

1 Introduction

Les blessures de nerfs périphériques sont fréquentes et débilantes. En dépit d'une réparation microchirurgicale précise, la réinnervation des cibles motrices est souvent incomplète et la récupération fonctionnelle insuffisante, particulièrement si les axones doivent se régénérer sur une longue distance (Sunderland 1978, Kline 1995). Les déficits moteurs peuvent être dramatiques, surtout pour les blessures proximales. Plusieurs facteurs influencent la régénération des axones, et conséquemment affectent la récupération fonctionnelle après une blessure de nerf périphérique.

1.1 La vitesse de régénération

Les nerfs périphériques ont le potentiel de se régénérer sur une longue distance (Fu 1997). En formant des germes de régénération qui pénètrent les tubes endoneuraux du moignon distal, les axones peuvent s'allonger et réinnerver leurs cibles motrices (English 2007). La régénération de nerfs périphériques peut prendre des mois, même des années. Si on considère la distance des axones qui se régénèrent d'un plexus brachial blessé, les axones peuvent prendre jusqu'à 800 jours avant de rejoindre les doigts (Gordon 2003). Cependant, même à une vitesse de régénération de 3 millimètres par jour, plusieurs axones qui auraient dû se régénérer sur une distance de 25 millimètres en 2 à 3 semaines, ne le font pas jusqu'à ce que 8 à 10 semaines se soient écoulées (Al Majed 2000b, Gutmann 1942, Sunderland 1947, 1978). Ce délai est dû à la croissance des axones à travers le site de réparation : ceux-ci nécessitant une période d'environ 1 mois chez le rat (Brushart 2002). En fait, la croissance des axones à travers le site de réparation chirurgicale est lente et asynchronisée. Les axones assument des trajets tortueux en essayant de traverser le site d'anastomose (Gordon 2003, Al Majed 2004, Brushart 1983, 2005). Le terme "régénération axonale décalée" (*staggered axonal regeneration*) a été conçu pour décrire la croissance progressive des axones à travers cet écart (Gordon 2009b).

1.1.1 La survie et la réponse des neurones axotomisés

Le processus de régénération nerveuse est complexe et implique une variété de facteurs. Ceux-ci se rapportent aux neurones elles-mêmes, à l'environnement de croissance des axones et aux cibles de ces derniers. Les motoneurones doivent d'abord survivre l'insulte et par la suite générer une réponse métabolique afin d'initier la régénération. L'environnement autour des axones doit aussi être propice à la croissance et à la régénération. Et finalement, les axones doivent rejoindre les cibles appropriées; ces cibles doivent accepter les nouveaux axones (Fu 1997).

La mort des motoneurones avait été proposée comme explication des faibles récupérations motrices après des blessures de nerfs périphériques. Cependant, la survie de motoneurones a été démontrée après plus d'un an après axotomie (Gordon 2010a). Le premier pré-requis pour la régénération axonale est la survie des motoneurones. Chez l'adulte, la majorité des motoneurones survivront l'axotomie (Liuzzi 1991, Melville 1989). Cette survie des motoneurones dépend de facteurs : l'âge et la proximité de l'insulte par rapport au corps cellulaire (Fu 1997). De fait, la distance de la blessure par rapport au corps cellulaire semble être le facteur le plus important influençant la survie des neurones (Fu 1997).

Le développement, l'entretien et la plasticité des nerfs périphériques sont maintenus par des polypeptides semblables en structure et fonction nommés neurotrophines (Sendtner 1992, Fu 1997, Terenghi 1999). Après une blessure, les motoneurones engendrent une importante réponse régénérative. Des gènes associés à la régénération (GARs) et les neurotrophines sont exprimés par les corps neuronaux en association avec la régénération des axones (Al Majed 2000a, Boyd 2003, Tetzlaff 1996). Ces facteurs, responsables pour la survie à long-terme des neurones, sont produits et relâchés par les cellules environnantes telles les cellules gliales, les fibroblastes et les macrophages (Richardson 1991). Le facteur

neurotrophique BDNF (*brain derived neurotrophic factor*), NGF (*nerve growth factor*), NT-3 (*neurotrophin-3*) et NT-4/5 sont quelques facteurs neurotrophiques relâchés, pour en nommer quelques exemples (Fu 1997, Terenghi 1999, Yin 1998).

Ces facteurs neurotrophiques sont essentiels pour la survie des neurones axotomisés (Fu 1997). Comme les axones échouent à se régénérer, l'expression des gènes associés à la régénération et des facteurs neurotrophiques diminue avec le temps. Le déclin progressif de la capacité de régénération est associé à une période limitée durant laquelle les neurones et les cellules environnantes peuvent soutenir la capacité régénérative des neurones par l'expression de ces facteurs (Boyd 2001, 2002, Fu 1995a, b, 1997, Gordon 1993, 2005). Autrement dit, le déclin progressif de la capacité de régénération suit un cours parallèle à l'expression de ces facteurs par les neurones et cellules environnantes qui, tous deux, diminuent dans le temps (Boyd 2001, Fu 1997, Gordon 2003). Ceci explique l'échec des motoneurones à se régénérer sur une longue période de temps, et conséquemment n'atteignent pas leurs muscles cibles (Hall 1999, Hoke 2002, Tetzlaff 1996).

De plus, l'atrophie de dénervation des cibles a longtemps été vue comme la contrainte majeure menant à une faible récupération fonctionnelle après blessure nerveuse périphérique (Sunderland 1978). Pourtant, il y a eu des rapports de récupération fonctionnelle après de très longues périodes de temps (Gordon 2009b). En fait, on a démontré une récupération fonctionnelle progressive jusqu'à 5 ans après la blessure initiale (Kim 2003).

1.1.2 *La croissance des axones*

Un autre facteur qui entrave la régénération axonale est la croissance erronée (*misdirection*). Celle-ci est accentuée après des blessures nerveuses plus proximales, telles les blessures des plexus brachiaux et lombaires (Gentili 1996). Lorsque les axones se

régénèrent, on observe une croissance de processus collatéraux à la fois aux muscles et à la peau (Brushart 2005). C'est à dire que les cibles cutanées et motrices sont parallèlement réinnervés alors que l'axone tente de pénétrer sélectivement les canaux de cellules de Schwann du moignon distal. Aux étapes initiales de la régénération d'un motoneurone, un nombre similaire d'axones des motoneurones se projettent correctement aux muscles et incorrectement à la peau. S'opèrerait ensuite selon certains auteurs, un processus nommé la ré-innervation préférentielle motrice (Brushart 1988). Selon cette théorie, un processus de sélection par lequel les axones moteurs collatéraux incorrectement projetés dans les canaux menant à la peau seraient élagués (*pruned*) suivrait. Le résultat net serait donc une ré-innervation préférentielle motrice, non pas par une projection préférentielle, mais par une moins forte propension à élaguer les processus collatéraux projetés aux muscles (Brushart 1988, 1993).

La ré-innervation préférentielle motrice ne serait cependant pas parfaite. Malgré ce processus, il existe tout de même des axones des motoneurones du moignon proximal qui se régénéreront dans des voies distales inappropriées après l'axotomie (Sunderland 1978, Kline 1995). Par exemple, des cônes de croissance d'axones sensibles peuvent pénétrer des canaux de cellules de Schwann du moignon distal dirigés aux muscles. Ces processus axonaux n'établissent pas de contacts fonctionnels avec les muscles cibles mais empêchent plutôt la régénérescence axonale motrice appropriée (Brushart 1988). La croissance erronée qui en découle mène à une récupération fonctionnelle réduite. Ultiment, celle-ci peut engendrer des mouvements inappropriés et parfois même des syncinésies (*synkinesia*) (Sunderland 1978, Kline 1995, Choi 2002).

De façon courante, les patients souffrant de blessures nerveuses ne se présentent pas toujours immédiatement après les blessures. Une période d'observation clinique est souvent justifiée. Le délai impliqué dans l'attente d'observer pour de l'évidence clinique ou électrophysiologique d'une récupération fonctionnelle avant l'intervention chirurgicale peut

mener à cette perte de la capacité de régénération des neurones et de l'environnement appuyant la régénération axonale dans le moignon distal (Godon 2009a). Cliniquement, la somme d'une réparation différée du nerf lésé et de la régénération lente des axones résulte en une diminution progressive de la capacité des neurones de se régénérer. De plus, l'axotomie chronique entraîne une diminution de la capacité des cellules Schwann de maintenir un environnement de soutien pour les axones qui se régénèrent (Boyd 2002, Fu 1995a, b, Gordon 2003, Sulaiman 2000, 2002, 2009).

1.2 Modalités pour améliorer la régénération nerveuse

Plusieurs auteurs ont tenté de trouver des modalités qui amélioreraient la régénération axonale. Lorsque les neurones demeurent sans cibles pour des périodes prolongées lors de la régénération axonale et que les cellules Schwann dans le moignon distal demeurent chroniquement dénervés, le nombre de motoneurones qui régénèrent ses axones est réduit. Connaissant l'importance de l'expression de facteurs neurotrophiques pour la régénération axonale, Boyd et al (2002) ont étudié l'efficacité du BDNF exogène pour contrer les effets de l'axotomie chronique. BDNF exogène appliqué au site de réparation chirurgicale des nerfs péronéens communs axotomisés n'a pas amélioré la régénération axonale (Boyd 2002).

En plus des facteurs neurotrophiques pour contrer les effets négatifs de l'axotomie chronique, les effets régénératifs du ligand immunophiline, FK506, ont aussi été démontrés. Le ligand immunophiline FK506, généralement utilisé pour la prévention du rejet après la transplantation d'organes, a aussi une capacité d'accélérer la vitesse de régénération nerveuse (Sulaiman 2002). De fait, il est connu que ce facteur exprime des propriétés neurotrophiques et neuroprotectrices (Gold 1995). Sur cette prémisse, Sulaiman et collègues (2002) ont injecté quotidiennement FK506 au nerf périphérique axotomisé du rat. Leur

étude a démontré une amélioration du nombre d'axones moteurs régénérés ainsi qu'une augmentation du nombre d'axones myélinisés.

Autres composés ont été testés pour la régénération nerveuse : chondroitinase ABC, deferroxamine (DFO), MDP77 humain recombiné, avec des résultats variables (Itoh 2004, Beaumont 2009, Sinis 2009). Plus récemment, English et collègues (2009) ont utilisé l'entraînement sur tapis roulant pour la récupération du nerf péronéen après l'axotomie du nerf sciatique. McCraig et collègues (1990, 1992) et Kelleher et collègues (2006) ont étudié l'application de champs magnétiques appliqués aux nerfs périphériques. Une revue systématique des traitements adjuvants pour la régénération nerveuse chez les rongeurs a conclu qu'une variété importante de traitements existait avec des protocoles variés (Wang 2013).

1.3 La stimulation électrique

L'utilisation d'un courant électrique pour améliorer la régénération de nerfs périphériques peut être retracée au 19e siècle (Brushart 2002). On a démontré que l'application de champs électriques promouvait la croissance de neurites vers la cathode en cultures cellulaires (Sisken 1993). La vitesse et l'orientation de la croissance de neurites, la vitesse de formation de neurites et la direction lors de la régénération axonale sont des propriétés fonctionnelles et morphologiques qui sont affectées par l'application de la stimulation électrique (Borgen 1999, 1981, Manivannan 1994, Patel 1982).

L'application de la stimulation électrique avait comme objectif de réduire les changements aux muscles cibles induits par la dénervation après une blessure nerveuse (Ahlborn 2007). L'atrophie et la réduction de l'excitabilité des muscles cibles résultant de la dénervation et la non-utilisation peuvent être contrées avec la stimulation électrique (Eberstein 1996, Kern

2002, Salmons 2005). Malgré un manque de preuve scientifique pour appuyer l'utilisation de la stimulation électrique, il y a eu une longue histoire de l'utilisation clinique après blessures nerveuses pour maintenir la masse musculaire dénervée et circonvier des contractures qui seraient nuisibles au mouvement articulaire (Gordon 2007).

L'application de la stimulation électrique aux nerfs blessés a été étudiée comme alternative à la stimulation des muscles. Nix (1983) et Pockett (1985) ont observé que la stimulation électrique appliquée directement sur le nerf lésé après un écrasement du nerf sciatique chez les lapins et les rats a des bénéfices pour la récupération fonctionnelle. Une stimulation quotidienne du nerf sciatique écrasé pour des périodes de 5 à 60 minutes, initiée immédiatement après la blessure, accélère la récupération de la force de saccade, la tension tétanique, le potentiel d'action musculaire et la récupération du réflexe d'écartement des orteils (Nix 1983, Pockett 1985). Autres études préliminaires ont démontré une amélioration des paramètres électrophysiologiques après la transection du nerf sciatique (McDevitt 1987). Malgré ces résultats prometteurs, une mesure directe et une quantification des axones régénérés n'avaient pas été démontrées (Gordon 2009b). De plus, les protocoles de stimulation variaient énormément et une corrélation clinique était difficile à établir.

1.3.1 Un protocole cliniquement applicable

Afin de faciliter l'utilisation de la stimulation électrique, une variété de protocoles a été étudiées : la stimulation électrique appliquée directement au nerf lésé pour 1 heure, 1 jour, 7 jours et 14 jours a été démontré également efficaces à augmenter le nombre d'axones régénérées (Al Majed 2000b). Dans leur étude, Al Majed et collègues (2000b) ont choisi de stimuler pour 2 semaines

Quelques études ont confirmé que l'administration unique de la stimulation électrique immédiatement après la blessure est aussi efficace que la stimulation long-terme pour

améliorer la régénération axonale (Gordon 2007, Okazaki 2008, Asenio-Pinilla 2009). Agnew et collègues ont démontré que l'application de la stimulation électrique à plus haute fréquence (plus de 50 Hz), peut induire une blessure neurale et une dégénération axonale. Cette dernière ralentira la croissance et la remyélinisation des axones blessés. La fréquence de stimulation de 20 Hz a donc été choisie afin de refléter la fréquence de décharge des neurones des membres (Loeb 1987, Suzuki 2005, West 2001). Par conséquent, le protocole préféré est développé: application unique d'une heure de stimulation électrique à 20 Hz du moignon proximal immédiatement après la réparation chirurgicale (Ahlborn 2007, Al-Majed 2000, Alrashdan 2010, 2011, Asenio-Pinilla 2009, Beaumont 2009, Brushart 2002, 2005, English 2007, Foecking 2012, Geremia 2007, Hadlock 2010, Okazaki 2008, Singh 2012, Vivo 2008, Wan 2010, Wang 2009).

1.3.2 La stimulation électrique accélère la formation de neurites

Pocket (1985) a déjà rapporté que la stimulation électrique appliquée au nerf sciatique lésé chez le rat accélérât l'apparition du réflex d'écartement des orteils : un indicateur du début de la récupération motrice. Chez le rat, la stimulation électrique du moignon proximal à 20 Hz appliquée immédiatement après la réparation chirurgicale du nerf fémoral, a promu la régénération de tous les axones moteurs à travers l'écart chirurgical en 3 semaines quand les axones non-stimulés ont pris 8 à 10 semaines à rejoindre ce même niveau (Al Majed 2000b). Singh et collègues (2012) ont aussi démontré une accélération de la reconstitution du pont entre le moignon proximal et distal.

