

Artículo original

Deslizamiento del epineuro distal para reparar defectos segmentarios de nervios periféricos

Eduardo Murilo Novak,* Giana Silveira Giostri Mestre,** Paulo Sérgio dos Santos,***
Carlos Eduardo Sáenz,**** Anna Raquel Silveira Gomes,***** Renato Tambara Filho*****

Hospital Universitario Cajaru

RESUMEN. El injerto autólogo de nervio es la elección para reparar defectos segmentarios en nervios periféricos. El objetivo fue evaluar los efectos del deslizamiento de la vaina epineurial del muñón distal para cubrir un defecto creado en el nervio ciático izquierdo del ratón. Veinte ratas se dividieron en tres grupos: *Placebo* ($n = 6$), disección del nervio ciático, dejándolo intacto; *sutura convencional* (SC, $n = 7$): sección transversal y sutura epineural; *deslizamiento epineural* (DE, $n = 7$): remoción de 5 mm del nervio e incisión circumferencial del epineuro distal, 5 mm distal a la extremidad, deslizándose y suturando la vaina epineurial en el muñón proximal. Doce semanas después fueron analizados histomorfométricamente el número de fibras mielínicas, el área axonal media y el diámetro total de la fibra (cociente –G). No hubo diferencias significativas entre los grupos SC y DE ($p > 0.05$, ANOVA). Mientras tanto, un número mayor de fibras mielínicas ($p < 0.001$, ANOVA) y una disminución en promedio del área axonal ($p < 0.001$, ANOVA) y el cociente-G se observaron en grupo SC y DE, cuando comparados con placebo, aunque no hubo diferencias entre los grupos SC y DE. Se puede inferir que la técnica estudiada es eficaz para cubrir defectos segmentarios del nervio de ratón.

Palabras clave: nervio periférico, regeneración, rata.

ABSTRACT. Autologous nerve grafting is the most referred technique for bridging neural gaps. The aim of this study was to evaluate the effects of distally sliding the epineurial sheath to cover a defect created in the left sciatic nerve of the rat. Twenty male Wistar rats were divided into three groups: *sham* ($n = 6$), in which the sciatic nerve was dissected but left intact; *conventional suture* (CS, $n = 7$), in which a transverse section of the sciatic nerve was followed by an epineurial suture; *sliding of the distal epineurial sheath* (SDES, $n = 7$), in which a 5 mm resection of the nerve was conducted, followed by a circumferential cut in the distal epineurium, and the epineurial sheath was slid down and sutured into the distal end of the epineurium of the proximal stump. After 12 weeks, histomorphometric analyses of the number of myelinated nerve fibers, mean cross-sectional axonal area and total fiber diameter (G-ratio) were carried out. There was no statistical differences between CS and SDES ($p > 0.05$, ANOVA). However, an increase in the number of myelinated nerve fibres ($p < 0.001$, ANOVA) and decreases in the mean axonal area ($p < 0.001$, ANOVA) and in the G-ratio were observed in SDES or SC groups when compared to sham, although with no statistical differences between the SDES and SC. It could be suggested this technique is efficient to cover nerve gaps in rats.

Key words: peripheral nerve, regeneration, rat.

* Ortopedia y Traumatología, Cirugía de la Mano, Maestro y Doctor en Cirugía, Preceptor de la Residencia en Cirugía de la Mano del Hospital Universitario Cajaru.

** Jefe del Servicio de Cirugía de la Mano del Hospital Universitario Cajaru.

*** Doctor, Profesor adjunto de la Universidad Federal del Paraná.

**** Ortopedia y Traumatología, Cirugía de la Mano del Hospital Universitario Cajaru.

***** Doctor, Profesor adjunto de la Universidad Federal del Paraná.

Dirección para correspondencia:

Eduardo Murilo Novak. Rua Lamenha Lins, 530, ap. 41-B, Curitiba – PR – Brasil, CP 80250-020. Teléfono: 55 41 8406 1100
E-mail: eduardonovak@gmail.com

Introducción

Las lesiones en los nervios periféricos se producen en cerca de 5% de las lesiones en las extremidades.¹ Los mejores resultados se obtienen cuando el tratamiento se realiza, de manera inmediata, cuando el tejido está libre de tejido fibroso y la sutura entre los dos fragmentos es posible sin tensión.² Sin embargo, cuando el defecto es muy grande, de manera que los extremos no pueden ser directamente suturados, es necesario un injerto para completar el espacio con el fin de proporcionar un lugar viable para que los axones comiencen a regenerarse.

