

Università degli Studi di Pisa  
Istituto di Neurochirurgia  
Direttore: Prof. G. Tusini

---

**RIGENERAZIONE DEL NERVO SCIATICO DI RATTO  
IN TUBO DI ELASTOMERO**

---

G. Parenti, F. Marconi, V. Giorgetti, L. Lutzmberger, R. Vannozzi,  
\* P. Giusti, \*\* G. Soldani

Estratto dalla Rivista  
RICERCA NEUROCHIRURGICA  
Vol. III, N. 1 - Marzo 1989

---

## RIGENERAZIONE DEL NERVO SCIATICO DI RATTO IN TUBO DI ELASTOMERO

---

G. Parenti, F. Marconi, V. Giorgetti, L. Lutzmberger, R. Vannozzi,  
\* P. Giusti, \*\* G. Soldani

*Gli Autori riportano i risultati preliminari sull'influenza di un tubo-guida di elastomero sulla rigenerazione nervosa del nervo sciatico di ratto. L'elastomero risulta un materiale biocompatibile, riassorbibile e garantisce al tubo una parete porosa che permette una buona colonizzazione vascolare. Questo tubo-guida presenta inoltre buone caratteristiche di flessibilità e morbidezza di parete che permettono un più facile impianto. La rigenerazione del nervo sciatico è valutata con esame istologico della sede di pontaggio e con esami elettrofisiologici (EMG, VdC).*

*Parole chiave: Rigenerazione nervosa - Tubulizzazione difetti nervosi periferici - Elastomero.*

### Introduzione

In un nervo dopo trauma da schiacciamento si ha degenerazione del segmento distale, mentre quello prossimale rigenera lungo il tragitto del nervo vuoto fino a reinnervare il muscolo con recupero funzionale. La capacità di rigenerazione appare più evidente quando la continuità di un nervo è interrotta con perdita di un suo tratto.<sup>17</sup> Questo dimostra che la rigenerazione di un nervo

---

\* Dipartimento di Ingegneria Chimica, Università di Pisa.

\*\* Centro Studi Polimeri, C.N.R., Pisa.

periferico non è garantita solo da una continuità meccanica che è possibile eseguire con tecniche microchirurgiche, ma nel processo sono implicati anche fattori neurotrofici.<sup>3, 8, 12</sup> Sembra che questi fattori neurotrofici di solito siano trasportati dalle cellule di Schwann e dai vasi del connettivo interfascicolare, e l'uso di un tubo a ponte fra i due monconi offrirebbe la possibilità di una loro applicazione locale.<sup>11</sup>

Nella pratica clinica si è oramai affermato il principio di cercare di riparare questo tipo di lesione nervosa suturando tra i due monconi un graft prelevato da un altro nervo, di solito il surale,<sup>16, 18, 21</sup> ma si è osservato sin dal secolo scorso ad oggi che la rigenerazione nervosa può verificarsi lungo un supporto-guida, di solito a forma di tubo, che ponti il difetto nervoso.<sup>15, 23, 24</sup>

Sono stati sperimentati tubi di diverso materiale inerte o biologico, anche riassorbibili,<sup>1, 2, 5, 6, 7, 9, 13, 14, 19, 20</sup> per « pontare » un difetto di nervo, ma non è stato ancora selezionato un materiale ideale.

Pertanto abbiamo sperimentato un tubo di un nuovo materiale sintetico in un nervo sciatico di ratto per valutarne l'influenza sulla rigenerazione nervosa controllata con studio istologico ed elettrofisiologico.

## Materiali e metodi

*Materiale.* Il materiale è un prodotto di sintesi denominato « elastomero », composto da una miscela di poliuretano e polimetilsilossano con fibrinogeno, che permette di realizzare tubi con diametro interno di 2 mm e con parete di 100-150 micron. La parete ultrasottile presenta alla microscopia elettronica a scansione una trama spugnosa con micropori comunicanti. Risultano tubi flessibili, morbidi, lievemente elastici, con ottima biocompatibilità dimostrata da precedenti esperienze. Si impiegano tubi della lunghezza di 12-14 mm.

*Animali.* Sono utilizzati 14 ratti maschi e femmina razza Wistar del peso medio di 300-400 gr. Sono operati tutti monolateralmente in modo da poter paragonare con tecniche elettrofisiologiche la funzionalità muscolare e nervosa del lato operato con quello non operato. Sono sacrificati due a 30 e due a 60 giorni dall'intervento, cinque a 120 giorni e cinque a 210 giorni.