Particulièrement, la stimulation électrique brève (pour une heure) promouvait une plus grande croissance de neurites et un plus grand nombre de neurones portant ces neurites (Singh 2012, Sharma 2009, Hetzler 2008). Cela démontre une réduction du délai initial de la régénération axonale par une formation de neurites accélérée et ainsi précipite la régénération d'axones à travers le site chirurgical. Par conséquent, la stimulation électrique

réduit la durée de la période de régénération axonale décalée de croissance à travers le site chirurgical (Al Majed 2000b, Brushart 2002). La croissance accélérée à travers le site chirurgical a aussi été rapportée chez la souris (Ahlborn 2007, English 2007).

1.3.3 La stimulation électrique augmente le nombre d'axones de régénérés

Roman et collègues (1978) ont démontré que la stimulation électrique directe, après la transection du nerf sciatique du rat, promouvait de plus grands ponts neuronaux et en plus grands nombres. Les études histologiques des nouveaux ponts neuronaux formés par les axones régénérés ont établi que la stimulation électrique appliquée directement au nerf blessé augmente le nombre d'axones régénérés distal à la lésion (Singh 2012, Asenio-Pinilla 2009, English 2007). De plus, les décomptes moyens de neurones avec tracé rétrograde, ont révélé un plus grand nombre d'axones régénérés chez les rongeurs qui ont reçu le traitement lorsque comparés au groupe contrôle après un écrasement du nerf sciatique chez le rat (Alrashdan 2010, 2011). En fait, Al Majed et al (2000b) et Brushart et al (2002) ont démontré que la stimulation électrique a promu la régénération de toutes les motoneurones. La stimulation électrique a aussi augmenté le nombre d'axones sensoriels régénérés (Geremia 2007). Ces études confirment que la stimulation électrique améliore le nombre d'axones qui se régénèrent après une blessure de nerf périphérique en altérant la réponse du nerf lésé. La stimulation électrique incite aussi les motoneurones à se propager à travers le site chirurgical et pénétrer le moignon distal plus rapidement (Brushart 2002).

1.3.4 La stimulation électrique améliore la remyélinisation

Les coupes histologiques des axones régénérés suite à la stimulation électrique ont aussi été étudiées. Ces études ont démontré que les neurones traités avec la stimulation électrique démontrent les signes de myélinisation précoce (Singh 2012). Les axones traités présentent aussi moins d'œdème et ont une formation de myéline plus avancée (Mendonca 2003, Wan

2010). Plus spécifiquement, les nerfs stimulés démontrent une augmentation du nombre de fibres myélinisées quand comparés aux nerfs contrôles (Asenio Pinilla 2009, Beaumont 2009, Vivo 2008, Singh 2012). Ces fibres myélinisées du groupe stimulation électrique présentent aussi une couche de myéline plus épaisse (Alrashdan 2010, 2011, Ahlborn 2007, Wan 2010). Ces trouvailles suggèrent que la stimulation électrique incite une myélinisation précoce et plus importante chez ces axones régénérés.

1.3.5 La stimulation électrique améliore la précision de la régénération

Par ailleurs, la stimulation électrique a été démontrée que non seulement elle incitait la régénération axonale à travers le site chirurgical, mais aussi elle améliorait la précision de la régénération axonale (Al Majed 2000b). La stimulation électrique augmente le nombre d'axones de motoneurones qui pénètrent et se régénèrent dans les canaux de cellules Schwann menant aux muscles appropriés et non dans les voies cutanées inappropriées. Le pourcentage d'axones moteurs correctement projetées vers les muscles après la blessure était augmenté avec la stimulation électrique (Brushart 2005, Wang 2009). Par contre, le nombre de branches sensorielles inappropriées demeurait statique (Al Majed 2000b). Celle-ci se traduit en une réinnervation motrice préférentielle accélérée par la stimulation électrique (Al Majed 2000b; Brushart 1983, 2002). La stimulation électrique encourage donc un comportement plutôt sélectif au lieu d'un comportement aléatoire des axones qui se régénèrent (Brushart 2005). Autrement dit, la stimulation électrique aide à rétablir une distribution axonale normale en guidant les axones à trouver leur conduit Schwann approprié.

1.3.6 La stimulation électrique rehausse la récupération électrophysiologique

Plusieurs études ont confirmé l'amélioration de l'activité électromyographique avec la stimulation électrique. Les tests électrophysiologiques mesurent la récupération

fonctionnelle des fibres les plus rapides et dépendent largement du diamètre des fibres ainsi que de la myélinisation (Hursh 1939, Dorfman 1990, Vleggeert-Lankamp 2007). Les nerfs traités par la stimulation électrique ont démontré l'amélioration et l'accélération de la récupération de l'activité EMG *in vivo* (Beaumont 2009). Alrashdan et collègues (2010) ont aussi démontré des vitesses de conduction motrice deux fois les valeurs des groupes contrôles, indiquant une régénération plus efficace.

L'amplitude CMAP (*compound muscle action potential*) est un indicateur fiable du nombre de fibres musculaires réinnervées par les axones régénérés (Nix 1983). Celle-ci reflète le nombre et la maturation des motoneurons qui sont reconnectés aux muscles distaux à la blessure (Singh 2012). Vivo et collègues (2008) et Singh et collègues (2012) ont rapporté une réapparition des CMAP et une amplitude moyenne plus élevée chez les groupes traités avec la stimulation électrique comparée aux contrôles. Les latences de CMAP étaient aussi diminuées dans le groupe stimulation électrique comparé aux groupes contrôle (Asenio-Pinilla 2009).

1.3.7 La stimulation électrique accélère la récupération fonctionnelle

Des études fonctionnelles ont confirmé les effets positifs de la stimulation électrique pour la régénération de nerfs périphériques. La stimulation électrique du nerf fémoral lésé chez les souris a mené à une récupération locomotrice accélérée (Ahlborn 2007). Ces auteurs ont démontré que la stimulation électrique a diminué l'handicap induit par la blessure considérablement plus rapidement que le groupe contrôle (Ahlborn 2007, Alrashdan 2010, 2011, Beaumont 2009, Foecking 2012, Hadlock 2010).

L'index fonctionnel sciatique (IFS), un outil d'évaluation de la récupération fonctionnelle de la blessure du nerf sciatique chez le rongeur, était significativement amélioré chez les rats traités par la stimulation électrique (Alrashdan 2010, 2011). La stimulation électrique

appliquée au nerf fémoral blessé chez le rat au moment de la réparation, a été démontrée favorable pour établir la réinnervation fonctionnelle musculaire en établissant la force musculaire et une meilleure excursion de l'angle HCO (hanches-chevilles-orteils) lors de la marche (Beaumont 2009). La stimulation électrique a aussi accéléré la récupération des réflexes et des contractions musculaires suscités par la stimulation du nerf (Asenio-Pinilla 2009, Beaumont 2009).

Le progrès fonctionnel a aussi été démontré chez le rat qui avait une blessure du nerf facial. Hadlock et collègues (2010) ont trouvé que la stimulation électrique induit des améliorations significatives des paramètres de fouettement des vibrisses après l'écrasement et la transection du nerf facial. Dans ce même modèle, une séance unique de stimulation électrique a été efficace à accélérer la récupération complète du mouvement des vibrisses (Foecking 2012).

1.3.8 La stimulation électrique améliore la régénération sur une longue distance

La régénération peut être extrêmement difficile quand un trauma ou une résection tumorale mène à un déficit important entre les deux moignons (Haastert-Talini 2011). Quelques études décrivent une accélération de la récupération axonale et fonctionnelle en appliquant la stimulation électrique avec une reconstruction d'un déficit de 10 millimètres du nerf fémoral chez le rat par autotransplantation (Huang 2009), de 13 millimètres du nerf sciatique du rat par autotransplantation (Haastert-Talini 2011) et de 15 millimètres du nerf sciatique par micro-conduit (Huang 2010b). La stimulation électrique brève avant la reconstruction d'un déficit important, appliquée au moignon proximal, réussit à déclencher le processus de régénération et appuie suffisamment la régénération sur une longue distance et sur la reconnexion fonctionnelle des axones moteurs (Haastert-Talini 2011, Huang 2010b).

À l'examen des ponts axonaux à travers un déficit de 10 millimètres avec un conduit de silicone, Chen et collègues (2001) ont rapporté une densité axonale significativement plus grande chez les nerfs traités de stimulation électrique. De plus, les nerfs, stimulés chez un modèle avec déficit de 10 millimètres, ont démontré une surface significativement plus grande avec plus d'axones myélinisées et des résultats électrophysiologiques améliorés (Lu 2008, Yeh 2010, Yao 2012). Huang et collègues (2012) ont investigué l'application de la stimulation électrique dans un modèle de déficit de 15 millimètres reconstruit avec un échafaud conducteur; ils ont trouvé que la régénération et la remyélinisation étaient significativement rehaussées. Ces résultats indiquent que la stimulation électrique brève peut être un outil utile pour accélérer la régénération même dans des conditions plus difficiles comme un déficit nerveuse important.

1.4 La stimulation électrique transcutanée

Dans un contexte clinique, afin de délivrer la stimulation au nerf opéré, la stimulation électrique implique l'utilisation d'électrodes implantées ou une prolongation du temps opératoire. Le tout peut mener à un taux plus élevé de complications. La stimulation électrique transcutanée, habituellement utilisée pour traiter la douleur neuropathique, a le potentiel d'application clinique en blessure de nerfs périphériques (Leem 1995, Latinovic 2006).

Baptista et al (2008) ont étudié l'utilisation de la stimulation électrique transcutanée après l'écrasement du nerf sciatique chez la souris. Le protocole utilisé consistait de 20 minutes de stimulation à haute fréquence (100 Hz) ou à basse fréquence (4 Hz), 5 jours par semaine pendant 5 semaines. Leur étude a conclu que les nerfs qui ont reçu la stimulation transcutanée démontraient plus de signes d'œdème et une cytoarchitecture moins organisée. De plus, les nerfs traités ont démontré moins de fibres myélinisées et une

myélinisation moins épaisse. Par contre, leur protocole n'est pas celui utilisé par la multitude d'études démontrant les effets bénéfiques.

2 Objectifs

Déterminer si l'application unique de la stimulation électrique transcutanée à 20 Hz est aussi efficace pour la récupération fonctionnelle que la stimulation électrique directe après la transection du nerf sciatique chez la souris.

3 Méthodologie

Toutes les procédures ont été pratiquées selon les recommandations du Conseil Canadien de protection des animaux. Le protocole a reçu l'approbation du Comité d'éthique de l'expérimentation animale de l'Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal.

3.1 Chirurgies

Quatre groupes de souris (C57bl/6) sont étudiés (n=28, 20-30 g):

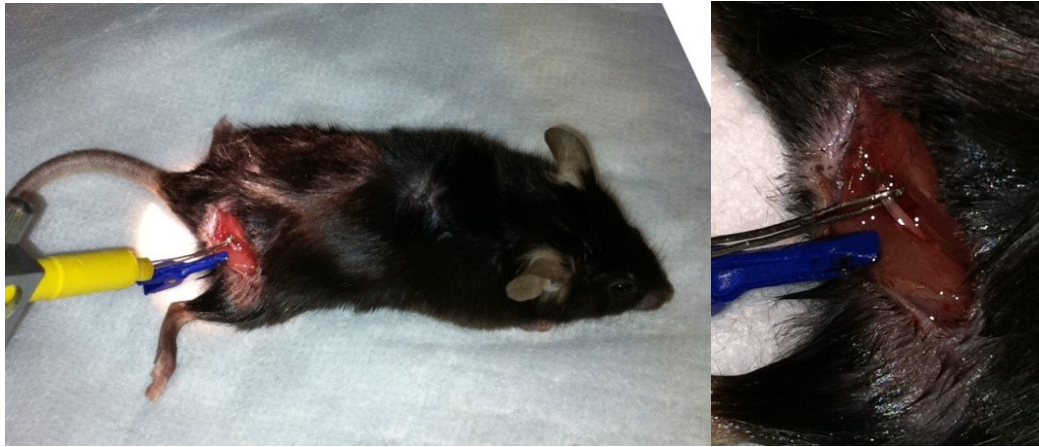
- 1) Sham (n=4);
- 2) Axotomie (A) et suture (S) (n=8);
- 3) A + S et stimulation électrique directe (SED) (n=8);
- 4) A + S et stimulation électrique transcutanée (SETC) (n=8)

Les souris sont anesthésiées avec de la kétamine/xylazine (120/10mg/kg) et placées sur une couverture chauffante afin de prévenir l'hypothermie. Les souris sont placées en décubitus

ventral avec la jambe droite angulée à 45° de l'axe longitudinal du corps. La jambe droite est rasée de la colonne lombaire à la cheville. De la proviodine est appliquée. La jambe est disséquée jusqu'au nerf sciatique. Le nerf sciatique est exposé. Pour les groupes 2, 3, et 4, le nerf est sectionné à 1 cm distal à son origine au niveau de la colonne vertébrale et réanastomosé avec 2 sutures épineurales simples au neurilon 10.0 (0–180 degrés).

3.2 Traitements

Les souris du groupe 1 (Sham) ont subi la chirurgie mais n'ont pas eu d'axotomie ni de stimulation électrique. Pour les souris du groupe 2 (A+S), après l'axotomie et neurroraphie, la peau est simplement refermée à l'aide de points simples à la soie 4-0. Aucun traitement n'est appliqué. Pour les souris du groupe 3 (A+S+SED), après l'axotomie et neurroraphie, une électrode est placée directement sur le nerf proximale à la transection du nerf sciatique. Le nerf est ensuite stimulé à 20 Hz avec une durée pulsatile de 0.1-ms pendant 1 heure. L'intensité est ajustée au seuil moteur sous-maximal. Après la stimulation, la peau est refermée avec des points simples de soie 4-0. Pour les souris du groupe 4 (A+S+SETC), la peau est refermée après l'axotomie et neurroraphie. Les électrodes du stimulateur transcutané sont placées sur la peau superposant la lésion du nerf sciatique. La stimulation est appliquée au seuil moteur sous-maximale pendant 1 heure (20 Hz, durée pulsatile 0,1 ms). Aussi, pour prévenir la déshydratation, une administration de 0.5 ml de saline stérile est injectée suivant la chirurgie de toutes les souris.



A



B

Figure 1 : Photo du traitement par stimulation électrique

Images illustrant l'application de la stimulation électrique directe (A) avec l'électrode appliqué directement sur le nerf sciatique lésé et neurorraphié; ou transcutanée (B) avec les électrodes du stimulateur transcutané appliqués superposant le nerf sciatique lésé.

3.3 Cinématique

Une semaine avant la chirurgie, toutes les souris sont soumises à un entraînement sur la piste d'évaluation consistant d'une poutre de 2.5 centimètres par 60 centimètres dans un corridor acrylique. Un dôme venant de la cage des souris est placé au bout du corridor afin d'inciter la marche en direction du dôme. La présence du dôme est un stimulus important attirant les animaux à marcher sans faire de pauses exploratrices.



Figure 2 : Démarche sur la poutre

Le dôme, venant de la cage de chacune des souris, sert de stimulus incitatif afin d'encourager une démarche constante vers la cible.

