous experimental research that a graft made using a vein (providing a guide for nerve regeneration) filled with fresh skeletal muscle (to prevent vein collapse and support axon regeneration) gave similar results to traditional nerve grafts, in the rat. On this basis, we decided to use the muscle-vein-combined grafts in clinical cases. From 1993 to 1999 this technique was applied for bridging both sensory and mixed nerve defects (26 cases). We report good results in 85% of our cases with a minimum follow up of 14 months. These results, obtained on nerve defects ranging from 0.5 to 6 cm in length, seem to be superior to those reported with other kinds of artificial or biological conduits.

INTRODUCTION

The repair of peripheral nerve defects is usually accomplished using an autologous nerve graft. This provides continuity of the stumps, with minimal or no tension, and supports axonal regeneration whilst protecting against surrounding scar tissue formation.¹ Generally, "sensitive" nerves such as the sural nerve are employed for such grafts. Whilst this technique usually provides good functional results, it does require an extra surgical procedure that may lead to damage created by the withdrawal of a healthy nerve (surgical incisions in sound areas, sensory residual deficits). Further, graft material is limited (in terms of length) especially in cases requiring the repair of extensive lesions, such as brachial plexus lesions. Finally, the removal of this nerve will result in loss of sensory perception at the removal site.

Arterial grafts were first proven successful as a conduit for nerve repair at the beginning of the century.² Wrede³ described the use of vein grafts for nerve repair. Lundborg first underlined the advantages of tubulization showing the spontaneous search of regenerating axons for their target (chemiotropism) through artificial mesothelial chambers.⁴ Specific chemiotropism, of motor and sensory fibers respectively, was shown by Brunelli⁵ using vein grafts and Rath⁶ by means of predegenerated muscle. Other authors have utilised fresh or predegenerated skeletal muscle as grafts with good results.⁷⁻⁸ There has also been extensive research using empty artificial tubes,⁹⁻¹⁰ ¹¹ tubes filled with growth factors¹²⁻¹³ and Schwann cells.¹⁴ Some authors have also described the so called "stepping-stone" technique to enhance the distance over which silicon camber,¹⁵ vein,¹⁶ or freeze-thawed muscle autografts¹⁷⁻¹⁸ will support effective nerve regeneration.

Unfortunately, all these grafts or tubes are useful for short distances only.¹⁹ In particular, vein or other empty tubes collapse in gaps longer than 1-2 cm²⁰ and axon loss may occur in muscle grafts.²¹ Therefore, a main limitation of tubulization grafting techniques appears to be their applicability only for short distances (1-2 cm).

Experimental research in the rat have proved that filling vein segments with fresh skeletal muscle permits a nerve repair similar to those obtained by autologous nerve grafts for gaps of 2 cm¹⁹ and 3 cm.²² Since 1993, this technique has been used in clinical cases.²³⁻²⁴ This paper reports the results of these surgical-clinical outcomes for a five-year period. As regards experimental reseaches see below references.

MATERIALS AND METHODS

The clinical data presented reflect twenty-six nerve lesions on twentytwo patients with a loss of substance ranging from a minimum of 0.5 cm to a maximum of 6 cm, over a 5 year time period (1993 - 1999). All patients had their nerves repaired using a muscle in vein conduit grafting technique. Of the 26 lesions, 10 cases were lesions of the sensitive nerves (6 digital nerves and 4 sensory branches of the radial nerve) and 16 cases were mixed nerve defects (2 radial nerves at the arm level, 4 median nerves at the wrist and 1 at the arm, 2 ulnar nerves at the forearm and 4 at the wrist, 1 axillary nerve, 1 musculocutaneous nerve at its origin and 1 brachial plexus posterior cord).

We evaluated our results by the criteria of the Nerve Injuries Committee of the British Medical Research Council modified by Mackinnon-Dellon²⁵ (Tables 1,2). For sensory assessment, S3 has a static two-point discrimination (2pd) test greater than 15 mm, S3+ includes 2pd ranging between 7 and 15 mm and S4 includes 2pd from 2 to 6 mm. Both tests, static and moving two point discrimination (m2pd)²⁶ were used. For motor assessment the muscles were measured and scored with results ranging from M0 through to M5.²⁵ Intrinsic muscles were evaluated by means of the examination proposed by Lister.²⁷ Moreover the grip strength was measured using a dynamometer in comparison with the controlateral side.

We classified the results in three groups with the grading system proposed by Sakellarides.²⁸ Very Good: \geq M4 / \geq S3+; Good: M3 / S3-S2+; Poor: $<$ M2 / $<$ S2+. The first two groups have been considered as a satisfactory result for assessment purposes in this paper.

Patients were examined with a mean follow-up of 21 months (range 14 - 30). The average age of our patients at the time of injury was 35 years (range 8 to 60 years); 18 were male and 8 female. The transected nerve segment ranged from a minimum of 0.5 cm to a maximum of 6 cm (mean: 2.4 cm). The interval time from injury to surgery averaged 2.8 months (range: same day to 8 Months). For post-operative analysis we divided the cases into two groups: 1) sensory nerves (digital and radial sensory branches) and 2) mixed nerves (median, ulnar, radial, musculocutaneous, axillary, posterior cord). In each group, cases with gaps $<$ 3cm were distinguished from those with gaps $>$ 3cm (Tables below).

RESULTS

Results of clinical findings are presented in Tables below. Good sensory recovery was obtained in the 6 lesions of collateral digital nerves (ranging from 4 mm to 10 mm m2pd) with complete patients' satisfaction and return to previous activities (Table below).

The repair of the radial sensitive branches in our patients produced good results in all three cases with gaps $<$ 3 cm, with the disappearance of pre-operative problems and recovery of normal sensibility to their sensory areas. Unfortunately, in the only patient who had an initial gap of 3.5 cm, full sensory recovery was not recovered and this patient had partial post-operative numbness in the dorso-radial aspect of the hand. However, the pre-operative painful neuroma disappeared and the patient is satisfied.

The results of the mixed nerve repair group is displayed in Table 4. The two median nerve lesions with gaps $<$ 3 cm (both approximately 2.5 cm) at the wrist, which were treated in emergency associated with flexor tendons lesions, have had a good sensory and motor recovery (6 mm m2pd at the thumb in both - thenar muscles M5 and M4).

A satisfactory clinical outcome was also obtained in one out of the three repaired ulnar nerves with gaps $<$ 3cm, with sensory recovery of 8 and 10 mm m2pd at the little finger and satisfactory motor recovery of intrinsic muscles of the hand (M4). In the other two patients we obtained a satisfactory sensory recovery (10 mm m2pd) without (M0), or with just a fair (M2) motor recovery. Both patients were able to return to common activities although with a weaker grip compared with the

controlateral hand. This absence of motor recovery may be related to the complexity of the lesions that were both accompanied by a concomitant crush of the hand.

As regards cases with gaps > 3cm, the 22 year old patient with a median nerve lesion at the wrist (4 cm gap), and a combined lesion of the ulnar nerve (4 cm gap) was operated five months after the injury date. She has reported a satisfactory result both for the median nerve (m2pd 8 mm at the thumb - opponent M3) and the ulnar nerve (m2pd 8 mm - intrinsic M4) (Fig. 1a,b,c).

In the case of the other radial nerve lesions, although the nerve gap was significant in both subjects (4 cm and 3.5 cm), the repair gave very good results with almost full motor and sensory recovery (S3 - M4 and S4 - M4).

