

# METODI DI VALUTAZIONE DEL RECUPERO DELLA FUNZIONE NERVOSA PERIFERICA IN CHIRURGIA SPERIMENTALE

P. TOS, E. BOUX, S. GEUNA<sup>1</sup>, A.S.P. VAREJÃO<sup>2</sup>, B. BATTISTON

UOD Microchirurgia Ricostruttiva, Gruppo Interdivisionale di Microchirurgia (GIM), Ospedale CTO, Torino

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche, Università di Torino, Ospedale San Luigi, Regione Gonzole 10, Orbassano (TO)

<sup>2</sup>Department of Pathology and Veterinary Clinics, CETAV, University of Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal

## *Tests for the evaluation of peripheral nerve function recovery in experimental surgery.*

### SUMMARY

*The evaluation of functional recovery in the experimental study on peripheral nerves is carried on using different methods as well as different experimental models. The far most used animal model is the rat. In this paper we describe various methods for the evaluation of the functional recovery (both motor and sensory) of a peripheral nerve. The sciatic nerve/lower-limb model is still the most used though the employment of nerve models of the upper limb is increasing. The sensory evaluation tests consist in the cutaneous heat-stimulation or electro-stimulation. They can be applied both to the lower and to the upper limb and they assess the reflex response of limb removal from the nociceptive stimulus. As far as the motor function assessment is concerned, methods for the evaluation of both the lower and the upper limb have been described. Using the walking track analysis, it's possible to estimate the motor recovery of the lower limb by assessing some sciatic nerve functional parameters (Sciatic Functional Index). The use of the sciatic nerve model, although accurate and safe, can have some complications (mainly automutilation and joint contractures). Two tests can be used to study the upper limb: the grooming test for assessing the recovery after lesions in the brachial plexus and/or the musculocutaneous nerve; the grasping test for the functional assessment of the median nerve. Complications using these two procedures are negligible. In addition, through the grasping tests, which is easy to carry out, we can quantify the strength in grasping and thus also measure the degree of functional recovery with a low impact on animals. Riv Chir Mano 2003; 40: 109-118*

### KEY WORDS

Functional recovery, peripheral nerve, nerve regeneration, SFI, grasping

### RIASSUNTO

*La valutazione del recupero funzionale in seguito alla riparazione del sistema nervoso periferico, in campo sperimentale, si avvale di diverse metodiche e diversi modelli sperimentali. L'animale più utilizzato è il ratto. In questo articolo, illustriamo i diversi metodi di valutazione del recupero funzionale (motorio e sensitivo) dei nervi periferici. Il modello nervo sciatico/arto inferiore è ancora il più utilizzato; tuttavia sono in numero sempre maggiore gli studi rivolti alla valutazione del recupero funzionale a livello dell'arto superiore. I test di valutazione della sensibilità sono rappresentati dall'elettrostimolazione cutanea e dall'applicazione di una sorgente di calore. Si possono applicare all'arto superiore e a quello inferiore e studiano la risposta riflessa d'allontanamento dell'arto da uno stimolo nocicettivo. Per ciò che concerne il recupero della funzione motoria sono descritti test sia per l'arto inferiore che per quello superiore: la "walking track analysis" consente di valutare il recupero motorio a livello dell'arto inferiore me-*

Arrived: 23 April 2003

Accepted: 5 June 2003

Correspondence: Dr. Pierluigi Tos, Via Saluzzo, 23 bis - 10125 Torino, E-mail: tospilu@hotmail.com

diante il calcolo di alcuni parametri di funzionalità del nervo sciatico (*Sciatic Functional Index*). Lo studio del nervo sciatico, pur essendo affidabile e standardizzabile, risulta tuttavia gravato da numerose complicanze (soprattutto automutilazione e contratture articolari). A livello dell'arto superiore vengono impiegati due tests: il *grooming test* nella riparazione di lesioni del plesso brachiale o del nervo muscolo-cutaneo e il *grasping test* per la valutazione del recupero funzionale del nervo mediano. Non sono state osservate complicanze con nessuna delle due metodiche; in particolare il *grasping test*, di facile esecuzione, standardizzabile, con un minor impatto sull'animale, permette di quantificare (in termini di forza di presa) il grado di recupero funzionale.

