



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ

Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΜΕΣΕΓΧΥΜΑΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ ΤΟΥ
ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΠΛΟΥΣΙΟΥ ΣΕ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ ΣΤΗ ΣΥΡΡΑΦΗ
ΤΟΥ ΙΣΧΙΑΚΟΥ ΝΕΥΡΟΥ ΣΕ ΕΠΙΜΥΕΣ

Διδακτορικός Φοιτητής: Κοκκαλάς Νικόλαος-Στυλιανός, Ορθοπαιδικός
Επιβλέπων καθηγητής: Δοντά Ισμήνη, Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής Αθηνών

Μέλη ΔΕΠ Τριμελούς Επιτροπής: Παπαχρήστου Διονύσιος, Καθηγητής Ιατρικής
Σχολής Πατρών, Κοκότης Παναγιώτης Αν. Καθηγητής Ιατρικής Σχολής Αθηνών

Αθήνα, 2021



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ

Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΜΕΣΕΓΧΥΜΑΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ ΤΟΥ
ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΠΛΟΥΣΙΟΥ ΣΕ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ ΣΤΗ ΣΥΡΡΑΦΗ
ΤΟΥ ΙΣΧΙΑΚΟΥ ΝΕΥΡΟΥ ΣΕ ΕΠΙΜΥΕΣ

Διδακτορικός Φοιτητής: Κοκκαλάς Νικόλαος-Στυλιανός, Ορθοπαιδικός
Επιβλέπων καθηγητής: Δοντά Ισμήνη, Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής Αθηνών

Μέλη ΔΕΠ Τριμελούς Επιτροπής: Παπαχρήστου Διονύσιος, Καθηγητής Ιατρικής
Σχολής Πατρών, Κοκότης Παναγιώτης Αν. Καθηγητής Ιατρικής Σχολής Αθηνών

Ημερομηνία Έγκρισης από το Γ.Σ.Ε.Σ. : 29/11/2016

Ημερομηνία Υποστήριξης Διδακτορικής Διατριβής : 9/4/2021

Αθήνα, 2021

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για την εκπόνηση της παρούσας διδακτορικής διατριβής, θα ήθελα αρχικά να ευχαριστήσω θερμά τον πρώην επιβλέποντα μου, κ. Τριανταφυλλόπουλο Ιωάννη, που εμπιστεύτηκε την αρχική μου ιδέα και με βοήθησε με την αδιάλειπτη καθοδήγησή του, να πραγματοποιηθεί η εργασία. Στην συνέχεια την καθηγήτρια μας κα. Δοντά Ισμήνη που χάρη σε αυτήν συνεχίζει να υπάρχει το Εργαστήριο Έρευνας Παθήσεων Μυοσκελετικού Συστήματος της Ιατρικής Σχολής στο ΚΑΤ και η οποία συνέβαλλε τα μέγιστα στην επίτευξη του βέλτιστου δυνατού αποτελέσματος. Στη συνέχεια θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους συμμετέχοντες στην παρούσα ερευνητική εργασία για την πολύτιμη τους βοήθεια: τον κ. Παύλο Λελόβα (Κτηνίατρος), τον κ. Κοκότη Παναγιώτη (Νευρολόγος) τον κ. Αντώνη Γαλανό (Βιοστατιστικός), την κα. Διαμαντοπούλου Καλλιόπη (Παθολογοανατόμο) και την κα. Χρυσανγή Καψή (Νοσηλεύτρια Ερευνητικού ΚΑΤ).

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την οικογένεια μου (γονείς, σύζυγο και παιδιά), που λειτούργησε σαν φωτεινός φάρος για εμένα σε όλη αυτήν την κοπιώδη περίοδο της έρευνας και της εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η μικροχειρουργική και η χειρουργική μετάθεση συνιστούν τις κύριες θεραπευτικές τεχνικές που επιστρατεύονται για την γεφύρωση νευρικών ελλειμμάτων. Ωστόσο, οι τεχνικές αυτές δεν αναδημιουργούν το κατάλληλο κυτταρικό και μοριακό μικρο-περιβάλλον για να υπάρξει η βέλτιστη δυνατή νευρική αναγέννηση. Στα πλαίσια αυτού του προβλήματος, η τοπική έγχυση με πλούσιο σε αιμοπετάλια πλάσμα (PRP) και με μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα (MSCs) φαίνεται να ενισχύει την αναγεννητική ικανότητα των νεύρων.

Σκοπός: Η παρούσα μελέτη επικεντρώνεται στην διερεύνηση της αποτελεσματικότητας της έγχυσης PRP και MSCs τοπικά κατά την πρωτογενή επιδιόρθωση της περιφερικής νευρικής διατομής ενός πειραματικού μοντέλου επίμυος στην ενίσχυση της αναγεννητικής ικανότητας των νεύρων.

Υλικό και Μεθοδολογία: Συνολικά 42 αρσενικοί επίμυες Wistar δύο μηνών χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες (control group, PRP και MSCs). Όλα τα ζώα υποβλήθηκαν σε χειρουργική επέμβαση διατομής του ισχιακού νεύρου υπό αναισθησία και η χειρουργική θέση διηθήθηκε είτε με φυσιολογικό ορό, είτε με PRP που προέρχεται από το περιφερικό αίμα του ζώου, ή MSCs που προέρχονται από τον μυελό των οστών του μηριαίου οστού του ζώου. Και οι τρεις ομάδες υποδιαιρέθηκαν επίσης σε δύο υποομάδες με βάση τη μετεγχειρητική χορήγηση Μη-Στεροειδών Αντιφλεγμονωδών Φαρμάκων (ΜΣΑΦ) ή όχι για να αξιολογηθεί η επίδραση των ΜΣΑΦ στο τελικό αποτέλεσμα. Τρεις μήνες μετά τη χειρουργική επέμβαση, πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση ηλεκτρομυογραφίας και των δύο πίσω άκρων (δεξιά και αριστερά μη χειρουργικά). Τα ζώα υποβλήθηκαν σε ευθανασία και παρασκευάστηκαν δείγματα συρραφής νεύρων για ιστολογία.

Αποτελέσματα: Η ομάδα επιμυών που έλαβε PRP έδειξε την παρουσία σημαντικής επίδρασης ($p < 0,05$) στην συρραφή του ισχιακού νεύρου σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου, ενώ η ομάδα MSCs είχε θετικό αποτέλεσμα αλλά δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($p = 0,2$). Ο αριθμός των μετρημένων νευραξόνων περιφερικά της περιοχής συρραφής του ισχιακού νεύρου ήταν αυξημένος ($p < 0,05$) και στις δύο ομάδες PRP και MSCs σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου.

Συμπεράσματα: Η τοπική έγχυση τόσο του PRP, όσο και των MSCs φαίνεται να διαδραματίζει ουσιαστικό ρόλο στην ενίσχυση της επιδιόρθωσης των νεύρων όσον αφορά στη λειτουργικότητα και την ιστολογία. Η ομάδα MSCs έδειξε θετικό αποτέλεσμα, ενώ η ομάδα PRP παρουσίασε στατιστικά σημαντικά καλύτερα αποτελέσματα.

Λέξεις κλειδιά: πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια; Μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα; Νευρική αναγέννηση

ABSTRACT

Introduction: Platelet-rich plasma (PRP) products and mesenchymal stem cells (MSCs) seem to have a significant potential as neurogenic therapeutic modulator systems.

Aim: This study aimed to investigate such biological blood derivatives that could enhance nerve regeneration when applied locally in the primary repair of peripheral nerve transection of an experimental rat model.

Methods: A total of 42 two-month-old male Wistar rats were divided into three “treatment” groups (control, PRP, and MSCs). All the subjects were operated under anesthesia, and the surgical site was infiltrated with either normal saline, PRP derived from the animal’s peripheral blood, or MSCs derived from the animal’s femoral bone marrow. All three groups were also sub-divided into two sub-groups based on the post-operative administration of Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) or not in order to evaluate the effect of NSAIDs on the final outcome. Three months post-surgery, electromyography evaluation of both hind limbs (right operated and left non-operated) was performed. The animals were euthanized, and nerve repair specimens were prepared for histology.

Results: PRP group had a significant effect ($p<0.05$) on the sciatic nerve repair when compared with the control group, whereas the MSCs group had a positive effect but was not statistically significant ($p=0.2$). The number of counted neural axons at the area distal to the nerve repair site were significantly repetitive ($p<0.05$) in both the PRP and MSCs groups when compared with the control group.

Conclusions: Both PRP and MSCs appear to play an essential role in the enhancement of nerve repair in terms of functionality and histology. MSCs group demonstrated a positive effect, whereas the PRP group showed statistically significant better results.

Keywords: platelet rich plasma, mesenchymal stem cells, nerve repair, nerve regeneration

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	3
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	4
ABSTRACT	6
ΠΙΝΑΚΑΣ ΕΙΚΟΝΩΝ:	10
ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΠΙΝΑΚΩΝ:.....	10
ΠΙΝΑΚΑΣ ΑΚΡΩΝΥΜΙΩΝ:	11
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	12
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	13
1. Ανατομία και Αρχές συρραφής περιφερικών νEURΩΝ.....	14
1.1 Η Ανατομία των νEURΩΝ:.....	14
1.1.1 Το Περιφερικό Νευρικό Σύστημα	14
1.1.2 Η αρχιτεκτονική των νEURΩΝ	14
1.1.3 Η ανατομία του ισχιακού νEURΟΥ	17
1.2 Κακώσεις των περιφερικών νEURΩΝ:.....	17
1.2.1 Ταξινόμηση κακώσεων	17
1.2.2 Αίτια κακώσεων των νEURΩΝ	19
1.3 Μεταβολές του μικρο-περιβάλλοντος μετά από την νευρική κάκωση:	
22	
1.3.1 Μεταβολές στο εγγύς κολόβωμα.....	22
1.3.2 Μεταβολές στο περιφερικό κολόβωμα	22
1.3.3 Κυτταρικά στοιχεία.....	23
1.4 Νευρική Συρραφή:.....	24
1.4.1 Πρώιμη μικροχειρουργική συρραφή	24
1.4.2 Γεφύρωση με νευρικά μοσχεύματα	26
1.4.3 Γεφύρωση με αγγειούμενα νευρικά μοσχεύματα.....	26
1.4.4 Γεφύρωση με παρεμβολή αγωγών.....	27

1.4.5	Νευρομεταφορά.....	27
2.	Μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα και νευρική αναγέννηση	28
2.1	Μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα:	28
2.1.1	Ιστορική Αναδρομή στην διερεύνηση των ιδιοτήτων των MSCs	28
2.1.2	Ιδιότητες των MSCs που αξιοποιούνται στην αναγεννητική ιατρική	29
2.2	Η επίδραση των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων στην νευρική αναγέννηση:	30
2.2.1	Μηχανισμός δράσης των MSCs στην νευρική αναγέννηση	30
2.2.2	In vivo μελέτες αναφορικά στην δράση των MSCs στην νευρική αναγέννηση	32
2.3	Η μετατροπή των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων που προέρχονται από τον μυελό των οστών (BMSCs) σε νευροκύτταρα:	33
2.4	Η επίδραση των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων που προέρχονται από τον μυελό των οστών (BMSCs) στην νευρική αναγέννηση:	35
3.	Πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (PRP) και νευρική αναγέννηση	36
3.1	Πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (PRP):	36
3.1.1	Η Θεραπεία με PRP	36
3.1.2	Ιστορική αναδρομή στην θεραπευτική εφαρμογή του PRP	37
3.2	Βιολογικά χαρακτηριστικά του PRP:	38
3.2.1	Ταξινόμηση διαλυμάτων PRP	38
3.2.2	Προετοιμασία και Βιολογικά χαρακτηριστικά του PRP που αφορούν στην νευρική αναγέννηση	40
3.3	Μηχανισμός δράσης του PRP στην αναγέννηση των νευρών:	41
3.3.1	Ο ρόλος των αυξητικών παραγόντων του PRP στην νευρική αναγέννηση	41
3.3.2	Η σημασία της κατάλληλης προετοιμασίας του PRP για την νευρική αναγέννηση	44
3.3.3	Η σημασία της χρονικής στιγμής χορήγησης του PRP	45

3.4	Η επίδραση του PRP στην αναγέννηση των νεύρων:.....	45
4.	Μεθοδολογία της Έρευνας.....	49
4.1	Ερευνητική υπόθεση της μελέτης:	49
4.2	Σκοπός της μελέτης:	50
4.3	Υλικό και Μεθοδολογία:	51
4.3.1	Χρησιμοποιούμενα ζωικά πρότυπα.....	53
4.3.2	Χαρακτηριστικά των ζωικών προτύπων.....	54
4.3.3	Τυχαιοποίηση των ζωικών προτύπων σε ομάδες	55
4.3.4	Χειρουργική Τεχνική	Error! Bookmark not defined.
4.3.5	Μελέτη αγωγιμότητας νεύρων	55
4.3.6	Ιστολογική μελέτη	56
4.4	Στατιστική Ανάλυση:.....	57
5.	Αποτελέσματα.....	59
6.	Συζήτηση	66
6.1	Η επίδραση της τοπικής έγχυσης MSCs στην νευρική αναγέννηση: ..	66
6.2	Η επίδραση της τοπικής έγχυσης PRP στην νευρική αναγέννηση: ..	68
6.3	Η επίδραση της χορήγησης ΜΣΑΦ στην νευρική αναγέννηση:.....	71
6.4	Περιορισμοί της μελέτης:	72
6.5	Πλεονεκτήματα της μελέτης:	72
7.	Συμπεράσματα	73
7.1	Συμπεράσματα:.....	73
7.2	Προτάσεις:.....	74
	BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	75
	Παράρτημα.....	Error! Bookmark not defined.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΕΙΚΟΝΩΝ:

- **Εικόνα 1:** Ιστολογία υπό μεγέθυνση x40 εγγύς και περιφερικά έως το σημείο της νευρικής αποκατάστασης των τριών επιμέρους ομάδων «θεραπείας».
- **Γράφημα 1:** Εύρος του CMAP του χειρουργημένου σκέλους μεταξύ των ομάδων «θεραπείας» ανεξάρτητα από τις «αντιφλεγμονώδεις» υποομάδες.
- **Γράφημα 2:** Εύρος CMAP% στις διαφορετικές ομάδες θεραπείας.
- **Γράφημα 3:** Απόλυτος αριθμός νευραξόνων που βρίσκονται περιφερικά του σημείου αποκατάστασης των νEURων μεταξύ των ομάδων «θεραπείας» ανεξάρτητα από τις «αντιφλεγμονώδεις» υποομάδες.
- **Γράφημα 4:** Αναλογία αριθμού νευραξόνων/επιδίiorθωση (D/P) στις επιμέρους ομάδες θεραπείας.

ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΠΙΝΑΚΩΝ:

- **Πίνακας 1:** Ταξινόμηση κύριων κατηγοριών διαλυμάτων PRP και βιολογικά χαρακτηριστικά.
- **Πίνακας 2:** Αυξητικοί παράγοντες του PRP που συμμετέχουν στην νευρική αναγέννηση.
- **Πίνακας 3:** Ομάδες θεραπείας και «αντιφλεγμονώδεις» ομάδες.
- **Πίνακας 4:** Εύρος CMAP (mV / msec) του χειρουργημένου σκέλους.
- **Πίνακας 5:** Εύρος CMAP% στις διαφορετικές ομάδες θεραπείας.
- **Πίνακας 6:** Αναλογία αριθμού νευραξόνων/επιδίiorθωση (D/P) στις επιμέρους ομάδες θεραπείας.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΑΚΡΩΝΥΜΙΩΝ:

1. Platelet-rich plasma (PRP) -πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια
2. Mesenchymal stem cells (MSCs) -μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα
3. Περιφερικό Νευρικό Σύστημα (ΠΝΣ)
4. Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ)
5. Nerve Growth Factor (NGF)- αυξητικός παράγοντας των νεύρων
6. Electromyogram (EMG)-ηλεκτρομυογράφημα
7. Μη Στεροειδή Αντιφλεγμονώδη Φάρμακα (ΜΣΑΦ)
8. Compound muscle action potentials (CMAP) – Δυναμικά ενεργείας σύνθετων μυών

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι τραυματισμοί των περιφερικών νεύρων είναι αρκετά συχνοί στον γενικό πληθυσμό και συνιστούν ένα παγκόσμιο πρόβλημα υγείας, το οποίο σχετίζεται άμεσα με μακροχρόνιες αναπηρίες, υψηλό κόστος υγειονομικών παροχών αλλά και αξιοσημείωτο κοινωνικό κόστος.