The patient with the right arm musculocutaneous nerve lesion of 6 cm recovered biceps (M2) and brachialis anterior (M4) with a good resulting elbow flexion (Fig. 2a,b,c,d). Finally, the brachial plexus posterior cord lesion was repaired with a 4 cm graft and the patient had an excellent result: deltoid, M5; triceps, M4; EDC, ECR and EPL, M3. A complete sensory recovery was also obtained in this patient.

SENSORY NERVES

	<i>Age</i>	<i>Nerve grafted</i>	<i>Level</i>	<i>Gap (cm)</i>	<i>Interval from injury to grafting (months)</i>	<i>Follow-up (months)</i>	<i>Recovery</i>	Results
<i>Gap < 3cm</i>	45	Digital	F1	0.5	Primary	24	S4	VG
	34	Digital	F2	0.5	2	30	S4	VG
	21	Digital	F1	1	1	20	S4	VG
	28	Digital	F1	1.2	1	22	S3+	VG
	50	Digital	F2	1.5	2	18	S3	G
	33	Digital	F1	1	Primary	20	S3+	VG
	40	Radial	Wrist	1.5	3	24	S4	VG
	51	Radial	Forearm	2	4	26	S4	VG
	34	Radial	Wrist	2	2	18	S3	G
<i>Gap > 3cm</i>	45	Radial	Forearm	3.5	4	20	S1	P

MIXED NERVES

	Age	Nerve grafted	Level	Gap (cm)	Interval from injury to grafting (months)	Follow-up (months)	Sensory recovery	Motor recovery	Results
<i>Gap < 3cm</i>	28	Median	Wrist	2.5	Primary	24	S4	M5	VG
	30	Median	Wrist	2.5	Primary	20	S4	M4	VG
	50	Ulnar	Forearm	2	4	14	S3	M4	G
	40	Ulnar	Forearm	2	Primary	26	S3+	M2	P
	37	Ulnar	Wrist	2	3	18	S3+	M0	P
	8	Ulnar	Wrist	2	4	14	S4	M4	VG
	25	Ulnar	Wrist	1.5	5	14	S1	M2	P
	45 [^]	Axillary	Plexus	2.5	6	28	-	M4	VG
<i>Gap > 3cm</i>	56	Median	Wrist	3	Primary	14	S2	M4	G
	22*	Median	Wrist	4	5	24	S3+	M3	G
	22*	Ulnar	Wrist	4	5	24	S3	M4	G
	60	Radial	Arm	4	6	18	S3	M4	G
	25	Radial	Arm	3.5	4	20	S4	M4	VG
	45 [^]	Median	Arm	3.5	6	28	S2	FCR M3, Flex Digit sup- pr M3	G
	58	Musculo cutaneous	At its origin	6	6	20	-	Biceps M2 Brachialis M4	G
	24	Posterior cord	Plexus	4	8	20	S4	Deltoid M5 Triceps M4 EDC, ECR, EPL M3	VG

* [^] Same patients

DISCUSSION

Various surgical techniques have been studied for the repair of peripheral nerve lesions in alternative to traditional autologous nerve grafts. The use of a vein filled with fresh skeletal muscle combines two elements that have been individually previously shown to have limitations in their application for nerve repair. Vein tubulization shows a tendency to collapse in graft bridges longer than 1-2 cm,¹⁹⁻²⁰ while axons loss may occur in muscle grafts.²¹

The results presented in this paper suggest that the technique of nerve repair by means of a muscle-vein-combined graft overcomes these limitations and may represent a good alternative to traditional autologous nerve grafting. In fact, this method exceeds current graft length-limit typical of other kinds of tubulization, successfully bridging defects up to 6 cm.

Other advantages of this surgical technique include: (1) All graft material (vein and muscle) is easily withdrawn in the lesion area and therefore it is not necessary to perform any new incision in other sites, (2) Secondary damage created by the withdrawal of healthy nerve/s is avoided; (3) A possibility for spontaneous orientation of regenerating nerve fibers inside the tube is offered as fibers are allowed to search for their final target in response to chemical signals coming from the distal nerve segment (chemiotropism).²⁹

Although definitive conclusions can not be drawn because of the limited case series, the results obtained by the muscle-vein-combined grafting technique so far are very encouraging, particularly because they proved to be similar to those obtained with autologous nerve grafts also for gaps exceeding 3 cm.