#### PAROLE CHIAVE

Recupero funzionale, nervo periferico, rigenerazione nervosa, SFI, forza di presa

#### INTRODUZIONE

Lo studio della rigenerazione dei nervi periferici in seguito ad una lesione si basa su differenti metodiche di indagine. In primo luogo l'analisi morfologica macroscopica consente di valutare il trofismo del nervo in relazione ad un nervo normale. L'analisi in microscopia ottica poi, permette di approfondire l'osservazione macroscopica studiando la presenza e le caratteristiche delle fibre nervose rigenerate (1, 2). L'utilizzazione di metodiche di imaging tissutale e cellulare più avanzate, quali la microscopia elettronica (3) e la microscopia laser confocale (4), forniscono dettagli ultrastrutturali molto importanti per giudicare la qualità della rigenerazione nervosa. Oltre a tali metodi morfologici, le tecniche proprie della biologia molecolare (RT-PCR, analisi elettroforetica delle proteine, ecc.) forniscono oggi al ricercatore una ulteriore gamma di strumenti che, se usati correttamente, consentono di cogliere sfumature importantissime nella valutazione della rigenerazione delle fibre nervose periferiche (5).

Tuttavia, da un punto di vista clinico, l'elemento più importante nello studio della riparazione nervosa è rappresentato dalla valutazione del recupero della funzione controllata dal nervo lesionato. Infatti, il recupero della funzione, sia motoria sia sensitiva, rappresenta l'obiettivo principale della ricostruzione chirurgica nel sistema nervoso periferico. Per tale motivo, questo articolo è stato scritto con l'obiettivo di descrivere sinteticamente alcuni dei metodi di valutazione più utilizzati per lo studio della funzione motoria e sensitiva dei nervi.

Il modello animale più diffusamente impiegato per lo studio della rigenerazione nervosa periferica è il ratto, ed in particolare il modello "arto inferiore/nervo sciatico". Tuttavia negli ultimi anni si è registrato un crescente interesse per lo studio dell'arto superiore. Quest'ultimo offre infatti numerosi vantaggi sia dal punto di vista anatomico-funzionale sia per quanto riguarda l'impatto sull'animale.

Al fine di rendere maggiormente comprensibili i modelli impiegati ed i relativi tests, verranno di seguito riportati alcuni cenni di anatomia degli arti superiore ed inferiore.

#### 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 (6).

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

Il nervo *mediano* è costituito dalla convergenza della branca posteriore della radice dorsale di C7 (1<sup>a</sup> radice) con la radice ventrale di C8; 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 profondo delle dita. Proseguendo nell'avambraccio, 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 anconeo, 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 4° spazio interdigitale, ed un nervo digitale palmare proprio per il lato ulnare del 5° 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 4° e 5° 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.

È il modello di gran lunga più utilizzato per lo studio della rigenerazione nervosa nel SNP (7).

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* ed *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

Si suddividono in test per la valutazione della funzione motoria e test per la valutazione della sensibilità; questi ultimi sono applicabili ad entrambi i modelli sperimentali (arto superiore ed arto inferiore), mentre i metodi di valutazione funzionale motoria si differenziano in base al modello sperimentale impiegato (8-10).

#### Test funzionali per la valutazione del recupero sensitivo

Esistono sostanzialmente due tecniche di valutazione del recupero sensitivo a seguito di una "lesione" nervosa periferica: l'*elettrostimolazione* e l'applicazione di una *fonte di calore*. Entrambe si avvalgono di uno stimolo nocicettivo e studiano la risposta riflessa di allontanamento dell'arto sottoposto a ta-

le stimolo; tale riflesso è indice dell'avvenuta reinervazione (sensibilità profonda) dell'area cutanea presa in esame.