Des vues postérieures et inférieures sont prises pour analyse par le système cinématique vidéo MaxTraq MaxMate (Innovision Systems, Columbiaville, MI). La démarche sur la poutre

des souris est enregistrée aux jours 0 (avant la lésion) ainsi qu'à la semaine 1, 2, 4, 6, 8, 10 et 12 après la lésion.

3.3.1 *Index Fonctionnel Sciatique*

Il existe une variété de méthodes d'évaluation de la régénération nerveuse : histologie, morphologie, électrophysiologie, traceur rétrograde pour en nommer quelques unes. Ces techniques évaluent la morphologie de la régénération mais ne représentent pas la récupération fonctionnelle pratique (Shen 1995). Le but ultime de la recherche de blessures de nerfs périphériques est d'obtenir une récupération fonctionnelle. Il est donc primordial qu'une évaluation fiable de la récupération fonctionnelle soit faite.

En 1982, de Medinaceli et collègues ont initié l'utilisation de l'index sciatique fonctionnel. Depuis, Carlton et Goldberg (1986) ainsi que Bain (1989) et collègues ont modifié la formule. Shen et collègues (1995) ont réévalué l'index sciatique fonctionnel afin de déterminer la fiabilité. Leur étude démontre que l'index sciatique fonctionnel est positivement corrélé à d'autres indices de récupération fonctionnelle tels le potentiel d'action musculaire, la vitesse de conduction nerveuse, ainsi que l'épaisseur de la couche de myéline entourant les axones régénérés. Ces résultats indiquent que l'index sciatique fonctionnel est un outil fiable indiquant la récupération fonctionnelle. Plusieurs études ont ensuite confirmé la fiabilité de cette technique pour l'évaluation de la récupération après une blessure du nerf sciatique chez le rongeur. Celui-ci est mesuré en utilisant les empreintes digitales lors de la démarche au cours de la récupération sciatique. Cette dernière reflète la fonction coordonnée des muscles du membre inférieur.

Afin d'obtenir les empreintes, les pieds sont trempés dans de la peinture et le rongeur est placé dans un corridor tapissé d'un papier ou d'un film rayon-X. Une fois les empreintes enregistrées, plusieurs mesures sont prises entre différents repères anatomiques et elles

sont ensuite incorporées dans la formule de l'index sciatique fonctionnel. Cette technique était le *goldstandard* jusqu'à quelques années passées. Une nouvelle technique plus précise utilise un montage digital d'analyse de démarche. Ces méthodes sont maintenant utilisées comme technique d'investigation dans les études de nerfs périphériques (Dijkstra 2000, Varejao 2003).

Dans notre étude, les empreintes de la démarche sont enregistrées à l'aide d'une vue inférieure dans le corridor acrylique. Trois empreintes du côté normale (N) et expérimentale (E) pour chaque souris sont choisies de façon aléatoire pour le calcul de l'index fonctionnel sciatique à chaque intervalle de temps par le même observateur au cours de l'étude. Les mesures suivantes ont été prises pour chaque empreinte : la longueur de l'empreinte (PL – la distance entre le bout du plus long orteil et le talon), l'écartement des orteils (TS – la distance entre le premier et le dernier orteil), et l'écartement des orteils intermédiaires (IT – la distance entre les 2^e et 4^e orteils). Ces mesures sont ensuite introduites dans la formule modifiée par Bain et al afin d'obtenir la valeur de l'Index Fonctionnel Sciatique (IFS).

$$\text{SFI} = -38.3 \left(\frac{\text{EPL} - \text{NPL}}{\text{NPL}} \right) + 109.5 \left(\frac{\text{ETS} - \text{NTS}}{\text{NTS}} \right) + 13.3 \left(\frac{\text{EIT} - \text{NIT}}{\text{NIT}} \right) - 8.8.$$

Figure 3 : Formule de l'index fonctionnel sciatique

Les mesures sont prises au niveau des empreintes enregistrées et insérées dans la formule afin de calculer l'index fonctionnel sciatique (Shen 1995, Bain 1989).

La valeur de l'*index fonctionnel sciatique* indique la fonction nerveuse: une valeur se rapprochant de -100 indique une perte totale de la fonction et une valeur se rapprochant du 0 indique une fonction normale (Bain 1989).

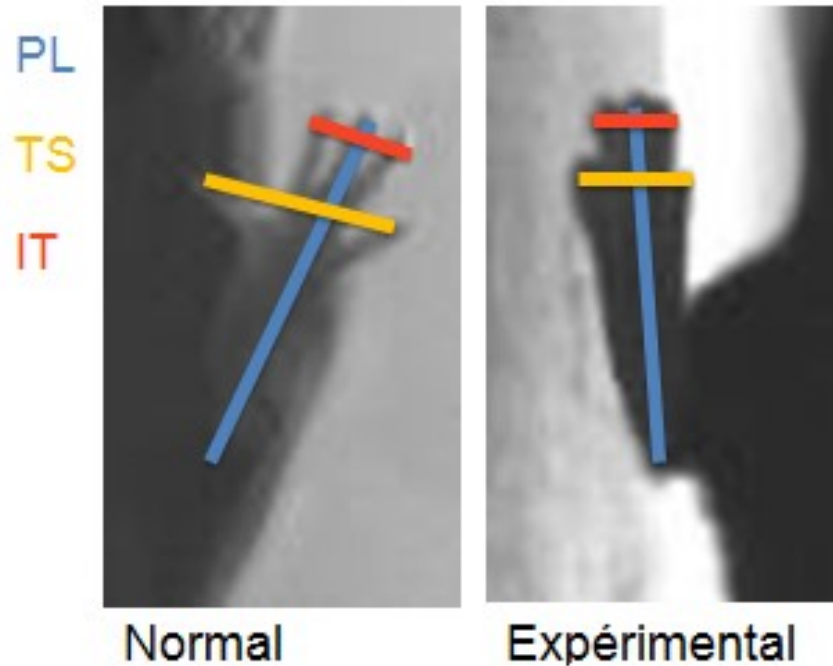


Figure 4 : Mesures d'empreintes pour l'index fonctionnel sciatique

Exemple de mesures prises pour le calcul de l'index fonctionnel sciatique; à gauche une souris sans lésion nerveuse sciatique et à droite, une souris ayant subi une lésion nerveuse sciatique.

3.3.2 Angle de décollement

Afin d'évaluer les différents muscles de la locomotion chez le rongeur, l'angle de décollement est aussi utile. La vue postérieure permet le calcul de l'angle de décollement (*foot-base angle*) (Irintchev 2005). Celui-ci est mesuré à la position de décollement des orteils lorsque la plante est parallèle au plan transversal (Irintchev 2005). L'angle est mesuré entre la poutre et l'axe du pied.



Figure 5: Mesure de l'angle de décollement
Mesure entre l'axe du pied et l'axe de la poutre.

La position de décollement des pattes intactes est en rotation externe dans le plan transversal. Ceci correspond à un angle de décollement se rapprochant de 90 degrés. Après une blessure du nerf sciatique, la patte est en rotation interne. Cela étant dit, lorsque la patte est décollée lors de la démarche, celle-ci est notamment levée vers l'extérieur (Figure 5). Cette modification au niveau de la démarche correspond à un angle de décollement altéré, c'est-à-dire un angle de décollement plus aigu tel qu'illustré à la Figure 6.

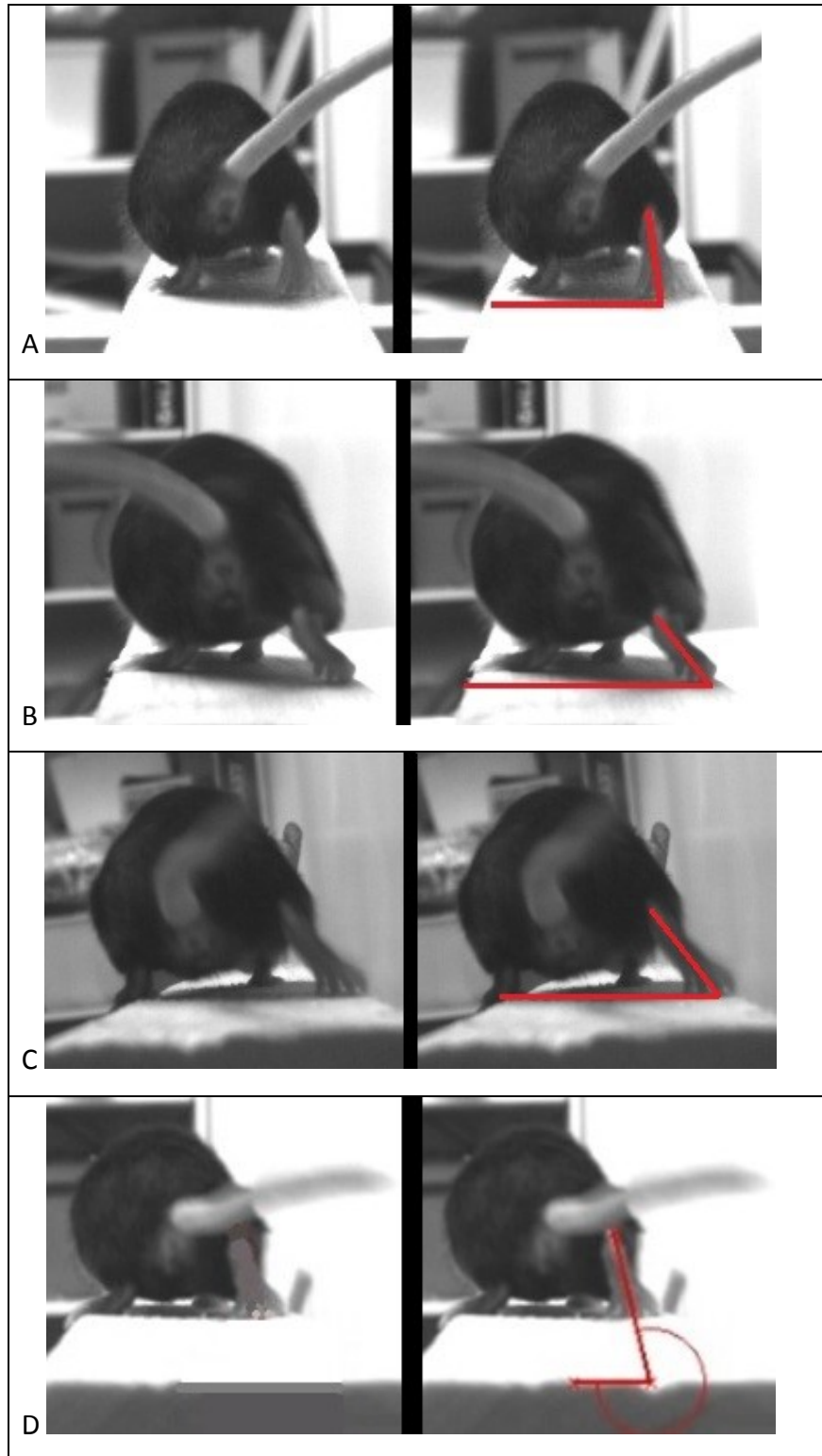


Figure 6 : Angle de décollement

Mesures exemplaires de l'angle de décollement. Après une lésion du nerf sciatique, l'angle de décollement devient plus aigu. Tout au long de la récupération, l'angle de décollement s'améliore – se rapprochant de sa valeur de base (90 degrés)

A- Pré-lacération, B- 1 semaine post-lacération du nerf sciatique droit, C- 6 semaines post-lacération, D- 12 semaines post-lacération.

3.4 Électrophysiologie

3.4.1 Électromyographie

A la 12^e semaine suivant la blessure initiale, le nerf sciatique est réexposé par la même incision sous anesthésie kétamine/xylazine (120/10 mg/kg). Le muscle gastrocnémien et le triceps sural sont exposés. L'électrode positif EMG est positionné dans la masse du muscle gastrocnémien et l'électrode négatif positionné près du tendon distal du triceps. Le nerf sciatique est ensuite stimulé proximal au site de blessure par des pulsations simples d'une durée de 1 ms à 5 V. Les réponses EMG sont mesurées pour les latences entre le début du stimulus à la première déflexion de la ligne de base dans une direction ou l'autre.

3.4.2 Force musculaire

Pour déterminer la force musculaire, le tendon distal du triceps est attaché à un transducteur de force (Grass, Foster City, CA) avec une suture 2-0. Le triceps est étiré en utilisant un micromanipulateur jusqu'à ce que l'amplitude de force maximale soit enregistrée.

Les examens électrophysiologiques ont été faits aussi sur les pattes droites et gauches de 3 souris normales afin d'obtenir des valeurs normales à fin de comparaison.

4 Analyse des données

Le “student T-test” a été utilisé afin de comparer les valeurs des groupes. Une valeur de p inférieure à 0.05 est considérée statistiquement significative.

5 Résultats

La cinématique lors de la démarche, la force musculaire et l’activité EMG ont été analysées et comparées entre les groupes expérimentaux ainsi qu’avec le groupe contrôle. Sauf deux, toutes les souris ont survécu. Celles-ci ont dû être sacrifiées à la 11^e semaine en raison d’un trouble ataxique. Aucune souris n’a subi d’infection de plaie. L’automutilation a été observée chez trois animaux. L’étendue de cette dernière était limitée à l’absence d’ongles des 3^e, 4^e et 5^e orteils de la patte opérée.

5.1 Cinématique

Les 28 souris ont été filmées avant la lésion au nerf sciatique afin d’acquérir des valeurs cinématiques normales; elles ont aussi été filmées au cours de leur récupération fonctionnelle. Pour évaluer l’index fonctionnel sciatique et l’angle de décollement, la cinématique a été évaluée en préopératoire ainsi qu’aux semaines 1, 2, 4, 6, 8, 10 et 12 après la lésion du nerf sciatique.

5.1.1 Index Fonctionnel Sciatique

L’analyse de piste de marche est une méthode de mesure quantitative de la performance des membres inférieurs des rongeurs par analyse d’empreintes digitales créée par De

Medinaceli et collègues (1982). Cette méthode implique la mesure de plusieurs distances entre différents repères anatomiques des empreintes digitales enregistrées. Ces mesures sont ensuite incorporées dans la formule de De Medinaceli modifiée par Bain (1989). Pour chaque souris, trois paires d'empreintes digitales ont été choisies pour le calcul de l'index sciatique fonctionnel, à chaque période, par un seul évaluateur. C'est-à-dire, à chaque intervalle de temps enregistré, une souris avait trois résultats d'index sciatique fonctionnel.



 <p>A</p>	<p>TS: 8.9 IT: 5.0 PL: 18.9</p>
 <p>B</p>	<p>TS: 5.9 IT: 3.0 PL: 19.8</p>

Figure 7 : Empreintes digitales

Images typiques de l'empreinte digitale lors de la démarche : (A) pré-lésion et (B) une semaine post-lésion. NB : PL – la distance entre le bout du plus long orteil et le talon, TS -- l'écartement des orteils, la distance entre le premier et le dernier orteil, et IT - l'écartement des orteils intermédiaires, la distance entre les 2^e et 4^e orteils.