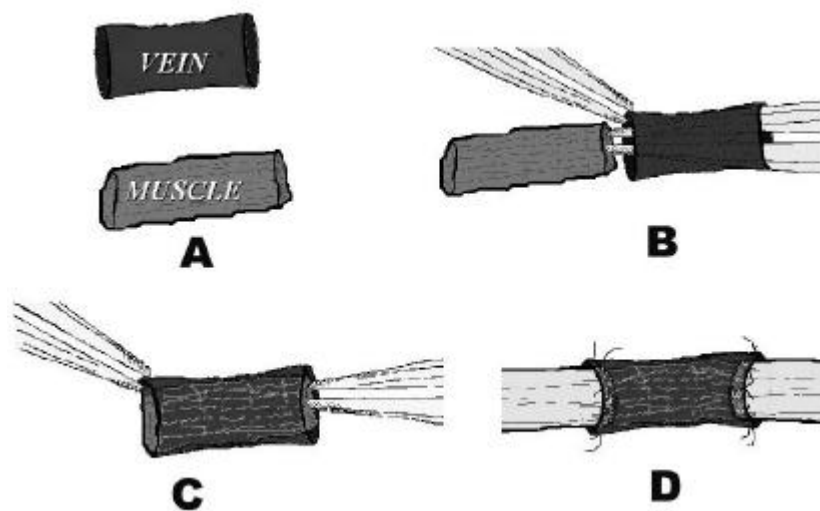
REFERENCES

1. Millesi H: Interfascicular nerve grafting. *Orthopaedic Clinic of North America* 2: 419, 1970.
2. Foramitti C: Zur technik der nervennaht. *Archivium Klinik Chirurgie* 73 : 643-648, 1904.
3. Wrede L: Uberbrueckung eines nervendefektes mittels seidennaht und leben venenstueckes. *Deutsches Medizin Wochenschrift* 35: 1125, 1909.
4. Lundborg G, Dahlin LB, Danielsen NP, Hansson HA, Larsson K: Reorganisation and orientation of regenerating nerve fibers, perineurium and epineurium in preformed mesothelial tubes. An experimental study on the sciatic nerve of rats. *J Neurosci Res* 6: 265-281, 1981.
5. Brunelli G, Fontana G, Jager C, Bartolaminelli P, Franchini A: Chemiotactic arrangement of axons inside and distal to a venous graft. *J Reconstr Microsurgery* 3: 87-89, 1987.
6. Rath S, Green CJ: Selectivity of distal reinnervation of regenerating mixed, motor and sensory nerve fibres across muscle graft in rats. *Br J Plast Surg* 44: 215-218, 1991.
7. Glasby MA, Gschmeissner SG, Hitchcock RJI, Huang CL-H, de Souza BA: A comparison of nerve regeneration through nerve and muscle grafts in rat sciatic nerve. *Neuro-Orthopaedics* 2: 21-28, 1986.
8. Jimming K, Shizhen Z, Shengxin Z: Experimental study of bridging the peripheral nerve gap with skeletal muscle. *Microsurgery* 7:183-189, 1986.
9. Lundborg G, Dahlin LB, Danielsen N, Gelberman RH, Longo FM, Powell HC, Varon S: Nerve regeneration in silicone chambers. Influence of gap length and distal stump contents. *Exp Neurol* 76: 361-375, 1982.
10. Mackinnon S, Dellon AL: A study of nerve regeneration across synthetic (maxon) and biologic (collagen) nerve conduits for nerve gaps up to 5 cm in the primate. *J Reconstr Microsurgery* 6: 117-121, 1990.
11. Mackinnon SE, Dellon AL: Clinical nerve reconstruction with a bioabsorbable polyglycolic acid tube. *Plast Reconstr Surg* 85: 419-424, 1990.
12. Rich KM, Alexander TD, Pryor JC, Hollowell J: Nerve growth factor enhances regeneration through silicon chambers. *Exp Neurol* 105: 162-170, 1989.
13. Aebischer P, Salessiotis AN, Winn SR: Basic fibroblast growth factor released from synthetic guidance channels facilitates peripheral nerve regeneration across long nerve gaps. *J Neurosci Res* 23: 282-289, 1989.
14. Ansselin AD, Fink T, Dawey DF: Peripheral nerve regeneration through nerve guides seeded with adult Schwann cells. *Neuropathol Appl Neurobiol* 23: 387-398, 1997.
15. Maeda T, Mackinnon SE, Best TJ, Evans PJ, Hunter DA, Rajiv-Midha RT: Regeneration across "stepping-stone" nerve grafts. *Brain Research* 618: 196-202, 1993.
16. Tang J: Vein conduits with interposition of nerve tissue for peripheral nerve defects. *J Reconstr Microsurgery* 11: 21-26, 1994.
17. Calder JS, Green CJ: Nerve-muscle sandwich grafts: the importance of Schwann cells in peripheral nerve regeneration through muscle basal lamina conduits. *J Hand Surg (British and European)* 20B: 423-428, 1995.
18. Withworth IH, Doré CJ, Green CJ, Terenghi G: Increased axonal regeneration over long nerve gaps using autologous nerve-muscle sandwich graft. *Microsurgery* 16: 772-778, 1985.
19. Brunelli G, Battiston B, Vigasio A, Brunelli G, Marocolo D: Bridging nerve defects with combined skeletal muscle and vein conduits. *Microsurgery* 14: 247-251, 1993.
20. Chiu DTW, Strauch B: A prospective clinical evaluation of autogenous vein grafts used as a nerve conduit for distal sensory nerve defects of 3 cm or less. *Plast Reconstr Surg* 86: 928-934, 1990.
21. Mackinnon S, Hudson A, Hunter D: Histologic assessment of nerve regeneration in the rat. *Plast Reconstr Surg* 85: 384-388, 1985.
22. Battiston B, Tos P, Geuna S, Giacobini-Robecchi MG, Guglielmone R: Nerve repair by means of vein filled with muscle grafts. II. Morphological analysis of regeneration. *Microsurgery*, submitted.
23. Battiston B, Pasquali M, Ferrero S: L'utilizzo di muscolo in vena per il trattamento delle perdite di sostanza nervosa. *Giorn It Ortop Traumat* 23:209-213, 1997.
24. Battiston B, Tos P, Bonaspetti G, Giacobini-Robecchi MG, Guglielmone R: Nerve repair by means muscle in vein tubes: Ultrastructural features of early stages of regeneration. Proceedings of the 7th IFSSH Congress, Vancouver, Canada. Modena, Monduzzi Editore, 1998, pp. 595-599.
25. Mackinnon S, Dellon AL(eds): Nerve Repair and Nerve Grafting, in: *Surgery of the Peripheral Nerve*. New York, Thieme Medical Publishers, Inc., 1988, p. 118
26. Dellon AL: The Moving two-point discrimination test: Clinical evaluation of the quickly-adapting fiber/receptor. *J Hand Surg* 3: 478-81, 1978.
27. Lister G (ed): Muscle Testing, in: *The Hand: Diagnosis and Indication*. 3rd Edition. Edinburgh, Churchill Livingstone, 1993, pp. 520-522.

28. Sakellarides H: A follow-up study of 173 peripheral nerve injuries of the upper extremity of civilians. *J Bone Joint Surg* 44A: 140-148, 1962.
29. Lundborg G, Dahlin L, Danielsen N, Qing Zhao: Trophism, tropism and specificity in nerve regeneration. *Journal of Reconstructive Microsurgery* 10: 345-354, 1994.

Experimental research bibliography

1. Battiston B, Tos P, Geuna S, Giacobini-Robecchi MG, Guglielmone R. Nerve repair by means of vein filled with muscle grafts. II. Morphological analysis of regeneration. *Microsurgery* 2000;20(1):37-41
2. Tos P, Battiston B, Geuna S, Giacobini-Robecchi MG, Hill MA, Lanzetta M, Owen ER. Tissue specificity in rat peripheral nerve regeneration through combined skeletal muscle and vein conduit grafts. *Microsurgery* 2000;20(2):65-71
3. Geuna S, Tos P, Battiston B, Guglielmone R, Giacobini-Robecchi MG. Morphological analysis of peripheral nerve regenerated by means of vein grafts filled with fresh skeletal muscle. *Anat Embryol (Berl)* 2000 Jun;201(6):475-82
4. Geuna S, Tos P, Battiston B, Guglielmone R, Giacobini-Robecchi MG. A stereological study of long-term regeneration of rat severed sciatic nerve repaired by means of muscle-vein-combined grafts. *Ital J Anat Embryol* 2000 Apr-Jun;105(2):65-73
5. Fornaro M, Tos P, Geuna S, Giacobini-Robecchi MG, Battiston B. Confocal imaging of Schwann-cell migration along muscle-vein combined grafts used to bridge nerve defects in the rat. *Microsurgery* 2001;21(4):153-5



**MUSCLE-VEIN-COMBINED-GRAFT
SURGICAL TECHNIQUE**

IMPIEGO CLINICO DEI TUBULI SINTETICI RIASSORBIBILI

CLINICAL USE OF ABSORBABLE SYNTETIC TUBES

Giuseppe LAROSA - Arman SARD - Italo PONTINI

Gruppo Interdivisionale di Microchirurgia, U.O.A. Chirurgia della Mano, Ospedale CTO, Via Zuretti 29, 10126, Torino. E-mail : glarosa65@hotmail.com

Introduzione

Nella riparazione di lesioni nervose periferiche accade spesso di dover eseguire suture in presenza di perdita di sostanza, tale da impedire un affrontamento termino-terminale dei due monconi.

E' ormai da tempo accertato che la sutura nervosa debba essere eseguita senza tensione per un'ottimale rigenerazione assonale (Millesi 1981).

Inoltre l'eccessiva flessione delle articolazioni vicine, tale da ridurre la tensione della sutura diretta, determina un aumento del tessuto cicatriziale con l'inizio della mobilizzazione .

L'innesto autologo ha rappresentato per anni la metodica ottimale per una sutura nervosa con gap di sostanza.

Il prelievo dell'innesto implica però un aumento del tempo operatorio e di anestesia, oltre a danni importanti a livello del sito donatore.

Questa serie di problematiche , negli ultimi anni, ha indirizzato la ricerca verso la messa a punto di tecniche alternative.

Diversi autori hanno ipotizzato la possibilità di rigenerazione delle fibre ponendo a ponte tra i due monconi una specie di " tubo" per colmare il gap nervoso.

Questo tipo di metodica, cosiddetta di **tubulizzazione**, può avvalersi di tubi di origine biologica (vena, muscolo in vena) o di origine sintetica (silicone, ac. poliglicolico).