*Elettrostimolazione:* Nel ratto normale una risposta positiva viene evocata con uno stimolo di 0.1 mA applicato con un elettrostimolatore simile a quello utilizzato per i blocchi periferici. Nel corso del test l'intensità della corrente viene aumentata di 0.1 mA per volta fino ad un massimo di 1.0 mA; si considera positivo il primo stimolo utile ad evocare il riflesso di allontanamento (es.: il controllo effettuato a 3 mesi da un intervento di innesto di 1 cm su nervo periferico è di  $0.33 \text{ mA} \pm 0.19 \text{ mA}$ ).

*Calore:* Il ratto viene sospeso con un telino e l'arto inferiore preso in esame viene appoggiato ad una fonte di calore di  $56^\circ\text{C}$ ; la prova viene ripetuta per tre volte. Il tempo di latenza tra l'applicazione dello stimolo e la risposta riflessa di allontanamento dell'arto (WRL – Withdrawal Reflex Latency) è pari a 2 secondi nel ratto normale. Il tempo massimo di applicazione dello stimolo è di 12 secondi (*soglia di 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 con elaborazione dello *Sciatic Functional Index* (SFI);
- *Extensor postural thrust* (EPT);
- *Computerized rat gait analysis*.

Per ciascun test verranno di seguito illustrate le principali caratteristiche e le modalità di esecuzione, nonché vantaggi e svantaggi della procedura.

*Walking track analysis:* si tratta di una metodica non invasiva con la quale è possibile quantificare il grado di recupero funzionale dei muscoli innervati dal nervo sciatico mediante lo studio dell'impronta del ratto (11, 12). La misurazione di alcune lunghezze calcolate sull'impronta permettono di calcolare l'indice di funzionalità del nervo sciatico (*Sciatic Functional Index* - SFI), introdotto per la

prima volta da de Medinaceli nel 1982 (13) e modificato da Hare nel 1990 (14).

Il ratto viene fatto camminare in un corridoio di  $8,2 \times 42 \text{ cm}$  (Fig. 1); l'acquisizione delle impronte viene effettuata mediante tre metodiche con differenti livelli di affidabilità e precisione.

a) La prima metodica, descritta da De Medinaceli nel 1982 (13), utilizza come superficie una pellicola per raggi X; alcuni 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 poi fissata per 1 min, lavata con acqua e asciugata per 4 ore prima di essere analizzata.

b) La seconda metodica prevede l'impiego di inchiostro e carta normale (15), sulla quale ottenere almeno 5 impronte misurabili.

Questa procedura sembra essere meno costosa e più efficace della precedente.

c) La terza metodica prevede la registrazione dell'impronta per mezzo di una videocamera, secondo due differenti modalità (16, 17).

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

Nella seconda, il ratto viene ripreso con una telecamera digitale ad alta velocità mentre cammina in un corridoio come quello descritto precedentemente, ma trasparente e con uno specchio inclinato di  $45^\circ$  posto al di sotto del box. Per effettuare l'analisi delle impronte, il filmato viene suddiviso in fotogrammi singoli. Questa metodica permette di valutare altri due parametri della cinematica: il tempo

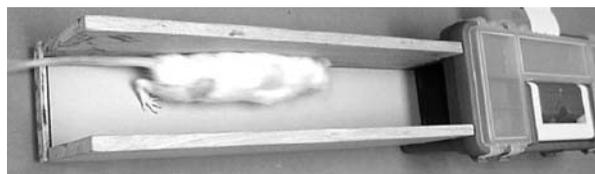


Figura 1. Apparecchio per la registrazione delle impronte del ratto.

di permanenza dell'arto al suolo (*stance factor*) e l'angolo di flessione della caviglia (*ankle angle*), entrambi utilizzati per eseguire la gait analysis che verrà descritta in seguito (18).

Grazie all'ausilio della videocamera è inoltre possibile misurare la durata della fase di appoggio al suolo e della fase propulsiva di ogni singolo passo, e calcolare per ognuna il rapporto tra arto operato ed arto controlaterale sano.