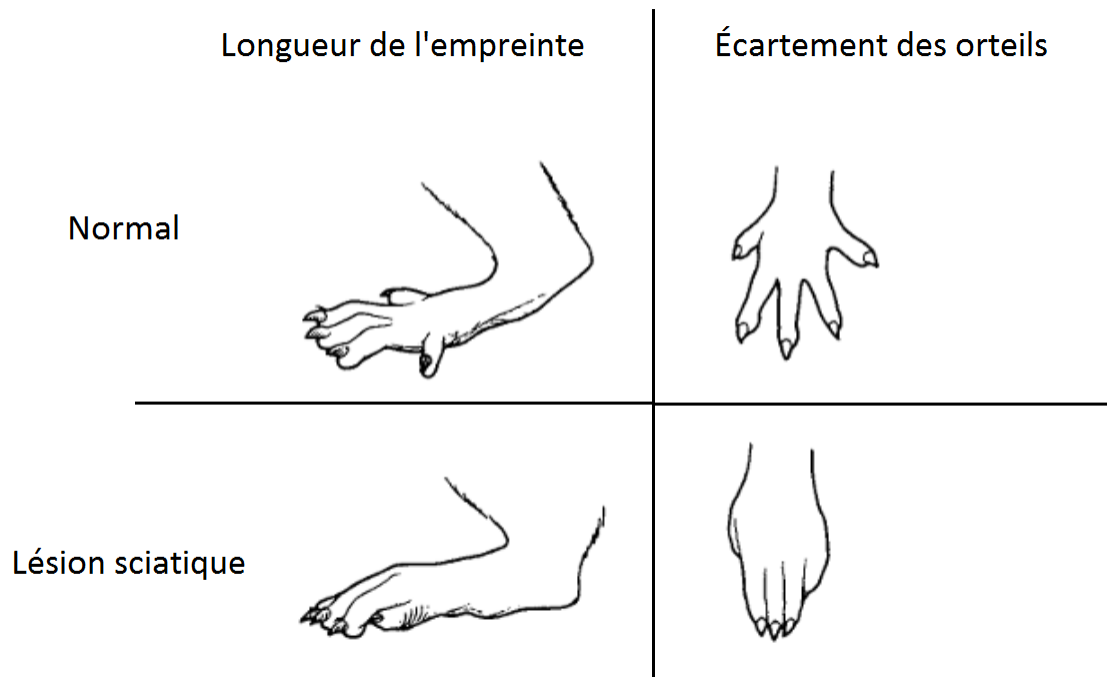


Figure 8 : Handicap typique distale suite à une lésion sciatique

Suite à une lésion sciatique chez le rongeur, la phase d'appui est altérée. D'abord, l'empreinte digitale est allongée. Aussi, l'écartement des orteils n'est plus efficace (Bain 1989).

Un index sciatique fonctionnel implique une phase d'appui ainsi qu'un écartement d'orteils normal. L'index sciatique fonctionnel est aussi un indicateur de la fonction des fléchisseurs plantaires (Bain 1989). Un IFS normal est représenté par une valeur numérique se rapprochant de zéro. Les souris ayant des blessures de nerfs sciatiques ont des valeurs négatives croissantes (par exemple de -30 à -100) (Bain 1989). La récupération fonctionnelle est indiquée par un index sciatique fonctionnel qui retourne à sa valeur de base, c'est-à-dire, se rapprochant du zéro.

$$\text{SFI} = -38.3 \left(\frac{\text{EPL} - \text{NPL}}{\text{NPL}} \right) + 109.5 \left(\frac{\text{ETS} - \text{NTS}}{\text{NTS}} \right) + 13.3 \left(\frac{\text{EIT} - \text{NIT}}{\text{NIT}} \right) - 8.8.$$

$$\text{SFI} = -38.3 \left(\frac{15,7 - 15,3}{15,3} \right) + 109.5 \left(\frac{7,6 - 7,1}{7,1} \right) + 13.3 \left(\frac{3,9 - 4,5}{4,5} \right) - 8.8.$$

$$\text{SFI} = -38.3 (0,03) + 109.5 (0,07) + 13.3 (-0,13) - 8.8.$$

$$\text{SFI} = -3,86$$

Figure 9 : Calcul de l'index fonctionnel sciatique

Exemple du calcul d'un index fonctionnel sciatique d'une souris sans lésion au nerf sciatique.

I – Mesures enregistrées des empreintes digitales										
	Groupe	Souris								
		1	2	3	4	5	6	7	8	
S0	Sham	3.33	1.48	-12.56	3.61					
		-8.77	-6.30	-14.49	-9.39					
		0.60	-6.91	-10.89	-7.18					
	Axotomie	-12.86	-6.36	-1.35	4.45	-10.83	-7.93	-11.38	9.85	
		-6.32	-13.70	-5.69	-8.53	-13.54	-11.78	-11.10	-3.49	
		*	-13.13	-13.90	-7.21	-11.32	-12.64	-0.55	-12.92	
	SED	3.15	-10.81	-13.70	1.85	-9.44	-10.87	-10.57	-7.23	
		4.14	-13.41	-9.56	-2.27	2.69	1.89	-10.86	-9.24	
		-7.00	-7.00	-6.73	*	-0.60	*	*	*	
	SETC	-6.41	-5.48	-11.77	6.13	0.08	-6.08	-13.49	0.86	
		-8.37	-13.44	-6.09	6.74	-5.27	-16.93	-7.76	-1.88	
		-12.98	*	*	*	-6.51	6.08	*	*	
S1	Sham	0.17	-9.88	-13.86	-6.54					
		2.01	-13.71	-13.83	-5.51					
		*	-10.11	12.58	8.56					
	Axotomie	-52.73	-50.36	-52.76	-62.55	-41.85	-53.54	-47.33	-38.96	
		-49.62	-45.71	-52.96	-54.38	-41.71	-44.18	-59.03	-33.39	
		-55.53	-57.52	-53.82	-52.12	-40.21	-54.66	-41.24	-31.58	
	SED	-50.38	-53.68	-37.26	-48.75	-39.32	-56.26	-43.50	-46.15	
		-41.72	-53.09	-44.81	-51.38	-38.17	-51.70	-41.76	-49.08	
		-39.16	-57.85	*	-47.35	-44.24	-53.90	-49.83	-46.92	
	SETC	-52.10	-50.65	-40.62	-47.75	-44.75	-42.05	-48.56	-57.07	
		-54.86	-45.39	-40.73	-42.49	-45.00	-44.86	-40.04	-58.37	
		-57.00	-51.42	-41.95	-47.71	-45.09	-41.04	-46.14	-55.63	
S2	Sham	-12.32	-8.69	-2.09	-9.58					
		-4.67	-13.15	-13.04	-7.96					
		-14.67	*	-14.03	-10.67					
	Axotomie	-43.32	-42.64	-54.63	-54.64	-34.28	-44.83	-46.31	42.05	
		-48.28	-44.03	-50.81	-51.44	-31.99	-52.42	-44.20	-49.89	
		-47.97	-51.53	-48.09	-49.05	-35.13	-62.82	-52.19	*	
	SED	-45.28	-52.56	-56.00	-43.85	-49.58	-38.87	-42.73	-44.74	
		-51.28	-52.45	-51.79	-45.25	-48.38	-41.87	-48.59	-50.70	
		-48.14	-47.82	-45.78	-35.45	-31.74	-47.52	*	-51.00	
	SETC	-57.15	-42.39	-39.34	-43.89	-46.16	-44.12	-46.91	-41.16	
		-55.22	-40.49	-41.59	-42.64	-46.20	-41.27	-46.85	-46.80	
		-55.21	-52.45	*	-39.49	-42.62	-40.91	-46.74	-45.86	
S4	Sham	-11.04	2.58	-2.74	-4.39					
		-13.43	-0.29	-10.49	-18.08					
		-11.62	4.23	-15.42	-1.56					

	Axotomie	-48.24	-50.39	-42.68	-45.14	-53.12	-52.83	-32.11	-46.58
		-52.31	-39.20	-51.08	-50.41	-49.27	-48.62	-35.58	-48.91
		-52.24	-46.79	-45.46	-45.35	-50.51	-52.04	-34.14	-43.98
	SED	-52.10	-47.66	-46.20	-37.84	-31.72	-51.70	-49.01	-32.93
		-46.09	-50.79	-42.52	-43.72	-32.29	-49.61	-43.68	-34.80
		-48.11	-51.84	-44.19	-44.69	-31.30	-49.31	-52.86	-38.37
	SETC	-48.10	-46.58	-40.61	-40.25	-46.70	-48.40	-47.74	-43.57
		-51.35	-43.34	-37.07	-42.75	-43.91	-43.18	-43.64	-33.44
		-45.72	-46.12	-41.05	-41.12	-43.94	-43.28	-47.88	-39.08
S6	Sham	-11.46	0.82	-11.67	-11.52				
		-13.56	-0.68	-16.09	-0.98				
		-14.65	-2.88	-13.52	-12.76				
	Axotomie	-36.64	-37.13	-42.85	-50.80	-54.29	-43.08	-35.14	-42.95
		-47.18	-39.85	-46.67	-51.78	-47.91	-49.25	-42.61	-40.17
		-42.27	-40.39	-47.25	-51.41	-56.05	-48.43	-34.78	-44.91
	SED	-41.00	-48.03	-28.43	-28.30	-24.68	-47.24	-49.40	-42.74
		-47.12	-48.24	-37.37	-26.34	-27.46	-45.04	-53.37	-44.30
		-44.77	-48.86	-36.50	-26.14	-26.41	-43.23	-46.07	-32.74
	SETC	-45.18	-44.73	-42.86	-25.45	-38.87	-42.81	-43.42	-34.26
		-44.49	-43.61	-37.86	-30.47	-40.08	-34.72	-39.36	-37.52
		-47.92	-46.12	-46.62	-33.04	-30.34	-31.53	-48.28	-41.08
S8	Sham	-6.90	-8.20	-16.81	-6.72				
		-7.13	-14.30	-14.79	-3.86				
		-6.50	-8.83	-16.35	-2.29				
	Axotomie	-37.78	-38.52	-35.63	-48.48	-44.30	-48.54	-47.77	-30.29
		-34.18	-42.21	-39.66	-43.06	-46.73	-44.75	-45.76	-39.48
		-36.22	-40.94	-37.97	-50.96	-51.25	-49.28	-46.92	-49.35
	SED	-45.75	-44.76	-33.24	-19.20	-27.36	-42.62	-32.74	-27.49
		-43.63	-48.05	-29.09	-17.44	-33.82	-42.40	-47.60	-30.32
		-39.36	-40.88	-30.34	-19.52	-29.14	-45.22	-38.05	-25.59
	SETC	-40.60	-42.13	-41.31	-26.20	-37.98	-38.08	-33.68	-36.97
		-37.83	-39.78	-34.56	-24.16	-30.28	-40.69	-41.94	-31.62
		-38.90	-41.50	-37.51	*	-31.24	-41.35	-39.31	-33.43
S10	Sham	-10.13	3.60	-14.29	-11.56				
		-7.10	-11.63	-14.33	-12.89				
		3.99	-9.80	-14.10	-2.19				
	Axotomie	-41.33	-31.13	-30.99	-50.54	-49.20	-43.87	-40.32	-39.41
		-31.03	-35.80	-33.65	-50.12	-49.46	-36.06	-39.40	-43.37
		-30.31	-31.71	-30.28	-48.96	-41.14	-40.73	-44.93	-41.29
	SED	-40.15	-41.48	-28.46	-14.60	-18.25	-29.47	-32.64	-33.11
		-48.64	-46.24	-31.00	-17.19	-21.72	-27.81	-33.11	-29.80
		-40.86	-45.08	-29.92	-14.77	-23.63	-34.33	-41.18	-26.99

	SETC	-43.83 -37.60 -46.15	-37.08 -41.27 -39.77	-39.42 -34.07 -38.46	-20.91 -21.72 -24.79	-26.26 -27.41 -29.94	-39.32 *	-23.07 -21.70 -23.02	-21.49 -34.99 -20.32	
S12	Sham	-2.20 -11.59 -10.82	-6.27 -3.07 -12.44	-7.12 -12.11 -5.45	-15.26 -13.85 -3.84					
		Axotomie	-34.80 -33.40 -38.68	**	-36.04 -33.18 -31.59	-41.51 -45.51 -43.48	-40.33 -45.09 -46.80	-32.88 -42.43 -38.66	-45.13 -38.35 -43.68	-27.77 -39.66 -37.51
			SED	-46.26 -44.84 -38.64	-38.85 -40.25 -38.64	-29.03 -30.74 -20.74	-16.36 -14.62 -17.60	-15.83 -17.69 -18.28	**	-32.77 -30.41 -41.84
	SETC			-44.00 -36.49 -43.62	-33.84 -38.20 -37.99	-35.29 -29.73 -30.72	-12.85 -16.06 -21.98	-24.46 -37.88 -33.89	-35.84 -39.79 -44.61	-21.64 -24.16 -21.91

Tableau I : Index sciatique fonctionnel pour chaque souris par intervalle de temps (S0 = pré-lésion, S1 = 1 semaine post-lésion, S2 = 2 semaines post-lésion et ainsi de suite)

(*) Vidéo cinématique ne contenait pas suffisamment d'empreintes claires permettant les mesures pour le calcul de l'index sciatique fonctionnel

(**) Souris sacrifiée à la semaine 11

II – Index fonctionnel sciatique moyen par groupe								
Groupes / Semaine	S0	S1	S2	S4	S6	S8	S10	S12
Sham	-5.62 (6.31)	-4.56 (9.23)	-10.08 (4.00)	-6.85 (7.40)	-9.08 (6.21)	-8.31 (6.72)	-8.37 (6.64)	-8.67 (4.52)
Axotomie	-7.62 (6.61)	-48.53 (7.96)	-47.07 (7.07)	-46.54 (6.00)	-44.74 (5.93)	-42.92 (5.81)	-39.79 (6.90)	-38.88 (5.26)
SED	-5.78 (5.95)	-47.23 (5.93)	-46.58 (5.73)	-43.89 (7.11)	-39.32 (9.30)	-34.73 (9.36)	-31.27 (9.83)	-29.70 (10.35)
SETC	-5.40 (6.96)	-47.55 (5.81)	-45.45 (5.15)	-43.70 (4.00)	-39.61 (6.29)	-36.86 (4.98)	-31.48 (8.60)	-30.39 (9.31)

Tableau II : Moyennes d'index sciatique fonctionnel pour chaque groupe par intervalle de temps avec écarts types (S0 = pré-lésion, S1 = 1 semaine post-lésion, S2 = 2 semaines post-lésion et ainsi de suite)

L'index sciatique fonctionnel moyen pré-lésion était de -6.28 pour toutes les souris, indiquant une fonction motrice normale. Nous observons à une semaine post-lésion, une chute de la valeur de l'index sciatique fonctionnel dans tous les groupes expérimentaux, indiquant une perte de fonction. Les empreintes enregistrées étaient plus longues et l'écartement des orteils moins important. Aux cours des semaines suivant la lésion du nerf sciatique, une amélioration progressive de l'index sciatique fonctionnel est notée pour tous les groupes.