El injerto más comúnmente utilizado es el autólogo. Un segmento de nervio sensorial, por lo general tomado de los brazos (nervio cutáneo medial o lateral del antebrazo) o de la pierna (nervio sural) es interpuesto entre los muñones para completar el defecto. Sin embargo, varios inconvenientes pueden observarse, como serían: la formación de cicatriz, neuroma y la pérdida de sensibilidad en la zona donante. Por otra parte, el hecho de retirar injerto de nervio demanda mayor tiempo quirúrgico. Y cuando son dos regiones de sutura, la regeneración puede complicarse debido al aumento de la posibilidad de formación de neuroma en continuidad.³

Como alternativa, algunas de las técnicas de tubulización se han descrito,⁴ con tejidos biológicos como las arterias, venas,⁵ fibras musculares⁶ o los injertos artificiales, obtenidos a través de la bioingeniería, como el ácido poliglicólico,⁷ politetrafluoroetileno,⁸ silicona⁹ son ejemplos de métodos utilizados para la reparación de defectos neuronales.

Estudios de Atabay et al¹⁰ y Ayhan et al¹¹ ofrecen la posibilidad de deslizar la vaina epineural proximal, formando un tubo, con el fin de que las fibras nerviosas en regeneración que van a surgir del muñón proximal puedan dirigirse por el cilindro, lo que permitiría a los axones llegar al órgano diana.¹² Esta técnica ofrece la ventaja como el ahorro de un sitio donador pero se pueden encontrar algunas desventajas relacionadas con el riesgo potencial de daño para el suministro de sangre en los axones proximales.¹³ Por lo tanto, es posible suponer que, conservando el segmento proximal y utilizando la vaina distal para cubrir el defecto, sea factible obtener mejores resultados respecto

a la regeneración axonal. El presente trabajo se centra en la regeneración neuronal que se produce cuando se realiza un deslizamiento de la vaina epineural distal para completar el defecto entre dos muñones del nervio ciático en ratones.

Material y métodos

Animales y procedimiento quirúrgico

Los animales utilizados en este estudio recibieron cuidado conforme a las normas del «National Research Council» (1996). El comité de ética en investigación animal de la institución en que el experimento se llevó a cabo, aprobó el estudio. Se utilizaron un total de 20 ratones machos, con peso promedio de 359.8 ± 30.7 g al comienzo del trabajo. Antes y después del estudio, los animales fueron mantenidos en jaulas de plástico dentro de una habitación con control ambiental y a base de raciones de alimentos específicos y agua *ad libitum*, con un ciclo de 12 horas luz/oscuridad.

Los ratones fueron divididos aleatoriamente en tres grupos. En el grupo placebo ($n = 6$), el nervio ciático izquierdo fue disecado del nodo ciático hasta la bifurcación sin ninguna otra intervención. Grupo SC (sutura convencional, $n = 7$): se realizó una incisión en el nervio ciático con la posterior reparación término-terminal. Grupo DE (deslizamiento epineural, $n = 7$): después de resecar 5 mm del nervio ciático izquierdo, la vaina epineural fue cortada en toda su circunferencia, deslizada en dirección proximal y suturada en el muñón proximal ($n = 7$) (Figura 1).

Los procedimientos quirúrgicos se realizaron con los ratones bajo anestesia (clorhidrato de ketamina, 95 mg/kg; clorhidrato de xylazina, 12 mg/kg). Los animales fueron tricotomizados y una solución antiséptica fue utilizada en las patas. El nervio ciático izquierdo fue expuesto a través de una incisión postero-lateral seguida de disección roma entre los músculos glúteo máximo y cuadríceps.