I primi lavori sperimentali condotti su animali vengono riportati da Gluck nel 1880 e da Vanlair nel 1882, entrambi condotti con l'uso di osso decalcificato. Foramitti nel 1904 riporta buoni risultati , sempre in animali , con l'utilizzo di arterie come tubuli. Nel 1915 Kirk e Lewis descrivono l'uso di un tubo costruito con un pezzo di fascia per colmare un gap nervoso di 1 cm in nervo sciatico di cani.

Buoni risultati sono stati ottenuti con l'uso di tubo di collagene da Weiss nel 1944.

La prima applicazione clinica viene eseguita da Wrede nel 1909 in lesione di nervo mediano con un gap di 4.5 cm , riparato con segmento di vena safena. Swan nel 1941 riporta buoni risultati nella riparazione di nervo ulnare , sempre con l'uso di vena.

Alcuni autori hanno utilizzato muscolo scheletrico fresco (Jimming et al., 1986) o predegenerato (Glasby et al.,1986).

Negli ultimi anni la tubulizzazione biologica ha visto l'affermarsi dell'uso di muscolo-vena , supportato da validi risultati sperimentali (Brunelli et al.,1993) e clinici (Brunelli et al.,1993 ; Battiston et al.,1997).

Per quanto riguarda la tubulizzazione sintetica i primi lavori risalgono al 1984, condotti da Seckel su ratti, utilizzando dei tubuli in polimeri sintetici bioassorbibili.

Nel 1988 Dellon e Mackinnon riportano studi sperimentali eseguiti su scimmie , utilizzando tubuli e mesh bioassorbibili di acido poliglicolico. Nel 1990 gli stessi Autori riportano i loro buoni risultati nell'utilizzo di tubo di acido poliglicolico in 15 pazienti con perdita di sostanza in lesione nervosa digitale.

Nel 1991 Lundborg riporta i suoi risultati nel trattamento di lesione di nervo ulnare con tubo di silicone e nel 1994 utilizza la stessa tecnica per il trattamento di 2 lesioni di nervo mediano all'avambraccio. Naturalmente Lundborg non utilizza il silicone per colmare un gap di sostanza ,

come i precedenti Autori, ma per conseguire una riparazione nervosa secondo il suo concetto di "camera" per favorire la ricerca spontanea degli assoni verso la propria destinazione, regolata dai numerosi fattori neurotropici e neurotrofici.

In questo lavoro ci limiteremo a parlare della tubulizzazione sintetica, riportando i risultati della nostra casistica di pazienti trattati con **neurotube**® (Neuroregen L.L.C.-acido poliglicolico).

Materiali e metodi

Dal mese di Giugno 1998 al mese di Novembre 2001 , un totale di 12 pazienti sono stati trattati per lesione di nervi collaterali digitali e palmari con perdita di sostanza nervosa , utilizzando tubuli sintetici di acido poliglicolico.

In 2 casi la lesione interessava 2 dita diverse nella stessa mano, portandoci così ad un totale effettivo di 14 casi.

5 pazienti sono stati trattati già in urgenza, mentre gli altri presentavano un intervallo dalla lesione da 1 a 12 mesi. Questi ultimi lamentavano anestesia nel territorio di pertinenza del nervo con dolore e Tinel decisamente positivo per presenza di neuroma secondario.

Tutte le lesioni presentavano una perdita di sostanza da 0.5 cm a 3 cm.

In 6 casi la sede di lesione era a livello della P1 , 5 casi a livello palmare (digitale comune) e 3 casi invece a livello del ramo sensitivo del nervo ulnare. Si trattava in tutti i casi di nervi sensitivi.

Tecnica chirurgica

Nel primo tempo chirurgico, eseguito con laccio emostatico, si procede all'isolamento del nervo. E' fondamentale eseguire una corretta preparazione dei due monconi con l'escissione di tutto il tessuto cicatriziale.

Preparati i due monconi, il laccio viene rimosso, permettendo così un'accurata emostasi. Questo evita il riempimento del neurotube con sangue fresco, una volta ancorato al moncone prossimale. La presenza di un coagulo all'interno del tubulo crea una barriera alla rigenerazione nervosa e pertanto deve essere evitato (Mackinnon e Dellon 1990).

Misurata la perdita di sostanza, il neurotube viene tagliato 1 cm in più rispetto al gap per inserire 0.5 cm di moncone distale e prossimale del nervo all'interno del tubulo.

La sutura viene eseguita con filo di Nylon 8-0 : il filo viene fatto passare dal neurotube, dall'esterno all'interno, all'epinevrio del moncone prossimale e ripassato nel neurotube, dall'interno verso l'esterno. Un secondo filo viene utilizzato all'estremità opposta con la stessa tecnica precedente. Eseguita la doppia armatura , si procede poi al serraggio dei punti, favorendo lo scivolamento del moncone all'interno del tubulo con delle pinze.

Si termina con l'ancoraggio del moncone distale, utilizzando la stessa tecnica.

Nel post-operatorio tutti i pazienti hanno mantenuto un'immobilizzazione con splint per 3 settimane.

Alla rimozione dello splint i pazienti sono stati indirizzati al centro FKT per un programma di controllo-rieducazione della sensibilità.

Risultati

I nostri pazienti sono stati valutati (tab.1) con la scala di Highet modificata Mackinnon-Dellon (1988).

Tabella 1. Classificazione del recupero sensitivo

<i>Grade</i>	<i>Recovery of Sensibility</i>
S0	No recovery of sensibility in the autonomous zone of the nerve
S1	Recovery of deep cutaneous pain sensibility with the autonomous zone of the nerve
S1+	Recovery of superficial pain sensibility
S2	Recovery of superficial pain and some touch sensibility
S2+	As in S2, but with overresponse
S3	Recovery of pain and touch sensibility with disappearance of overresponse †
S3+	As in S3, but the localization of the stimulus is good and there is imperfect recovery of two-point discrimination †
S4	Complete recovery †

† These classifications were modified to include classic two-point discrimination range as follows: S3 had two-point discrimination (s2pd) greater than 15 mm, S3+ included 7 to 15 mm range, S4 included 2 to 6 mm range

Inoltre sono stati poi classificati, tenendo conto dei parametri di Sakellarides, in tre gruppi: ottimi (S3+ S4) ,buoni (S2+ S3),insufficienti (S0 S1 S1+ S2).

Abbiamo tenuto conto della soddisfazione del paziente in relazione alla scomparsa della sintomatologia algica.

Il follow-up è stato da 1 a 36 mesi. (tab.2)

3 pazienti hanno presentato un ottimo recupero, 6 di loro dei buoni risultati.

Degli altri 5 , valutati insufficienti, è necessario evidenziare i fattori responsabili a nostro avviso del non recupero o del non ancora completo recupero. In 2 di questi pazienti la lesione era conseguente ad un trauma complesso da schiacciamento. L'altro paziente , in cui vi era una doppia lesione a livello di 2 raggi della stessa mano, è soltanto al secondo mese dopo l'intervento e con sede di lesione a livello dei nervi digitali comuni, pertanto con un percorso riparativo più lungo rispetto ad una più distale. Tutti e tre questi pazienti riferiscono, comunque, una buona soddisfazione per la scomparsa della sintomatologia algica.

Infine un paziente è stato trattato soltanto un mese fa in urgenza per cui il tempo di follow-up risulta essere ancora limitato per poter giudicare un corretto recupero.

Non abbiamo avuto nessun caso di intolleranza al neurotube.