Una volta ottenuta l'impronta (su carta o mediante videoregistrazione), si procede con la misurazione di alcune lunghezze dell'impronta stessa (Fig. 2):

- PL (print length): distanza calcagno - apice 3° dito
- TS (toe spread): distanza 1° dito - 5° dito
- ITS (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 ottenuti nell'equazione di De Medinaceli (13), successivamente modificata da Hare et al. (14):

$$SFI = -38,3 \times (PLF) + 109,5 \times (TSF) + 13,3 \times (ITF) - 8.8$$

$$PLF = (EPL - NPL) / NPL$$

$$TSF = (ETS - NTS) / NTS$$

$$ITF = (EIT - NIT) / NIT$$

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

Oltre allo SFI, sono stati descritti anche gli indici di funzionalità del nervo tibiale (TFI) e del nervo peroneale (PFI):

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

$$PFI = 174.9 \times (PLF) + 80.3 \times (TSF) - 13.4$$

Il *maggior limite* di questa metodica è rappresentato dai *fenomeni di automutilazione* dell'arto operato presenti nella maggior parte degli animali pochi

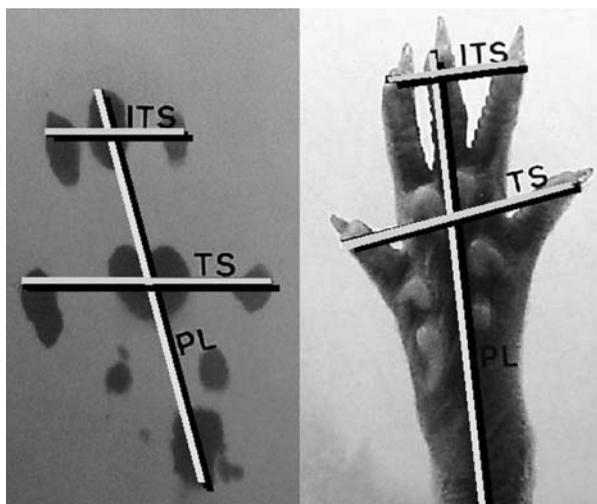


Figura 2. Impronta di ratto sano e visualizzazione delle lunghezze per la determinazione dello SFI

giorni dopo l'intervento; inoltre, nei controlli eseguiti a dieci settimane si osservano spesso *contratture articolari e muscolari* (Fig. 4 A, B).

Al fine di prevenire l'automutilazione, alcuni autori 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 ottenere risultati soddisfacenti. Studi recenti hanno inoltre evidenziato che i ratti femmina tipo Lewis presentano una minore tendenza all'automutilazione rispetto ai maschi e rispetto ai ratti di razza Wistar, e sarebbero pertanto maggiormente indicati come modelli di studio.

*Extensor postural thrust*: consiste nella misurazione del peso di ciascun arto posizionandolo su una superficie associata ad un sistema di misurazione digitale.

Il range di normalità è compreso tra 0 e 500 g.

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

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

N = normal; E = experimental.

Si tratta tuttavia di una procedura poco affidabile per l'impossibilità di effettuare misurazioni successive in condizioni standard.

*Computerized rat gait analysis:* viene condotta con l'ausilio di una videocamera e consente la valutazione dei tre parametri della cinematica (19, 20):

- 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  $45^\circ$  viene posizionato al di sotto del ratto per riprenderne la superficie ventrale (vedi prima). (Fig. 3)

- 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 (21, 22). Il valore registrato per l'arto operato risulta ridotto rispetto ai controlli; tale risultato è attribuibile esclusivamente al deficit nervoso, senza alcuna correlazione con un'eventuale sintomatologia algica.
- Il calcolo dell'angolo di flessione della caviglia utilizza come vettori la gamba ed il piede; la valutazione viene effettuata sia durante la fase di appoggio al suolo (*stance*) che durante la fase propulsiva (*swing*).