Un cirujano realizó todas las cirugías, utilizando un microscopio quirúrgico (Kaps, Asslar Wetzlar, Alemania). El procedimiento anestésico y la cirugía no mostraron complicaciones. No hubo infección o auto-mutilación en ninguno de los grupos. Además, no hubo formación de neuromas en el sitio de sutura.¹⁴ La sutura de los extremos

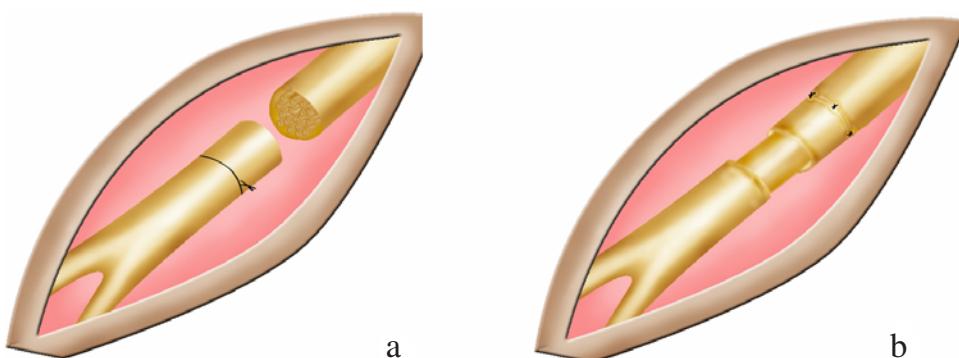


Figura 1. Esquema de representación del grupo DE. Corte circular de la vaina epineural, después de la resección de un segmento de 5 mm (a) y el consiguiente deslizamiento de la vaina epineural distal en el muñón proximal con el objetivo de cubrir el defecto en el nervio ciático en ratas (b).

nerviosos fue realizada con nylon 10-0. La herida quirúrgica se suturó con nylon 4-0.

Evaluación histomorfométrica

Los animales fueron sometidos a eutanasia en la 12^a semana de post-operatorio utilizando una inyección intraperitoneal de pentobarbiturato de sodio (150 mg/kg de peso corporal), de acuerdo con las normas institucionales del «National Care Committee». El nervio ciático izquierdo fue resecado a través de acceso postero-lateral en el muslo. No fue posible determinar las diferencias entre los grupos SC y DE macroscópicamente.

Fue removido un segmento de 2 mm a una distancia de 10 mm distal al sitio de sutura. En el grupo placebo, se removió en la misma sección anatómica del nervio. Las estructuras se identificaban y fijaban en solución de Karnovsky (2.5% glutaraldehído, el 4% de paraformaldehído y 0.1 M de solución cacodilato de sodio) durante 12 horas a temperatura ambiente, tras lo cual se lavaba con solución isotónica de cacodilato de sodio. El tejido se fijó después con tetróxido de osmio 2%, realizada deshidratación seriada en alcohol y fijadas en Araldite. Cortes de 1 µm utilizando ultramicrótomo (Sorvall MT-2) fueron teñidas con azul de toluidina.

La medición cuantitativa histológica se realizó en las secciones transversales nerviosas distal al sitio de la reparación y en los nervios intactos en el grupo placebo. Un observador, que desconocía los grupos, eligió ocho campos representativos, al azar, sobre un objetivo x100 de un microscopio de luz (Axiophoto, Carl Zeiss).¹⁵ Se estudió el número de fibras mielínicas por campo microscópico ($8.050 \mu\text{m}^2$), área media de las secciones transversales de los axones y el diámetro total de la fibra, con su vaina de mielina, que se utiliza para establecer el cociente-G (*Figura 2*), conforme a los reportes de Urso-Baiarda e Grobbehaar,¹⁶ con la ayuda de los programas de computación Photoshop CS (Adobe, EE.UU) y ImageJ (*ImageJ 1.37v – National Institutes of Health – EE.UU*).

Análisis estadístico

Todos los datos se presentan como media ± desviación estándar. Análisis de variabilidad (ANOVA), seguido por la aplicación de la prueba de Tukey post hoc (Statistica, Statsoft, EE.UU.), fue utilizado para verificar el significado estadístico, que se estableció con un nivel de probabilidad de 0.05.

Resultados

Número de fibras nerviosas mielínicas

En la evaluación histomorfométrica cuantitativa de las fibras mielínicas no se encontró diferencias significativas entre el grupo sometido a sutura convencional epineural

(SC) y aquel en que se realizó deslizamiento epineural (DE) ($p > 0.05$, ANOVA). Mientras tanto, si comparamos estos dos grupos con el grupo placebo, la diferencia fue estadísticamente significativa ($p < 0.001$, ANOVA).