Tabella 2

<i>Age</i>	<i>Nerve grafted</i>	<i>Level</i>	<i>Gap (cm)</i>	<i>Interval from injury to grafting (months)</i>	<i>Follow-up (months)</i>	<i>Recovery</i>	<i>Results</i>
23	Digital	F1	1	1	6	S3	G
53	Digital	Hand	4	Primary	16	S3+	VG
49	Digital	Hand	2	Primary	24	S2	P
16	Ulnar	Hand	2	Primary	8	S3	G
9	Ulnar	Hand	2	Primary	16	S3+	VG
37	Digital	Hand	3	3	6	S2	P
66	Ulnar	Hand	1	12	36	S4	VG
42	Digital	F1	2	2	3	S2+	G
40	Digital	F1	2	3	6	S2+	G
23*	Digital	F1	2	4	6	S3	G
23*	Digital	F1	1.5	4	6	S2+	G
45*	Digital	Hand	2	12	2	S1	P
45*	Digital	Hand	1.5	12	2	S1	P
30	Digital	F1	1	Primary	1	S1	P

*stesso paziente

Discussione

Il neurotube è un tubulo intrecciato di acido poliglicolico e presenta delle caratteristiche tecniche e biologiche, tale da renderlo un'ottimale tubo sintetico.

È un tubulo permeabile : favorisce così il passaggio delle sostanze nutritive e di ossigeno, creando i presupposti per un'ottimale produzione di fattori neuromolecolari (neurotrofici e neurotropici) per la rigenerazione nervosa.

È bioassorbibile: il tubo viene completamente riassorbito in sei mesi di tempo per un fenomeno di idrolisi, senza necessità di un secondo intervento per la sua rimozione. Dellon e Mackinnon dimostrano nel 1988 nei loro preparati animali un completo riassorbimento dell'acido poliglicolico ad un anno di distanza con la sostituzione con tessuto simil-nervoso.

Lo strato esterno corrugato e pieghettato ha funzione di sostegno tale da impedire il collassamento del condotto sotto la pressione dei tessuti. Questa caratteristica rende il neurotube utilizzabile in sedi dove l'anatomia dei tessuti è tale da determinare una forte compressione , come a livello digitale.

I risultati ottenuti da noi e da altri autori ci permettono di poter affermare la comparabilità del neurotube alle metodiche di tubulizzazione biologiche ed alla tecnica tradizionale di innesti autologhi. È importante sottolineare come il recupero nervoso sia dipendente dal tipo di trauma (lo schiacciamento ha una prognosi peggiore per l'alta quantità di tessuto cicatriziale secondario, per la lesione dei recettori periferici) e dalla sede della lesione (una lesione distale ha un recupero più rapido rispetto a quella prossimale).

Conclusioni

Il neurotube è un tubulo sintetico di pronta disponibilità, utilizzabile in urgenza ed in elezione.

Presenta delle indicazioni definite: lo si usa in lesioni nervose digitali e palmari dove il gap non supera i 3 cm. I nervi sono sensitivi: al momento non esistono applicazioni su nervi misti .

Presenta anche degli svantaggi : il costo molto elevato e la possibilità di intolleranza.

Nessuno dei nostri casi ha presentato intolleranza al tubulo, ma alcuni casi sono stati riportati in letteratura . Mackinnon nel 1990 riporta il caso di un paziente, a cui era stata eseguita una tenolisi nello stesso tempo chirurgico e quindi sottoposto ad una precoce mobilizzazione del dito nel post-operatorio. Altri 3 casi vengono riportati da Weber et al. (2000) per sofferenza della cute in corrispondenza della sede di posizionamento del tubulo.

Per quanto riguarda la lunghezza del gap abbiamo riportato un caso di perdita di sostanza nervosa del nervo digitale comune di 4 cm con un buon recupero ai 16 mesi. È un caso singolo per cui non sufficiente assolutamente per poter trarre delle conclusioni in proposito. Attualmente diversi autori sono orientati all'analisi di risultati in modelli animali di riparazione di lesione nervosa con tubuli sintetici per lunghezza superiore ai 3 cm. (Matsumoto et al 2000).

Bibliografia

- Battiston B, Tos P, Cushway TR, Geuna S. Nerve repair by means of vein filled with muscle grafts I. Clinical results. *Microsurgery* 2000;20(1):32-6
- Battiston B, Tos P, Geuna S, Giacobini-Robecchi MG, Guglielmone : R. Nerve repair by means of vein filled with muscle grafts. II. Morphological analysis of regeneration. *Microsurgery* 2000;20(1):37-41
- Brunelli et al : Bridging nerve defects with combined skeletal muscle and vein conduits. *Microsurgery* 14: 247-251, 1993.
- Brunelli G.A. , Brunelli G.R. : La fisiopatologia della riparazione e rigenerazione nervosa. *Giot* 27:155-162, 2001.
- Dellon AL: The Moving two-point discrimination test: Clinical evaluation of the quickly-adapting fiber/receptor. *J Hand Surg* 3: 478-81, 1978.
- Lister G (ed): Muscle Testing, in: *The Hand: Diagnosis and Indication*. 3rd Edition. Edinburgh, Churchill Livingstone, 1993, pp. 520-522.
- Lundborg G, Dahlin L, Danielsen N, Qing Zhao: Trophism, tropism and specificity in nerve regeneration. *Journal of Reconstructive Microsurgery* 10: 345-354, 1994.

- Lundborg G, Dahlin LB, Danielsen N, Gelberman RH, Longo FM, Powell HC, Varon S: Nerve regeneration in silicone chambers. Influence of gap length and distal stump contents. *Exp Neurol* 76: 361-375, 1982.
- Lundborg G, Dahlin LB, Danielsen N, Gelberman RH, Longo FM, Powell HC, Varon S: Nerve regeneration in silicone chambers. Influence of gap length and distal stump contents. *Exp Neurol* 76: 361-375, 1982.
- Lundborg G, Dahlin LB, Danielsen NP, Hansson HA, Larsson K: Reorganisation and orientation of regenerating nerve fibers, perineurium and epineurium in preformed mesothelial tubes. An experimental study on the sciatic nerve of rats. *J Neurosci Res* 6: 265-281, 1981.
- Lundborg G, Dahlin LB, Danielsen NP, Hansson HA, Larsson K: Reorganisation and orientation of regenerating nerve fibers, perineurium and epineurium in preformed mesothelial tubes. An experimental study on the sciatic nerve of rats. *J Neurosci Res* 6: 265-281, 1981.
- Lundborg G, Dahlin LB, Danielsen NP: Tubular repair in the median nerve in the human forearm. *J Hand Surg* 19 B : 273-276, 1994.
- Mackinnon S, Dellon AL(eds): Nerve Repair and Nerve Grafting, in: *Surgery of the Peripheral Nerve*. New York, Thieme Medical Publishers, Inc., 1988, p. 118
- Mackinnon S, Dellon AL: A study of nerve regeneration across synthetic (maxon) and biologic (collagen) nerve conduits for nerve gaps up to 5 cm in the primate. *J Reconstr Microsurgery* 6: 117-121, 1990.
- Mackinnon SE, Dellon AL: Clinical nerve reconstruction with a bioabsorbable polyglycolic acid tube. *Plast Reconstr Surg* 85: 419-424, 1990.
- Matsumoto K et al. : Use of a newly developed artificial nerve conduit to assist peripheral nerve regeneration across a long gap in dogs. *ASAIO Journal* 2000; 46: 415-420
- *Microsurgery* 10: 71-74. 1989.
- Millesi H: Interfascicular nerve grafting. *Orthopaedic Clinic of North America* 2: 419, 1970.
- Millesi H: Interfascicular nerve grafting. *Orthopaedic Clinic of North America* 2: 419, 1970.
- Sakellarides H: A follow-up study of 173 peripheral nerve injuries of the upper extremity of civilians. *J Bone Joint Surg* 44A: 140-148, 1962.
- Seckel BR, Chiu TH, Nyilas E, Sidman RL : Nerve regeneration through synthetic biodegradable nerve guides: regulation by the target organ. *Plast Reconstr Surg* 74 :173-181,1984.
- Suematsu N: Tubulation for peripheral nerve gap: its history and possibility.
- Tos P, Battiston B, Geuna S, Giacobini-Robecchi MG, Hill MA, Lanzetta M, Owen ER. Tissue specificity in rat peripheral nerve regeneration through combined skeletal muscle and vein conduit grafts. *Microsurgery* 2000;20(2):65-71
- Weber R.A., Breidenbach W.C. , Brown RE, Jabaley ME, Mass DP : A randomized prospective study of polyglycolic acid conduits for digital nerve reconstruction in humans. *Plast Reconstr Surg* 106: 1036-1045,2000.