*Chirurgia.* Gli animali sono anestetizzati con ketamina e diazepam intraperitoneale dopo induzione con etere sotto campana di vetro. Il nervo sciatico è isolato fra i muscoli grande gluteo e bicipite femorale e poi sezionato. I due monconi sono collegati con interposizione di un tubo di elastomero, assicurandosi un interspazio di 8-10 mm; per evitare traumatismi ai due monconi

nervosi nell'intubazione, il tubo è inciso alle due estremità e successivamente suturato con fili di nylon 10/0. L'intervento è svolto nella migliore asepsi, ma prima di suturare a strati si cosparge del Rifocin. L'arto corrispondente all'intervento non è immobilizzato.

*Esame elettrofisiologico.* Gli aspetti funzionali della reinnervazione sono indagati mediante registrazione elettromiografica (EMCG) dell'attività spontanea nei muscoli gastrocnemio (GS) e tibiale anteriore (TA) (5-10 penetrazioni per muscolo), nonché attraverso la misurazione di ampiezza e latenza dei potenziali di unità motoria (PUM) evocati negli stessi muscoli dalla stimolazione elettrica massimale del nervo sciatico a monte e a valle del « ponteggio ».

La stimolazione del nervo a monte e a valle del « ponteggio », associata a registrazione EMG nel muscolo TA e/o GS ha consentito la misurazione della velocità di conduzione (VdC) motoria massimale nel tratto di accrescimento del nervo all'interno del tubo di elastomero.

*Esame istologico.* Gli animali con espianto di tratto di nervo sciatico « pontato » con monconi del nervo prossimale e distale. Il materiale è incluso in paraffina e sezionato trasversalmente al microtomo congelatore. Le sezioni successivamente sono colorate con ematossilina-eosina o metodo di Weigert.

## Risultati

Nei ratti sacrificati a 30 e 60 giorni il tubo di elastomero è conservato e presenta un'esuberante colonizzazione vasale dai tessuti circostanti (Fig. 1). Nel tratto di nervo sciatico rigenerato esaminato a 60 giorni sono già presenti abbondanti fibre nervose amieliniche e mieliniche con prevalenza delle prime,

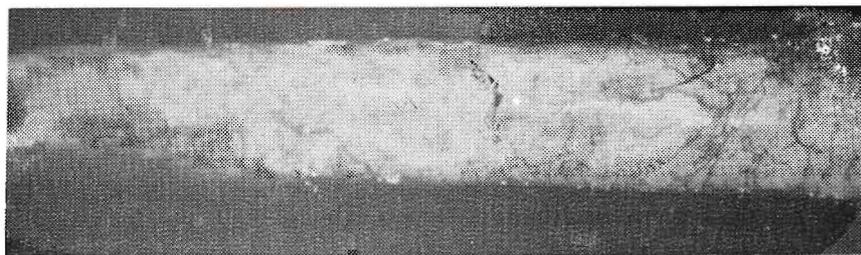


Fig. 1 — Tubo di elastomero con esuberante colonizzazione vasale

con disposizione a gruppi (Fig. 2). Nei ratti sacrificati successivamente il tubo di elastomero è completamente riassorbito, ma il tratto di nervo sciatico rigenerato è ben isolato dai tessuti circostanti. Le fibre nervose sono in prevalenza mieliniche ed hanno assunto una disposizione più uniforme (Fig. 3).

La registrazione EMG effettuata in 10 ratti rispettivamente a 120 e a 210 giorni dall'intervento nei muscoli GS e TA non ha evidenziato la presenza di potenziali di fibrillazione. Negli stessi muscoli i PUM registrati in seguito a stimolazione distale del nervo sciatico, mostrano caratteristiche di latenza, ampiezza e durata comparabili a quelle misurate nei muscoli controlaterali di controllo dopo stimolazione del nervo sciatico in sede omologa (Fig. 4).

La VdC motoria nel tratto rigenerato del nervo sciatico è risultata  $31.6 \pm 2.8$  m/sec, controlateralmente nello sciatico indenne  $40.5 \pm 6.7$  m/sec; il numero ridotto dei casi, nonché l'alta variabilità dei valori di VdC conseguente agli errori di valutazione delle esigue differenze di latenza dei PUM registrati, rende improponibile una comparazione statistica.