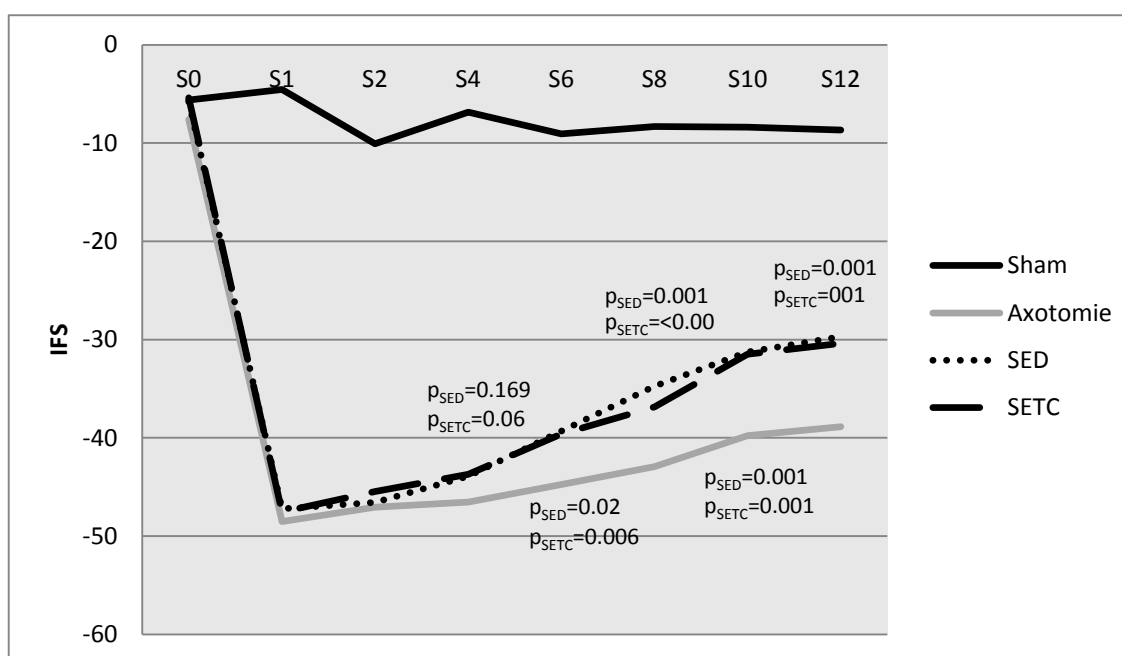


Figure 10 : Index fonctionnel sciatique moyen

Valeurs moyennes des index sciatiques fonctionnels des groupes expérimentaux (valeurs numériques dans Tableau 2). Les groupes démontrent une amélioration progressive de la valeur ISF. Les groupes SED et SETC ont été comparés au groupe Axotomie à l'aide du STUDENT T-TEST à partir de la 4^e semaine. À la 6^e semaine après la chirurgie, le groupe SETC atteint une valeur significative ($p=0.006$). À la 8^e semaine, les souris du groupe SED ont atteint un ISF moyen de -34.73 ($p=0.001$) et SETC de -36.86 ($p<0.000$) comparé au groupe axotomie ayant une valeur IFS de -42.92. Les groupes ont continué de graduellement

améliorer leur valeur ISF. Aux semaines 10 et 12, les groupes SED et SETC ont rejoint une différence significative comparée au groupe axotomie seule. Il n’y avait pas de différence statistiquement significative entre les groupes SED et SETC.

III – Amélioration moyenne de l’Index fonctionnel sciatique			
	Axotomie	SED	SETC
Valeur moyenne S1	-48.53	-46.58	-47.55
Valeur moyenne S12	-38.88	-29.70	-30.39
Delta	9.65	18.88	17.16

Tableau III : Amélioration moyenne de l’index sciatique fonctionnel pour chaque groupe de S1 à S12

5.1.2 Angle de décollement

L’évaluation de la démarche sur la poutre est un essai classique de comportement chez les rongeurs. La locomotion est moins dépendante d’un contrôle supraspinale lorsque comparée aux mouvements volontaires. Le deuxième paramètre utilisé dans cette étude consiste de la mesure de l’angle de décollement. Ce dernier est mesuré lorsque la patte quitte la poutre et que la plante est parallèle au plan transversal. Après une blessure du nerf sciatique, la rotation externe du pied augmente. Cela engendre une diminution du bras de levier pour le triceps à générer la flexion plantaire lors de la démarche. Donc, l’habileté des fléchisseurs plantaires à fournir l’appui et la propulsion lors du décollement est grandement affectée par une lésion au nerf sciatique (Gage 1987, Hicks 1988).

Il est à noter qu’une lésion du nerf sciatique induit des changements à l’index sciatique fonctionnel ainsi qu’à l’angle de décollement. Par contre, ces derniers ne sont pas des paramètres d’évaluation identiques. Les changements induits par la blessure au nerf sciatique peuvent être à différents degrés, d’un paramètre à l’autre (Irintchev 2005).

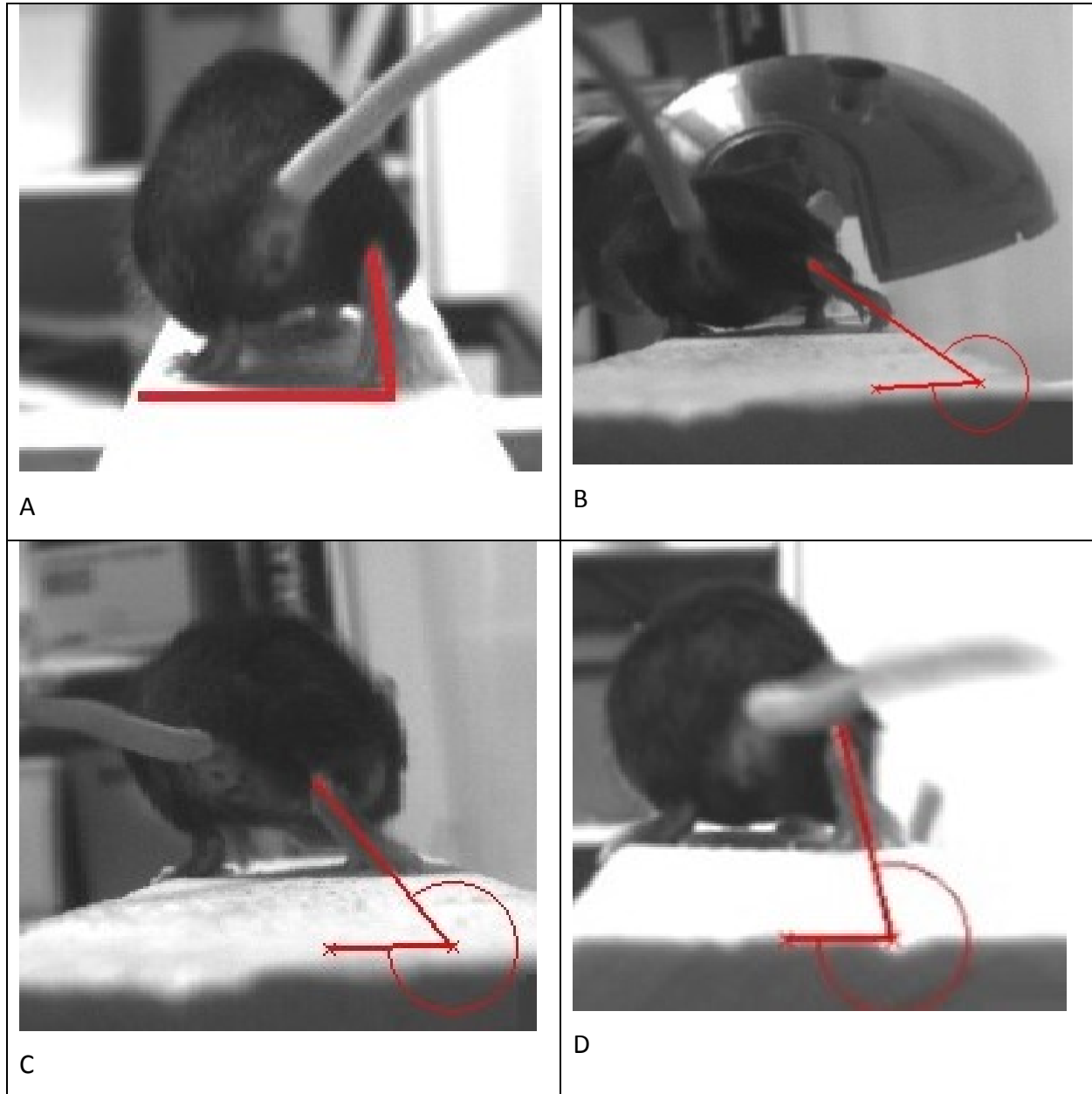


Figure 11 : Exemples d'angles de décollement pré et post-lésion

A) pré-lacération, angle de décollement 88 degrés, B) 1 semaine post-lacération sciatique droite avec un angle de décollement mesuré à 45 degré, C) 6 semaines post-lacération, angle de décollement mesuré à 58 degrés, D) 12 semaines post-lacération, angle de décollement mesuré à 80 degrés.

IV – Mesures d'angle de décollement									
	Groupe	Souris							
		1	2	3	4	5	6	7	8
S0	Sham	82.2	67.2	84.7	66.8				
		83.2	66.7	69.9	73.6				
		75.1	*	73.6	*				
	Axotomie	52.8	73.0	78.7	70.0	63.9	79.7	72.9	74.6
		76.4	79.1	80.6	79.0	70.4	75.6	74.9	68.2
		73.4	71.4	86.5	77.5	69.7	77.4	63.1	76.3
	SED	64.7	67.2	67.9	75.9	74.8	67.7	82.0	75.5
		72.8	64.3	60.5	80.4	85.0	70.4	75.8	82.3
		63.1	73.3	74.5	68.3	81.3	78.8	88.6	70.7
	SETC	75.6	84.1	75.1	70.2	71.1	79.9	72.8	77.9
		69.3	64.4	78.2	76.9	62.3	70.2	75.4	73.4
		81.3	78.2	78.7	73.3	65.4	75.8	77.8	71.0
S1	Sham	72.6	74.2	77.2	69.2				
		68.3	73.3	76.2	73.2				
		74.3	71.4	*	70.0				
	Axotomie	41.3	45.4	58.4	59.5	43.5	62.8	45.6	50.3
		41.5	55.3	56.0	56.6	45.7	57.8	50.4	57.9
		41.0	49.2	55.0	56.2	40.9	59.7	55.1	52.9
	SED	48.1	54.1	58.3	56.8	42.8	49.2	50.7	61.2
		56.0	51.5	51.7	52.9	53.1	55.2	56.4	58.1
		52.6	52.8	58.7	56.3	46.6	53.7	52.7	61.3
	SETC	48.2	47.3	56.2	59.8	52.5	52.7	52.3	57.1
		55.7	42.0	50.9	55.4	58.8	59.1	49.4	59.9
		47.2	50.8	49.8	58.3	*	50.7	58.4	41.3
S2	Sham	77.6	70.6	74.6	69.7				
		79.6	68.5	66.7	64.8				
		83.6	75.5	82.4	67.0				
	Axotomie	52.2	52.7	51.4	60.0	49.3	71.7	58.9	63.7
		43.8	50.8	60.8	60.5	51.2	65.2	55.5	59.8
		45.1	55.9	59.3	59.4	54.1	69.8	53.2	62.1
	SED	53.6	50.8	50.5	53.8	49.0	60.5	60.4	63.3
		49.6	65.4	57.6	59.2	55.3	56.2	53.9	67.4
		57.5	49.1	60.5	56.4	62.5	50.0	52.3	59.4
	SETC	53.5	55.5	52.9	61.9	60.0	54.2	59.3	58.1
		57.4	54.3	58.4	62.0	55.6	59.8	46.9	60.1
		50.3	49.9	61.9	54.7	62.3	63.3	55.9	54.0
S4	Sham	72.7	72.1	67.8	75.2				
		73.7	79.6	70.9	68.5				
		*	*	*	*				

	Axotomie	58.8	63.6	62.3	63.1	62.6	69	55.3	54.7
		61	59.8	52.3	62.1	55.8	67.8	62.9	61.4
		54.7	55.8	58.9	55.4	53.8	63.4	60.1	59.2
	SED	52.7	70	56.4	59.2	56.0	66.5	60.3	66.3
		60.1	68.7	63.2	63.8	65.2	60.0	65.7	64.6
		58.9	62.1	57.9	60.3	56.8	54.3	61.4	63.9
	SETC	52.0	45.1	61.1	70.0	65.4	61.8	63.1	58.4
		55.2	59.5	57.3	61.7	58.6	61.0	51.8	63.4
		56.4	55.8	63.9	63.8	60.9	64.0	58.1	54.6
S6	Sham	68.9	74.8	68.8	65.4				
		77	77.5	76	66				
		80	79.9	65.2	71.3				
	Axotomie	67.8	66.9	60.4	58.8	52.9	67.7	58.0	60.2
		57.2	63.2	55.4	65.2	58.7	69.5	62.6	58.1
		58.2	57.8	62.1	64.7	62.5	64.1	61.1	55.6
	SED	64.4	64.2	58.7	65.6	60.1	56.8	68.6	69.4
		53.0	76.1	66.9	70.6	52.0	74.3	62.5	67.2
		61.6	71.1	61.2	67.3	64.8	62.1	*	68.9
	SETC	57.4	62.4	66.8	77.9	65.9	64.6	61.9	72.2
		58.8	54.8	62.7	67.5	69.8	62.3	71.6	60.3
		52.9	64.1	54.5	57.5	60.6	70.0	66.3	52.9
S8	Sham	67.5	70.7	77.9	65.2				
		76.2	68.5	73.1	68.9				
		*	69.8		72.2				
	Axotomie	68.9	62.5	62.7	68.2	62.8	67.1	59.2	59.8
		62.1	65.5	56.1	59.1	55.2	71.1	59.8	57.3
		54.7	62.1	61.0	66.6	57.5	63.2	66.1	62.1
	SED	65.0	72.2	64.4	71.1	52.5	62.5	71.7	66.9
		53.9	68.1	67.9	68.7	66.7	75.4	66.1	69.1
		64.2	72.1	63.1	70.2	60.8	64.9	70.5	70.0
	SETC	56.1	58.3	66.7	78.0	59.8	63.2	70.0	70.0
		61.8	64.7	59.8	66.1	71.4	67.3	65.5	58.9
		61.1	68.4	60.4	63.3	73.0	*	69.1	62.3
S10	Sham	71.8	70.8	70.5	77				
		72.5	72.8	72	70.2				
		69.4	69.7	70.8	75.4				
	Axotomie	58.8	56.6	61.0	64.2	59.5	70.0	61.2	60.1
		66.1	72.7	61.5	67.6	59.0	66.1	67.8	69.4
		66.3	68.8	63.6	59.9	62.8	69.9	61.1	65.3
	SED	62.4	73.2	59.0	72.4	56.3	77.1	67.9	73.0
		60.8	71.4	67.8	70.0	68.8	67.5	74.0	73.3
		69.4	68.9	69.7	68.7	61.9	74.2	69.2	67.5