TUBULIZZAZIONE MEDIANTE SOSTITUTO DI DURA MADRE BOVINA: RISULTATI CLINICI

TUBULIZATION WITH BOVINE DURA MOTHER: CLINICAL RESULTS

R. GAROFALO - M. GUERRA - R. GARCEA

Divisione di Chirurgia Plastica, Aurelia Hospital, Roma

La rigenerazione nervosa dopo eventi traumatici è un fenomeno ancora poco compreso, ed i risultati sono spesso poco prevedibili e non sempre soddisfacenti.

Le tecniche utilizzate per trattare i gap nervosi sono numerose, a testimonianza della loro non sempre completa efficacia, ed includono gli innesti nervosi, le anastomosi end-to-side previa rimozione dell'epinevrio sec. Viterbo, e l'uso di condotti in materiale biologico o sintetico per guidare la rigenerazione stessa.

Gli Autori riportano la loro esperienza con l'uso di condotti in sostituto di dura madre bovina -con e senza l'ausilio di innesti nervosi- per traumi dei nervi digitali e per grossi traumi dei nn. mediano ed ulnare.

I risultati preliminari dimostrano una maggiore velocità di recupero della sensibilità, nonostante a lungo termine essi siano sovrapponibili a quelli dei soli innesti.

LE SUTURE NERVOSE TERMINO-LATERALI

LE SUTURE NERVOSE TERMINO-LATERALI: LA RICERCA SPERIMENTALE

END-TO-SIDE NEURORRAPHY: EXPERIMENTAL RESEARCH

I. PAPALIA , F. STAGNO d'ALCONTRES * , S. COPPOLINO

Dipartimento di Discipline Chirurgiche Generali e Speciali, Università degli Studi di Messina

** Dir. Divisione di Chirurgia Plastica – Dipartimento delle Specialità Chirurgiche, Università degli Studi di Messina*

Nella chirurgia ricostruttiva dei nervi periferici la sutura termino-terminale rappresenta la tecnica chirurgica di base per ricostituire la continuità anatomica del nervo sezionato. In alcuni casi non è possibile riunire i due monconi, prossimale e distale, dello stesso nervo ed è necessario ricorrere a delle procedure cosiddette di neurotizzazione extra-anatomica, utilizzando degli innesti di nervo o realizzando delle neurorrafie, dopo aver sacrificato nervi sani adiacenti, causando dei deficit motori e/o sensitivi più o meno importanti.

Trovare quindi una fonte di assoni in grado di ricostituire una connessione funzionale senza sacrificare altri nervi è l'obiettivo di ogni chirurgo ricostruttivo.

La sutura termino-laterali rappresenta una delle tecniche chirurgiche in grado di fornire una soluzione a questa necessità.

Il termine di sutura termino-laterale (end-to-side neurorrhaphy, ETSN, della letteratura anglofona) riguarda quelle tecniche di sutura nervosa in grado di avviare e dirigere una rigenerazione di assoni prevalentemente collaterali, provenienti da un nervo donante sano, verso un nervo ricevente.

Le potenzialità di questa tecnica erano già note nella seconda metà del secolo XIX ed essa continuò ad essere studiata ed applicata durante i primi anni del '900 fino agli anni trenta. Successivamente fu completamente abbandonata e cadde nell'oblio anche per per l' affermarsi delle suture termino-laterali che, grazie anche ai notevoli progressi dei mezzi ottici d'ingrandimento e della qualità dello strumentario chirurgico, fornivano dei risultati spesso soddisfacenti.

Anche se il concetto di base della tecnica era stato già ripreso da Petropoulos nel 1961 per il trattamento dei neuromi, fu all'inizio degli anni 90 che la sutura termino-laterale tornò d'attualità, grazie ai risultati sperimentali e clinici pubblicati da Viterbo nel 1992 e successivi.

In seguito si è assistito ad un certo scetticismo nei confronti della reale possibilità che degli assoni o dei loro rami collaterali, potessero abbandonare il proprio nervo d'origine per dirigersi verso un altro.

Bertelli per esempio, nel 1996, presentò una ricerca sperimentale nella quale negava la possibilità di uno sprouting laterale di assoni in assenza di una lesione nervosa. Nel frattempo, altri autori, fra

cui per esempio Lundborg nel 1994, Ross 1995, confermarono i risultati di Viterbo, e fu Noah nel 1997 che, oltre a descrivere delle importanti rigenerazioni sperimentali, sottolineò il concetto di "lesione nervosa" come punto di partenza di uno sprouting termino-laterale.

Dal '97 ad oggi la letteratura scientifica internazionale conta un numero notevole di articoli sulle suture termino-laterali, circa un'ottantina. Grazie a questa produzione si sono potuti chiarire e documentare alcuni concetti di base delle suture termino-laterali, sui quali oggi vi è un accordo generale (effettivo sprouting collaterale degli assoni, migliori risultati con l'apertura dell'epinevrrio, importanza della scelta del nervo donante che deve essere quanto più simile al ricevente per tipo di fibre e di funzioni, ecc.).

Rimangono ancora molti elementi da chiarire, soprattutto per quello che riguarda il ruolo dei fattori umorali implicati (neurotrofine, fattori neurotropici, molecole delle matrici extracellulari, interleuchine, fattori insulino-simili, metalloproteasi, ecc.); tuttavia si può affermare che, pur rimanendo la sutura diretta termino-laterale la tecnica di prima scelta nel trattamento delle lesioni nervose, è ragionevole ipotizzare un allargamento delle indicazioni chirurgiche della end-to-side neurorrhaphy, anche giustificato dalla sua ridotta invasività chirurgica.