Ο χρυσός κανόνας στην αποκατάσταση των κακώσεων των περιφερικών νεύρων είναι η συρραφή των νευρικών κολοβωμάτων, ή και η εμφύτευση ενός αυτόλογου νευρικού μοσχεύματος, το οποίο φαίνεται να προσφέρει το καλύτερο θεραπευτικό αποτέλεσμα για τους ασθενείς.

Ωστόσο, η επιδιόρθωση του νευρικού ελλείμματος με την προσθήκη μοσχεύματος δεν επαρκεί πάντοτε για την αποκατάσταση της κάκωσης εξαιτίας της πολυπλοκότητας της διεργασίας της νευρικής αναγέννησης. Σε μια προσπάθεια προαγωγής της νευρικής αναγέννησης, τα τελευταία χρόνια επιστρατεύονται συμπληρωματικά της νευρικής συρραφής διάφορες θεραπευτικές τεχνικές οι οποίες βασίζονται στα πρόσφατα ευρήματα της νευροβιολογίας.

Η παρούσα διδακτορική διατριβή διερευνά την αποτελεσματικότητα της ταυτόχρονης χορήγησης στο νευρικό τραύμα μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων, και πλούσιου σε αιμοπετάλια πλάσματος σε πειραματικό επίπεδο. Συγκεκριμένα, η αποτελεσματικότητα των μεθόδων αυτών εκτιμάται σε πειραματικά μοντέλα επιμυών με κάκωση του ισχιακού νεύρου. Απώτερος στόχος είναι τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα της έρευνας να προάγουν την έρευνα σε ασθενείς με κάκωση περιφερικού νεύρου και να συμβάλλουν στην θεραπευτική αντιμετώπιση αυτών των ασθενών.

1. Ανατομία και Αρχές συρραφής περιφερικών νεύρων

1.1 Η Ανατομία των νεύρων:

1.1.1 Το Περιφερικό Νευρικό Σύστημα

Το Περιφερικό Νευρικό Σύστημα (ΠΝΣ) αποτελείται από νεύρα, ή αλλιώς κλειστές δέσμες νευραξόνων νευρώνων που συνδέουν το Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ) με το υπόλοιπο σώμα (1). Η πρωταρχική λειτουργία του ΠΝΣ είναι να επιτρέπει την κίνηση, την αίσθηση και τις αλλαγές στη συμπεριφορά για την αντιμετώπιση εξωτερικών ή εσωτερικών ερεθισμάτων (1-2). Τα νεύρα του Περιφερικού Νευρικού Συστήματος δομούνται από νευρικές ίνες, οι οποίες οργανώνονται σε πολλαπλές δεσμίδες νευρικών ινών και τελικά περιβάλλονται από συνδετικό ιστό, ο οποίος αποτελεί το περίβλημα του νεύρου (1).

Τα νεύρα αποτελούνται από διάφορους συνδυασμούς κινητικών, αισθητητικών και συμπαθητικών νευρικών ινών από αντίστοιχους νευρώνες (2). Οι κινητικοί νευρώνες λαμβάνουν σήματα μέσω των δενδριτών τους από νευρώνες του κεντρικού νευρικού συστήματος, κυρίως χρησιμοποιώντας τον νευροδιαβιβαστή ακετυλοχολίνη, ενώ, οι αισθητικοί νευρώνες λαμβάνουν τα σήματά τους μέσω των δενδριτών τους από εξειδικευμένους τύπους κυττάρων και ελεύθερες νευρικές απολήξεις. Αυτά τα σήματα αποστέλλονται στο ΚΝΣ για να παρέχουν αισθητηριακές πληροφορίες στον εγκέφαλο, ή και στους νευρώνες στον νωτιαίο μυελό, όταν απαιτείται αντανακλαστική απόκριση (1-2).

Στο ΠΝΣ, πέρα από τους νευρώνες και τις αποφυάδες τους, καθοριστικό ρόλο διαδραματίζουν και νευρογλοιακά κύτταρα, όπως είναι τα κύτταρα Schwann. Τα τελευταία επαλείφουν στα νεύρα ένα στρώμα μυελίνης και παρέχουν τροφική υποστήριξη μέσω της απελευθέρωσης σημαντικών νευροτροφικών παραγόντων όπως είναι ο αυξητικός παράγοντας των νεύρων- Nerve Growth Factor (NGF) (1-2).

1.1.2 Η αρχιτεκτονική των νεύρων

Κάθε νευρική ίνα που συμβάλλει στην δόμηση ενός νεύρου, αποτελείται από έναν κεντρικό πυρήνα, ο οποίος ονομάζεται αξονόπλασμα και ο οποίος περιβάλλεται από ένα έλυτρο μυελίνης, το οποίο παράγεται από τα κύτταρα Schwann (2). Το

αξονόπλασμα συνιστά προέκταση του περιπυρηνικού κυτταροπλάσματος του νευρώνα, και ως εκ τούτου είναι απαραίτητο για την επιβίωση του κυττάρου (2-3). Από την άλλη, ο νευράξονας αποτελεί την προέκταση του κυτταρικού σώματος των νευρώνων οι οποίοι εδράζονται στα πρόσθια κέρατα της φαιάς ουσίας του νωτιαίου μυελού ή στα συμπαθητικά γάγγλια (2).

Πολλές νευρικές ίνες, περιβαλλόμενες η κάθε μια από ενδονεύριο, οργανώνονται σε ομάδες οι οποίες χαρακτηρίζονται ως νευρικές δεσμίδες, και οι οποίες περιβάλλονται από συνδετικό ιστό, γνωστό ως περινεύριο. Αντιστοίχως, πολλές δεσμίδες οργανώνονται για τον σχηματισμό ενός περιφερικού νεύρου με επινεύριο ως εξωτερικό περίβλημα (1). Οι νευρικές ίνες που συμμετέχουν στο σχηματισμό των περιφερικών νεύρων είναι κινητικές, αισθητικές και συμπαθητικές, και διακρίνονται σε εμμύελες και αμύελες, ανάλογα με το αν διαθέτουν ή όχι έλυτρο μυελίνης ουσίας (3).

Στο ΠΝΣ οι αμύελοι νευράξονες εδράζονται μέσα σε απλές σχισμές του νευρογλοιακού κυττάρου Schwann. Κάθε κύτταρο Schwann δύναται να περιβάλλει πολλούς αμύελους νευράξονες, σε αντίθεση με τους εμμύελους νευράξονες, όπου η αναλογία είναι αποκλειστικά 1:1. Αυτή η αναλογία στις αμύελες νευρικές ίνες κυμαίνεται από 1:1 έως 1:18. Η διάμετρος των αμύελων νευραξόνων είναι από 0,3-2,3μm και κατ' αυτόν τον τρόπο βρίσκεται στα κατώτερα όρια όπου κατά την οντογένεση αρχίζει να εμφανίζεται η μυελίνωση (3-5). Η μυελίνη βελτιώνει την ταχύτητα αγωγής, περιορίζοντας τις θέσεις ιοντικής μεταφοράς κατά μήκος του άξονα στους κόμβους του Ranvier, με αποτέλεσμα μια ταχύτερη, κατά «άλματα» δυναμική διάδοση δράσης (5).

Οι κινητικές νευρικές ίνες είναι όλες εμμύελες και έχουν διάμετρο μεταξύ 2 έως 30 μικρομέτρων. Αντίθετα οι αισθητικές νευρικές ίνες αν και διαθέτουν παρόμοια διάμετρο, μπορούν να είναι είτε εμμύελες είτε αμύελες, με τις τελευταίες ωστόσο να είναι πολύ περισσότερες σε αριθμό στο ανθρώπινο σώμα (3). Οι εμμύελες αισθητικές ίνες είναι υπεύθυνες για την μεταφορά ερεθισμάτων της εν τω βάθει αισθητικότητας μέσω της οδού των οπίσθιων δεσμίδων, ενώ οι αμύελες, ακολουθούν την νωτιαιοθλαμική οδό και είναι υπεύθυνες για την επιπολής αισθητικότητα (5).

Το περίβλημα των περιφερικών νεύρων δομείται από συνδετικό ιστό και αποτελείται από έσω προς τα έξω από: το ενδονεύριο, το περινεύριο και τέλος το επινεύριο (5, 6). Το ενδονεύριο είναι στηρικτικός συνδετικός ιστός που περιβάλλει έκαστη νευρική ίνα εντός μιας νευρικής δεσμίδας. Αποτελείται από μία λεπτή στιβάδα δικτυωτών ινών,

μερικούς ινοβλάστες καθώς και αραιά εμφανιζόμενα μαστοκύτταρα. Οι ελαστικές ίνες και οι ίνες κολλαγόνου είναι χαλαρά διατεταγμένες (5). Ανάμεσα στα κυτταρικά στοιχεία και τις συνδετικές ίνες του ενδονεύριου υπάρχει υγρό με χαμηλή συγκέντρωση πρωτεϊνών και το οποίο κινείται πολύ αργά, αλλά σταθερά και περιφερικά (5-6). Η ομοιόσταση αυτού του υγρού καθορίζεται από τον αίματο-νευρικό φραγμό (6-7).

Ο ανατομικός χώρος, που ορίζεται και περιβάλλεται από το ενδονεύριο δεν αποτελεί μία στεγανά απομονωμένη διάσταση, αλλά ανοίγεται στην περιοχή των νευρικών ριζών προς τον υπαραχνοειδή χώρο, περιφερικά δε, κοντά στις νευρικές απολήξεις προς το διάμεσο και διακυττάριο χώρο του τελικού οργάνου που νευρώνεται (7).

Το περινεύριο με την σειρά του, περιβάλλει κάθε νευρική δεσμίδα και παρέχει προστασία από δυνάμεις εξελκυσμού, ενώ ταυτόχρονα διατηρεί σταθερή ενδοδεσμική πίεση για να υπάρχει σταθερή αξονοπλασματική ροή (5). Το περινεύριο αποτελείται από κυκλοτερώς και σε πολλές στιβάδες διατεταγμένα, επίπεδα επιθηλιοειδή κύτταρα νευροεξωδερμικής προέλευσης (7-9). Χαρακτηριστικό είναι, ότι τα κύτταρα αυτά καλύπτονται και στις δύο τους επιφάνειες από βασική μεμβράνη και συνδέονται μεταξύ τους από σφιχτές συνάψεις-συνδέσεις (zonulae occludentes, “tight junctions”) (9).

Περαιτέρω το περινεύριο ενισχύεται στη διάταξη του από ελαστικές και κυρίως από ισχυρές ίνες κολλαγόνου τοποθετημένες εγκάρσια και κατά μήκος ανάμεσα στις κυτταρικές στιβάδες του (7-8). Αυτές οι μορφολογικές ιδιαιτερότητες σχετίζονται άμεσα με τη λειτουργικότητα του περινεύριου, καθώς το καθιστούν πρακτικά αδιαπέραστο στο πέρασμα των περισσότερων μακρομορίων ανάμεσα στον εσωτερικό και στον εξωτερικό χώρο των νευρικών ινών της δεσμίδας που περικλύει (7-9).

Γι’ αυτό το λόγο το περινεύριο αποτελεί την ανατομική οντότητα του αίματο-νευρικού φραγμού (9). Μία τραυματική τρώση του περινεύριου έχει ως επακόλουθο, πρακτικά, την άρση του αίματο-νευρικού φραγμού και ουσιαστικά τη διακοπή της λειτουργίας των νευρικών δεσμίδων, που περιβάλλει (9-10).

Στην συνέχεια, το επινεύριο συνιστά το εξωτερικό περίβλημα του νεύρου με το οποίο το τελευταίο εξατομικεύεται και απομονώνεται από τους παρακείμενους ιστούς (5). Το επινεύριο περιέχει και τα τροφοφόρα αγγεία (Vasa nervorum) για τις νευρικές ίνες, που οριοθετεί. Τέλος αποτελεί το μορφολογικό σύνδεσμο του νεύρου με τους γύρω παρακείμενους ιστούς (5, 11). Το ποσοστό του συνδετικού ιστού αυτού που περιβάλλει

τα νεύρα μπορεί να διαφέρει μεταξύ διαφορετικών περιφερικών νεύρων, όπως φαίνεται σε μελέτες όπου πραγματοποιήθηκε η εγκάρσια διατομή των τελευταίων (11).

1.1.3 Η ανατομία του ισχιακού νεύρου

Τέλος, δεδομένου ότι η παρούσα έρευνα επικεντρώνεται στην συρραφή του ισχιακού νεύρου κρίνεται δόκιμη η περιγραφή της ανατομίας του. Το ισχιακό νεύρο, ακολουθεί πορεία κατά μήκος της γλουτιαίας χώρας και της οπίσθιας επιφάνειας του μηρού και συνιστά το μεγαλύτερο νεύρο του ανθρωπίνου σώματος και προέρχεται από τα νωτιαία νεύρα I1 (12).

Η λειτουργία του συνίσταται στην παροχή κινητικής νευρώσεως στους μυς του οπίσθιου διαμερίσματος του μηρού, καθώς και αισθητικής νευρώσεως στο υπερκείμενο δέρμα. Το ισχιακό νεύρο, καθώς κατέρχεται κατά μήκος του κάτω άκρου, στο ύψος του ιγνυακού βόθρου, χωρίζεται σε δύο τερματικούς κλάδους, οι οποίοι είναι το κνημιαίο και κοινό περονιαίο νεύρο (12).

1.2 Κακώσεις των περιφερικών νεύρων:

Οι κακώσεις των περιφερικών νεύρων είναι κοινές καταστάσεις με ευρύ φάσμα συμπτωμάτων, τα οποία ποικίλουν ανάλογα με τη σοβαρότητα της βλάβης, και με τα νεύρα που εμπλέκονται (13). Αν και υπάρχουν πολλές γνώσεις σχετικά με τους μηχανισμούς του τραυματισμού και της αναγέννησης, οι αξιόπιστες θεραπείες που εξασφαλίζουν πλήρη λειτουργική ανάκαμψη είναι ακόμη υπό μελέτη (14).

1.2.1 Ταξινόμηση κακώσεων

Οι κακώσεις των περιφερικών νεύρων θέτουν διάφορες προκλήσεις για τους ασθενείς, που κυμαίνονται από ήπια δυσφορία έως και δια βίου βλάβη. Δεδομένης της ποικιλίας των κλινικών εκδηλώσεων ανάλογα με την βαρύτητα της κάκωσης, είναι σημαντική η παρουσία ενός διεθνώς αποδεκτού συστήματος ταξινόμησης (14).

Ο Seddon, το 1951, ήταν ο πρώτος που ταξινόμησε τους νευρικούς τραυματισμούς σε τρεις κατηγορίες με βάση την παρουσία απομυελίνωσης και την έκταση της βλάβης στους άξονες και τους συνδετικούς ιστούς του νεύρου (13). Στην πορεία, ο Sunderland βαθμονόμησε αυτές τις βλάβες ως εξής (13-14):

- Νευροαπραξία:** *Βαθμός I* Εστιακή απομυελίνωση
- Αξονότμηση:** *Βαθμός II* Ο άξονας υπέστη ζημιά, αλλά άθικτο ενδονεύριο
- Αξονότμηση:** *Βαθμός III* Ο άξονας και το ενδονεύριο υπέστησαν ζημιά, αλλά άθικτο περινεύριο
- Αξονότμηση:** *Βαθμός IV* Ο άξονας, το ενδονεύριο και το περινεύριο υπέστησαν ζημιά, αλλά άθικτο επινεύριο
- Νευρότμηση:** *Βαθμός V* Πλήρης διατομή νεύρων.