Alcuni autori hanno osservato che, nonostante l'analisi morfometrica evidenzi un'adeguata rein-

nervazione dei muscoli, le fibre rigeneranti si distribuiscono in maniera disordinata, determinando così uno 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, come già detto, la valutazione del recupero funzionale mediante Walking Track scarsamente attendibile (23-25), soprattutto nei modelli nei quali è stata provocata una lesione completa (e non solo uno schiacciamento) del tronco nervoso periferico, o quando vengano impiegati innesti e tubuli, gravati da un lungo recupero funzionale e maggiori probabilità di sviluppare contratture ed automutilazioni (Fig. 4 A, B).

#### Test funzionali per la valutazione del recupero motorio dell'arto superiore

L'arto superiore, contrariamente all'arto inferiore, non è soggetto a fenomeni di automutilazione e contrattura muscolare (nel deambulare, anche con l'arto denervato, il ratto esegue un programma di kinesiterapia passiva); per tale motivo esso viene da noi considerato il modello migliore da impiegare per l'esecuzione dei test funzionali (9, 26). Negli ultimi anni è stato sempre più utilizzato per lo studio delle lesioni del sistema nervoso periferico.

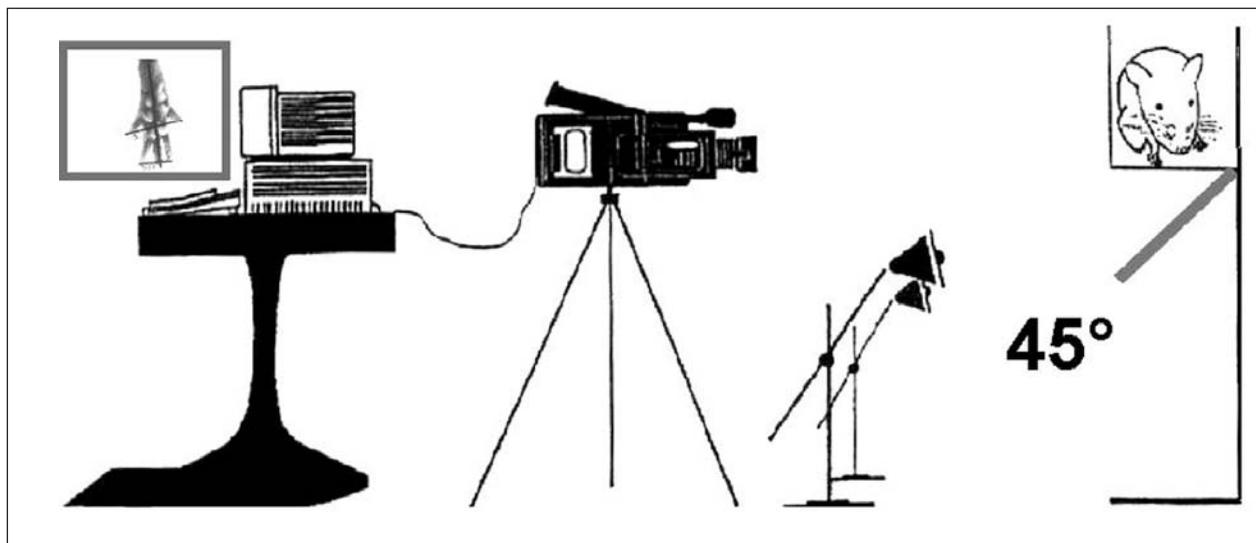


Figura 3. Apparecchiatura utilizzata per l'analisi computerizzata della cinematica del movimento e dello studio dell'impronta.



Figura 4. A) Contratture e rigidità articolari. B) Tipica automutilazione in 4<sup>a</sup> giornata post-operatoria.

Il recupero della funzione motoria viene valutato mediante due test comportamentali: il *grooming 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) e viene impiegato per studiare il recupero della funzione del nervo mediano.