## Discussione

L'innesto interfascicolare autologo di nervo rappresenta al momento il metodo più usato per riparare le lesioni dei nervi periferici, dopo la conferma da parte di Millesi e coll. del concetto di « no-tension-suture » quale presupposto indispensabile per una buona ripresa funzionale.<sup>18</sup>

Tuttavia non dobbiamo ignorare gli inconvenienti di questo metodo: il sacrificio di nervi sensitivi come il surale, la quantità degli innesti da raccogliere, la differenza di diametro del nervo donatore e del nervo da ricostituire, l'eccessiva manipolazione richiesta per l'isolamento dei fascicoli, la reazione biologica dei doppi punti di sutura. Inoltre non sempre è possibile ottenere un adattamento perfetto tra i singoli fascicoli con conseguente rigenerazione extrafascicolare con ovvia compromissione dei risultati da un punto di vista funzionale. Dobbiamo tener presente, poi, che intorno al graft si forma un tessuto cicatriziale che può determinare compressione o stiramento con torsione del graft stesso.

Tutti questi inconvenienti hanno suggerito a numerosi ricercatori l'impiego di tubi-guida dei più svariati materiali per « pontare » difetti nervosi, ottenendo sperimentalmente buoni risultati nel recupero funzionale, ma non sempre stabili.<sup>1 2 5 6 7 9 13 14 19 20</sup> I criteri di questa tecnica sostengono che la ricrescita dal moncone nervoso prossimale tramite la « tubulizzazione », comporta un'esuberanza di tessuto cicatriziale che non può garantire una sicura ripresa funzionale