Σύμφωνα με την ταξινόμηση του Seddon, η πιο ήπια μορφή κάκωσης του νεύρου ονομάζεται *νευροαπραξία*. Η νευροαπραξία χαρακτηρίζεται από εστιακή απομυελίνωση, χωρίς ωστόσο βλάβη στους νευράξονες ή στους συνδεδετικούς ιστούς του περιφερικού νεύρου. Η νευροπραξία εμφανίζεται συνήθως από μηχανισμούς κάκωσης όπως η ήπια συμπίεση ή έλξη του νεύρου, και οδηγεί σε σημαντική μείωση της ταχύτητας αγωγής (13). Ανάλογα με τη σοβαρότητα της απομυελίνωσης, τα αποτελέσματα μπορεί να κυμαίνονται από ασύγχρονη αγωγή δυναμικού, έως μπλοκ αγωγιμότητας, προκαλώντας μυϊκή αδυναμία (13).

Το επόμενο επίπεδο ως προς την βαρύτητα της κάκωσης του νεύρου ονομάζεται *αξονότμηση*. Η αξονότμηση συνεπάγεται άμεση βλάβη στους νευράξονες εκτός από την εστιακή απομυελίνωση, διατηρώντας παράλληλα τη συνέχεια των συνδεδετικών ιστών του νεύρου (15). Η πιο σοβαρή μορφή τραυματισμού ονομάζεται νευρότμηση, καθώς συνιστά πλήρη διατομή των στρωμάτων, των νευραξόνων και του συνδεδετικού ιστού, και παρατηρείται πλήρης ασυνέχεια του νεύρου (13, 15).

Στην πορεία, ο Sunderland επεκτάθηκε σε αυτήν την ταξινόμηση για να διακρίνει την έκταση της βλάβης στους συνδεδετικούς ιστούς (13, 16). Στο σχήμα ταξινόμησής του, ο βαθμός I και V αντιστοιχούν αντίστοιχα στη νευροαπραξία και τη νευρότμηση κατά τον Seddon (13). Ωστόσο, οι βαθμοί II-IV είναι όλες οι πιθανές μορφές αξονότμησης με αυξανόμενο ποσοστό βλάβης του συνδεδετικού ιστού (16). Στον βαθμό II, παρατηρείται ζημιά στον άξονα χωρίς να υπάρχει βλάβη στον συνδεδετικό ιστό. Ο βαθμός III συνεπάγεται βλάβη στο ενδονεύριο, και ο βαθμός IV περιλαμβάνει ζημιά στο περινεύριο (13-14, 16).

Στην παραπάνω ταξινόμηση οι MacKinnon & Dellon προσέθεσαν τον Βαθμό VI που αφορά σε μικτά επίπεδα τραυματισμού κατά μήκος ολόκληρου του νεύρου (13, 18).. Οι προσπάθειες απλοποίησης της ταξινόμησης των νευρικών βλαβών ως μη εκφυλιστικών ή εκφυλιστικών έχουν προταθεί από τους Thomas και Holdroff το 1993, αλλά η κλινική σημασία αυτής της απλούστευσης εξακολουθεί να είναι αμφισβητήσιμη (13, 19).

1.2.2 Αίτια κακώσεων των νεύρων

Οι κακώσεις των νεύρων έχουν πολλαπλή αιτιολογία καθώς μπορεί να οφείλονται σε χημική, μηχανική, ισχαιμική και θερμική βλάβη. Τα μηχανικά αίτια τα οποία και θα αναλυθούν, είναι η συμπίεση, σύνθλιψη, η διάταση και η διατομή (13).

1.2.2.1 Τραυματισμοί Συμπίεσης

Η μικρότερη δυνατή βλάβη που μπορεί να προκληθεί από τραυματισμό συμπίεσης οφείλεται σε τοπικούς πιεστικούς παράγοντες, οι οποίοι επιδρούν στην ενδονευρική μικροκυκλοφορία και προκαλούν οίδημα, αναστολή της αγωγής, ισχαιμία και τελικά ίνωση (13). Οι τραυματισμοί συμπίεσης των περιφερικών νεύρων, στην πλειονότητά τους, εμπίπτουν στη γενική κατηγορία της νευροαπραξίας ή σε νευρικούς τραυματισμούς βαθμού I και συμβαίνουν συνήθως σε περιοχές όπου τα νεύρα περνούν από στενά ανατομικά ανοίγματα (19).

Οι κακώσεις συμπίεσης χαρακτηρίζονται από εστιακή απομυελίνωση στο σημείο συμπίεσης, με την απουσία βλάβης του νευράξονα και του υπερκείμενου συνδετικού ιστού. Η συμπίεση μπορεί να είναι οξείας ή χρόνιας φύσης. Οι οξείες συμπίεσεις, όπως φαίνεται στην ακτινωτή μονονευροπάθεια, προκύπτουν συνήθως μετά από παρατεταμένη εξωτερική συμπίεση, συνήθως κατά την διάρκεια της νύχτας, κρεμώντας το χέρι κάποιου πάνω από μια καρέκλα (Οξεία πιεστική Νευροπάθεια Κερκιδικού Νεύρου-«Ερωτευμένων ή μεθυσμένων») (20).

Οι οξείες κακώσεις συμπίεσης σχεδόν πάντα παρουσιάζονται με παροδική παραισθησία, αιμωδίες, και πάρεση του άκρου. Η πλήρης ανάρρωση του οξέως συμπιεσμένου νεύρου μπορεί να κυμαίνεται από διάστημα εβδομάδων έως και χρόνων (20). Αντιθέτως, οι χρόνιες συμπίεσεις, όπως φαίνεται στο σύνδρομο καρπιαίου σωλήνα, επιδεινώνονται προοδευτικά χωρίς κατάλληλη παρέμβαση. Τα συμπτώματα μπορεί να ξεκινούν με παραισθησία και απώτερο μούδιασμα, αλλά σε αντίθεση με την

οξεία συμπίεση, συχνά εξελίσσονται με την πάροδο του χρόνου σε μυϊκή αδυναμία και παράλυση, ανάλογα με την έκταση της αξονικής βλάβης σε μεταγενέστερα στάδια (19).

Αναφορικά στην παθοφυσιολογία των τραυματισμών συμπίεσης, η μικροσκοπία φωτός και ηλεκτρονίων δείχνει ότι η φυσιολογική νευρομυϊκή μορφολογία και οι νευρομυϊκοί σύνδεσμοι εξακολουθούν να υπάρχουν σε χρόνιες βλάβες συμπίεσης (21). Ωστόσο, στα τραυματισμένα νεύρα παρατηρείται ένα υποβαθμισμένο, και λεπτότερο έναντι του φυσιολογικού περίβλημα μυελίνης, όπως αποδεικνύεται από αυξημένη αναλογία g (αναλογία διαμέτρου άξονα προς άξονα συν διάμετρο θήκης μυελίνης) και μειωμένο μήκος εσωτερικού (η απόσταση μεταξύ γειτονικών κόμβων του Ranvier) (19, 21).

Η επιβεβαίωση της απομυελίνωσης είναι η παρουσία επίσης αυξημένων εγκοπών Schmidt-Lanterman (SLIs) (13, 21). Τα SLIs είναι κυτταροπλασματικά συστατικά των κυττάρων Schwann που πιστεύεται ότι διατηρούν το μεταβολισμό του ελύτρου της μυελίνης (22). Συνεπώς, μια αύξηση των SLIs υποδηλώνει ότι τα κύτταρα Schwann αυξάνουν το μεταβολισμό τους για να υποβληθούν σε εκ νέου μυελίνωση, όπως φαίνεται συνήθως στη χρόνια συμπίεση νεύρου (22-23).

Από ανατομικής άποψης, έχουν εντοπιστεί διάφοροι μηχανισμοί συμπίεσης περιφερικών νεύρων. Αρχικά, η παρατεταμένη συμπίεση των αιμοφόρων αγγείων και η ισχαιμία των νεύρων, δύναται να προκαλέσει απουελίνωση (21). Ένας άλλος προτεινόμενος μηχανισμός είναι το αποτέλεσμα της χαμηλότερης πίεσης, η οποία μειώνει τη φλεβική επιστροφή και μπορεί να οδηγήσει σε φλεβική στάση. Σε αυτήν την κατάσταση, το εξωγενές οίδημα που σχηματίζεται με την πάροδο του χρόνου συμπιέζει το νεύρο, με επακόλουθους ινώδεις και ουλώδεις ιστούς γύρω από το νεύρο και ενδεχομένως ενδονευρικό οίδημα (22-23). Η εξέταση αυτών των δύο μηχανισμών αφενός δημιουργεί το ερώτημα γιατί τα κύτταρα Schwann επηρεάζονται κυρίως και όχι οι ίδιοι οι νευρώνες και αφετέρου υποδεικνύει την σημασία της νευρογλοίας στην νευρική αναγέννηση (14).

1.2.2.2 Τραυματισμοί Σύνθλιψης και Διάτασης

Οι τραυματισμοί σύνθλιψης και διάτασης του νεύρου μπορούν να προκαλέσουν πολλούς διαφορετικούς βαθμούς νευρικής βλάβης με συνέπεια να αντιπροσωπεύουν οποιαδήποτε από τις κατηγορίες του Seddon και Sunderland (19). Επιπλέον, οι

περισσότεροι από αυτούς τους τραυματισμούς πιθανώς συχνά αντιπροσωπεύουν μικτούς τραυματισμούς του είδους που προτείνουν οι Dellon και MacKinnon (13, 24).

Οι τραυματισμοί σύνθλιψης προκαλούνται συνήθως από μια οξεία τραυματική συμπίεση του νεύρου από κάποιο αμβλύ αντικείμενο, όπως ρόπαλο, χειρουργικό σφιγκτήρα ή άλλο αντικείμενο σύνθλιψης που δεν οδηγεί σε πλήρη διατομή του νεύρου (13).

Αντίθετα, οι τραυματισμοί διατομής, επίσης γνωστοί ως νευροτομήσεις ή τραυματισμοί νεύρου βαθμού V, έχουν πλήρη διατομή του νεύρου, συνήθως λόγω ρήξης από μαχαίρι, πυροβολισμό, γυάλινο θραύσμα και γενικά αιχμηρό αντικείμενο (25). Τέλος, οι βαλλιστικοί τραυματισμοί αποτελούν μια ειδική περίπτωση που τείνει να συνδυάζει τόσο τη διατομή όσο και τη συντριβή του νεύρου από το κρουστικό κύμα που κινείται μέσω του ιστού, μετά τη διέλευση της σφαίρας (13).

1.2.2.3 Τραυματισμοί Διατομής

Σε περίπτωση διατομής ενός περιφερικού νεύρου προκύπτουν τόσο δομικές όσο και μεταβολικές αλλαγές, οι οποίες αφορούν το στέλεχος και τα περιβλήματα του νεύρου (13). Πιο συγκεκριμένα, επί διατομής το περιφερικό κολόβωμα του νεύρου που έχει υποστεί την κάκωση εμφανίζει βαλλεριανή εκφύλιση, η οποία ξεκινάει το πρώτο εικοσιτετράωρο από την κάκωση και ολοκληρώνεται σε διάστημα περίπου τριών εβδομάδων (26).

Κατά την βαλλεριανή εκφύλιση, τα προϊόντα της αποδόμησης απομακρύνονται μέσω της διαδικασίας της φαγοκυττάρωσης, ενώ τα κύτταρα Schwann παράγουν μυελίνη, πολλαπλασιάζονται με ταχείς ρυθμούς, και επικάθονται κατά μήκος της βασικής μεμβράνης, σχηματίζοντας έτσι έναν νευρικό σωλήνα ικανό να δεχθεί τους αναγεννητικούς νευράξονες (26).

Παράλληλα το στέλεχος του νεύρου μεγαλώνει ανάλογα με το ποσοστό αύξησης της παραγωγής των δομικών πρωτεϊνών (27). Κάθε νευράξονας δημιουργεί πολλαπλές προσεκβολές, οι οποίες τείνουν να ενωθούν με το περιφερικό κολόβωμα του νεύρου που έχει υποστεί τη βλάβη, κινούμενες προς την περιφέρεια με ρυθμό περίπου ενός χιλιοστού ανά ημέρα. Με την ολοκλήρωση της βαλλεριανής εκφύλισης, το περιφερικό νεύρο το οποίο έχει υποστεί διατομή, έχει χάσει την αρχική του δομή και συνίσταται από πολλαπλούς σωλήνες, χωρίς ωστόσο να έχει ικανότητα δηλαδή αγωγής δυναμικού (13, 26).

1.3 Μεταβολές του μικρο-περιβάλλοντος μετά από την νευρική κάκωση:

Σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία, μετά από την κάκωση ενός περιφερικού νεύρου παρατηρούνται ποικίλες μεταβολές του μικρο-περιβάλλοντος (13). Οι αλλαγές αυτές αφορούν στο εγγύς και το περιφερικό κολόβωμα του τραυματισμένου νεύρου, τα κύτταρα Schwann, και τα μακροφάγα που προσέρχονται στην περιοχή (28). Οι μεταβολές αυτές του μικρο-περιβάλλοντος, στο σύνολο τους είναι καθοριστικής σημασίας για την αναγεννητική δραστηριότητα του τραυματισμένου νεύρου.

1.3.1 Μεταβολές στο εγγύς κολόβωμα

Οι μεταβολές του περιβάλλοντος που αφορούν στο εγγύς κολόβωμα ποικίλλουν ανάλογα με τη θέση του τραύματος σε σχέση με το κυτταρικό σώμα του νευρώνα και τη σοβαρότητα του τραύματος (13). Η κατανομή του εγγύς κολοβώματος είναι περιορισμένη και συνήθως προχωρά μόνο στον πρώτο κόμβο του Ranvier. Ωστόσο, εάν η θέση του τραυματισμού είναι πολύ κοντά στο κυτταρικό σώμα του νευρώνα, μπορεί να εμφανιστεί απόπτωση (29).

Σε σοβαρούς τραυματισμούς, το εγγύς τμήμα του νεύρου θα υποβληθεί σε χρωματόλυση με σκοπό την έναρξη της αναγέννησης (13). Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, πρωτεΐνες που συνδέονται με την ανάπτυξη, όπως ο παράγοντας GAP-43, η τουμπουλίνη και η ακτίνη παράγονται σε μεγαλύτερο βαθμό ώστε να σχηματιστούν οι τραυματισμένοι νευράξονες, με σωστή διάμετρο (30). Ταυτόχρονα, ενδογενείς νευροπροστατευτικοί παράγοντες, όπως η πρωτεΐνη-θερμικού σοκ-27 (HSP27) παράγονται επίσης σε αυξημένες ποσότητες, ώστε να προάγουν την επιβίωση του κατεστραμμένου νευρώνα (28). Όταν ο νευράξονας φτάσει τελικά στο όργανο-στόχο του, και απαιτείται ωρίμανση, η γονιδιακή έκφραση του νευρώνα θα επανέλθει από την αναγεννητική κατάσταση, στην κατάσταση συντήρησης (13).

1.3.2 Μεταβολές στο περιφερικό κολόβωμα

Οι μεταβολές του περιβάλλοντος που αφορούν στο περιφερικό κολόβωμα του διαχωρισμένου νεύρου οδηγούν τελικά στη διάσπαση του κυτταροσκελετού για να αρχίσει η διεργασία της νευρικής αναγέννησης (13). Η κοκκώδης διάσπαση του κυτταροσκελετού, συμβαίνει μετά από μια ξαφνική εισροή εξωκυτταρικών ιόντων, και κυρίως ιόντων Ca^{+} και Na^{+} , που οδηγεί σε μια σειρά συμβάντων που μοιάζουν με

απόπτωση, και η οποία χρησιμεύει στην πρόσληψη μακροφάγων χρησιμοποιώντας σήματα επεξεργασμένα από κύτταρα Schwann (13, 28).