*Grooming test*: inizialmente introdotto da Bertelli e Mira (27), è stato successivamente modificato al fine di ottenere una metodica riproducibile e garantire misurazioni corrette.

Il test consiste nello schizzare da 1 a 3 ml di acqua sul muso di un ratto osservandone la reazione comportamentale; l'animale normale solleva entrambi gli arti superiori dietro le orecchie per poi portarli sul muso, e ripete tale movimento per alcuni secondi. La registrazione viene effettuata mediante telecamera e viene assegnato un determinato punteggio a seconda della posizione raggiunta dalle zampe (Fig. 5).

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 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).

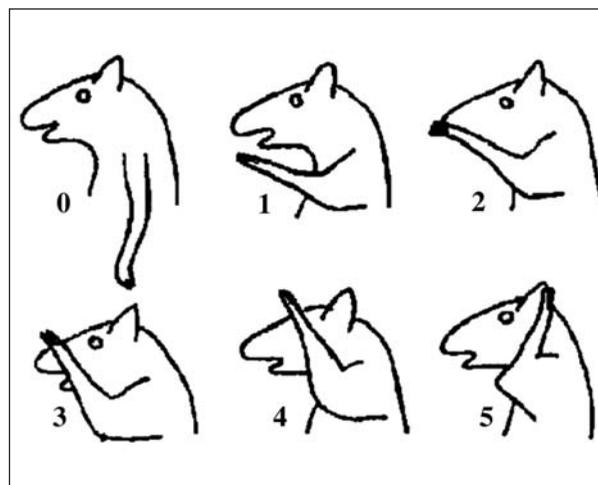


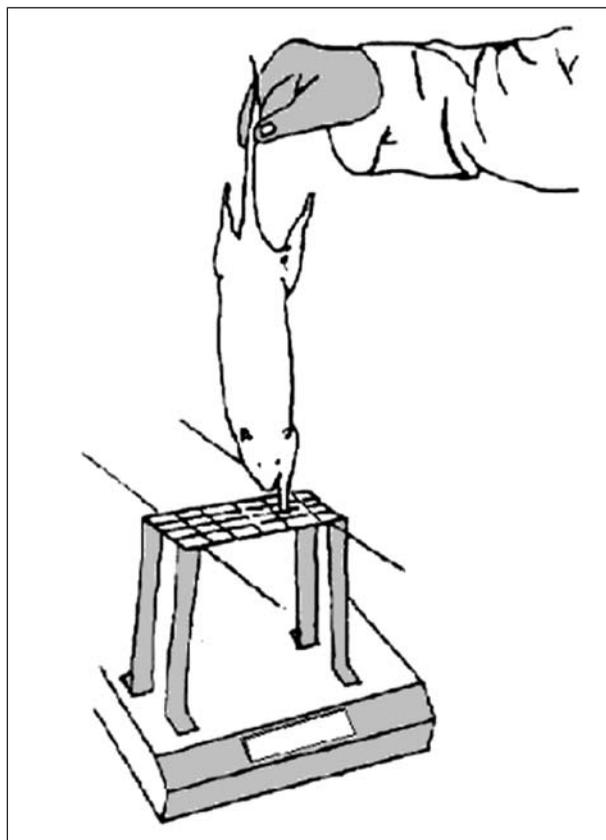
Figura 5. *Grooming test* e sistema a punteggio.

Il sistema elaborato da Bertelli (28) consiste in una griglia montata su una bilancia da laboratorio opportunamente tarata (Fig. 6). 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 immobilizzato al torace con un nastro adesivo.

A seguito di 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 (28).

Questa metodica ha però alcuni limiti. Il ratto spesso "si distrae" e perde motivazione nell'effettuare il test a causa dell'immobilizzazione dell'arto controlaterale; inoltre esso tende a correre sulla griglia piuttosto che esercitare una trazione.