Fig. 2 — Nervo sciatico rigenerato a 60 giorni

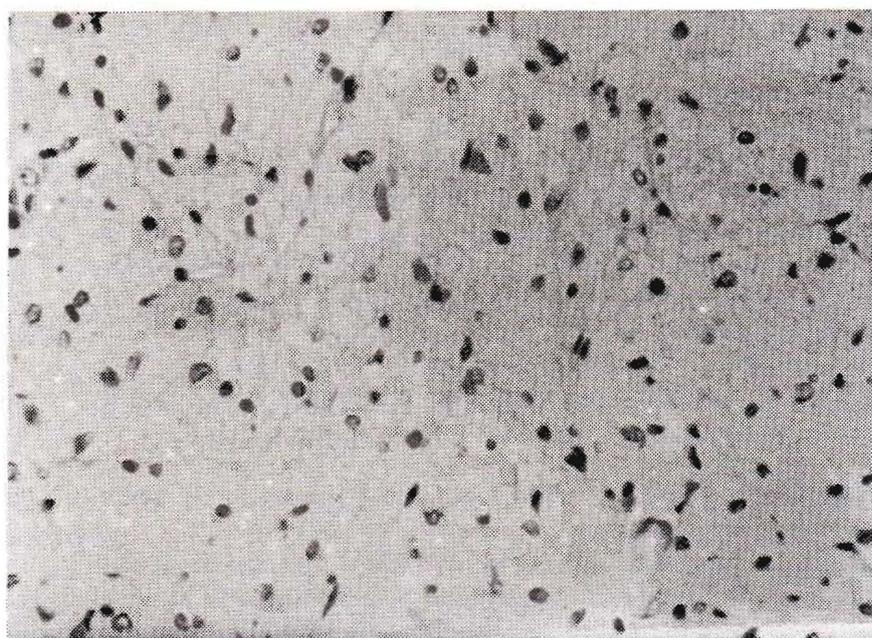


Fig. 3 — Nervo sciatico rigenerato a 120 giorni

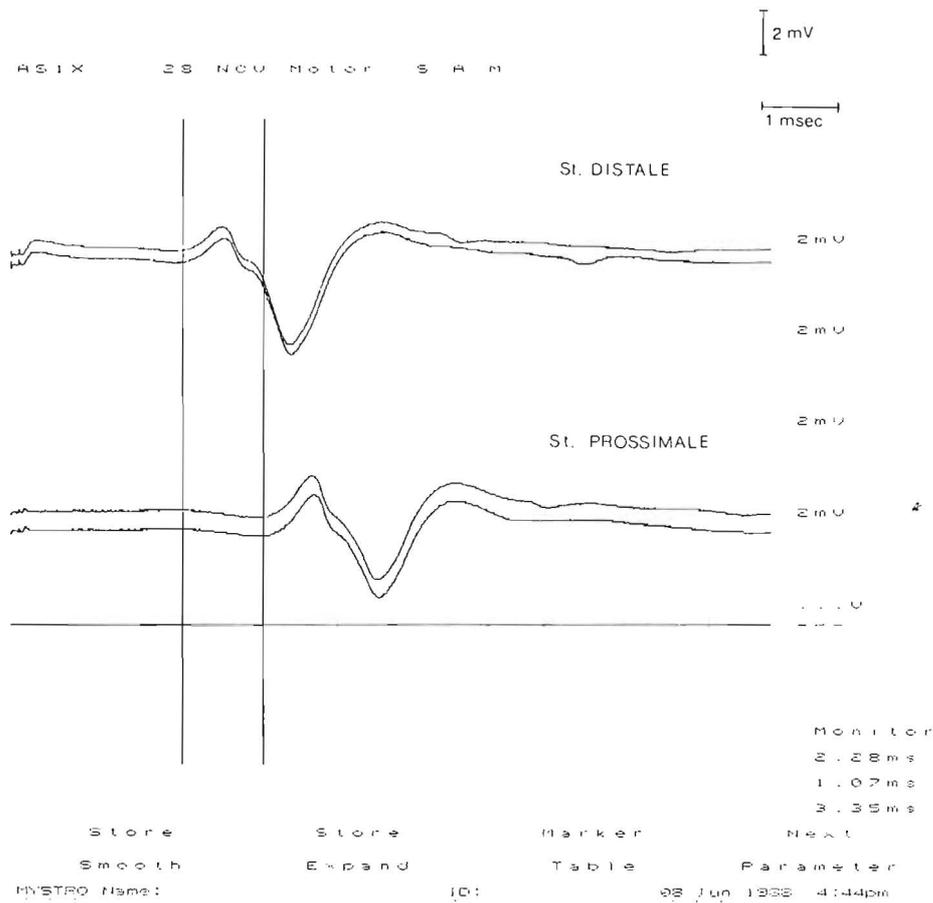


Fig. 4 — Esempio di PUM registrato dal muscolo Tibiale Anteriore per stimolazione a valle e a monte della protesi, a 210 giorni dall'intervento

e considerano la parete del tubo un ostacolo al passaggio dei fattori neurotrofici dai tessuti circostanti.

L'uso dei tubi nella riparazione dei difetti dei tronchi nervosi ha avuto però un ulteriore sviluppo. Si è pensato di poter utilizzare la metodica dell'autograft e del ponteggio associate,<sup>10,11</sup> ritenendo la « tubulizzazione » capace di isolare l'autograft dai tessuti circostanti e di contenere fattori neurotrofici locali.

Dobbiamo ricordare però che il graft nervoso è un tessuto devitalizzato e i tessuti circostanti partecipano alla sua rivascolarizzazione.<sup>4</sup>

Il tubo ideale dovrebbe essere di materiale inerte, biocompatibile, biodegradabile, con pareti flessibili, sottili ed infine porose per la colonizzazione vascolare.<sup>11</sup>

L'elastomero di cui è costituito il tubo da noi sperimentato ha dimostrato di essere un materiale con caratteristiche simili a quelle ideali. Se altri materiali come la lamina basale muscolare hanno presentato ottime qualità per essere usate nel « pontaggio » di lesioni di nervi periferici, hanno l'inconveniente di non essere prontamente disponibili.<sup>6</sup>

Il tubo di elastomero si è dimostrato per la sua flessibilità e per la parete ultrasottile ben maneggevole. Il dato importante è che grazie alla sua porosità, all'osservazione a 30 giorni era abbondantemente colonizzato da vasi neoformati permettendo così un buon isolamento dai tessuti circostanti, ma al contempo una buona nutrizione in questo caso dei tessuti rigenerati dal moncone nervoso prossimale.

A 120 giorni dall'intervento il tubo è completamente riassorbito e l'esame istologico conferma la presenza di numerose fibre mieliniche in netta maggioranza su quelle amieliniche con disposizione uniforme senza un tessuto cicatriziale particolarmente esuberante.

L'insieme dei risultati elettrofisiologici suggerisce che i fenomeni di reinnervazione nel nostro modello sperimentale hanno interessato i muscoli esaminati nella loro totalità realizzando connessioni sinaptiche neuromuscolari funzionalmente attive. La VdC motoria nel tratto di sciatico rigenerato è risultata costantemente inferiore rispetto al controlaterale indenne. D'altronde studi su animali e sull'uomo riportano che dopo una riparazione nervosa non vi è mai un ritorno della conduzione a valori normali, ma questa si aggira intorno al 65-80%.<sup>22</sup>

I risultati di questo studio, seppure eseguito in un numero limitato di animali, permettono di individuare nell'elastomero un materiale idoneo per tubi da utilizzare nel « pontaggio » delle lesioni dei nervi periferici.