	SETC	60.0 68.1 60.0	64.7 69.2 68.5	61.7 63.6 62.8	60.1 76.9 75.0	72.0 63.4 70.2	69.4 66.9 63.8	73.9 68.4 76.9	65.8 61.0 66.1
S12	Sham	65.5 71.8 65.8	71.1 71.1 68.8	78.4 78.4 73.8	76.3 81.3				
	Axotomie	67.9 70.1 61	**	66.3 58.9 61.6	62.8 63.2 66.2	62.2 69.5 56.7	70.3 67.0 68.3	66.6 60.8 64.8	75.0 67.4 74.7
	SED	68.5 63.1 63.9	71.0 74.8 68.1	69.1 66.6 65.8	71.6 72.4 73.2	61.6 57.2 69.2	**	73.7 73.2 71.3	73.0 74.1 74.0
	SETC	67.1 62.3 64.8	71.5 68.9 68.2	62.6 63.9 61.5	72.2 77.8 70.7	73.8 64.2 69.8	70.7 73.7 70.4	69.7 78.5 78.9	65.7 64.4 63.6

Tableau IV : Angle de décollement pour chaque souris, par intervalle de temps (S0 = pré-lésion, S1 = 1 semaine post-lésion, S2 = 2 semaines post-lésion et ainsi de suite)

(*) Vidéo cinématique ne contenait pas suffisamment d'images claires permettant les mesures pour le calcul de l'angle de décollement

(**) Souris sacrifiée à la semaine 11

Groupe	V - Angle de décollement moyen							
	S0	S1	S2	S4	S6	S8	S10	S12
Sham	73.35 (5.91)	73.05 (2.59)	73.38 (5.50)	72.56 (2.71)	72.57 (4.56)	71.45 (3.00)	71.91 (1.53)	73.38 (5.30)
Axotomie	73.55 (4.91)	51.58 (6.69)	56.93 (6.76)	59.74 (2.99)	61.20 (3.03)	62.11 (2.85)	64.14 (2.50)	65.78 (3.61)
SED	73.58 (5.83)	53.52 (3.60)	57.57 (3.01)	61.43 (3.21)	64.71 (4.18)	66.58 (4.13)	68.52 (3.91)	69.30 (4.29)
SETC	74.10 (3.36)	52.89 (3.36)	56.76 (3.67)	59.72 (3.27)	63.15 (3.82)	65.02 (3.29)	67.02 (3.73)	68.95 (4.64)

Tableau V : Moyennes d'angle de décollement pour chaque groupe par intervalle de temps (S0 = pré-lésion, S1 = 1 semaine post-lésion, S2 = 2 semaines post-lésion et ainsi de suite)

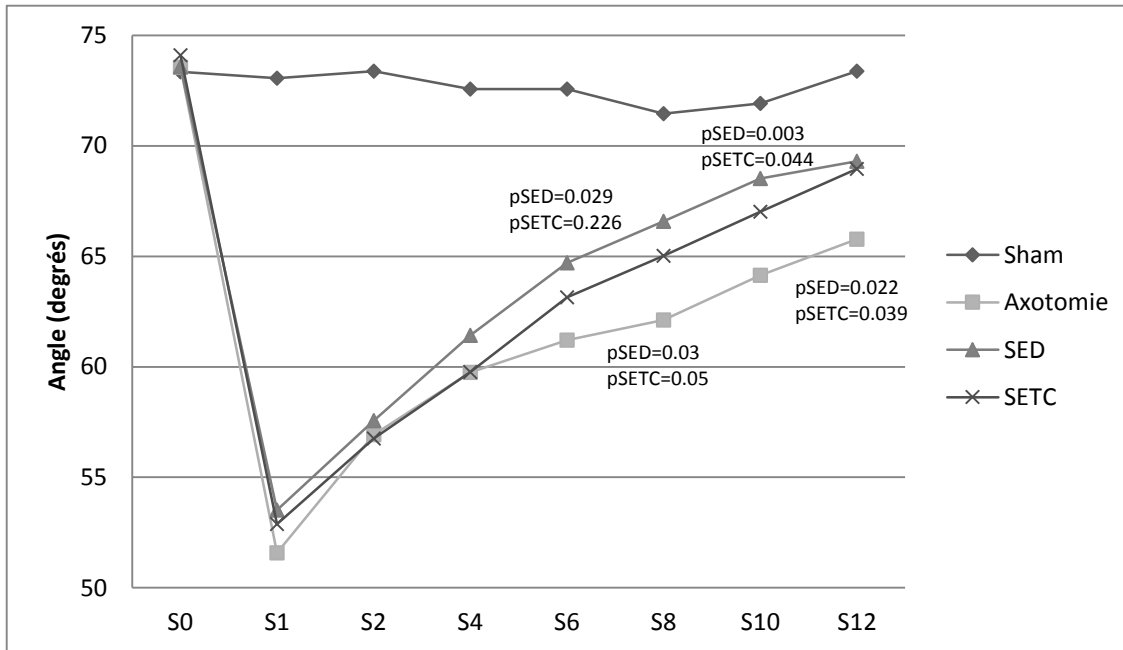


Figure 12 : Angle de décollement moyen

Ci-haut, l'angle de décollement normal préalable à la blessure du nerf sciatique. Telle que révélée par les changements postopératoires d'angle de décollement, la performance fonctionnelle était hautement affaiblie à une semaine après la chirurgie. (Figure 4). La récupération de l'angle de décollement s'améliorait graduellement au cours des premières 8 semaines postopératoires pour les 3 groupes expérimentaux. À la 10^e semaine, les groupes qui ont reçu la stimulation, soit directe ou transcutanée, se sont démarqués avec une amélioration de l'angle de décollement plus importante ($p < 0.05$). Cette démarcation est devenue encore plus importante à la 12^e semaine postopératoire pour les groupes qui ont reçu la stimulation ($p < 0.01$).

5.2 Électrophysiologie

Lors de l'expérience terminale, une électrode bipolaire était positionnée autour du nerf sciatique, proximale à la lésion ainsi qu'une deuxième électrode dans le corps musculaire du

gastrocnémien distalement. Des ondes de pulsations simples ont été envoyées et les réponses électromyographiques mesurées pour la durée de l'onde (durée de saccade). La force musculaire du triceps a aussi été mesurée à l'aide du transducteur de force suturé au tendon du triceps distalement et analysée pour chaque souris.

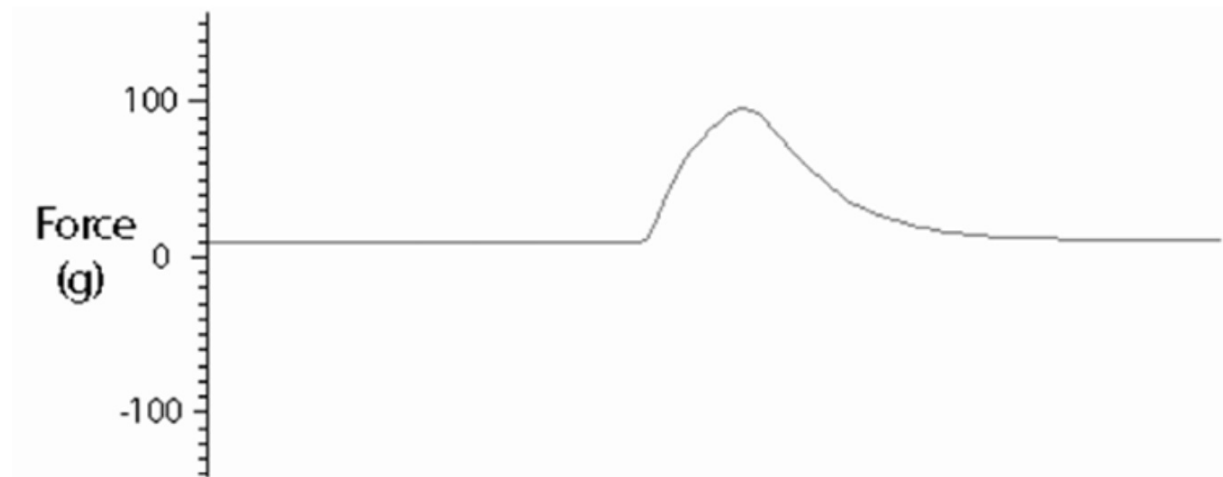


Figure 13 : Enregistrement force musculaire

Exemple d'un enregistrement de force musculaire générée par le muscle gastrocnémien lors de la dernière étape (Beaumont 2009).

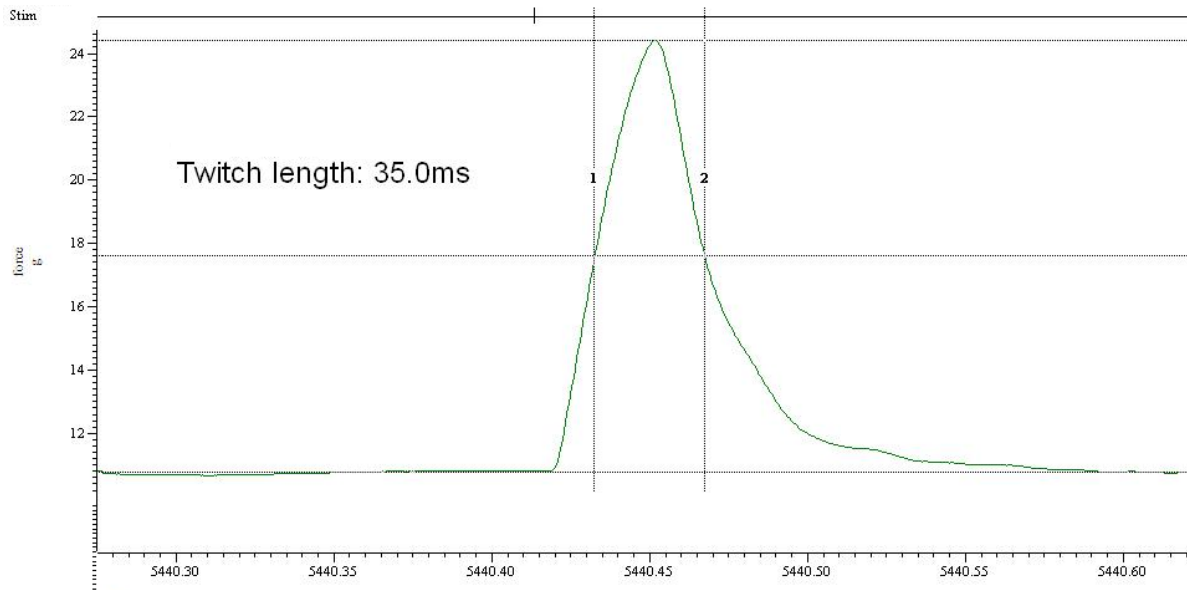


Figure 14 : Saccade de force musculaire

Exemple de saccade lors de l'enregistrement de la force musculaire. La durée de l'onde est mesurée au point où l'onde atteint la moitié de son amplitude maximale.

VI – Valeurs électrophysiologiques		
Groupe	Durée saccade moyenne (ms)	Force musculaire moyenne (g)
Normal	34.793 (ET 3.975)	15.997 (ET 4.668)
Axotomie	41.043 (ET 6.1402)	5.777 (ET 1.184)
SED	36.56 (ET 5.876)	6.414 (ET 0.810)
SETC	36.61 (ET 3.454)	6.834 (ET 1.626)

Tableau VI : Résultats d'évaluation électrophysiologique à la 12^e semaine post-lésion

La durée de saccade électromyographique des souris normales était de 35 millisecondes. À la 12^e semaine post-lésion, les durées de saccades moyennes étaient de 41 millisecondes, 37 millisecondes et 37 millisecondes pour les groupes axotomie, SED et SETC respectivement. La force musculaire moyenne pré-lésion était mesurée à 16 grammes. Une récupération incomplète de la force a été notée dans les trois groupes expérimentaux pour des valeurs de 5.8 grammes, 6.4 grammes et 6.8 grammes, pour les groupes axotomie, SED et SETC respectivement.

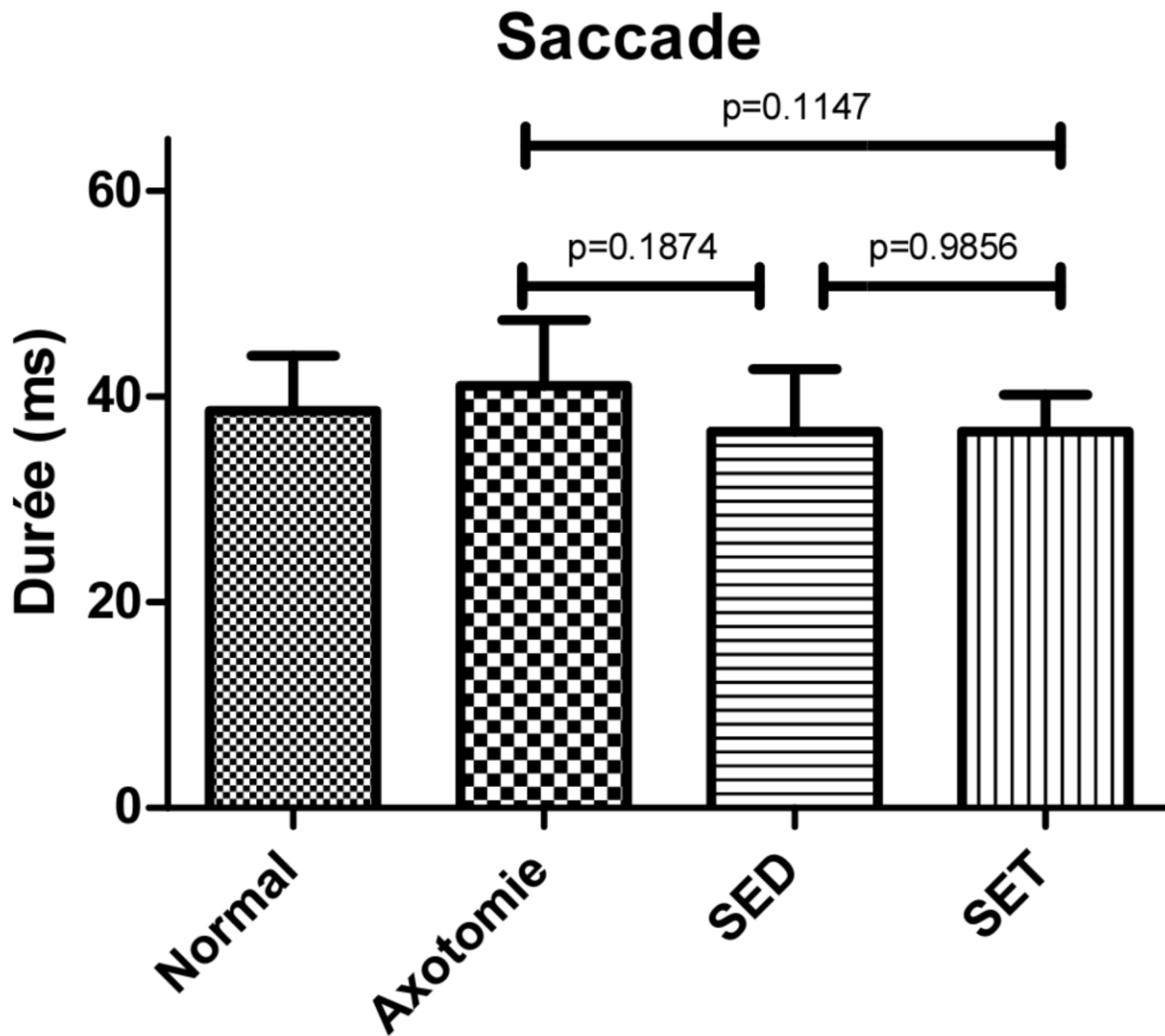


Figure 15 : Durée de saccade électromyographique moyenne

Valeurs moyennes enregistrées de saccade électromyographique mesurée à la 12^e semaine post-lésion. Malgré qu'un retour à la durée de saccade pré-lésion n'a pas été mesuré, une durée de saccade améliorée a été mesurée malgré que pas de façon significative pour le groupe stimulation électrique directe ($p=0.187$) ni pour le groupe stimulation électrique transcutanée ($p=0.115$).