Per questo motivo Papalia et al. (26) hanno modificato il sistema al fine di ottenere risultati più at-

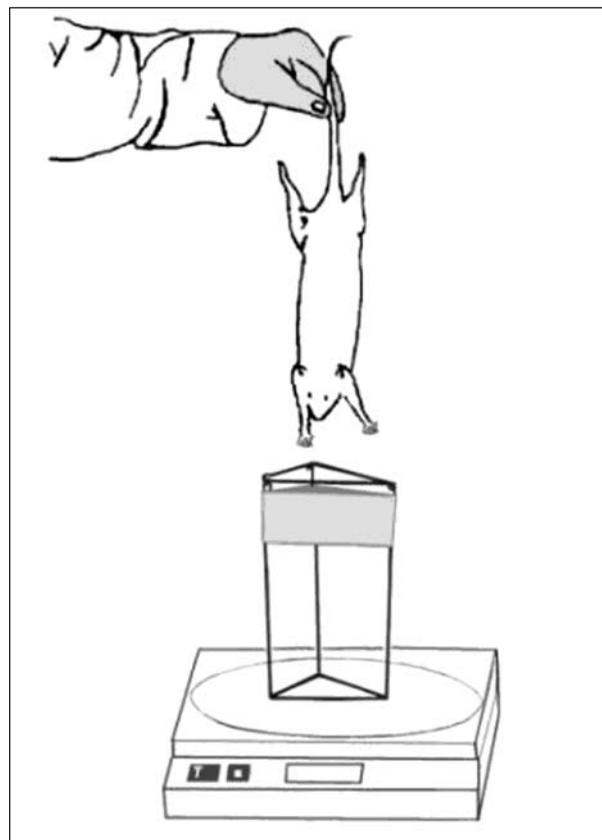


**Figura 6.** *Apparecchio per l'esecuzione del Grasping Test come ideato da Bertelli.*

tendibili e ripetibili (Fig. 7). 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. Un cerotto, posizionato al di sotto dei fili metallici, evita che il ratto possa aggrapparsi e tirare con il polso (flessore ulnare del carpo) dando risultati falsi positivi.

## DISCUSSIONE

La valutazione funzionale della riparazione nervosa rappresenta una componente molto importante nello studio sperimentale della chirurgia a carico dei nervi periferici (9, 24, 29). Tale tipo di analisi rappresenta infatti l'utile completamento di una va-



**Figura 7.** *Modifica all'apparecchiatura tradizionale per il Grasping Test.*

lutazione interdisciplinare che si deve basare anche sullo studio morfologico e, se necessario, anche biomolecolare. Inoltre, tra tutte le metodiche d'indagine sperimentali è quella che più si avvicina alle esigenze del clinico (23) che, in ultima analisi, è interessato soprattutto al recupero della funzione di un nervo riparato oltre che alle basi morfologiche e biomolecolari che portano a tale recupero.

Tra i vari modelli sperimentali utilizzabili per lo studio della riparazione chirurgica dei nervi, è nostra opinione che si dovrebbe promuovere tra i ricercatori l'utilizzazione del nervo mediano in alternativa al nervo sciatico. Infatti, sebbene quest'ultimo sia stato fino ad oggi il modello più utilizzato, nondimeno esso presenta alcune limitazioni importanti rappresentate in particolar modo dall'elevato grado di deficit che una sua lesione causa all'animale (19, 26, 30). Inoltre i dati ottenibili mediante la walking track analysis sono spesso di difficile interpretazione soprattutto se non sono stati rilevati con i moderni metodi di video analysis (19). Al contrario, lesioni del nervo mediano hanno uno scarsissimo impatto sull'animale causando una minor sofferenza. Il recupero funzionale è agevolmente valutabile con il Grasping Test. Questo test è di semplice realizzazione, non induce stress nell'animale e produce dati ripetibili e molto affidabili (6, 26, 28).