Επιπλέον, διεθνείς ερευνητικές μελέτες έχουν δείξει ότι τι περιφερικό νευρικό κολόβωμα διατηρεί την ικανότητά του να μεταδίδει δυναμικό δράσης μερικές ώρες μετά την κάκωση, γεγονός που χρησιμοποιείται για τη μελέτη της συναπτικής μετάδοσης και της μυϊκής λειτουργίας σε απομονωμένα παρασκευάσματα νευρών-μυών (13, 31). Παράλληλα, στο περιφερικό κολόβωμα παρατηρείται αυξημένη παραγωγή των νευροτροφικών παραγόντων BDNF και GDNF, οι οποίοι προέρχονται από τον εγκέφαλο και την νευρογλοία αντίστοιχα, καθώς και του ακτινωτού νευροτροφικού παράγοντα (CNTF) (13).

1.3.3 Κυτταρικά στοιχεία

Στην ρύθμιση του μικροπεριβάλλοντος στην περιοχή διατομής του νεύρου, κεντρικό ρόλο φαίνεται να κατέχουν τα κύτταρα Schwann της νευρογλοίας αλλά και τα ιστικά μακροφάγα (13). Τα κύτταρα Schwann είναι πρωταρχικοί μεσολαβητές στην πρόκληση πολλών γεγονότων που αφορούν στην βαλλεριανή εκφύλιση, αλλά και σε αλλαγές στην έκφραση των πρωτεϊνών που παράγουν, στην θέση του τραυματισμού με τελικό σκοπό την αναγέννηση των νευραξόνων (32).

Πιο συγκεκριμένα, ελλείψει αξονικής επαφής, τα κύτταρα Schwann αναστέλλουν την μυελινωτική τους συμπεριφορά και αντίθετα επάγουν την έκφραση πολλών πρωτεϊνών όπως οι PMP22, Krox-20 52, P0 και Connexin-32 με στόχο την νευρική αναγέννηση (32-33). Ωστόσο, στην διεργασία της βελτιστοποίησης του μικρο-περιβάλλοντος συμμετέχουν και τα ιστικά μακροφάγα, φαγοκυτταρώνοντας τα παρακείμενα κυτταρικά θραύσματα (13, 33).

Τα κύτταρα Schwann στρατολογούν μέσω της πρωτεΐνης MCP-1 και MAC-2, τα μακροφάγα, ώστε να απομακρυνθούν τα κυτταρικά συντρίμια από την περιοχή του τραύματος (33-34). Ως εκ τούτου, τα μακροφάγα που προσελκύονται από κύτταρα Schwann, φτάνουν γρήγορα στη θέση του νευρικού τραυματισμού, διαπερνώντας τον αιματο-νευρικό φραγμό, φαγοκυτταρώνουν άχρηστα κυτταρικά στοιχεία, διασώζουν την πολύτιμη χοληστερόλη στα κατεστραμμένα νεύρα, και παράγουν απολιποπρωτεΐνη E, μεταξύ άλλων λιποπρωτεϊνών (35). Τέλος, τα ίδια τα μακροφάγα παράγουν παράγοντες που προάγουν περαιτέρω τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων Schwann

στην περιοχή, συμβάλλοντας με άλλον ένα μηχανισμό στην διαδικασία της νευρικής αναγέννησης (33, 35-36).

Μετά την κάθαρση των υπολειμμάτων της μυελίνης, τα αποδιαφοροποιημένα κύτταρα Schwann πολλαπλασιάζονται στους εναπομείναντες ενδονευρικούς σωλήνες της εξωκυτταρικής μήτρας (ECM). Συλλογικά, αυτές είναι γνωστές ως οι λωρίδες του Bungner και ο κοίλος σωλήνας που σχηματίζεται παρέχει μια διαδρομή για τον αναγεννητικό άξονα προς αναγέννηση (37).

αγωγής δυναμικού (13, 26).

1.4 Νευρική Συρραφή:

Σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία, η τεχνική συρραφής για την αποκατάσταση του νευρικού ελλείμματος εξαρτάται από πολλούς διαφορετικούς παράγοντες, όπως η εντόπιση, τα χαρακτηριστικά του τραύματος και ο χρόνος μεταξύ τραυματισμού και έναρξης θεραπείας (38).

1.4.1 Πρώιμη μικροχειρουργική συρραφή

Σε περιπτώσεις οξείας κάκωσης, όπου όμως παρατηρείται καθαρή λύση της συνέχειας του νεύρου και το τραύμα δεν είναι ρυπαρό, ούτε παρατηρούνται άλλες σημαντικές κακώσεις, προτιμάται η πρώιμη μικροχειρουργική συρραφή (38-39). Ωστόσο προκειμένου να πραγματοποιηθεί η συγκεκριμένη τεχνική συρραφής του νευρικού τραύματος θα πρέπει να λαμβάνονται στα υπόψιν και άλλοι παράγοντες οι οποίοι αφορούν α) στην γενική κατάσταση της υγείας του ασθενή, β) στο μέγεθος της βλάβης, γ) στην εντόπιση της κάκωσης και δ) φυσικά στην εμπειρία του χειρουργού (39).

Η πρώιμη μικροχειρουργική συρραφή περιλαμβάνει τρεις διαφορετικές τεχνικές συρραφής οι οποίες αφορούν στην: α) επινευρική συρραφή, β) στην δεσμιδική συρραφή και τέλος στην γ) ομαδική δεσμιδική συρραφή (39).

1.4.1.1 Επινευρική συρραφή

Η επινευρική συρραφή αποτελεί μία εξαιρετικά συνηθισμένη χειρουργική μέθοδο, η οποία ωστόσο προϋποθέτει την βέλτιστη δυνατή ευθυγράμμιση των νευρικών κολοβωμάτων μεταξύ των (39). Για την επίτευξη του παραπάνω, αρκετά συχνά στην κλινική πράξη, οι χειρουργοί καταφεύγουν στη χρήση μεγέθυνσης με ειδικούς φακούς

ή με χειρουργικό μικροσκόπιο. Αφού τοποθετηθούν κατά τον βέλτιστο τρόπο τα κολοβώματα, η συρραφή πραγματοποιείται με ράμμα nylon 8-0 για μεγάλα νεύρα ή με 9-0 ή 10-0 για τα μικρότερα νεύρα (39-40).

Είναι εξαιρετικά κρίσιμο τα δύο νευρικά κολοβώματα να συμπλησιάζονται με τα λιγότερα ράμματα, και το επινεύριο να κλείνει χωρίς να αφήνει ελλείμματα αλλά ούτε και νευρικές ίνες από το κεντρικό κολόβωμα να συγκλίνουν προς την περιφέρεια (41).

Τέλος, η επινευρική συρραφή περιλαμβάνει την: α) τελικο-τελική συρραφή μεταξύ των κολοβωμάτων, αλλά και β) την τελικο-πλάγια συρραφή με «μανίκι» επινευρίου (41). Στην τελευταία, μέρος του επινευρίου χρησιμοποιείται ως μανίκι για να εγκολεάσει το κεντρικό τμήμα του κολοβώματος. Έπειτα, συρράπτεται σε απόσταση 2mm από το σημείο επαφής των κολοβωμάτων με δύο ράμματα (41-42). Η παρούσα τεχνική τείνει να έχει καλύτερα αποτελέσματα από την τελικο-τελική επινευρική συρραφή, καθώς το σημείο της συρραφής των κολοβωμάτων εδράζεται κεντρικότερα του σημείου της βλάβης, ενώ αντίθετα το επινευρικό «μανίκι» συμπεριφέρεται ως φραγμός για το αξονόπλασμα, που καθοδηγεί τους αναγεννητικούς νευράξονες (42-44). Τέλος, με το επινευρικό «μανίκι», μεγαλύτερος αριθμός νευρικών ινών φτάνει στο όργανο-στόχο και έτσι εμποδίζεται ο σχηματισμός νευρώματος (44).

1.4.1.2 Δεσμιδική συρραφή

Η δεσμιδική συρραφή προϋποθέτει την διάνοιξη του επινευρίου περιφερικότερα της κάκωσης ούτως ώστε να είναι εφικτή η συρραφή επιμέρους νευρικών δεσμίδων (39). Με την διάνοιξη του επινευρίου, έκαστη δεσμίδα παρασκευάζεται και αναστομώνεται με την αντίστοιχή της στο άλλο κολόβωμα με ράμματα nylon 10-0 τα οποία καθηλώνονται στο περινεύριο και στο έσω τμήμα του επινευρίου (39). Με αυτόν τον τρόπο η συρραφή επιτυγχάνεται με μεγαλύτερη ακρίβεια από ότι στην επινευρική συρραφή, αλλά οι κίνδυνοι περαιτέρω κάκωσης του επινευρίου και τεχνικών σφαλμάτων είναι σημαντικά αυξημένοι (45).

1.4.1.3 Ομαδική Δεσμιδική συρραφή

Η ομαδική δεσμιδική συρραφή είναι τεχνική συρραφής ομάδων νευρικών δεσμίδων μεταξύ τους, με αποτέλεσμα τον μικρότερο αριθμό ραμμάτων, τους λιγότερους χειρουργικούς χειρισμούς και το μικρότερο κίνδυνο για ενδονευρική ίνωση (45). Στη παρούσα χειρουργική τεχνική, κεντρικό ρόλο κατέχουν ο ηλεκτρικός νευρικός ερεθισμός και οι χρώσεις ακετυλοχολινεστεράσης και καρβονικής ανυδράσης, με

σκοπό την διάκριση των κινητικών και των αισθητικών ινών, ώστε να πραγματοποιηθεί σωστή συρραφή των δύο νευρικών κολοβωμάτων (46).

1.4.2 Γεφύρωση με νευρικά μοσχεύματα

Η γεφύρωση με νευρικά μοσχεύματα επιστρατεύεται όταν το νευρικό έλλειμμα δεν δύναται να αποκατασταθεί με τεχνικές τελικο-τελικής συρραφής χωρίς να υπάρξει αυξημένη τάση και συνεπακόλουθα κίνδυνος νευρικής ισχαιμίας (47-48). Το παρόν παρατηρείται σε περιπτώσεις σύνθλιψης του νεύρου, και παρέλευσης αρκετού χρόνου από την κάκωση, καθώς και σε σημαντική απώλεια νεύρου από την κάκωση (47).

Στην παρούσα χειρουργική τεχνική, αρχικά τα άκρα του τραυματισμένου νεύρου νεαροποιούνται και το επινεύριο παρασκευάζεται κυκλοτερώς. Έπειτα, μετριέται το νευρικό έλλειμμα για να υπολογιστεί το μέγεθος του μοσχεύματος που απαιτείται για την γεφύρωση των κολοβωμάτων (48). Το μήκος του νευρικού μοσχεύματος που θα τοποθετηθεί υπολογίζεται από τον πολλαπλασιασμό του αθροίσματος του ελλείμματος +1,15, με τον αριθμό των δεσμίδων που θα χρησιμοποιηθούν στην συρραφή (45, 48).

Στην κλινική πράξη, οι κατεξοχήν δότριες περιοχές νευρικών μοσχευμάτων για γεφύρωση ελλείμματος είναι: α) το γαστροκνημιαίο νεύρο, β) ο τελικός κλάδος του ραχιαίου μεσόστεου νεύρου, γ) και το έσω δερματικό νεύρο (48). Αφού πραγματοποιηθεί ο συμπλησιασμός των άκρων, το νευρικό μόσχευμα συρράβεται στα κολοβώματα με 2 ράμματα 9-0 (47-48). Στις μέρες μας, τα νευρικά αυτομοσχεύματα φαίνεται να συνιστούν τη μέθοδο εκλογής για την αποκατάσταση νευρικών κακώσεων μεγάλου ελλείμματος, αν και το πεπερασμένο μήκος του μοσχεύματος, αλλά και η νοσηρότητα της δότριας περιοχής εξακολουθούν να αποτελούν σοβαρά προβλήματα (49).

1.4.3 Γεφύρωση με αγγειούμενα νευρικά μοσχεύματα

Η τεχνική της γεφύρωσης των νευρικών κολοβωμάτων με αγγειούμενα νευρικά μοσχεύματα συμβάλλει στην αποκατάσταση της βλάβης με ταυτόχρονη αποφυγή της περιόδου της επαναγγείωσης (50). Στην σύγχρονη κλινική πρακτική, η επιστράτευση των αγγειούμενων νευρικών μοσχευμάτων έχει απόλυτη ένδειξη σε περίπτωση που: α) το έλλειμμα υπερβαίνει τα 6 εκατοστά, β) η αποκατάσταση αφορά σε νευρικούς κλάδους του βραχιονίου πλέγματος, και σε γ) υπόστρωμα έντονης ουλής (50). Ο κύριος

δότης είναι το ωλένιο νεύρο που χρησιμοποιείται είτε ως ελεύθερο νεύρο, είτε αναστρέφεται και αναστομώνεται με επινευρική συρραφή μαζί με τα αγγεία του (51).

1.4.4 Γεφύρωση με παρεμβολή αγωγών

Η χειρουργική τεχνική της παρεμβολής αγωγών παρουσιάζει ένδειξη σε νευρικά ελλείμματα, τα οποία είναι μικρότερα από 3 cm (52-55). Στη κλινική πράξη, οι αγωγοί που επιστρατεύονται είναι: α) βιολογικοί, δηλαδή αρτηρίες, φλέβες, επινεύριο και μύες (56-58) και β) οι συνθετικοί (από PGA, PLCL, PGA-c ή κολλαγόνο τύπου I (59).

Σύμφωνα με τις τρέχουσες έρευνες, οι νευροτροφικοί παράγοντες διελαύνουν μέσα από τους βιολογικούς και τους συνθετικούς αγωγούς και καθοδηγούν τη νευρική αναγέννηση (54). Τέλος, σημαντικά πλεονεκτήματα της παρούσας χειρουργικής τεχνικής είναι: α) η ελαχιστοποίηση της τάσης, β) η ελαχιστοποίηση του τραύματος στην δότρια περιοχή και γ) η βέλτιστη καθοδήγηση της νευραξονικής αναγέννησης (54-57).

1.4.5 Νευρομεταφορά

Η νευρομεταφορά στοχεύει στην επανανεύρωση των μυών οι οποίοι λόγω της εκτεταμένης νευρικής κάκωσης, έχουν χάσει την νεύρωση τους. Σύμφωνα με την τρέχουσα βιβλιογραφία, απόλυτη ένδειξη για την τεχνική της νευρομεταφοράς έχουν οι εξής περιπτώσεις: α) μη λειτουργικό εγγύς κολόβωμα, β) απαιτούνται αυτομοσχεύματα πολύ μεγάλου μήκους για την αποκατάσταση του ελλείμματος, γ) εκτεταμένη ουλή στην περιοχή της κάκωσης, δ) το όργανο-στόχος εδράζεται αρκετά περιφερικότερα του σημείου βλάβης, και ε) όταν έχει παρέλθει μεγάλο χρονικό διάστημα από την νευρική κάκωση (περί τους 18 μήνες) (60).

2. Μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα και νευρική αναγέννηση

2.1 Μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα:

Σύμφωνα με την τρέχουσα βιβλιογραφία, τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα (MSCs) αποτελούν αρχέγονα, πολυδύναμα κύτταρα που έχουν την ικανότητα να αυτό-πολλαπλασιάζονται, και έτσι να δίνουν γένεση στα πρόδρομα κύτταρα τελικών εξειδικευμένων (διαφοροποιημένων) κυττάρων του ανθρώπινου σώματος τα οποία με την σειρά τους σχηματίζουν τους διάφορους εξειδικευμένους ιστούς (61).

Είναι γεγονός ότι τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα συνιστούν το αντικείμενο ερευνητικού ενδιαφέροντος πολλών επιστημονικών ομάδων στην σύγχρονη εποχή, εξαιτίας της αναγεννητικής τους ικανότητας (61-62). Πράγματι, πολυάριθμες κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι τα κύτταρα αυτά έχουν αρκετές εφαρμογές στην αναγεννητική ιατρική (61-64). Δεδομένων αυτών των ιδιοτήτων η παρούσα διδακτορική διατριβή επιδιώκει την διερεύνηση της συμβολής των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων στην νευρική αναγέννηση, κατόπιν τραυματισμού του ισχιακού νεύρου.