En los animales cuyos nervios ciáticos fueron sometidos a suturas convencionales (SC) se encontraron de 102.53 ± 2.98 axones por campo, mientras que los que se realizó deslizamiento epineural (DE) se observaron 98.60 ± 2.90 axones. En el grupo placebo, el número de axones fue 80.93 ± 2.38 . En la comparación entre los tres grupos no se observó diferencias estadísticamente significativas entre el grupo SC y el grupo de DE ($p > 0.05$, ANOVA). Tanto el grupo de la SC como el grupo DE mostró diferencias significativas en comparación con el grupo placebo, se produjo un aumento en el número de fibras mielínicas ($p < 0.0001$, ANOVA), (*Gráfica 1* y *figura 3*).

Área promedio de sección transversa de las fibras axonales

El área promedio de las fibras axonales para lo grupo SC fue de $22.77 \pm 1.33 \mu\text{m}^2$. Resultados similares se encontraron para el grupo DE ($23.29 \pm 1.16 \mu\text{m}^2$, $p > 0.05$, ANOVA). En comparación con el área media axonal del grupo placebo ($26.93 \pm 1.53 \mu\text{m}^2$), una disminución en ambos valores se encontraron ($p < 0.001$, ANOVA), (*Gráfica 2*).

Cociente-G

El grupo placebo tuvo un cociente G medio de $0.65 \pm 0.03 \mu\text{m}^2$. El promedio del cociente-G para el grupo SC fue

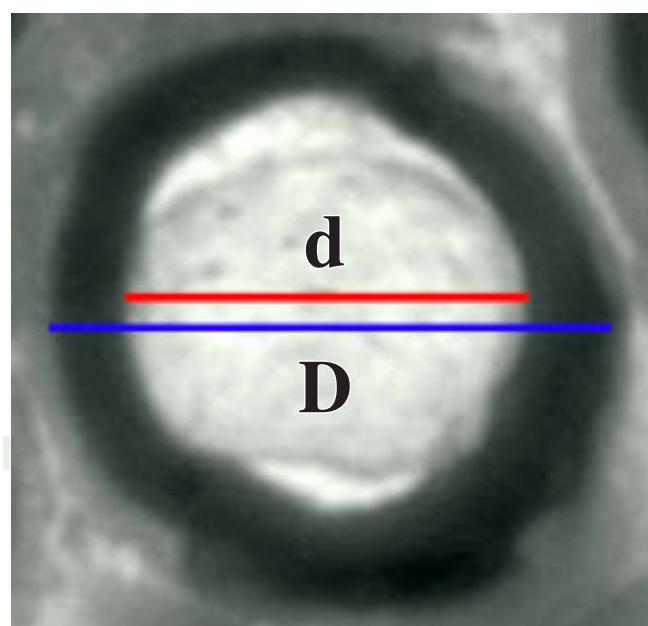


Figura 2. Ejemplo de la medición del cociente-G. (d) representa el diámetro de la fibra axonal; y (D), el diámetro total de la fibra nerviosa.

de $0.53 \pm 0.0235 \mu\text{m}^2$ y en el grupo de deslizamiento de la vaina epineurial la media fue de $0.52 \pm 0.017 \mu\text{m}^2$. Comparando los datos de grupos SC y DE con los que están en el grupo placebo, el análisis estadístico mostró una disminución del cociente-G ($p > 0.05$, ANOVA) (*Gráfica 1*).

El grupo placebo tuvo un promedio de $0.65 \text{ G} \pm 0.03 \mu\text{m}^2$. La proporción media para el grupo SC fue $0.53 \pm 0.0235 \mu\text{m}^2$, y el grupo con la vaina de deslizamiento epineurial el promedio fue de $0.017 \pm 0.52 \mu\text{m}^2$. Comparando los datos de grupos de la SC con los que están en el grupo placebo, el análisis estadístico mostró una disminución del cociente-G ($p > 0.05$, ANOVA) (*Gráfica 3*).