## BIBLIOGRAFIA

1. Battiston B, Tos P, Geuna S, Giacobini-Robecchi MG, Guglielmo R. Nerve repair by means of vein filled with muscle grafts. II. Morphological analysis of regeneration. *Microsurgery* 2000; 20: 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: 65-71.
3. Geuna S, Tos P, Battiston B, Guglielmo R, Giacobini-Robecchi MG. Morphological analysis of peripheral nerve regenerated by means of vein grafts filled with fresh skeletal muscle. *Anat Embryol (Berl)* 2000; 201: 475-82.
4. 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: 153-35.
5. Geuna S, Raimondo S, Nicolino S, et al. Schwann cell proliferation inside muscle-vein-combined conduits used to bridge rat sciatic nerve defects. *J Reconstr Microsurg* 2003; 19: 119-23.
6. 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: 77-85.
7. Westerga J, Gramsbergen A. Development of locomotion in the rat. *Dev Brain Res* 1990; 57: 163-74.
8. Hadlock T, Koka R, Vacanti JP, Cheney ML. A comparison of assessments of functional recovery in the rat. *J Periph Nerv Syst* 1999; 4: 258-64.
9. Tos P, Varejão A, Boux E. Tests to assess functional recovery in peripheral nerve repair studies. Proceedings of the XIX National Congress of the Italian Society of Microsurgery. Roma, 2001: 15-21
10. Koka R, Hadlock TA. Quantification of functional recovery following rat sciatic nerve transection. *Experimental Neurology* 2001; 168: 192-5.
11. Clarke KA, Parker AJ. A quantitative study of normal locomotion in the rat. *Physiol Behav* 1986; 38: 345-51.
12. 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: 407-11.
13. de Medinaceli L, Freed WJ, Wyatt RJ. An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. *Exp Neurol* 1982; 77: 634-43.
14. Hare GM, Evans PJ, Mackinnon SE, et al. Walking Track Analysis: a long-term assessment of peripheral nerve recovery. *Plast Reconstr Surg* 1992; 89: 251.
15. Johnston RB, Zachary L, Dellon AL, Seiler WA 4th, Teplica DM. Improved imaging of rat hindfoot prints for walking track analysis. *J Neurosci Methods* 1991; 38: 111-4.
16. Walker JL, Resig P, Guarnieri S, Siskin 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: 189-93.
17. 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: 109-16.
18. Yu P, Matloub HS, Sanger JR, Narini P. Gait analysis in rats with peripheral nerve injury. *Muscle Nerve* 2001; 24: 231-9.

19. Varejão AS, Cabrita AM, Patricio JA, et al. Functional assessment of peripheral nerve recovery in the rat: gait kinematics. *Microsurgery* 2001; 21: 383-8.
20. Hruska RE, Kennedy S, Silbergeld EK. Quantitative aspects of normal locomotion in rats. *Life Sci* 1979; 25: 171-80.
21. Varejão AS, Cabrita AM, Meek MF, et al. Motion of the foot and ankle during the stance phase in rats. *Muscle Nerve* 2002; 26: 630-5.
22. 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: 173-7.
23. Dellon AL, Mackinnon SE. Selection of the appropriate parameter to measure neural regeneration. *Ann Plast Surg* 1989; 23: 197-202
24. Dellon AL, Mackinnon SE. Sciatic nerve regeneration in the rat. Validity of walking track assessment in the presence of chronic contractures. *Microsurgery* 1989; 10: 220-5
25. Brown CJ, Mackinnon SE, Evans PJ, et al. Self-evaluation of walking-track measurement using a Sciatic Function Index. *Microsurgery* 1989; 10: 226-35.
26. Papalia I, Tos P, Stagno d'Alcontres F, Battiston B, Geuna S. On the use of the grasping test in the rat median nerve model: A re-appraisal of its efficacy for quantitative assessment of motor function recovery. Accepted in Print - *J Neurosci Method* 2003.
27. 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; 46: 203-8.
28. Bertelli JA, Mira JC. The grasping test: a simple behavioral method for objective quantitative assessment of peripheral nerve regeneration in the rat. *J Neurosci Methods* 1995; 58: 151-5.
29. 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.
30. Varejão 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.