2.1.1 Ιστορική Αναδρομή στην διερεύνηση των ιδιοτήτων των MSCs

Σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία, οι πρώτες αναφορές σχετικά με την πιθανή ύπαρξη ενός κυτταρικού πληθυσμού, με προγονικό μεσεγχυματικό χαρακτήρα αποδίδονται στον Friedenstein και τους συνεργάτες του (1974) (62, 65). Πράγματι, η συγκεκριμένη ομάδα ερευνητών ταυτοποίησε και όρισε αυτά τα κύτταρα ως «συγκολλητικές» αποικίες ινοβλαστών, οι οποίες σχηματίζουν κλώνους κυττάρων (65). Αργότερα, τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα χαρακτηρίστηκαν επίσης ως «στρωματικά κύτταρα» του μυελού, με βάση την πιθανή χρήση τους ως στρώμα τροφοδοσίας για αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα (66).

Επιπλέον, άλλες αναφορές της βιβλιογραφίας τεκμηριώνουν την παρουσία των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων με την τρέχουσα ονομασία τους για πρώτη φορά από τον Caplan (1991) (67). Ο ίδιος τα χαρακτήρισε έτσι εξαιτίας της ιδιότητας της κλωνογένεσης και της ικανότητάς τους να υποβάλλονται σε διαφοροποίηση προς τον σχηματισμό πολλών διαφορετικών κυτταρικών σειρών (67).

Επί του παρόντος, τα MSCs έχουν καθοριστεί, σύμφωνα με τα κριτήρια της Διεθνούς Εταιρείας Κυτταρικής Θεραπείας (ISCT), ως αρχέγονα πολυδύναμα κύτταρα (με την ικανότητα τουλάχιστον διαφοροποίησης έναντι των οστεογονικών, χονδρογόνων και λιπογενών σειρών), ικανά αυτοανανέωσης (62). Επιπρόσθετα, αναφορικά στις ιδιότητές τους, τα MSCs φέρουν στο κυτταρικό τους τοίχωμα τους δείκτες επιφανείας CD105, CD73, CD90, ενώ τυπικά παρουσιάζουν έλλειψη των δεικτών επιφανείας αιμοποιητικών κυττάρων CD45, CD34, CD14 ή CD11b, CD79a, CD19 και Human Leukocyte Antigen DR, (68).

Μέχρι στιγμής, τα MSCs έχουν απομονωθεί από μυελό των οστών (BMSCs), από τον λιπώδη ιστό (ASCs), τον οδοντικό πολφό, τον πλακούντα, το αμνιακό υγρό, το αίμα του ομφάλιου λώρου, το ήπαρ, τους πνεύμονες, το Wharton's jelly, τον σπλήνα και τον εγκέφαλο (69). Ως πιθανοί θεραπευτικοί παράγοντες, τα MSCs εμφανίζουν έναν αριθμό βασικών χαρακτηριστικών που πιστεύεται ότι είναι πλεονεκτικά σε σύγκριση με άλλους κυτταρικούς πληθυσμούς (62).

Τα τελευταία χρόνια τα MSCs αξιοποιούνται σε μεγάλο βαθμό σε κλινικές και προκλινικές μελέτες της αναγεννητικής ιατρικής χάρη στα πλεονεκτήματα που παρουσιάζουν (61-64). Πιο αναλυτικά, τα MSCs δύνανται να απομονωθούν με ελάχιστες επεμβατικές διαδικασίες, να καλλιεργηθούν εύκολα και στην συνέχεια να επεκταθούν *in vitro* (62). Ακόμη, παρουσιάζουν μειωμένο ογκογονικό χαρακτήρα, και το πιο σημαντικό, ως ενήλικα κύτταρα δεν εγείρουν ηθικές ανησυχίες και προβληματισμούς στους ερευνητές και το ευρύ κοινό (69). Στο σύνολό τους, αυτά τα χαρακτηριστικά ευνοούν τις έρευνες αναφορικά στην αναγεννητική ιατρική με την χρήση των MSCs (62, 64, 69).

2.1.2 Ιδιότητες των MSCs που αξιοποιούνται στην αναγεννητική ιατρική

Κατά την έναρξη των διαφόρων πειραμάτων και των κλινικών δοκιμών με χρήση MSCs θεωρούνταν ότι η αναγεννητική τους δράση οφείλεται στην ικανότητα τους να διαφοροποιούνται σε πολλές διαφορετικές κυτταρικές σειρές (61-62). Ως εκ τούτου, το μεγαλύτερο μέρος της βιβλιογραφίας της δεκαετίας του '90, αλλά και τα περισσότερα δημοσιευμένα άρθρα στις αρχές του 21ου αιώνα επικεντρώθηκαν στη διαφοροποίηση αυτών των κυττάρων προς τις μεσοδερμικές γενεές, όπως οι οστεογενείς, κυρίως εντός

τρισδιάστατων πινάκων γνωστών ως ικριωμάτων, για την πρόκληση αναγέννησης στις πληγείσες περιοχές (62).

Ωστόσο, στις αρχές του 2000, προτάθηκε επίσης ότι τα MSCs είχαν ακόμη μεγαλύτερο δυναμικό διαφοροποίησης από ό,τι είχε αρχικά προβλεφθεί, καθώς αρκετές αναφορές έδειξαν ότι αυτά τα κύτταρα θα μπορούσαν να διαφοροποιηθούν πέρα από τις μεσοδερμικές γενεές (68). Στην πορεία, ο Gnocchi και οι συνεργάτες του (2005) υπέδειξαν ότι το θεραπευτικό δυναμικό των κυττάρων αυτών σχετίζεται κυρίως με τους αυξητικούς παράγοντες που εκκρίνουν στο εξωκυτταρικό περιβάλλον, παρά με το δυναμικό διαφοροποίησής τους (70).

Πράγματι, τα τελευταία χρόνια γίνεται διεθνώς, όλο και πιο αποδεκτό ότι οι αναγεννητικές επιδράσεις που προωθούν τα MSCs σχετίζονται κυρίως με το διαλυτό κλάσμα που εκκρίνουν, που αποτελείται από αυξητικούς παράγοντες και κυτοκίνες, και το «κυστικό» κλάσμα που αποτελείται από μικροκύτταρα και εξωσώματα, τα οποία εμπλέκονται στη μεταφορά πρωτεϊνών και γενετικού υλικού (π.χ. miRNA) σε άλλα κύτταρα (69).

2.2 Η επίδραση των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων στην νευρική αναγέννηση:

Σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία, τα MSCs έχουν καθοριστικό ρόλο στην διεργασία της νευρικής αναγέννησης και για αυτό το λόγο και αξιοποιούνται σε πειραματικές μελέτες αναφορικά σε νευροεκφυλιστικά νοσήματα που προσβάλλουν τόσο το ΚΝΣ, όσο και τα περιφερικά νεύρα (64, 69). Οι «θεραπευτικές» δράσεις των MSCs φαίνεται να σχετίζονται κατά βάση με τα μόρια που εκκρίνονται από ένα MSC, και λιγότερο με την αυτό-ανανεωική τους δραστηριότητα (69).

2.2.1 Μηχανισμός δράσης των MSCs στην νευρική αναγέννηση

Πιο αναλυτικά, αρκετοί συγγραφείς οι οποίοι διενεργούν κλινικά πρωτόκολλα με MSCs, έχουν αναφέρει την έκκριση από τα τελευταία, πληθώρας αυξητικών παραγόντων (69). Στο σύνολό τους, οι αυξητικοί αυτοί παράγοντες έχουν γνωστή επίδραση: α) στην νευρωνική επιβίωση, β) στην κυτταρική διαφοροποίηση, γ) την ανάπτυξη νευραξόνων και δ) την ανοσοδιαμόρφωση μικρογλοιακών κυττάρων (64, 69).

Σε αυτούς τους παράγοντες, συγκαταλέγονται: α) ο BDNF, β) ο νευροτροφικός παράγοντας που προέρχεται από την νευρογλοία (GDNF), γ) ο αυξητικός παράγοντας των νeurών (NGF), δ) ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF), ε) ο VEGF-υποδοχέας 3 (VEGF-R3), και στ) η αγγειοπιετίνη (71-72). Παράλληλα με αυτούς, εκκρίνονται και πρωτείνες οι οποίες επάγουν την νευρική αναγέννηση, όπως η υπεροξαροξίνη-6 και η εστεράση της οβικουιντίνης L1 (UCHL1) (73).

Στην διεθνή βιβλιογραφία, δημοσιεύονται μελέτες οι οποίες υποδεικνύουν την δράση των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων στην νευρική αναγέννηση και υποστηρίζουν έμπρακτα την καθοριστική τους συμβολή στην επιτυχή αποκατάσταση (62, 64, 69). Συγκεκριμένα, ο Munoz και οι συνεργάτες του (2006) πραγματοποίησαν μελέτη στην οποία μεταμοσχεύθηκαν MSCs σε επιμύες και διαπίστωσαν ότι τα μεταμοσχευμένα MSCs αύξησαν σημαντικά τον πολλαπλασιασμό των ενδογενών νευρικών MSCs που εξέφρασαν τον δείκτη βλαστικών κυττάρων Sox2, καθώς και τη διαφοροποίησή τους, γεγονός που αποδόθηκε σε τοπική αύξηση της έκφρασης αυξητικών παραγόντων όπως VEGF, ο ακτινωτός νευροτροφικός παράγοντας (CNTF), η νευροτροφίνη-4/5 και ο NGF (74).

Επιπλέον, πιο πρόσφατα σε μελέτη του Teixeira και των συνεργατών του (2015) φάνηκε ότι η ένεση του εκκριτικού HUCPVCs (ένας πληθυσμός MSC που βρίσκεται στην περιαγγειακή περιοχή του ομφάλιου λώρου) μπόρεσε να προκαλέσει αυξημένο αριθμό κυττάρων DCX +. Αυτή η παρατήρηση συσχετίστηκε με υψηλότερη έκφραση του FGF-2 και του NGF στην περιοχή της ένεσης και τελικά με επαγωγή της νευρικής αναγέννησης (69).

Πράγματι, σε περιπτώσεις νευρικής κάκωσης, η δράση των MSCs φαίνεται να είναι βαρυσήμαντη δεδομένου του παθοφυσιολογικού μηχανισμού (62). Είναι γνωστό ότι η κινητικότητα του νευρικού κώνου ανάπτυξης είναι απαραίτητη για την νευρική αποκατάσταση (13). Η κινητικότητα αυτή, εξαρτάται από την παρουσία συγκεκριμένων υποδοχέων στη μεμβράνη του κώνου. Μόρια καθοδήγησης είναι οι σηματοδότες, οι εφρίνες, οι νετρίνες και οι σχισμές. Αντίθετα, τα ανασταλτικά μόρια καθοδήγησης όπως η Collapsin-1 προάγουν την κατάρρευση του κώνου ανάπτυξης (28, 62).

Από την άλλη, οι νευροτροφίνες, όπως το BDNF που παράγεται από τα MSCs μειώνουν την ευαισθησία των κώνων ανάπτυξης και προάγουν την αναγέννηση των

νεύρων (75). Ο ρυθμός αναγέννησης μπορεί να εξαρτάται πολύ από την τοποθεσία κατά μήκος του νευρώνα στην οποία τα εγγύς τμήματα μπορεί να εμφανίσουν αύξηση 2-3 mm / ημέρα, ενώ περισσότερα απομακρυσμένα τμήματα μπορεί να προχωρήσουν με ρυθμό 1-2 mm / ημέρα (62).

Ακόμη, η ιδιότητα των MSCs να σχηματίζουν κυτταρικούς κλώνους οι οποίοι διαφοροποιούνται προς τον σχηματισμό εξειδικευμένων κυττάρων, έχει σημαντική επίδραση στην επιδιόρθωση νευρικών κακώσεων σύμφωνα με τα αποτελέσματα πολλαπλών σύγχρονων κλινικών και εργαστηριακών μελετών (76). Πράγματι, τόσο *in vitro* όσο και *in vivo* τα MSCs δύνανται να διαφοροποιηθούν τόσο σε νευρικά όσο και σε νευρογλοιακά κύτταρα που μπορούν να επάγουν την αναγέννηση σε περιοχή κάκωσης νεύρου (76-78).

Κλείνοντας, τα MSCs επιστρατεύονται θεραπευτικά τόσο στα πλαίσια αυτόλογης όσο και αλλογενούς μεταμόσχευσης (62). Τα κύτταρα αυτά μπορούν να απομονωθούν από πολλές διαφορετικές κυτταρικές σειρές και να δράσουν μέσω της έκκρισης παραγόντων, του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης στην νευρική αναγέννηση (62, 69).

2.2.2 In vivo μελέτες αναφορικά στην δράση των MSCs στην νευρική αναγέννηση

Στην μελέτη του Mantovani και των συνεργατών του (2010) φάνηκε ότι η μεταμόσχευση σε επιμύες BDNF οδήγησε στην παραγωγή διαφοροποιημένων κυττάρων που ομοιάζουν με τα νευρογλοιακά κύτταρα Schwann (Schwann like cells - SLC) με τελική συνέπεια την ενίσχυση της διεργασίας νευρικής αναγέννησης μετά από κάκωση και στην συνέχεια την μυελίνωση των νευραξόνων (77).

Αντίστοιχα, στην μελέτη του Arthur και των συνεργατών (2008) στην οποία πραγματοποιήθηκε έγχυση απομονωμένων ανθρώπινων DPSCs σε επιμύες, παρατηρήθηκε διαφοροποίηση των σε πλήρως λειτουργικούς νευρώνες, ικανούς για την έκκριση νεστίνης και GFAP υπό συγκεκριμένες συνθήκες μικρο-περιβάλλοντος (78).

Στην έρευνα του Nanette και των συνεργατών (2010) σε πειραματικά μοντέλα επιμυών, φάνηκε ότι τα μεταμοσχευμένα MSCs προάγουν την ενδογενή νευρωνική ανάπτυξη και ταυτόχρονα προστατεύουν τους νευρώνες από απόπτωση χάρει στους παράγοντες που εκκρίνουν. Επιπλέον, φάνηκε ότι τα μεταμοσχευμένα MSCs δρουν μέσω της

παρακρινικής οδού και συνεπώς συμβάλλουν στο σχηματισμό συνδέσεων με τραυματισμένους νευρώνες με στόχο την ανανέωση τους (79).

Επιπρόσθετα, στην μελέτη του Habisch και των συνεργατών του (2010) φάνηκε ότι τα μεταμοσχευμένα BM-MSCs σε περιοχή νευρικής κάκωσης σε επιμύες οδήγησε σε μείωση της παραγωγής και της έκκρισης των πεπτιδίων Αβ μέσω της ρύθμισης της έκφρασης του γονιδίου της F-spondin και της νευρίλψίνης (80). Ανάλογα ευρήματα μείωσης της φλεγμονώδους διεργασίας παρατηρήθηκαν και στην μελέτη του Lee και των συνεργατών (2010), παράλληλα με αυξημένη διαφοροποίηση των MSCs σε νευρογλοιακά κύτταρα, κρίσιμα για την ρύθμιση του μικρο-περιβάλλοντος και την νευρική αναγέννηση (81).

Ακόμη, στην έρευνα του Huang και των συνεργατών του (2008) φάνηκε ότι η μεταμόσχευση MSCs από οδοντικό πολφό στον ιππόκαμπο επιμυών με γνωστικές διαταραχές, οδήγησε σε διαφοροποίηση των κυτταρικών κλώνων σε ώριμους νευρώνες και NPCs. Οι ερευνητές συμπέραναν ότι η θεραπεία με μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα ενδεχομένως να αποτελεί λύση στην αντιμετώπιση της κατάθλιψης και της άνοιας (82).