Force isométrique

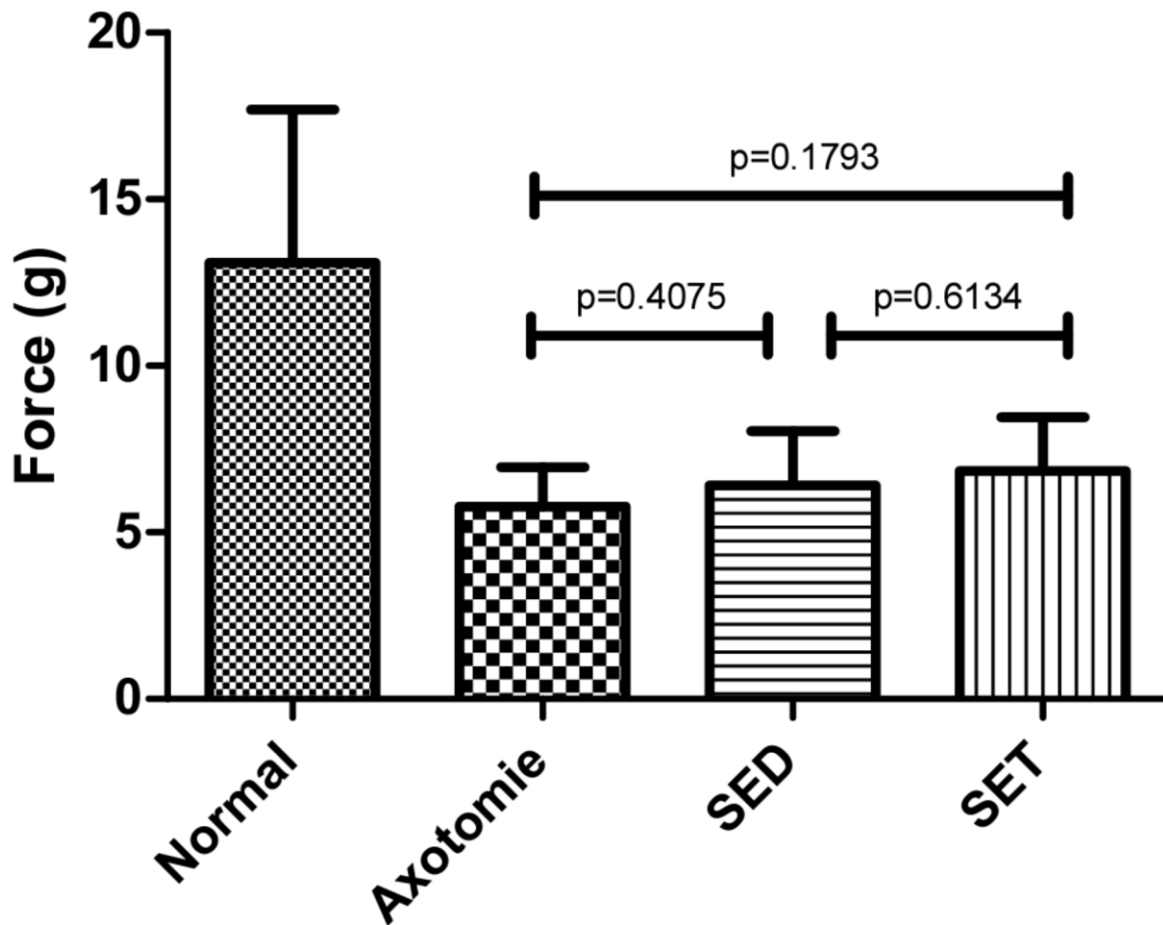


Figure 16 : Force musculaire moyenne

Force musculaire enregistrée à la 12^e semaine post-lésion. La force musculaire du groupe axotomie n'a pas été démontrée significativement différente à la force musculaire du groupe stimulation électrique directe ($p = 0.408$) et du groupe stimulation électrique transcutanée ($p=0.179$).

6 Discussion

Obtenir la réinnervation des organes cibles et un retour de fonction après une blessure de nerf périphérique demeurent un défi. Afin d'améliorer la compréhension des processus variés qui contrôlent la régénération, il y a eu plusieurs essais expérimentaux. Il est maintenant bien établi que la stimulation électrique directe à basse intensité améliore la régénération motrice des neurones après une blessure de nerfs périphériques (Al Majed 2000, Geremia 2007). Cliniquement, l'application de la stimulation électrique demeure difficile et peut augmenter les risques opératoires. Un temps opératoire allongé a été même en fait à un risque augmenté d'infection, de thrombophlébites ainsi que d'évènements cardiaques ou respiratoires (Fogarty 1999). Dans ce contexte, l'application de la stimulation électrique de façon transcutanée diminuerait ces risques tout en maintenant l'effet bénéfique. Cette étude compare les effets de la stimulation électrique directe et transcutanée pour la régénération axonale après la transection du nerf sciatique de la souris.

6.1 Cinématique

L'analyse de la démarche sur la poutre est une méthode quantitative créée par De Medinaceli et collègues (1982). Connue comme l'index sciatique fonctionnel, celle-ci analyse la performance des pattes arrières en examinant les empreintes. La formule, modifiée par Bain et collègues (1989), est considérée par plusieurs auteurs comme un outil d'évaluation important de mesure de la fonction du nerf sciatique après une lésion. L'index sciatique fonctionnel est largement utilisé pour l'évaluation de la fonction motrice après la blessure du nerf sciatique chez le rongeur (Varejao 2003). Comme la fonction motrice de la patte nécessite aussi en partie la sensibilité de la face plantaire, cet outil permet l'évaluation globale de la récupération sciatique (Mendonca 2003). Dans cette étude, l'index sciatique fonctionnel a été comparé entre nos 3 groupes : axotomie seul, la stimulation électrique

directe et la stimulation électrique transcutanée aux semaines postopératoires 1, 2 et ensuite à un intervalle de 2 semaines jusqu'à la 12^e semaine post-lésion.

Les trois groupes étudiés ont démontré une récupération progressive de la fonction motrice. Les groupes étudiés (axotomie, SED et SETC) ont débuté avec un index sciatique fonctionnel de -7.62, -5.78 et -5.40 respectivement. Une amélioration progressive de l'index sciatique fonctionnel a été notée pour chaque groupe de 9,65, 18.88 et 17.16 points. Les groupes SED et SETC ont significativement amélioré l'index sciatique fonctionnel aux semaines 6, 8, 10 et 12 comparé au groupe axotomie seul. Par contre, il n'y avait pas d'amélioration significativement différente entre les groupes SED et SETC. Ces résultats indiquent une meilleure récupération fonctionnelle chez les souris qui ont eu le traitement de stimulation électrique, soit de façon directe et transcutanée.

Le pied a un rôle critique dans l'ambulation chez le rongeur. Récemment, quelques études ont décrit l'utilisation de l'analyse de la démarche afin d'objectivement analyser la rotation du pied chez les rongeurs. Metz et collègues (2000) ont utilisé la rotation des pattes comme paramètre cinétique pour la recherche des blessures spinales. Ces auteurs ont aussi décrit l'effet du stress sur la performance motrice (Metz 2001). Canu et collègues (2001) considèrent la rotation externe du pied un déficit important sur l'échelle de locomotion. L'angle de décollement se mesure par une vue postérieure de la souris lors de la démarche sur la poutre en mesurant l'angle entre l'axe du pied et la poutre, au moment où le pied est perpendiculaire à la poutre (Irintchev 2005). Une blessure du nerf sciatique engendrant la dénervation du quadriceps apporte une rotation externe du pied augmentée. Celle-ci se traduit comme une importante et significative augmentation de l'angle de décollement à une semaine post-blessure.

La récupération fonctionnelle a aussi été démontrée dans cette étude par une amélioration significative des groupes stimulation directe et transcutanée en termes d'angle de décollement. Le groupe SED a démontré une amélioration significative de l'angle de

décollement comparé au groupe axotomie aux semaines 6, 8, 10 et 12 post-lésion. Quant au groupe SETC, l'amélioration de l'angle de décollement par rapport au groupe axotomie seul a été statistiquement significative avec une valeur p égale ou inférieure à 0.05 aux semaines 8, 10 et 12.

Les résultats cinématiques de l'étude présente confirment que la stimulation électrique brève directe et transcutanée accélère la récupération fonctionnelle nerveuse. De plus, la récupération cinématique des groupes SED et SETC a été similaire (pas de différence statistique). Cela démontre que l'accélération de la récupération locomotrice avec la stimulation électrique transcutanée sont comparables à celle démontrée par la stimulation électrique directe. Ce résultat apporte une nouvelle preuve importante avec une corrélation clinique possible.

6.2 Électrophysiologie

Lors de l'expérience terminale à la douzième semaine, une électrode bipolaire a été positionnée autour du nerf sciatique, proximale à la lésion. Des pulsations de courant sont envoyées et la réponse électromyographique est enregistrée au niveau du gastrocnémien. Lors de cette même expérience terminale, la force musculaire a été enregistrée au niveau du triceps sural par un transducteur de force. Les résultats démontrent une durée de saccade EMG améliorée dans les 2 groupes stimulés (SED : 36.56 ms, SETC : 36.61 ms comparée à 41.04 ms pour le groupe axotomie). Par contre, cette amélioration n'est pas statistiquement significative lorsque comparée au groupe axotomie seule. La force musculaire enregistrée a démontré une récupération importante des deux groupes qui ont reçu la stimulation, soit directe ou transcutanée, malgré non-statistiquement significative.

Malgré que les souris dans cette étude n'aient pas atteint une récupération motrice complète, la récupération avec l'aide de la stimulation électrique directe et transcutanée, démontré par un index sciatique fonctionnel, un angle de décollement, une durée de saccade EMG et une force musculaire améliorés, est d'une importance thérapeutique. Lorsqu'on compare la réinnervation des cibles périphériques des rongeurs avec la celle des humain, celle-ci est lente, nécessitant des mois et même des années à accomplir. La régénération lente des axones à travers le site chirurgical, le déclin progressif de la capacité régénérative des neurones axotomisées, l'échec progressif des cellules Schwann d'appuyer la régénération axonale et l'atrophie musculaire, sont des facteurs qui limitent la régénération axonale (Brushart 2002). Nous pouvons donc nous attendre à ce que la réinnervation accélérée et la récupération démontrée chez le rongeur se traduiront dans une amélioration considérable du résultat final d'une réparation nerveuse chez l'humain.

6.3 Limites

Suite à une lésion du nerf sciatique qui a été grandement utilisée chez les rongeurs, l'analyse de la démarche sur la poutre est une méthode quantitative d'évaluer la récupération fonctionnelle. La validité de cette méthode d'évaluation fonctionnelle a été questionnée par quelques auteurs (Bain 1989, De Ruitter 2007). Il peut y avoir des difficultés techniques en analysant les vidéos cinématiques (images embrouillées, etc.). De plus, les souris peuvent souffrir de contractures et / ou d'automutilation, ce qui peut jouer sur la qualité des images obtenues (Bain 1989, de Medinaceli 1982). Une autre limitation importante de l'analyse cinématique est la variabilité du paramètre de longueur d'empreinte avec la vitesse de la démarche (Dijkstra 2000). Cette mesure contribue significativement à la formule d'index sciatique fonctionnel reflétant la fonction des fléchisseurs plantaires (Bain 1989).

Afin de contrer les limitations de l'évaluation de la démarche, l'utilisation de l'analyse de la démarche et des empreintes ont été développés (Dijkstra 2000). Les souris sont filmées dans un aquarium transparent permettant l'enregistrement des empreintes ainsi que d'autres vues lors de la démarche sur la poutre. Plusieurs passages dans l'aquarium sont enregistrés et ensuite comparés pour assurer que les mesures prises sont exactes. Ces enregistrements peuvent aussi être ralentis et analysés à plusieurs reprises pour la mesure des angles et le calcul de l'index sciatique fonctionnel.

Cette étude est aussi limitée en ce qu'elle n'inclut pas d'évaluation des fibres nerveuses, leur diamètre et leur ratio-G. Ces paramètres ont déjà été étudiés et ont été clés dans quelques études histomorphométriques (Varejao 2003). L'étude était centrée sur le résultat fonctionnel, évaluée à l'aide de l'index sciatique fonctionnel, l'angle de décollement et des évaluations électrophysiologiques.

6.4 Mécanismes et facteurs neurotrophiques

Une quantité énorme d'études est en cours afin d'élucider les mécanismes impliqués dans la régénération nerveuse *in vivo*. Malgré que ces études démontrent des résultats prometteurs, les mécanismes par lesquels la stimulation électrique améliore la régénération nerveuse demeure à être élucidée. Il est probable que la stimulation électrique altère le potentiel de la membrane des neurones stimulés. Cette altération mènerait ensuite à une dépolarisation partielle des corps cellulaires de ces neurones situés dans la moelle épinière (Loeb 1987, Wenjin 2011). En fait, des études ont démontré que les effets de la stimulation électrique sont médiés au niveau du corps cellulaire (Al Majed 2000b, Geremia 2007, Gordon 2008). Pour ce faire, Al Majed et collègues (2000b) ont démontré qu'en utilisant un blocage à la tetrodoxine, ce qui empêche le potentiel d'action livré au nerf périphérique de se rendre au corps cellulaire au niveau de la moelle épinière, l'effet bénéfique de la

stimulation électrique pour la régénération axonale était abolie (Al Majed 2000b, Geremia 2007, Gordon 2008). Les effets de la stimulation électrique sont donc médiés par une réponse neuronale des corps cellulaires des nerfs périphériques dans la moelle épinière (Ahlborn 2007). Les changements qui se déroulent aux corps cellulaires sont donc fondamentaux afin de comprendre les mécanismes par lesquels la stimulation électrique exerce son effet pour la régénération axonale.

On a suggéré que la réponse du corps cellulaire à la stimulation électrique impliquerait possiblement un tel changement de l'état des neurones pour un état de croissance plus permissif (Gordon 2003). Un tel changement peut induire un décalage majeur de l'expression des gènes, ce qui impliquerait une augmentation de l'expression de facteurs de transcription, de molécules d'adhésion cellulaire, de cytokines, de facteurs de croissance et leurs récepteurs ainsi que des composantes structurelles nécessaires pour la régénération axonale (Makwana 2005). En fait, l'élongation des axones en régénération nécessite la présence de ces molécules promotrices (Fu 1997), tel que démontré lors du développement du système nerveux périphérique embryologique. Pour cette raison, il est prétendu que les facteurs neurotrophiques impliqués dans le développement des motoneurones peuvent aussi être responsables pour la régénération des axones blessés et conséquemment impliqués dans les mécanismes responsables pour la régénération accélérée par la stimulation électrique.