Discusión

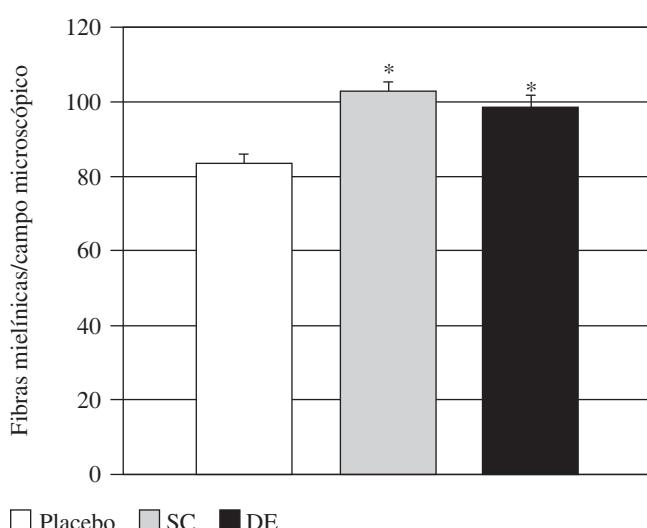
El objetivo de la reparación de lesiones de los nervios es restaurar el microambiente para que los axones en regeneración alcancen su objetivo. El tratamiento de la lesión de un nervio periférico es difícil, no sólo porque hay propiedades mecánicas implicadas, sino porque también hay factores químicos que son esenciales para inducir, dirigir y

orientar la regeneración del nervio. Por esta razón, los muñones de nervio deben ser reparados preservándose la capacidad neurotrópica de crecimiento y maduración de axones, sin dejar de lado el hecho de que el efecto neurotrópico también debe mantenerse, para que haya una dirección correcta de los axones en relación a la estructura que será reinervada.¹⁷

Actualmente, el injerto autólogo de nervio es la opción más utilizada a menudo para completar estos defectos segmentarios y los resultados han demostrado ser superiores a las opciones que utilizan tubos artificiales u otros tipos de conductores, al menos para la reconstrucción de nervios como el nervio mediano y cubital en el ser humano.¹² Pero el principal efecto secundario es la agresión a otro lugar (por ejemplo, cara lateral de la pierna) para la resección del injerto, dando lugar a la formación de cicatrices, déficit sensorial y la posibilidad de presentar dolor y neuroma en la zona donante. Además, como describió Ayhan et al,¹¹ las discrepancias entre los muñones, la reacción de cuerpo extraño, porque los puntos de sutura están en dos lugares de coaptación y el aumento de tiempo de operación propician la búsqueda de un conducto ideal para completar los defectos neuronales.

Por estos motivos, muchos estudios se han centrado en la aplicación experimental de conductores neurales como alternativa a injertos autólogos. Conductores biológicos como venas, arterias, músculo esquelético¹⁸ y componentes de matriz extracelular, como guías de fibrina,¹⁹ han sido los materiales más estudiados y resultados satisfactorios se muestran en la literatura, posiblemente, debido al mantenimiento de factores de crecimiento intrínseco.²⁰ Conductores obtenidos a través de la bioingeniería, biodegradables o no, también se encuentran entre las opciones para la reparación de estas lesiones, pero se necesitan ensayos clínicos para mostrar cuáles materiales pueden ser una alternativa válida para la reparación del nervio.

Como una alternativa para completar los defectos segmentarios del nervio, Atabay et al¹⁰ describen el deslizamiento proximal de la vaina epineurial. Los autores encontraron resultados comparables a los obtenidos a partir de injertos convencionales. Sin embargo, debido a dificultades en la aplicación de la técnica en nervios polifasciculares, un nuevo método fue creado, que consiste en la inversión de la vaina epineurial.^{11,21} Las razones para elegir esta técnica se sustentan en la no agresión a otro lugar para la toma del injerto, los diámetros son los mismos, entre la



Gráfica 1. Número de las fibras nerviosas mielinicas por campo ± desviación-estándar del ratón de los siguientes grupos experimentales: SC: grupo sometido a la sutura convencional; DE: grupo en el cual el deslizamiento epineural fue hecho; grupo placebo: ratón sometido a la cirugía sin procedimiento microquirúrgico en el nervio.
* $p < 0.001$ cuando comparado con el grupo placebo (ANOVA).