Τέλος, αναφορικά στην νευρική αναγέννηση μετά από κακώσεις του νωτιαίου μυελού, κλινικές μελέτες όπως αυτή του Das και των συνεργατών του (2011), καθώς και του Gopurappilly και των συνεργατών (2011) έδειξαν βέλτιστα θεραπευτικά αποτελέσματα όταν υπήρχε σχεδόν άμεσα μετά από τον τραυματισμό, έγχυση στην περιοχή αυτόλογων μεσεγχυματικών κυττάρων (83-85).

2.3 Η μετατροπή των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων που προέρχονται από τον μυελό των οστών (BMSCs) σε νευροκύτταρα:

Με βάση δεδομένα από πρόσφατες δημοσιεύσεις στην βιβλιογραφία, τα BMSCs έχουν τεκμηριωθεί ως ικανά να διαφοροποιηθούν σε πολλαπλούς τύπους κυττάρων, όπως οστεοβλάστες, χονδροκύτταρα, μυοκύτταρα και λιποκύτταρα (89). Επιπλέον αυτών, έχει τεκμηριωθεί η ικανότητα των BMSCs να διαφοροποιούνται σε κύτταρα όμοια των νευρώνων (90). Αρκετές μελέτες έχουν αναφέρει ότι τα κύτταρα που μοιάζουν με νευρώνες και που προέρχονται από BMSC μοιράζονται παρόμοια ηλεκτροφυσιολογικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά με τους φυσιολογικούς νευρώνες, και έτσι υποκαθιστούν νευρικά ελλείματα μετά από κακώσεις (85, 91).

Η νευρωνική διαφοροποίηση των BMSC επιτυγχάνεται μέσω της επίδρασης ενός συμπλέγματος χημικών παραγόντων, όπως η βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη και το διμεθυλοσουλφοξείδιο (92), η ισοβουτυλομεθυλοξανθίνη, η 5-αζακυτιδίνη, η β-μερκαπτοαιθανόλη και το ρετινοϊκό οξύ (82), καθώς και νευροτροφικοί παράγοντες, όπως νευροτροφικός παράγοντας που προέρχεται από τον εγκέφαλο, ο βασικός παράγοντας ινοβλαστών, ο επιδερμικός αυξητικός παράγοντας ή συνδυασμός αυτών των παραγόντων (93-94). Ωστόσο, ορισμένοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι αυτές οι μέθοδοι έχουν ως αποτέλεσμα βραχυπρόθεσμες μόνο μορφολογικές αλλαγές, οι οποίες δύνανται να προκληθούν και από άλλους χημικούς στρεσογόνους παράγοντες (95).

Μια εναλλακτική στρατηγική διαφοροποίησης περιλαμβάνει τη χρήση συνκαλλιέργειας ή μικτών καλλιιεργειών *in vitro* (94). Πράγματι, εντός του εργαστηρίου ποικίλα κύτταρα, όπως νευρικά κύτταρα, αστροκύτταρα, αλλά και κύτταρα Schwann (SCs), συνκαλλιεργούνται για τη μετατροπή των BMSC σε μια πιο «αφοσιωμένη» κλωνική σειρά νευρώνων (64, 86, 94).

Σε πρόσφατη ερευνητική μελέτη του Ban και των συνεργατών (2011) φάνηκε ότι η ταυτόχρονη έγχυση σε καλλιέργεια κυττάρων Schwann μπορεί να προκαλέσει την διαφοροποίηση των BMSC σε νευρώνες *in vitro*, και στην συνέχεια η ταυτόχρονη μεταμόσχευση και των δύο κυττάρων μπορεί να προωθήσει τη λειτουργική ανάκαμψη μετά από τραυματισμό νωτιαίου μυελού *in vivo* (96).

Όπως φάνηκε η διαφοροποίηση αυτή επιτυγχάνεται σε κυτταρικό επίπεδο, μέσα από ορισμένες οδούς σηματοδότησης για διαφοροποίηση BMSC έναντι νευρωνικών φαινοτύπων. Αυτές οι οδοί περιλαμβάνουν τις διαδρομές Wnt, PI3K, HIF-1 και ROCK (96). Επιπλέον, πρόσφατες μελέτες αποκάλυψαν ότι τα microRNAs (miRNAs) παίζουν βασικό ρόλο στη ρύθμιση της νευρικής ανάπτυξης και διαφοροποίησης (96-97). Για παράδειγμα, η αύξηση της έκφρασης miR-124 μπορεί να προωθήσει τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των νευρικών βλαστικών κυττάρων απενεργοποιώντας την οδό Notch (97). Για τα BMSC, τα miR-29a, miR-9 και miRNA let-7f-5p αποδείχθηκαν ότι δρουν ως βασικοί ρυθμιστές για τη νευρωνική διαφοροποίηση (97-98).

2.4 Η επίδραση των μεσεγγυματικών βλαστοκυττάρων που προέρχονται από τον μυελό των οστών (BMSCs) στην νευρική αναγέννηση:

Σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία, τα BMSCs έχουν τεκμηριωμένα σημαντικό ρόλο στην διεργασία της νευρικής αναγέννησης μετά από τραύμα περιφερικού νεύρου (62, 69, 85). Πράγματι, η έγχυση αυτόλογων MSCs που προέρχονται από τον μυελό των οστών (BMSCs), είναι μια καθιερωμένη επιστημονική και θεραπευτική οντότητα με ευρείες δυνατότητες στην νευρική αναγέννηση κατόπιν κάκωσης (85-88).

Εξάλλου, σε πολλαπλές δημοσιευμένες μελέτες έχει φανεί ότι τα BMSCs ενισχύουν την αποκατάσταση του τραυματισμένου περιφερικού νεύρου, και βελτιώνουν την αναγέννηση των ιστών μέσω της απελευθέρωσης αυξητικών παραγόντων, κυτοκινών και μορίων προσκόλλησης (62, 69, 72, 74, 85-88).

Στο σύνολο τους, οι μελέτες αυτές επιδεικνύουν ως αποτελέσματα: α) βελτιωμένη έκβαση, β) ταχύτερη αποκατάσταση, γ) μειωμένη φλεγμονή, δ) βελτίωση της μυελίνωσης των νευραξόνων, ε) υψηλότερη πυκνότητα του νευράξονα και στ) ενίσχυση του μικρο-περιβάλλοντος με νευροτροφικούς παράγοντες και ενδυνάμωση της νευρογλοίας (62, 85-88).

3. Πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (PRP) και νευρική αναγέννηση

3.1 Πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (PRP):

Σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία, το πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (PRP) προκύπτει κατόπιν φυγοκέντρησης και εμπεριέχει επτά θεμελιώδεις αυξητικούς παράγοντες (99). Πιο αναλυτικά εμπεριέχει ένα σύμπλεγμα τριών ισομερών του παράγοντα ανάπτυξης που προέρχονται από αιμοπετάλια (PDGF-AA, PDGF-BB και PDGF-AB), δύο ισομερή από τα πολυάριθμα TGF-β (TGF-β1 και TGF-β2), τον αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα (VEGF) καθώς και τον επιθηλιακό αυξητικό παράγοντα (EGF) (99).

Στο σύνολό τους, οι παράγοντες που εμπεριέχονται στο PRP εκκρίνονται ενεργά από τα αιμοπετάλια για την επούλωση πληγών, και βάσει μελετών, εμπλέκονται στην αναγέννηση όλων των επιμέρους ιστών (100-102). Ως εκ τούτου, η θεραπεία με το PRP επιστρατεύεται και στην επιτάχυνση της επούλωσης νευρικών κακώσεων και στη διεργασία της αναγέννησης περιφερικών νεύρων μετά από διατομή (99, 101, 103-104).

3.1.1 Η Θεραπεία με PRP

Το πλούσιο σε αιμοπετάλια πλάσμα (PRP) συνιστά μια αυτόλογη κυτταρική θεραπεία που περιέχει πολλούς βιοδραστικούς παράγοντες οι οποίοι εμπλέκονται στην επούλωση τραυμάτων, και την επισκευή τραυματισμένων ιστών (104). Σαν θεραπευτική προσέγγιση φαίνεται να έχει πολλά πλεονεκτήματα σε σύγκριση με άλλα προϊόντα και τεχνικές, και το παρόν οφείλεται στο ότι το PRP μπορεί να παρασκευαστεί από φυγοκέντρηση αυτόλογου αίματος που απομονώνεται με παρακέντηση, και είναι απολύτως ασφαλής διαδικασία. Πράγματι, η κλινική χρήση του PRP δεν προκαλεί ανεπιθύμητα συμβάντα ή μετεγχειρητική επιπλοκή, ενώ η προετοιμασία του PRP είναι γρήγορη, απλή, βολική και οικονομική (105).

Η θεραπεία με PRP για την αναγέννηση τραυματισμένων ιστών, περιλαμβανομένου και του νευρικού ιστού φαίνεται να είναι εξαιρετικά ωφέλιμη (103-106). Η αποτελεσματικότητα της θεραπείας με PRP, έγκειται στο ότι το τελευταίο εμπεριέχει ένα υψηλό επίπεδο φυσικής ποικιλίας αυξητικών παραγόντων, όπως είναι ο αυξητικός

παράγοντας των αιμοπεταλίων (PDGF), ο μετασχηματιστικός αυξητικός παράγοντας-β (TGF-β), ο ινσουλινοειδής αυξητικός παράγοντας-1, ο αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών, ο επιθηλιακός αυξητικός παράγοντας και αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (99, 107).

Η παρουσία αυτών των αυξητικών παραγόντων σε υψηλές συγκεντρώσεις στο PRP είναι άμεσα υπεύθυνη: α) για την αύξηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, β) την αύξηση της παραγωγής κολλαγόνου, γ) την έναρξη της αγγειογένεσης και δ) την πρόκληση διαφοροποίησης των κυττάρων που εμπλέκονται στην αναγέννηση των ιστών (108).

Τα προϊόντα που σχετίζονται με το PRP χρησιμοποιούνται σε διάφορα χειρουργικά πεδία για να επιταχύνουν τη διαδικασία επούλωσης μετά από τραυματισμούς νεύρων, μυών, συνδέσμων, αρθρώσεων και τένοντα (103-104, 106, 109). Η χορήγηση του PRP πραγματοποιείται διεγχειρητικά μέσω της απευθείας έγχυσης ή με την τοποθέτηση στο χειρουργικό πεδίο γέλης PRP ώστε να επιτευχθεί παρατεταμένη αποδέσμευση (106, 110-111).

Τέλος, η ευκολία της παρασκευής του PRP, σε συνδυασμό με την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια του, το καθιστούν ένα πολλά υποσχόμενο θεραπευτικό μέτρο για την αντιμετώπιση ιστικών βλαβών στον τομέα της Ορθοπαιδικής, της Νευροχειρουργικής, της Αναγεννητικής Ιατρικής, αλλά και της Δερματολογίας (110).

3.1.2 Ιστορική αναδρομή στην θεραπευτική εφαρμογή του PRP

Σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία, το PRP έχει επικεντρωθεί στην αναγεννητική ιατρική τα τελευταία χρόνια ως ένα πολλά υποσχόμενο αυτόλογο μόσχευμα. Το PRP έχει χρησιμοποιηθεί κλινικά σε ανθρώπους από τη δεκαετία του 1970 για τις θεραπευτικές του ιδιότητες, που αποδίδονται σε αυτόλογους αυξητικούς παράγοντες και εκκριτικές πρωτεΐνες που μπορούν να ενισχύσουν τη διαδικασία επούλωσης σε κυτταρικό επίπεδο. Επιπλέον, το PRP ενισχύει την πρόσληψη, τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των κυττάρων που εμπλέκονται στην αναγέννηση των ιστών (110).

Πιο συγκεκριμένα, μετά τις καινοτόμες δημοσιεύσεις των Whitman και των συνεργατών (1997) και Marx και των συνεργατών του (1998) στο τέλος της δεκαετίας του 1990 (112-113), η εφαρμογή του PRP έχει αποκτήσει αυξανόμενη δημοτικότητα

στον ιατρικό τομέα, και ειδικά στην Γναθοπροσωπική Χειρουργική, στην Ορθοπεδική και την Δερματολογία (114).

Κατά την τελευταία δεκαετία, το PRP αναπτύχθηκε μέσω μιας ποικιλίας εμπορικών αλλά και «σπιτικών» ακόμη τεχνικών, και έτσι υπάρχουν διάφορες μορφές PRP, συμπεριλαμβανομένων των πλούσιων στο πλάσμα αυξητικών παραγόντων (PRGFs) (104), του PRP διαχωρισμού κυττάρων (115), του ινώδους πλούσιου σε αιμοπετάλια (116), του συμπυκνωμένου PRP, του πηκτώματος λευκοκυττάρων και αιμοπεταλίων, και τέλος των απλοποιημένων προϊόντων PRP, που ονομάζονται συμπυκνωμένοι αυξητικοί παράγοντες (114, 117). Στην καθημερινή πρακτική, οι περισσότεροι κλινικοί γιατροί και χειρουργοί εφαρμόζουν έναν ή δύο προϊόντα ειδικά PRP σύμφωνα με τη δική τους εμπειρία, σε υγρή ή στερεή μορφή (114).

3.2 Βιολογικά χαρακτηριστικά του PRP:

Σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία, το πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (PRP) προκύπτει κατόπιν φυγοκέντρησης του αίματος από την παρακέντηση και επιστρατεύεται στον τομέα της Αναγεννητικής Ιατρικής (104). Εντούτοις, ανάλογα με την φυγοκέντρηση, δύνανται να προκύψουν διαφορετικά διαλύματα PRP, τα οποία παρουσιάζουν παραλλαγές αναφορικά στα βιολογικά τους χαρακτηριστικά και ως εκ τούτου αξιοποιούνται σε διαφορετικές κλινικές περιστάσεις (114).

Για να αποφευχθεί η σύγχυση στην ερμηνεία των δημοσιευμένων αποτελεσμάτων ερευνών στις οποίες χρησιμοποιήθηκε διάλυμα PRP, υπάρχει σαφής ανάγκη να περιγραφθούν με ακρίβεια τα ξεχωριστά αυτά διαλύματα και τα βιολογικά τους χαρακτηριστικά.

3.2.1 Ταξινόμηση διαλυμάτων PRP

Σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία, από το 2013, ο Ehrenfest και οι συνεργάτες του πρότειναν την ταξινόμηση των διαφόρων διαλυμάτων PRP, σε τέσσερις κύριες κατηγορίες, ανάλογα με τη γνωστή περιεκτικότητα λευκοκυττάρων και την αρχιτεκτονική του ινώδους (118).

Οι κατηγορίες αυτές περιλαμβάνουν: α) το καθαρό πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (P-PRP), β) το πλάσμα πλούσιο σε λευκοκύτταρα και αιμοπετάλια (L- PRP), γ) το καθαρό ινώδες πλούσιο σε αιμοπετάλια (P-PRF), και δ) το ινώδες πλούσιο σε

λευκοκύτταρα και αιμοπετάλια (L-PRF) (114, 118-119). Τα βιολογικά χαρακτηριστικά των διαλυμάτων αυτών αναγράφονται λεπτομερώς στον παρακάτω Πίνακα 1.