## Bibliografia

1. CAVALLARO G. et al.: *La rigenerazione nervosa attraverso innesti autologhi di nervo e di vena: sviluppo di un modello sperimentale*. Microchirurgia, 6; 67-71: 1986.
2. CHIU D. T. W. et al.: *Autogenous vein graft as a conduit for nerve regeneration*. Surgery, 91; 2: 1982.
3. COWAN W. M.: *Aspects of neural development*. Rev. Physiol., 17: 149-191; 1978.

4. DANIEL R. K., TERZIS J. K.: *Reconstructive microsurgery*. Boston, Little, Brown, 1977.
5. DONZELLI R. et al.: *Ipotesi sperimentale di innesto nervoso con microprotesi di silicone*. *Microchirurgia*, 7: 79-84; 1987.
6. FAWCETT J. W., KEYNES R. J.: *Muscle basal lamina: a new graft material for peripheral nerve repair*. *J. Neurosurg.*, 65: 354-363; 1986.
7. GODARD J. et al.: *Régénérescence nerveuse a travers un greffon veineux chez le rat*. *Neurochirurgie*, 30: 407-416; 1984.
8. HARPER G. P., THOENEN H.: *Nerve growth factor: biological significance, measurements and distribution*. *J. Neurochem.*, 34: 5-16; 1980.
9. JENQ C. B., COGGESHALL R. E.: *Regeneration of transected rat sciatic nerves after using isolated nerve fragments as distal inserts in silicone tubes*. *Exp. Neurol.*, 91: 154-162; 1986.
10. KLINE G. K., HUDSON A. R.: *Selected recent advances in peripheral nerve injury research*. *Surg. Neurol.*, 24: 371-376; 1985.
11. KUITERS R. R. F. et al.: *Peripheral nerve repair in the rat: functional and electrophysiological aspects*. *Neuro-Orthopedics*, 6: 7-12, 1988.
12. LEVI-MONTALCINI R., ANGELETTI P. U.: *Nerve growth factor*. *Physiol. Rev.*, 48: 534-569; 1968.
13. LUNDBORG G., HANSSON H. A.: *Regeneration of peripheral nerve through a preformed-tissue space. Preliminary observations on the reorganisation of regenerating nerve fibers and perineurium*. *Brain Res.*, 178: 573-576; 1979.
14. LUNDBORG G., HANSSON H. A.: *Nerve regeneration through preformed pseudosynovial tubes*. *Hand Surg.*, 5: 35-38; 1980.
15. LUNDBORG G. et al.: *In vivo regeneration of cut nerves encased in silicon tubes: growth across a six millimeter gap*. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 4: 412-422; 1982.
16. MCGILLICUDDY J. E.: *Techniques of nerve repair. Disorders of the peripheral and cranial nerves and the autonomic nervous system*. In: Wilkins R. H., Rengachary S. S.: *Neurosurgery*. McGraw-Hill, Book Company, 1985.
17. MACKINNON S. E. et al.: *Nerve regeneration in the rat. model*. *Peripheral nerve repair and regeneration*, 1: 41-48; 1986.
18. MILLESI H.: *Microsurgery of peripheral nerves*. *Hand*, 5: 157-160; 1973.
19. MOLANDER H. et al.: *Regeneration of peripheral nerve through a polyglactin tube*. *Muscle and Nerve*, 5: 54-57; 1982.
20. SATOU T. et al.: *A morphological study on the effects of collagen gel matrix on regeneration of severed rat sciatic nerve in silicone tubes*. *Acta Pathol. Jpn.*, 36: 199-208; 1986.
21. SAMII M.: *Modern aspects of peripheral and cranial nerve surgery*. *Adv. Tech. Etds. Neurosurg.*, 2: 33-85; 1975.
22. STANLEY E. F.: *Sensory and motor nerve conduction velocities and the latency of the H-reflex during growth of the rat*. *Exp. Neurol.*, 71: 497-506; 1981.
23. VARON S., WILLIAMS L. R.: *Peripheral nerve regeneration in a silicon model chamber: cellular and molecular aspects*. *Peripheral nerve repair and regeneration*, 1: 9-25; 1986.
24. WILLIAMS L. R. et al.: *Competence of nerve tissue as distal insert promoting nerve regeneration in a silicone chamber*. *Brain Res.*, 293: 201-211; 1984.

---

Indirizzo per la richiesta di estratti:

Dr. Giuliano Parenti, Istituto di Neurochirurgia, Via Roma, 67 - 56100 PISA.