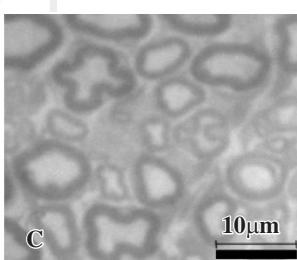
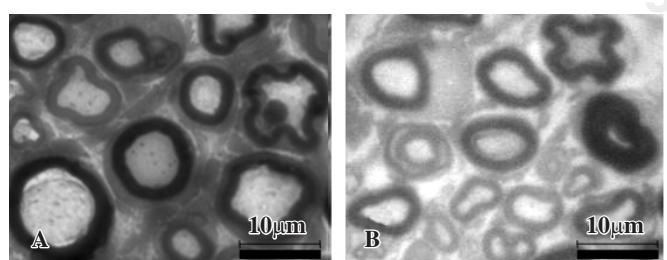


Figura 3. Cuadro comparativo histológico. A: representa la fibra normal proveniente del grupo placebo; B: fibras mielinicas representativas del grupo SC; C: fibras del grupo DE. Las fibras nerviosas del grupo SC (B) e DE (C) se presentaron con mayor concentración que las del grupo placebo (A). (Objetivo de 100x, azul de toluidina).

vaina epineural invertida y el epineuro distal, las propiedades biológicas fueron mantenidas por el hecho de que el tejido nativo preserva los factores neurotrópicos, el tiempo quirúrgico no fue extendido para que un injerto fuese retirado y se disminuyó la reacción fibrosa, porque sólo había un sitio de sutura, en lugar de dos, como sucede con los injertos convencionales. Chatdokmaiprai et al¹³ también describieron resultados positivos. Realizaron la inversión de la vaina epineural distal deslizándola en dirección proximal y no encontraron diferencias en el recuento de los núcleos de las células de Schwann, bajo microscopio de luz,

entre el grupo experimental sometido al injerto convencional y el grupo que fue sometido a inversión epineural.

Teniendo en cuenta que bajo el punto de vista teórico, hay un inconveniente al utilizar la vaina epineural proximal debido a la posibilidad de alteraciones y daños al suministro de sangre a los axones del extremo proximal (Chatdokmaiprai et al, 2006), este estudio tuvo como objetivo evaluar el grado de regeneración axonal cuando la vaina epineural del muñón distal se sutura al epineuro proximal, a fin de establecer un cilindro entre los extremos proximal y distal de los nervios. Un grupo sometido a sección del nervio, seguido de reparación microquirúrgica convencionales (CS) se utiliza para la comparación directa con el grupo en el que fue realizado el deslizamiento epineural (DE), suponiendo que la sutura de extremo a extremo debe producir mejores resultados en términos de la regeneración axonal.

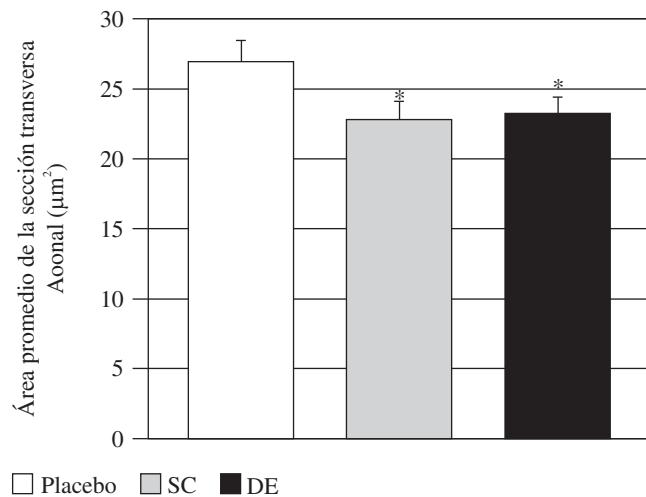
En el grupo DE un segmento de 5 mm fue retirado con el objetivo de producir un defecto que podría ser ocupado por un tejido nativo (la vaina epineural del muñón distal). De hecho, los resultados no mostraron diferencias estadísticas entre el grupo DE y de la SC, con respecto al número de fibras mielínicas, aunque se observaron más fibras en el grupo SC. El aumento en el número de fibras puede explicarse por el esfuerzo realizado por el muñón proximal para aprovechar al máximo las posibilidades de cada célula neuronal para lograr su objetivo de llegar al órgano-diana.²²