Bibliografia

1. Balance C.A., Balance H.A., Stewart P.: Remarks on the operative treatment of chronic facial palsy of peripheral origin. *The British Medical Journal*, 1:1009-1013, 1903
2. Gatta R.: Sulla anastomosi latero-terminale dei tronchi nervosi. *Arch Ital Chir*, 48: 155, 1938.
3. Tomatsuri M., Okajima S., Ide C.: Sprout formation at nodes of Ranvier of crush-injured peripheral nerves. *Restorative Neurology and Neuroscienze*, 5: 275-282, 1993.
4. Muir D: Metalloproteinase-dependent neurite outgrowth within a syntetic extracellular matrix is induced by nerve growth factor. *Experimental Cell Research*, 210:243-252, 1994.
5. Viterbo F., Trinidad J.C., Katsumasa H., Mazzoni A.: End-to-side neurorrhaphy with removal of the epineural sheath: an experimental study in rats. *Plastic and Reconstructive Surgery* 94/7: 1038-47, 1994.
6. Lundborg G., Zhao Q., Kanje M., Danielsen N.: Can sensory and motor collateral sprouting be induced from intact peripheral nerve by end-to-side anastomosis? *J Hand Surg* 1994; 19/3:277-282.
1. Bertelli J.A., Soares dos Santos A.R., Calixto J.B.: Is axonal sprouting able to traverse the conjunctival layers of the peripheral nerve? A behavioral, motor and sensory study of end-to-side nerve anastomosis. *Journal of Reconstructive Microsurgery*, 12/8: 559-563, 1996.
7. Noah E.M., Williams A., Jorgenson C., Skoulis T.G., Terzis J.K.: End-to-side neurorrhaphy: A histologic and morphometric study of axonal sprouting into an end-to-side nerve graft. *Journal of Reconstructive Microsurgery*, 13/2: 99-106, 1997.
8. Fortes WM, Noah EM, Liuzzi FJ and Terzis JK: End-to-side neurorrhaphy: evaluation of axonal response and upregulation of IGF-I and IGF-II in a non-injury model. *J Reconstr Microsurg* 1999; 15:449-457.
9. Kalliainen LK, Cederna PS and Kuzon WM: Mechanical function of muscle reinnervated by end-to-side neurorrhaphy. *Plast Reconstr Surg* 1999; 103:1919-27.
10. Giovanoli P, Koller R, Meuli-Simmen C, Rab M, et al.: Functional and morphometric evaluation of end-to-side neurorrhaphy for muscle reinnervation. *Plast Reconstr Surg* 2000; 106:383-392.
11. Lutz BS, Chuang DC, Ma SF, Wei FC: Selection of donor nerves – an important factor in end-to-side neurorrhaphy. *Br J Plast Surg* 2000; 53:149-154.
12. Papalia I, Lacroix C, Brunelli F, Stagno d'Alcontres F: Direct muscle neurotization after end-to-side-neurorrhaphy. *J Reconstr Microsurg* 2001; 17/4:237-246.
13. Al-Qattan MM: Terminolateral neurorrhaphy: review of experimental and clinical studies. *J Reconstr Microsurg* 2001; 17/2:99-108.

RIPARAZIONE DELLE LESIONI DEL MIDOLLO SPINALE

CONNESSIONE SNC-SNP

SPINAL CORD LESION and REPAIR CNS-PNS CONNECTION

Giorgio BRUNELLI

Fondazione Ricerca Lesioni Midollo Spinale

E' universalmente riconosciuto che le lesioni del midollo spinale non guariscono perchè il sistema nervoso centrale (CNS) di cui il midollo è una parte non permette la progressione degli assoni provenienti dal 1° motoneurone.

Le ragioni di questa "non permissività" sono oscure, forse si tratta della mancanza, nel SNC, delle cellule di Schwann o di molecole guida particolari oppure della presenza di sostanze inibitrici (Caroni e Schwab) o di altre cause per ora non ipotizzabili.

Ricerche della fine degli anni 70 mettendo nel SNC innesti di nervi (sistema nervoso periferico: SNP) dimostrarono che gli assoni rigeneranti dal cervello entrano nell'innesto e lo percorrono ma che si arrestano non appena in contatto di nuovo col SNC (Richardson, Bignami, Aguayo, Brunelli).

All'Istituto Carolinska si sono ottenute connessioni degli assoni ricrescenti con i "secondi" motoneuroni, delle corna grigie anteriori, usando innesti di SNP ma questi contatti (sostanza bianca con grigia) sono limitati ad un solo metamero.

Per superare questa "non permissività" nel 1981 io ebbi l'idea di trascurare il moncone distale del midollo leso e di connettere il moncone prossimale (nel quale stanno gli assoni che rigenerano) direttamente a nervi periferici che sono permissivi per il progredire degli assoni.

Questa idea è confortata dal fatto che a causa della "non permissività" del midollo, le iniezioni di cellule di Schwann (Paino) come pure l'introduzione di neuroni embrionali (Bjorklung) o di stem-cells spostano solo il problema perché, come i nuovi assoni provenienti da queste cellule entrano nel midollo sublesionale si ritrovano anch'essi in un mezzo non permissivo.

L'operazione consiste nel connettere le fibre motrici discendenti dal 1° motoneurone che corrono nel fascio corticospinale, direttamente con alcuni nervi motori di muscoli selezionati, per mezzo di innesti di nervi periferici.

Le ricerche fatte negli animali (ratti e poi primati non umani) dimostrarono che i motoneuroni del CNS sono capaci non solo di rigenerare i loro assoni ma anche di prolungarsi dentro i nervi periferici ricostruendo tutto il citoscheletro del 2° motoneurone fino a raggiungere i muscoli ed a formare nuove placche motrici e a funzionare.

Questa fu la prima dimostrazione che il 1° motoneurone può innervare direttamente i muscoli senza l'intermezzo del 2° motoneurone.

Come conseguenza di queste operazioni i muscoli erano completamente disconnessi dal SNC e poi riconnessi ad esso solo attraverso l'innesto.

Negli animali con risultato positivo l'esame clinico mostrava ripresa della funzione e trofismo muscolare (in grado variabile ma in alcuni casi eccellente). I primati erano in grado di camminare e di afferrare le sbarre della gabbia.

Nei casi migliori il peso dei muscoli denervati e connessi al midollo era molto simile a quello dei muscoli dell'arto controlaterale.

L'EMG dava risposte quasi normali alla stimolazione elettrica non solo dell'innesto ma anche del midollo sovrastante la lesione con tempi di latenza diversi a seconda della distanza della stimolazione del midollo. L'esame istologico, negli animali con risultato positivo, mostrava una

buona reinnervazione dell'innesto e del ramo motore ricevente, un buon trofismo muscolare e la neo formazione di placche motrici.

L'esame morfometrico mostrava una buona densità di assoni, con un'area di sezione di buona taglia e con buona mielinizzazione.

Dopo aver ottenuto il consenso del Comitato Etico del SSN, un primo essere umano (una giovane donna che aveva subito una lesione totale (a ghiagliottina) del midollo a livello T8) è stata operata nel luglio 2000.

Le prime risposte muscolari erano previste dopo 20-22 mesi (calcolando la distanza tra innesto nel midollo e muscoli). Invece già dopo 13 mesi, ben in anticipo sulle nostre aspettative sono stati accertati movimenti volontari e contrazione selettiva dei muscoli reinnervati.

Il risultato è stupefacente.

Fino ad oggi non possiamo capire né spiegare come la paziente è capace di muovere volontariamente.

Infatti:

- 1) Nel fascio corticospinale vi sono migliaia di assoni motori con destino diverso (muscoli dell'anca, della coscia, della gamba e del piede).
- 2) La connessione dell'innesto al midollo è "random" e non può essere selettiva.
- 3) Gli assoni che entrano nell'innesto e che vanno ai muscoli vengono da aree della corteccia che non possono essere scelte.
- 4) Ogni muscolo reinnervato riceve assoni il cui destino non era quello del muscolo stesso.
- 5) La plasticità del cervello è illimitata ma la selezione dei movimenti volontari deve implicare la propriocezione.

ADVANCES IN SURFACE EMG SIGNAL DETECTION AND PROCESSING

ELETTROMIOGRAFIA DI SUPERFICIE (sEMG) CON SCHIERA DI ELETTRODI

Andrea BOTTIN

Politecnico di Torino, presso il laboratorio LISiN di Bioingegneria Tel. e-mail bottin@athena.polito.it

INTRODUCTION

Traditional non invasive EMG recording and processing techniques (for a recent review see [9]) allow to estimate muscle fiber conduction velocity (CV) and rate of fatigue but the separation of the contributions of the single MUs is difficult. Usually, global variables are computed and they provide poor indications about central control [10]. In many application fields (such as clinical neurophysiology, sport medicine, geriatric, space and rehabilitation medicine), it would be important to gain joint information about central mechanisms and muscle peripheral properties and this is not possible with currently available EMG techniques.