Un apport continu de facteurs neurotrophiques est nécessaire pour la régénération d'axones (English 2007). Chez les neurones chroniquement axotomisés et les cellules Schwann dénervées dans le moignon distal, l'expression de facteurs neurotrophiques diminue graduellement avec le temps (Boyd 2003, Hoke 2002). Cette réduction de l'expression de facteurs neurotrophiques est accompagnée avec le déclin des capacités des neurones axotomisés de régénérer et des cellules Schwann dénervées d'appuyer la régénération axonale (Huang 2010a).

On a longuement supposé que la stimulation électrique améliore la régénération axonale par l'activation des voies de transducteur de signal qui mène à une augmentation de l'expression de molécules qui ont des bénéfices pour la restauration neuronale (Ahlborn 2007). Plus spécifiquement, on a démontré que la blessure neuronale augmente le transport rétrograde du facteur de croissance BDNF, NT-3 et NGF des motoneurones (DiStefano 1992, Curtis 1998). Quelques études ont spécifiquement étudié le rôle de BDNF et son récepteur tyrosinase B (TrkB) en relation avec l'amélioration de la régénération axonale par la stimulation électrique. De fait, l'expression de BDNF et TrkB est augmentée et accélérée dans les corps cellulaires des motoneurones après la stimulation électrique, suggérant son rôle dans la régénération (Al Majed 2000a, 2004, Funakoshi 1993, Geremia 2005, 2007, Kobayashi 1996, Meyer 1992, Piehl 1994, Wenjin 2011). D'autant plus, l'accélération de la régénération axonale par la stimulation électrique a été complètement bloquée après l'administration d'un anticorps contre BDNF (Tyreman 2008).

L'expression de BDNF augmentée par la stimulation électrique joue probablement un rôle central à médier les effets positifs de la stimulation électrique après une blessure d'un nerf périphérique. Le facteur neurotrophique BDNF a été rapporté avoir des effets protecteurs pour les neurones blessés contre l'apoptose, de promouvoir la croissance des neurites, d'améliorer la sélectivité des projections, de maintenir la viabilité des cellules Schwann et de promouvoir la formation de myéline (Eberhardt 2006, Ng 2007, Vögelin 2006, Yan 1992). Les mécanismes par lesquels la stimulation électrique induit une augmentation de BDNF et TrkB restent à être identifiés (Al Majed 2000a). L'augmentation d'expression de TrkB corrélée avec l'augmentation d'expression de BDNF dans les motoneurones qui se régénèrent suggère qu'ils agissent possiblement de façon autocrine afin de fournir un appui trophique après l'axotomie (Al Majed 2000a). L'augmentation d'expression de TrkB peut s'expliquer par une amélioration de la réactivité de BDNF chez les motoneurones axotomisés (Al Majed 2000a). Malgré qu'on a démontré que TrkB, récepteur de BDNF et NT-3, ainsi que NT-4/5

sont impliqués dans la régénération axonale suite à la stimulation électrique, des souris avec invalidation génétique (*knockout*) pour TrkB n'ont pas réussi à induire une régénération motrice sélective (Eberhardt 2006).

English et collègues (2007) ont trouvé que la stimulation électrique est suffisante pour surmonter une carence du facteur neurotrophique NT-4/5 dans la voie de régénération. Par contre, chez les souris avec invalidation génétique (*knockout*) pour NT-4/5, la stimulation électrique n'a pas réussi à améliorer la régénération des axones (English 2007). Il est donc possible que les axones qui se régénèrent utilisent deux voies de signalisation via le récepteur TrkB, impliquant le facteur NT-4/5 et/ou le facteur BDNF (English 2007). Cependant, la signalisation via une de ces voies unique est insuffisante pour promouvoir la régénération axonale puisque la croissance des axones est grandement ralentie dans un environnement privé de NT-4/5 (English 2007).

En dépit de l'évidence croissante que BDNF, NT-4/5 et TrkB sont impliqués dans l'amélioration de la régénération emportée par la stimulation électrique, le mécanisme par lequel ils médient leur effet reste à être éclairé. De plus, l'implication d'autres facteurs neurotrophiques reste à être démontrée et est le sujet de nombreuses études en cours.

6.4.1 Gènes associés à la régénération

D'autres voies qui servent à expliquer l'amélioration de la régénération axonale par la stimulation électrique ont été étudiées : les protéines du cytosquelette comme la tubuline, le neurofilament et la protéine associée à la croissance (GAP-43). Al Majed et collègues (2000a, 2004) ont démontré que la stimulation électrique modifie l'expression de ces gènes associés à la régénération (RAGs), comme T μ 1-tubulin et GAP-43. Le déclin accéléré de l'expression du gène de neurofilament (NFM) et l'augmentation de l'expression de T μ 1-tubulin et GAP-43 ont été observés après l'application de la stimulation électrique aux nerfs

périphériques lésés (Al Majed 2004). L'augmentation simultanée de l'expression de tubuline avec la diminution rapide de l'expression du gène de neurofilament permet un transport plus rapide de tubuline et sont concurrent avec l'amélioration de la tendance naturelle des motoneurones de se régénérer (Al Majed 2004, Hoffman 1985). Cela indique que la croissance accélérée des motoneurones par la stimulation électrique peut être expliquée en partie par une réduction rapide du ratio d'expression de NFM/tubuline par la stimulation électrique (Al Majed 2000a, Brushart 2002).

Un lien entre BDNF et l'expression des protéines cytosquelettiques et GAP-43 a été démontré. Avec la promotion de la régénération axonale, le facteur neurotrophique BDNF a augmenté l'expression de l'ARNm de T μ 1-tubuline et GAP-43 au niveau du corps cellulaire du motoneurone (Kobayashi 1997). En fait, suite à la stimulation électrique, l'augmentation de l'expression du facteur BDNF et son récepteur TrkB ont précédé la diminution du ratio NFM/tubuline de 16 heures (Al Majed 2004). Cette séquence temporelle suggère que BDNF joue un rôle fondamental dans le mécanisme par lequel la stimulation électrique stimule les modifications d'expression génétique des gènes associés à la régénération (RAGs) et la régénération axonale (Al Majed 2004).

6.4.2 Adénosine monophosphate cyclique et calcium

L'adénosine monophosphate cyclique (AMPC), un messager secondaire important pour la transduction de signaux intracellulaires, a été identifiée comme un autre joueur clé dans le mécanisme par lequel la stimulation électrique augmente la tendance des axones à se régénérer (Gordon 2010). On a démontré que la stimulation électrique augmente la concentration de l'AMP cyclique intracellulaire (Cai 2001). Aussi, Neumann et collègues (2002) ont démontré que l'AMP cyclique peut promouvoir la régénération axonale *in vivo*. Il est possible que l'augmentation de l'expression de la tubuline soit influencée par l'AMP cyclique (Sharma 2009). Cependant, le mécanisme par lequel l'AMPC modifie la régénération

axonale demeure à être élucidé (Andersen 2000). Il est possible que la stimulation électrique propage ses effets via l'AMP cyclique et le calcium comme messager secondaire (Brushart 2002, Al Majed 2000a, Kocsis 1994).

L'augmentation de l'influx de calcium suit la stimulation électrique, qui lui a été lié à des changements d'expression de gènes (Finkbeiner 1998). Le rôle de l'AMP cyclique dans l'amélioration de la régénération axonale par la stimulation électrique peut être médié par la signalisation de neurotrophines via le récepteur TrkB (Gordon 2009b). Au niveau du corps cellulaire du motoneurone, l'augmentation de l'externalisation du récepteur TrkB et du facteur BDNF peut être secondaire à l'influx de calcium dû à la dépolarisation de la membrane (Ahlborn 2007). L'augmentation du facteur BDNF par la stimulation électrique est en fait diminuée lorsque les cultures sont stimulées électriquement avec la présence d'un inhibiteur de calcium, nifedipine (Wenjin 2011). Cela suggère que l'augmentation intracellulaire de calcium contribue aux voies de signalisation intracellulaires menant à l'augmentation de l'expression de BDNF (Wenjin 2011). Comme la nifedipine n'abolit pas l'augmentation calcique, il est possible que d'autres canaux contribuent (Wenjin 2011).

Quelques pièces du casse-tête ont été identifiées. Ce qui est clair, est que plusieurs études seront encore nécessaires afin de clarifier l'implication du calcium, l'AMP cyclique en corrélation avec l'expression de facteurs neurotrophiques et leurs récepteurs. Qu'importe le mécanisme par lequel la stimulation électrique soutient la régénération axonale, son effet positif dans les blessures nerveuses périphérique est indéniable.

6.5 Des rongeurs aux humains

Même si la stimulation électrique a démontré d'excellents résultats chez les rongeurs, la distance sur laquelle les nerfs périphériques doivent régénérer pour atteindre les muscles

cibles et établir des connections fonctionnelles est relativement courte (Gillespie 1986, Kuffler 1986, Verdu 1997). La période relativement courte de 4 semaines pour que les axones traversent le site chirurgical chez le rat est vraisemblablement beaucoup plus important chez l'humain (Gordon 2008). En fait, lorsqu'on compare les modèles de régénération des rats à celui des humains, le délai de croissance des axones à travers le site chirurgical et de percer le moignon distal est plus long et la vitesse de régénération est trois fois plus lente chez l'humain (Gordon 2007).

Gordon et collègues (2010a) ont appliqué le protocole de stimulation électrique chez des patients humains pour évaluer l'amélioration qu'emporterait la stimulation électrique. Les patients étudiés avaient le diagnostic de syndrome du canal carpien sévère sans bloc de conduction, réfractaire aux traitements conservateurs. Immédiatement suivant la décompression chirurgicale du canal carpien, la stimulation électrique a été appliquée via des électrodes placées le long du nerf médian, proximal au site de décompression. La stimulation électrique est appliquée pour une heure à 20Hz. Les patients ont ensuite été suivis à des intervalles réguliers pour évaluer la récupération. La régénération axonale était quantifiée en mesurant l'estimation de nombre d'unités motrices (MUNE) ainsi que des études de conduction nerveuse sensoriel et motrice. Huit mois après le traitement chirurgical et la stimulation électrique, le groupe recevant la stimulation avait une régénération axonale significative comparé au groupe contrôle. Les patients qui ont reçu la stimulation électrique ont régénéré toutes les motoneurones et les nombres d'unités motrices, réinnervant les muscles thénariens. Quant au groupe contrôle, même 1 an post-décompression du canal carpien, il n'a pas eu de réinnervation significative des muscles thénariens. Ces résultats indiquent que seulement une heure de stimulation électrique après la réparation chirurgicale d'un nerf périphérique, les motoneurones chroniquement blessés retiennent l'habileté de se régénérer. De plus, aucun patient n'a développé de complications. Cette étude démontre donc que le protocole établi de stimulation électrique brève, immédiatement après réparation chirurgicale, est faisable dans un contexte clinique.

6.6 Implications

En accélérant l'initiation de la régénération et augmentant immédiatement l'augmentation de l'expression de gènes chez les neurones axotomisés, la stimulation électrique a démontré des résultats prometteurs dans le modèle rongeur et maintenant dans un modèle humain, pour l'amélioration de la régénération axonale (Sharma 2009). Cependant, ces effets sont possiblement transitoires (Sharma 2009). D'autant plus, les cellules Schwann dénervées du moignon distal fournissent un appui pour la croissance pour une période limitée (Gordon 2008). Y existe-t-il donc une indication de répéter la stimulation chez l'humain, lorsque la distance de régénération est plus importante?

Il existe un grand potentiel pour la régénération de nerfs périphériques avec l'utilisation de la stimulation électrique brève au moment de la réparation chirurgicale (Brushart 2005, Geremia 2007). La récupération motrice accélérée même dans les reconstructions avec un déficit important démontre un potentiel dans le traitement de blessures nerveuses graves. La stimulation électrique brève devrait être une considération dans l'avenir comme modalité supplémentaire pour améliorer les résultats fonctionnels après la chirurgie reconstructrice nerveuse (Haastert-Talini 2011). Même après des blessures nerveuses proximales comme un plexus brachial ou lombaire, où les résultats fonctionnels sont épouvantables malgré une réparation microchirurgicale, l'accélération de la croissance des axones par la stimulation électrique peut se traduire en récupération fonctionnelle (Gordon 2009b). Cliniquement, la stimulation électrique peut, non seulement avoir des avantages pour la récupération motrice, mais aussi pour la récupération sensorielle; elle a aussi le potentiel d'alléger la douleur neuropathique (Ahlborn 2007).

D'autre part, malgré que les évidences appuient les effets bénéfiques de la stimulation électrique directe, l'application clinique de cette dernière impose des risques qui ne sont pas négligeables. Cette étude est la première démontrant que la stimulation électrique

transcutanée est aussi efficace que la stimulation électrique directe pour accélérer la récupération fonctionnelle après la transection du nerf sciatique chez les souris.

L'application clinique de la stimulation transcutanée est simple et accessible; elle implique moins de risques pour les patients. De plus, la stimulation transcutanée simplifie l'application répétée de la stimulation au cours de la régénération du nerf affecté.

7 Conclusions

À l'aide d'une multitude d'outils de mesure, cette étude a démontré les effets bénéfiques de la stimulation électrique directe et transcutanée (20 Hz, 1 heure) après la lésion du nerf sciatique pour la récupération nerveuse chez la souris. La stimulation électrique transcutanée a été également bénéfique que la stimulation électrique directe à accélérer la réinnervation musculaire fonctionnelle démontrée par une amélioration significative de l'index fonctionnel sciatique et de l'angle de décollement à la semaine 8, 10 et 12.

L'accélération de la régénération axonale peut être cruciale pour la récupération fonctionnelle dans une multitude de contextes cliniques – telle les blessures de nerfs périphériques traumatiques ou les syndromes d'entrapement nerveux, pour en nommer quelques-uns. Plus la blessure nerveuse est proximale, plus il est bénéfique d'accélérer la régénération axonale. Une étude pilote étudiant la stimulation électrique chez des patients atteints du syndrome du canal carpien a démontré la stimulation électrique sécuritaire et faisable dans un contexte clinique. L'utilité de la stimulation électrique pour la récupération nerveuse dans l'avenir peut être, mais pas limitée à son application lors de décompression chirurgicale ou lors de la réparation d'un nerf lésé. Malgré démontrée sécuritaire, la stimulation électrique directe prolonge le temps opératoire; ce qui en soit est associé à un risque plus élevé de complications. La stimulation électrique transcutanée est une modalité clinique déjà utilisée dans une variété de contextes. Sa facilité d'utilisation ainsi que sa disponibilité rendent cet outil un instrument clinique idéal. Ce dernier permettrait aussi de

répéter le traitement de stimulation électrique sans avoir recours à une intervention chirurgicale supplémentaire. Toutefois, une meilleure compréhension des mécanismes par lesquels la stimulation électrique améliore la régénération est primordiale. Quelques éléments des processus sont connus, mais l'interaction précise de ses éléments demeure à être élucidée. La compréhension de ces mécanismes servira à appliquer ces trouvailles expérimentales à une variété d'utilités cliniques ainsi que pour le développement d'outils pharmaceutiques pour améliorer la récupération fonctionnelle après les blessures de nerfs périphériques.