Otro parámetro histomorfométrico que también se utilizó, fue el cociente-G, para comprobar el grado de maduración de las fibras nerviosas,²³ presenta los niveles normales en torno a 0.65. Bajos cocientes G (alrededor de 0.4) pueden indicar la degeneración axonal y valores altos (0.7) son señal de que hay regeneración o degeneración mielínicas,²⁴ aunque la relación mielina-axones puede diferir entre nervios similares e incluso en niveles diferentes, de modo que no puede deducirse una medida cuantitativa universal, inflexible, entre el tamaño de los axones y el espesor de la vaina de mielina.²⁵ En este trabajo, la razón obtenida de 0.53 para el grupo SC y 0.52 grupos para el grupo DE no mostró diferencia estadística. A partir de ahí, es razonable concluir que una regeneración mielínica está en marcha, teniendo en cuenta también los resultados obtenidos del área promedio axonal que fueron menores para el grupo SC y para el DE en comparación con el placebo.

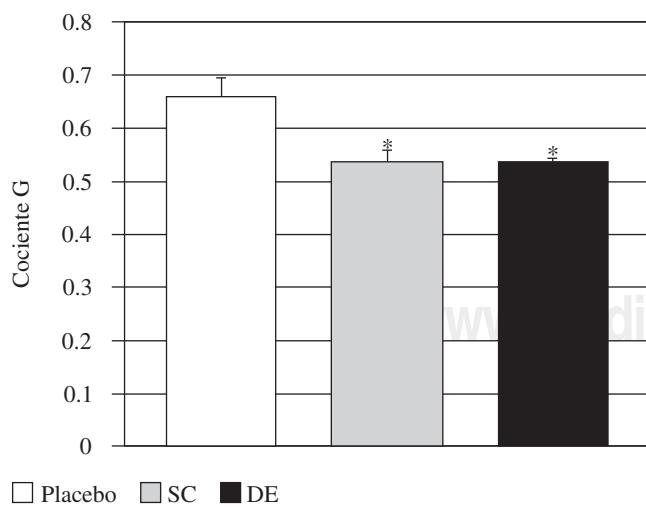
El deslizamiento de la vaina epineural distal demostró ser una alternativa para completar los defectos segmentarios creados en el nervio ciático de ratones. El prescindir de un sitio donador puede ser la principal ventaja de esta técnica, aunque se necesitan más estudios, especialmente en la forma de la evaluación funcional para poner a prueba la posibilidad de aplicación en seres humanos.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Laboratorio de Técnica Operatoria y Cirugía Experimental y al Laboratorio de Patolo-



Gráfica 2. Área media de la sección transversa de las fibras axonales (μm^2) \pm desviación-estándar del ratón de los siguientes grupos experimentales: SC: grupo sometido a la sutura convencional; DE: grupo en el cual el deslizamiento epineural fue realizado; grupo control: ratón sometido a cirugía sin procedimiento microquirúrgico en el nervio. * $p < 0.001$ cuando comparado con el grupo control (ANOVA).



Gráfica 3. La media de dos valores da razón entre el diámetro axonal y el diámetro da fibra nerviosa (Cociente G). * $p < 0.001$ cuando comparado con el grupo control (ANOVA).

gía Experimental de la Pontificia Universidad Católica del Paraná. También agradecer al Prof. Stefano Geuna de la Universidad de Torino, Italia y Prof. Valéria Fazan de la Escuela de Medicina de Ribeirão Preto, USP, Brasil, por sus excelentes contribuciones y al Dr. Juan Esteban Suárez por la traducción al español.