Πίνακας 1: Ταξινόμηση κύριων κατηγοριών διαλυμάτων PRP και βιολογικά χαρακτηριστικά (114):

P-PRP	Αιμοπετάλια με δίκτυο ινώδους χαμηλής πυκνότητας μετά την ενεργοποίηση, χωρίς λευκοκύτταρα	Το υγρό διάλυμα ή ως γέλη μετά την ενεργοποίηση μπορεί να εγχυθεί ή να τοποθετηθεί στην πληγή	Διαλύεται γρήγορα σαν κόλλα ινώδους	Φυγοκέντρωση δύο βημάτων, με αντιπηκτικό και ενεργοποιητή αίματος	Αιμοπετάλια: $500 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$; λευκοκύτταρα: $0,2 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$
L-PRP	Αιμοπετάλια με δίκτυο ινώδους και λευκοκύτταρα χαμηλής πυκνότητας	Το υγρό διάλυμα ή ως γέλη μετά την ενεργοποίηση μπορεί να εγχυθεί ή να τοποθετηθεί στην πληγή	Διαλύεται γρήγορα σαν κόλλα ινώδους	Φυγοκέντρωση δύο βημάτων, με αντιπηκτικό και ενεργοποιητή αίματος	Αιμοπετάλια: $500 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$; λευκοκύτταρα: $20 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$
P-PRF	Αιμοπετάλια με δίκτυο ινώδους υψηλής πυκνότητας και χωρίς λευκοκύτταρα	Υπάρχει μόνο ως γέλη μετά την ενεργοποίηση	Στερεό πήκτωμα, δεν μπορεί να εγχυθεί	Φυγοκέντρωση δύο βημάτων, με αντιπηκτικό και ενεργοποιητή αίματος	Αιμοπετάλια: $400 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$; λευκοκύτταρα: $100-600 \mu\text{L}^{-1}$
L-PRF	Αιμοπετάλια και μισά λευκοκύτταρα (κυρίως λεμφοκύτταρα), με δίκτυο ινώδους υψηλής πυκνότητας	Gel χωρίς αντιπηκτικό. φυσικός θρόμβος αίματος	Στερεό πήκτωμα, δεν μπορεί να εγχυθεί	Φυγοκέντρωση ενός σταδίου, χωρίς αντιπηκτικό ή ενεργοποιητή αίματος	Αιμοπετάλια: $400 \times 10^4 \mu\text{L}^{-1}$; λευκοκύτταρα: $60 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$

Η μεγάλη ποικιλία διαλυμάτων PRP, και η μη διευκρινισμένη επιστράτευση τους σε κλινικές μελέτες, συχνά δημιουργεί σύγχυση και τελικά οδηγεί σε ασυνεπή αποτελέσματα στη σύγκριση της αποτελεσματικότητας των προϊόντων PRP στην βιβλιογραφία (114).

3.2.2 Προετοιμασία και Βιολογικά χαρακτηριστικά του PRP που αφορούν στην νευρική αναγέννηση

Σύμφωνα με τις υπάρχουσες *in vivo* μελέτες της διεθνούς βιβλιογραφίας, η θεραπεία με διάλυμα PRP σε περιπτώσεις τραυματισμού περιφερικού νεύρου, έχει μια μετρήσιμη αποτελεσματικότητα, που σχετίζεται με τα βιολογικά χαρακτηριστικά του αυτόλογου αυτού μοσχεύματος, όταν το τελευταίο παρασκευάζεται κατάλληλα (114).

Το PRP προέρχεται από τη φυγοκέντρηση του αυτόλογου αίματος σε ένα ή δύο στάδια, και όταν αναμιγνύεται με θρομβίνη και χλωριούχο ασβέστιο μετατρέπεται σε μια σταθερή γέλη (120). Μετά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, ένα κοκτέιλ των αυξητικών παραγόντων με μιτογόνα και χημειοτακτικά χαρακτηριστικά επάγονται και απελευθερώνονται από τους κόκκους α των αιμοπεταλίων, τα οποία έχουν κρίσιμο ρόλο στην επούλωση τραυμάτων (114).

Γενικά, υπάρχουν τρία μεγάλα διαμερίσματα αποθήκευσης παραγόντων στα αιμοπετάλια, τα οποία είναι: α) α κόκκοι, β) πυκνοί κόκκοι και γ) λυσοσώματα. Η πλειονότητα των ουσιών των αιμοπεταλίων περιέχεται σε κόκκους α (110, 114). Κατά την ενεργοποίηση, τα αιμοπετάλια από το PRP απελευθερώνουν τα περιεχόμενα των κοκκίων τους στο περιβάλλον. Μεταξύ των βιοδραστικών μορίων που αποθηκεύονται και απελευθερώνονται από αιμοπετάλια, είναι οι κατεχολαμίνες, η ισταμίνη, η σεροτονίνη, το ADP, το ATP, τα ιόντα ασβεστίου και η ντοπαμίνη, τα οποία είναι δραστικά στην αγγειοσυστολή, αυξάνουν την τριχοειδή διαπερατότητα, προσελκύουν και ενεργοποιούν μακροφάγα, και ενισχύουν τη διαμόρφωση του ιστού κατά τη διάρκεια των αναγεννητικών διαδικασιών. Αυτά τα μόρια, αν και δεν είναι αυξητικοί παράγοντες, έχουν επίσης θεμελιώδη επίδραση στις βιολογικές πτυχές της επούλωσης πληγών και της επιδιόρθωσης των ιστών, περιλαμβανομένου και του νευρικού ιστού (109, 114).

Δεδομένου ότι στο PRP εμπεριέχοντα πολλαπλοί αυξητικοί παράγοντες, είναι εφικτό οι τελευταίοι να μιμούνται τον PDGF -που θα δρούσε υπό συνθήκες τραύματος λόγω

έκκρισης από τα αιμοπετάλια-, και τελικά να συμμετέχουν όλοι μαζί στην περίπλοκη διεργασία της φυσικής επισκευής των ιστών και να βελτιώνουν διαδικασίες όπως: η αγγειογένεση, η φλεγμονή και η ανοσοαπόκριση (120).

Ένα περαιτέρω πλεονέκτημα είναι ότι όλοι οι αυξητικοί παράγοντες, οι πρωτεΐνες και οι κυτοκίνες από το PRP είναι αυτόλογοι και μη τοξικοί (106, 114). Ακόμη, η παρούσα θεραπεία με το αίμα του ασθενούς θα μπορούσε να αποτρέψει πολύπλοκα ηθικά ζητήματα, ανοσολογικές απορρίψεις ή παρόμοιες παρενέργειες που είναι γνωστό ότι υπάρχουν με υλικά αλλομοσχεύματος (106).

Τέλος, ένα ακόμη κρίσιμο βιολογικό χαρακτηριστικό του PRP, είναι το αντιμικροβιακό του δυναμικό εξαιτίας των λευκοκυττάρων και των ουδετερόφιλων που περιέχει (114). Το χαρακτηριστικό αυτό είναι τόσο κρίσιμο, που πρόσφατα δημοσιεύθηκε έρευνα αξιοποίησης του PRP για την πρόληψη των μετεγχειρητικών λοιμώξεων (121).

3.3 Μηχανισμός δράσης του PRP στην αναγέννηση των νεύρων:

Σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία, το πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (PRP) χρησιμοποιείται ολοένα και περισσότερο στην χειρουργική αντιμετώπιση κακώσεων των περιφερικών νεύρων, με συνέπεια την δημοσίευση όλο και περισσότερων μελετών αναφορικά στην αποτελεσματικότητα του (103-110). Με βάση τα διαθέσιμα στοιχεία το PRP, το οποίο περιέχει αυξητικούς παράγοντες που επηρεάζουν θετικά την επιβίωση των νευρικών κυττάρων, μπορεί να έχει τη δυνατότητα να προάγει την αναγέννηση των περιφερικών νεύρων μετά από κακώσεις (122-123).

3.3.1 Ο ρόλος των αυξητικών παραγόντων του PRP στην νευρική αναγέννηση

Η εκτενής ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας ανέδειξε ένα αυξανόμενο σώμα δημοσιευμένων μελετών, οι οποίες έχουν δείξει ότι η τοπική εφαρμογή PRP είναι αποτελεσματική στην επούλωση κακώσεων των μαλακών ιστών αλλά και στην αναγέννηση των οστών (114, 124-126). Το δυναμικό του PRP στη ρύθμιση της αναγέννησης των μαλακών και ερειστικών ιστών εξαρτάται από τα επίπεδα των απελευθερωμένων παραγόντων ανάπτυξης (114).

Το ίδιο φαίνεται να ισχύει και για την δραστηριότητα του PRP στην αναγέννηση περιφερικού νεύρου, κατόπιν κάκωσης (114). Πράγματι, αυξητικοί παράγοντες που εμπεριέχονται στο PRP φαίνεται να είναι καθοριστικής σημασίας στην νευρική

αναγέννηση (123). Η λειτουργία των επιμέρους αυξητικών παραγόντων στην νευρική αναγέννηση περιγράφεται αναλυτικά στον **Πίνακα 2**:

Πίνακας 2: Αυξητικοί παράγοντες του PRP που συμμετέχουν στην νευρική αναγέννηση.

Παράγοντες ανάπτυξης	Λειτουργία	Μηχανισμοί	βιβλιογραφικές αναφορές
Μετασχηματισμός αυξητικού παράγοντα-β (TGF-β)	Διεγείρει την ενδοθηλιακή χημειοταξία και την αγγειογένεση Ρυθμίζει τις μιτογονικές επιδράσεις άλλων αυξητικών παραγόντων (αυξητικός νευρικός παράγοντας, νευροτροφικός παράγοντας που προέρχεται από τον εγκέφαλο, κλπ.) Προκαλεί αδιαφοροποίητο πολλαπλασιασμό των μεσεγχυματικών κυττάρων Διεγείρει την ανάπτυξη νευρίτη και ρυθμίζει τη διαφοροποίηση των SCs Αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των μακροφάγων και των λεμφοκυττάρων.	Εκκρίνεται τοπικά από κατεστραμμένους νευρώνες, από τα μακροφάγα αλλά και εκφυλισμένα κύτταρα schwann (SCs) κατά τη διάρκεια της Βαλερριανής εκφύλισης. Ενεργοποιεί SC και στρατολογεί μακροφάγα στη θέση των περιφερικών νευρικών κολοβωμάτων	(114, 127-129)
Αυξητικός παράγοντας αιμοπεταλίων (PDGF)	Διεγείρει την τροφική δραστηριότητα στους νευρώνες προκαλεί πολλαπλασιασμό SC, διαφοροποίηση και σχηματισμό μυελίνης. Μιτογενετική δραστηριότητα για μεσεγχυματικά κύτταρα και οστεοβλάστες. Συμμετέχει στην επούλωση τραυμάτων σκληρών και μαλακών ιστών και για την ανάπτυξη του κεντρικού νευρικού συστήματος. Διεγείρει υαλουρονάνη και γλυκοζαμινογλυκάνες (συστατικά της εξωκυτταρικής μήτρας)	Δρα σε κινάσες της τυροσίνης (RTKs) και στις καθοδικές οδούς σηματοδότησης κινάσης PI3K και της μιτογόνου πρωτεΐνης (MAP) Διεγείρει τη χημειοταξία ουδετερόφιλων και μακροφάγων στις τραυματισμένες θέσεις και συμμετέχει στην επανεπιθηλίωση και / ή αγγειογένεση ιστών	(130-133)
Παράγοντας ανάπτυξης αγγειακού	Ενισχύει την αγγειογένεση και τη διαπερατότητα των αγγείων. Ρυθμίζει τον πολλαπλασιασμό των	Προκαλεί αγγειογένεση σχετιζόμενη με τραυματισμό συνδέοντας με ενδοθηλιακούς	(134-135)

Παράγοντες ανάπτυξης	Λειτουργία	Μηχανισμοί	βιβλιογραφικές αναφορές
ενδοθηλίου (VEGF)	κυττάρων και μεσολαβεί κατά της αποπτωτικής δράσης. Διεγείρει τη μιτογένεση για τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Προάγει την ανάπτυξη των αιμοφόρων αγγείων, τη νευρογένεση και τη νευροπροστασία.	διαμεμβρανικούς υποδοχείς που αναγνωρίζονται ως fms-όπως τυροσίνη κινάση (FLT-1), υποδοχέας τυροσίνης κινάσης εμβρύου ήπατος (FLK-1) και νευροφιλίνη-1	
Ισοσουλινοειδής αυξητικός παράγοντας-1 (IGF-1)	Υποστηρίζει την προς τα εμπρός επέκταση των νευρικών ινών. Καταστέλλει την απόπτωση στους κινητικούς, αισθητήριους και συμπαθητικούς νευρώνες. Διεγείρει τη σύνθεση πρωτεϊνών	Μέσω της οδού PI3K, προκαλεί τα SC να συνθέσουν δύο λιπαρά οξέα που ξεκινούν τη διαδικασία μυελίνωσης που εκκρίνεται κοντά στις τραυματισμένες νευρικές θέσεις και οι υποδοχείς του εκφράζονται κυρίως σε άξονες, νευρικά τερματικά, SCs και κινητικά νευρωνικά κύτταρα, προωθώντας την πρόωρη ανάκαμψη της αισθητικότητας.	(136-137)
Βασικός παράγοντας ανάπτυξης ινοβλαστών (bFGF)	Συμβάλλει στην εμβρυϊκή ανάπτυξη, αγγειογένεση και επούλωση πληγών. Διευκολύνει τη νευροπροστασία και την αναγέννηση των SC.	Μετά από τραυματισμό περιφερικού νεύρου, ο bFGF και ο υψηλής συγγένειας υποδοχέας τυροσίνης κινάσης FGFR-3 ρυθμίζονται προς τα πάνω στους αισθητικούς νευρώνες και στη θέση βλάβης του νεύρου, προκαλώντας αγγειογένεση και επιτάχυνση της επούλωσης.	(138)

Με βάση σύγχρονα, δημοσιευμένα ερευνητικά δεδομένα, οι αυξητικοί παράγοντες που εμπεριέχονται στο PRP είναι ζωτικής σημασίας για τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των κυττάρων, τη διέγερση της αγγειογένεσης και τον έλεγχο των ουλών στη διαδικασία αναγέννησης των περιφερικών νεύρων, μετά από κάκωση (114, 127-138).

Αν και ο μηχανισμός με τον οποίο αυτοί οι αυξητικοί παράγοντες συνεργάζονται και αλληλεπιδρούν αποτελεσματικά για την επούλωση τραυμάτων παραμένει ανεπαρκώς κατανοητός (114, 139), πολλές μελέτες έχουν ήδη δείξει θετικά αποτελέσματα από την χορήγηση PRP κατά την συρραφή περιφερικών νεύρων (99, 103-106, 109, 114).

3.3.2 Η σημασία της κατάλληλης προετοιμασίας του PRP για την νευρική αναγέννηση

Σύμφωνα με την τρέχουσα βιβλιογραφία, η θεραπεία PRP φαίνεται να είναι μια πολλά υποσχόμενη θεραπευτική επιλογή στον τομέα της αποκατάστασης νευρικών κολοβωμάτων (103-110, 114). Πάραυτα, είναι εξαιρετικά σημαντικό, οι κλινικοί και οι ερευνητές να συνειδητοποιήσουν ότι ένας μεγάλος αριθμός μεταβλητών μπορεί να επηρεάσει τη θεραπευτική αποτελεσματικότητα της θεραπείας PRP, η οποία μπορεί εν μέρει να εξηγήσει τα αντικρουόμενα αποτελέσματα σε διαφορετικά πειράματα (114, 140).

Ένας από τους πλέον σημαντικούς παράγοντες που δύνανται να επηρεάσουν την αποτελεσματικότητα της PRP, είναι η ίδια η διαδικασία της παρασκευής του διαλύματος PRP, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε διαφορετικές συγκεντρώσεις αιμοπεταλίων, και κατά συνέπεια, σε ευρεία μεταβλητότητα του λόγου αυξητικού παράγοντα (140-141).

Πιο αναλυτικά, σύμφωνα με δημοσιευμένα αποτελέσματα ερευνών, υψηλότερες συγκεντρώσεις αιμοπεταλίων στο διάλυμα PRP δεν οδηγούν απαραίτητα σε θετικό πολλαπλασιασμό των κυττάρων (142). Έναντι των υπερβολών λοιπόν, ο ορισμός ενός βέλτιστου εύρους συγκέντρωσης αιμοπεταλίων του PRP, θα βοηθούσε στην διατήρηση των αυξητικών παραγόντων σε ενεργή κατάσταση για μεγαλύτερο διάστημα (140).