It is the purpose of this work to review recent advances in multi-channel surface EMG techniques which allow the analysis at the single MU level.

MULTI-CHANNEL SURFACE EMG

Linear electrode arrays for signal detection

Linear electrode arrays sample the surface EMG signal along the muscle fibers and allow to assess MU anatomical properties, such as the position of the innervation zone, the length of the fibers and the position of the tendon regions [16][18]. Single MU action potentials (MUAPs) can be extracted manually from the interference EMG signal and classified as belonging to different MUs [3][18]. It has been shown that clear MUAP patterns can be identified and extracted from the surface EMG signal detected from muscles with complex anatomy [1][8].

Automatic detection of single MUAPs by advanced processing techniques

Single MUAPs can be identified in the interference signal either manually [3][18] or automatically [14]. A method based on Continuous Wavelet Transform has been proposed in order to automatically identify single MUAPs in a multi-channel detected surface EMG signal [7]. The method is based on a bank of filters matched to the MUAP shape and at different scales. A classification method based on neural networks has been proposed [14] and used to investigate CNS recruitment strategies during low level force contractions [15].

Multi-channel low variance CV estimation

Muscle fiber CV is an important physiological parameter which reflects fiber properties and fatigability. Muscle fiber CV can be estimated by two surface EMG signals detected at a fixed distance [9]. Advanced methods for CV estimation were proposed and used for single motor unit fatigue analysis [11].

Automatic classification of single MUAPs by neural networks

The availability of many detected channels enhances classification of MUAPs as belonging to different MUs. Neural networks can be used for automatic classification of MUAPs as belonging to different MUs [14][15].

Spatial filtering to enhance detection selectivity

The separation of the contributions of different MUs can be improved by filtering the interference EMG signal in order to selectively attenuate the contribution of far sources. Spatial filtering techniques are based on the detection of the EMG signal as the weighted summation of the signals detected by different electrodes. Matrixes of 5-9 electrodes have been proposed in the past [2]. Following similar ideas, we have recently proposed systems comprised of concentric ring

electrodes [5]. The theoretical model we proposed for these systems [4] predicts higher selectivity with respect to all the past recordings and the experimental validation showed the possibility of non-invasively detecting single MU firings.

CONCLUSIONS

In this work we have briefly reported results which are very promising for the non-invasive muscle assessment in isometric conditions. It has been shown that multi-channel EMG detection allows reliable estimation of single MU CV as well as classification of MUAPs as belonging to different MUs. The application of these techniques concerns detailed analysis of muscle function at the single motor unit level. Greater details may be found in the reported references.

REFERENCES

1. Bergamo R, Gazzoni M, Farina D, Lantermo A, Merletti R, Sanfilippo C, Titolo M (1999) Multichannel surface EMG of muscles of the hand and forearm. Proc. 1st PROCID Symposium on Muscular Disorders in Computer Users, Copenhagen, Denmark, 198-202
2. Disselhorst-Klug C, Silny J, Rau G (1997) Improvement of spatial resolution in surface-EMG: a theoretical and experimental comparison of different spatial filters. IEEE Trans. Biomed. Eng. 44:567-574
3. Farina D, Merletti R, Dimanico U (1998) Non-invasive identification of motor units with linear electrode arrays. Proc. XII ISEK Congress, Montreal, 50-51
4. Farina D., Merletti R (2001) A novel approach for precise simulation of the EMG signal detected by surface electrodes, IEEE Trans. Biomed. Eng., 48:637-646
5. Farina D, Cescon C (2001) Concentric ring electrodes for non-invasive detection of single motor unit activity. IEEE Trans. Biomed. Eng., 48:1326-1334
6. Farina D, Gazzoni M, Merletti R (2001) Surface EMG techniques for the analysis of single motor unit properties. Proc. 2nd PROCID Symposium, Goteborg, Sweden, 38-42
7. Farina D, Fortunato E, Merletti R (2000) Non invasive estimation of motor unit conduction velocity distribution using linear electrode arrays. IEEE Trans. Biomed. Eng. 47:380-388
8. Farina D, Merletti R, Nazzaro M, Caruso I (2001) Influence of joint angle on surface EMG variables in the muscles of the leg and the thigh, *IEEE Eng. Med. Biol. Mag.*, in press
9. Farina D, Merletti R (2000) Comparison of algorithms for estimation of EMG variables during voluntary isometric contractions. Journ. Electromyogr. Kinesiol. 10:337-350
10. Farina D, Fosci M, Merletti R (2001) Motor unit recruitment strategies investigated by surface EMG variables. An experimental and model based feasibility study, *Journ. Appl. Physiol.*, in press
11. Farina D, Muhammad W, Fortunato E, Meste O, Merletti R, Rix H (2001) Estimation of single motor unit conduction velocity from the surface EMG signal detected with linear electrode arrays. Med. Biol. Eng. Comput., 39:225-236
12. Farina D, Cescon C, Merletti R (2001) Influence of anatomical, physical and detection system parameters on surface EMG. Biol. Cybern., in press
13. Farina D, Arendt-Nielsen L, Merletti R, Graven-Nielsen T (2001) Assessment of single motor unit conduction velocity during sustained contractions of the tibialis anterior muscle with advanced spike triggered averaging. *Journ. Neurosci. Meth.*, in press
14. Gazzoni M, Farina D, Rainoldi A, Merletti R (2000) Surface EMG signal decomposition. Proc. XIII ISEK Congress, Sapporo, 403-404
15. Gazzoni M, Farina D, Merletti R (2001) Motor unit recruitment strategies during low level prolonged contractions investigated by surface EMG. Acta Physiol. Pharmacol. Bulg., 26:67-71
16. Masuda T, Miyano H, Sadoyama T (1985) The position of innervation zones in the biceps brachii investigated by surface electromyography', IEEE Trans. Biomed. Eng. 32:36-42
17. Bouisset S, Maton B (1972) The quantitative relation between surface and intramuscular electromyographic activities for voluntary movement. Amer. Journ. Physiol. Med., 51:285-295
18. Merletti R, Farina D, Granata A (1999) Non invasive assessment of motor unit properties with linear electrode arrays. Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol. 50:293-300
19. Merletti R, Farina D, Gazzoni M, Schieronni MP (2001) Effect of age on muscle functions investigated with surface electromyography, *Muscle Nerve*, in press
20. Merletti R, Rainoldi A, Farina D (2001) Surface EMG for non-invasive characterization of muscles, *Exerc. Sports Science Rev.*, 29:20-25



SOCIETÀ ITALIANA DI MICROCHIRURGIA

XIX CONGRESSO NAZIONALE S.I.M.

Roma, 14-15 dicembre 2001

Sito ufficiale della Società : www.microchirurgia.org

*Sede Legale : StudioProgress -Via C. Cattaneo, 51 - 25121 Brescia - Italia
tel. 030290326 - fax & Ø 03040164 - e.mail: info@studioprogress.it*

*Sede Organizzativa e Ufficio di Presidenza :
c/o Alfa - Viale delle Milizie 34 - . 00192 - Roma - Italia - tel 063701121 - fax 063729067
e.mail : info@alfaservice.com - e.mail : andrea.ortensi@uniroma.it*