Bibliografía

1. IJkema J, Jansen K, Gramsbergen A, Meek MF: Transection of peripheral nerves, bridging strategies and effect evaluation. *Biomaterials* 2004; 25(9): 1583-92.
2. Birch R, Raji AR: Repair of median and ulnar nerves. Primary suture is best. *J Bone Joint Surg Br* 1991; 73(1): 154-7.
3. Meek MF, Coert JH: Clinical use of nerve conduits in peripheral-nerve repair: review of the literature. *J Reconstr Microsurg* 2002; 18(2): 97-109.
4. Siemionow M, Sari A: A contemporary overview of peripheral nerve research from the Cleveland Clinic microsurgery laboratory. *Neurol Res* 2004; 26(2): 218-25.
5. Barcelos AS, Rodrigues AC, Silva MD, Padovani CR: Inside-out vein graft and inside-out artery graft in rat sciatic nerve repair. *Microsurgery* 2003; 23(1): 66-71.
6. Meek MF, den Dunnen WF, Schakenraad JM, Robinson PH: Evaluation of several techniques to modify denatured muscle tissue to obtain a scaffold for peripheral nerve regeneration. *Biomaterials* 1999; 20(5): 401-8.
7. Weber RA, Breidenbach WC, Brown RE, Jabaley ME, Mass DP: A randomized prospective study of polyglycolic acid conduits for digital nerve reconstruction in humans. *Plast Reconstr Surg* 2000; 106(5): 1036-45; discussion 1046-8.
8. Stanec S, Stanec Z: Ulnar nerve reconstruction with an expanded polytetrafluoroethylene conduit. *Br J Plast Surg* 1998; 51(8): 637-9.
9. Dahlin LB, Anagnostaki L, Lundborg G: Tissue response to silicone tubes used to repair human median and ulnar nerves. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 2001; 35(1): 29-34.
10. Atabay KHC, Heil BV, et al: The use of «sliding epineural sheath tube» for repair of peripheral nerve defects. *Plast Surg Forum* 1995; 18: 121-3.
11. Ayhan S, Yavuzer R, Latifoglu O, Atabay K: Use of the turnover epineurial sheath tube for repair of peripheral nerve gaps. *J Reconstr Microsurg* 2000; 16(5): 371-8.
12. Belkas JS, Shoichet MS, Midha R: Peripheral nerve regeneration through guidance tubes. *Neurol Res* 2004; 26(2): 151-60.
13. Chatdokmaiaprak C, Suwansingh W, Worapongpaiboon S: The turnover distal epineurial sheath tube for repair of peripheral nerve gaps. *J Med Assoc Thai* 2006; 89(5): 663-9.
14. Mackinnon SE, Hudson AR, Hunter DA: Histologic assessment of nerve regeneration in the rat. *Plast Reconstr Surg* 1985; 75(3): 384-8.
15. Geuna S, Gigo-Benato D, Rodrigues A de C: On sampling and sampling errors in histomorphometry of peripheral nerve fibers. *Microsurgery* 2004; 24(1): 72-6.
16. Urso-Baiarda F, Grobbelaar AO: Practical nerve morphometry. *J Neurosci Methods* 2006; 156(1-2): 333-41.
17. Terzis JK, Sun DD, Thanos PK: Historical and basic science review: past, present, and future of nerve repair. *J Reconstr Microsurg* 1997; 13(3): 215-25.
18. Hall S: Axonal regeneration through acellular muscle grafts. *J Anat* 1997; 190 (Pt 1): 57-71.
19. Kingham PJ, Terenghi G: Bioengineered nerve regeneration and muscle reinnervation. *J Anat* 2006; 209(4): 511-26.
20. Battiston B, Geuna S, Ferrero M, Tos P: Nerve repair by means of tubulization: literature review and personal clinical experience comparing biological and synthetic conduits for sensory nerve repair. *Microsurgery* 2005; 25(4): 258-67.
21. Yavuzer R, Ayhan S, Latifoglu O, Atabay K: Turnover epineurial sheath tube in primary repair of peripheral nerves. *Ann Plast Surg* 2002; 48(4): 392-400.
22. Terenghi G: Peripheral nerve regeneration and neurotrophic factors. *J Anat* 1999; 194 (Pt 1): 1-14.
23. Yoshii S, Oka M, Ikeda N, Akagi M, Matsusue Y, Nakamura T: Bridging a peripheral nerve defect using collagen filaments. *J Hand Surg [Am]* 2001; 26(1): 52-9.
24. De Sa JM, Mazzer N, Barbieri CH, Barreira AA: The end-to-side peripheral nerve repair. Functional and morphometric study using the peroneal nerve of rats. *J Neurosci Methods* 2004; 136(1): 45-53.
25. Fraher J, Dockery P: A strong myelin thickness-axon size correlation emerges in developing nerves despite independent growth of both parameters. *J Anat* 1998; 193 (Pt 2): 195-201.