Ως εκ τούτου, είναι λογικό το γεγονός του ότι οι ερευνητές υποθέτουν ότι υπάρχει μια ιδανική συγκέντρωση PRP - ίσως ακόμη και προσαρμοσμένη σε κάθε ασθενή που θα

υποβληθεί σε θεραπεία – η οποία θα μπορούσε να μεγιστοποιήσει τα θεραπευτικά οφέλη της αναγέννησης των νεύρων και της επούλωσης των πληγών (140-142).

Επιπλέον αυτού, παράγοντες που συμβάλλουν στην απρόβλεπτη θεραπευτική αποτελεσματικότητα του PRP στην αναγέννηση των περιφερικών νεύρων, είναι: α) οι διαφορές στη μέθοδο ενεργοποίησης του διαλύματος (χλωριούχο ασβέστιο ή θρομβίνη), β) στον τρόπο εφαρμογής (ένεση ή εμφύτευση γέλης PRP), γ) στην θερμοκρασία αποθήκευσης του διαλύματος (-80°C κατεψυγμένο ή θερμοκρασία δωματίου) και δ) τέλος στην συχνότητα εφαρμογής (114).

3.3.3 Η σημασία της χρονικής στιγμής χορήγησης του PRP

Σύμφωνα με την υπάρχουσα βιβλιογραφία, ο χρόνος της αναγεννητικής παρέμβασης φαίνεται να είναι ένας άλλος παράγοντας καθοριστικής σημασίας για την συνολική θεραπευτική αποτελεσματικότητα (114, 142). Λόγω της μικρής διάρκειας ζωής των αιμοπεταλίων - περίπου 5-7 ημέρες - η επίδραση της PRP στην επιδιόρθωση των νευρικών ελλειμμάτων, μπορεί να είναι ενεργή μόνο στο αρχικό στάδιο της επούλωσης των κολοβωμάτων (142).

Επιπλέον, πέρα από την αρχική εφαρμογή, οι τακτικές επαναληπτικές εφαρμογές διαλύματος PRP φαίνεται να αποφέρουν καλύτερα θεραπευτικά αποτελέσματα (114). Τέλος, ένα σημαντικό ζήτημα που αφορά στην αποκατάσταση νευρικών ελλειμμάτων είναι το αν το διάλυμα τοποθετείται σε μορφή ένεσης ή γέλης, ή ακόμη και εντός ακυτταρικών νευρικών μοσχευμάτων (106, 109, 114).

3.4 Η επίδραση του PRP στην αναγέννηση των νεύρων:

Σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία, το PRP, το οποίο περιέχει ποικίλα μόρια και διάφορους αυξητικούς παράγοντες που επηρεάζουν θετικά την επιβίωση των νευρικών κυττάρων, μπορεί να έχει τη δυνατότητα να προάγει την αναγέννηση των περιφερικών νεύρων μετά από κακώσεις (103-110, 122-123). Ως εκ τούτου, η θεραπεία με PRP επιστρατεύεται συχνά τα τελευταία χρόνια στα πλαίσια της αποκατάστασης διατομών περιφερικών νεύρων, και κυρίως σε νεύρα της περιοχής του προσώπου (109, 114).

Με βάση σύγχρονα ερευνητικά δημοσιεύματα μελετών σε ανθρώπους, όταν τα τραυματικά κενά των περιφερικών νεύρων έχουν μήκος $<3\text{ cm}$, η θεραπεία με το PRP, έχει φανεί εξαιρετικά ωφέλιμη στην διεργασία αναγέννησης των νεύρων (103-104,

114). Ωστόσο, για την αναγέννηση των αξόνων στα κενά των νεύρων μεγαλύτερα από 3 cm, προτείνεται η εφαρμογή PRP με ένα γεφυρωτικό υλικό μοσχεύματος που υποστηρίζει και προάγει την αναγέννηση των αξόνων (114).

Ακόμη, δύο αναφορές κλινικών περιπτώσεων (case reports) έχουν δείξει ότι μπορεί να επιτευχθεί η λειτουργική ανάρρωση μετά από χειρουργική επιδιόρθωση ενός πλήρως κομμένου νεύρου με την χρήση μοσχεύματος, σε συνδυασμό με έγχυση διαλύματος PRP (143-144).

Τα αποτελέσματα της χορήγησης του PRP είναι περισσότερα και πιο ενθαρρυντικά σε μελέτες με ζωικά πρότυπα (114, 145-147). Σε μοντέλα επιμυών, η χορήγηση PRP φαίνεται να έχει ικανοποιητικά αποτελέσματα ακόμη και σε μεγάλα νευρικά ελλείμματα και ειδικά όταν το διάλυμα του PRP εγχέεται σε ακυτταρικά νευρικά μοσχεύματα (106, 109).

Κλείνοντας, η θεραπεία με PRP φάνηκε να ενισχύει άμεσα την αναγεννητική διεργασία και ταυτόχρονα να επηρεάζει το μικροπεριβάλλον των νευρικών κολοβωμάτων, ενισχύοντας την νευροπροστασία αλλά και την αναγεννητική επίδραση των SCs στην περιοχή (114). Τέλος, ο συνδυασμός του με MSCs, αν και παραμένει σε πειραματικό επίπεδο, φαίνεται πολλά υποσχόμενος στον τομέα της συρραφής περιφερικών νεύρων που έχουν διατμηθεί (109, 148).

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4. Μεθοδολογία της Έρευνας

4.1 Ερευνητική υπόθεση της μελέτης:

Οι τραυματισμοί των περιφερικών νεύρων, και συγκεκριμένα του ισχιακού νεύρου, δεν είναι ασυνήθιστοι στην κλινική πράξη. Οι κακώσεις αυτές σχετίζονται με περιορισμένο βαθμό λειτουργικής ανάκαμψης, και θεωρούνται από τους κλινικούς και τους ερευνητές ως ένα επίμονο κλινικό, κοινωνικό αλλά και οικονομικό πρόβλημα σε παγκόσμιο επίπεδο (148).

Η μικρο-χειρουργική επιδιόρθωση ή η μεταμόσχευση ενός νευρικού αυτομοσχεύματος με τελικο-πλάγια συρραφή για την γεφύρωση ενός νευρικού ελλείμματος, παραμένει «ο χρυσός κανόνας» στην προσπάθεια ενίσχυσης του εγγενούς δυναμικού αναγέννησης των τραυματισμένων νευραξόνων (149). Πάραυτα, τέτοιες χειρουργικές θεραπείες δεν αναδημιουργούν το κατάλληλο κυτταρικό και μοριακό μικρο-περιβάλλον για την επίτευξη ικανοποιητικής νευρικής αναγέννησης (13). Επομένως, η αποκατάσταση τέτοιων νευρικών τραυματισμών είναι ατελής (150).

Στα πλαίσια ωστόσο της επιστράτευσης ανοσοενισχυτικής βιολογικής θεραπείας, ικανής να ενισχύσει την νευρική αναγέννηση και να βελτιώσει τη λειτουργία των νεύρων, παράλληλα με την νευρική συρραφή, η τοπική εφαρμογή παραγώγων πλάσματος πλούσιου σε αιμοπετάλια (PRP) και καθαρών μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων (MSCs) θα μπορούσαν να είναι πολλά υποσχόμενες θεραπευτικές παρεμβάσεις.

Εξάλλου, είναι ήδη τεκμηριώμενο στην διεθνή βιβλιογραφία ότι τα προϊόντα PRP διαθέτουν σημαντικό θεραπευτικό δυναμικό, τόσο ως νευροπροστατευτικά, όσο και ως νευρογενή συστήματα διαμόρφωσης (114, 123-129, 134, 151). Αντίστοιχα, τα MSCs, είτε προέρχονται από το μυελό των οστών, είτε από τον λιπώδη ιστό, φαίνεται να ενισχύουν την αναγέννηση των νευραξόνων (59, 152). Μάλιστα, τα MSCs παρουσιάζουν ευεργετική δράση, όχι μόνο όταν εγχύονται απευθείας στο τραυματισμένο νεύρο ή στον αγωγό που γεφυρώνει το νευρικό χάσμα, αλλά και όταν χορηγούνται ενδοφλεβίως (62, 85-88).

Πράγματι, η επίδραση των βιολογικών παραγόντων στην νευρική αναγέννηση συνιστά εδώ και χρόνια ένα πεδίο αμείωτου ερευνητικού και κλινικού ενδιαφέροντος. Ως εκ

τούτου, στόχος αυτής της *in vivo* πειραματικής μελέτης σε επιμύες, ήταν η διερεύνηση της επίδρασης του PRP και των MSCs που προέρχονται από το μυελό των οστών (b-MSCs) στην ενίσχυση της διεργασίας της νευρικής αναγέννησης, όταν εφαρμόζεται τοπικά στην πρωτογενή επιδιόρθωση της περιμετρικής διατομής του ισχιακού νευρικού νεύρου.

Η πρωτοτυπία αυτής της μελέτης είναι η σύγκριση των αποτελεσμάτων της ηλεκτρομυογραφίας (EMG) μεταξύ του χειρουργικού σκέλους και του αντίπλευρου μη χειρουργημένου σκέλους, καθώς και η σύγκριση των ιστοπαθολογικών χαρακτηριστικών του εγγύς και του περιφερικού κολοβώματος του τραυματισμένου νεύρου (153).

4.2 Σκοπός της μελέτης:

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της επίδρασης της έγχυσης PRP και MSCs στην νευρική αναγέννηση επί κάκωσης περιφερικού νεύρου. Συγκεκριμένα, η διερεύνηση της αποτελεσματικότητας όταν οι βιολογικά δραστικοί αυτοί παράγοντες του αίματος εφαρμόζονται τοπικά, κατά την πρωτογενή επιδιόρθωση της περιφερικής νευρικής διατομής του ισχιακού νεύρου σε πειραματικά μοντέλα επιμύων.

Ως επιμέρους στόχοι ορίστηκαν:

A) Η σύγκριση των αποτελεσμάτων της ηλεκτρομυογραφίας (EMG) τρεις μήνες μετά την χειρουργική αποκατάσταση, με στόχο την διερεύνηση της αποτελεσματικότητας της έγχυσης PRP, σε σύγκριση με την έγχυση MSCs στο τραύμα και την απλή πρωτογενή αποκατάσταση.

B) Η σύγκριση των ιστοπαθολογικών χαρακτηριστικών του περιφερικού και του εγγύς κολοβώματος του τραυματισμένου νεύρου.

Γ) Η διερεύνηση του ρόλου των ενδομυϊκά χορηγούμενων ΜΣΑΦ στο τελικό αποτέλεσμα της αποκατάστασης ελλειμμάτων του ισχιακού νεύρου.

Δ) Η σύγκριση των ευρημάτων της έρευνας με δεδομένα που δημοσιεύονται στην διεθνή βιβλιογραφία και η διατύπωση συμπερασμάτων.

4.3 Υλικό και Μεθοδολογία:

Η παρούσα μελέτη διενεργήθηκε σε 42 αρσενικούς επίμυες φυλής Wistar που χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες (μάρτυρες, PRP και MSCs). Όλα τα υποκείμενα υποβλήθηκαν σε χειρουργική επέμβαση συρραφής του ισχιακού νεύρου με αναισθησία, και η χειρουργική θέση διηθήθηκε είτε με φυσιολογικό ορό, είτε με διάλυμα PRP προερχόμενο από το περιφερικό αίμα του ζώου, ή MSCs που προέρχονταν από τον μυελό των οστών του μηριαίου οστού του υποκειμένου.

Και οι τρεις ομάδες υποδιαιρέθηκαν επίσης σε δύο υποομάδες με βάση τη μετεγχειρητική χορήγηση ΜΣΑΦ, ή όχι, προκειμένου να αξιολογηθεί η επίδραση των ΜΣΑΦ στο τελικό θεραπευτικό αποτέλεσμα.

Τρεις μήνες μετά τη χειρουργική επέμβαση, πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση της αποκατάστασης μέσω ηλεκτρομυογραφίας και των δύο πίσω άκρων (δεξιά χειρουργημένο και αριστερά ακέραιο). Τέλος, τα υποκείμενα υποβλήθηκαν σε ευθανασία και παρασκευάστηκαν δείγματα των συραμμένων ισχιακών νεύρων για ιστολογική εξέταση.

4.3.1 Χειρουργική Τεχνική

Στην παρούσα έρευνα, σε όλες τις ομάδες πειραματικών ζωικών προτύπων πραγματοποιήθηκε χειρουργική επέμβαση για τη δημιουργία ενός συγκεκριμένου προτύπου περιμετρικής διατομής του ισχιακού νεύρου.

Για την διενέργεια της επέμβασης, αρχικά χορηγήθηκε ένα μείγμα κεταμίνης-μεδετομιδίνης (0,5 mg / kg μεδετομιδίνης) ενδοπεριτοναϊκά, και 50 mg / kg κεταμίνης ενδομυϊκά, για γενική αναισθησία. Αφού τα υποκείμενα τοποθετήθηκαν στο τραπέζι χειρισμού, στη θέση Thompson, το χειρουργικό πεδίο προετοιμάστηκε και καλύφθηκε. Το ισχιακό νεύρο εκτέθηκε με μια τομή που ξεκίνησε 1 εκατοστό περιφερικά από την ισχιακή εντομή, και 1 εκατοστό εγγύς προς τον τριχασμό του νεύρου στο οπίσθιο τμήμα της επιγονατιδικής άρθρωσης.

Το ισχιακό νεύρο ταυτοποιήθηκε και παρασκευάστηκε 3 έως 3,5 cm κοντά στη διαίρεση του φυγοκέντρου. Το νεύρο στη συνέχεια κόπηκε εγκάρσια με τη χρήση ενός νυστεριού περίπου 1,5 εκατοστά πλησίον του τριχασμού του. Στην συνέχεια, η διατομή

του ισχιακού νεύρου επιδιορθώθηκε από τον κύριο ερευνητή με επινευρική συρραφή με ράμματα 10-0 Ethilon®, Ethicon Inc., Somerville, NJ, USA.

Στην ομάδα PRP, συλλέχθηκαν 1,5 mL αίματος από την ουραία φλέβα σε κιτρικό σωλήνα. Μετά από 7 λεπτά διαφορικής φυγοκέντρωσης στα 700 RCF, το άνω μέρος του όγκου (0,7 mL PRP) εγχύθηκε σε απορροφήσιμο σφουγγάρι ζελατίνης (0,5 χ 0,5 χ 0,1 cm, Spongostan®, Ethicon Inc.) και εφαρμόστηκε στην περιοχή της νευρικής συρραφής του ισχιακού νεύρου.

Στην ομάδα των MSCs, τα MSCs συλλέχθηκαν απευθείας από το μυελό των οστών στην τροχαντηρική περιοχή του μηρού με τη χρήση ενός τρυπανιού trocar. Τα b-MSC στη συνέχεια εγχύθηκαν στον απορροφήσιμο σφουγγάρι ζελατίνης και εφαρμόστηκαν στην περιοχή νευρικής συρραφής.

Στην ομάδα ελέγχου, εγχύθηκε φυσιολογικός ορός 0,09% στον απορροφήσιμο σφουγγάρι ζελατίνης και εφαρμόστηκε στην περιοχή νευρικής συρραφής. Η πληγή έκλεισε με υποδόρια απορροφήσιμα ράμματα No 4-0 (Vicryl®, Ethicon Inc.) και μη απορροφήσιμα ράμματα δέρματος No 5-0 (Nylon®, Ethicon Inc.).

Σε όλα τα ζώα, χορηγήθηκε μία εφάπαξ δόση αντιβιοτικού πριν την επέμβαση, ενροφλοξασίνη (10 mg / kg Baytril® 5%, Bayer AG, Leverkusen, Γερμανία). Μετά την ανάρρωση, τα υποκείμενα επέστρεψαν στο κλουβί τους, και αφέθηκαν να κάνουν φυσιολογικές δραστηριότητες.

Επιπλέον, όλα τα ζώα που υποβλήθηκαν σε χειρουργείο χωρίστηκαν και πάλι σε δύο υποομάδες: (1) την ομάδα με-ΜΣΑΦ, όπου χορηγήθηκε μελοξικάμη (0,05 mg / kg / 24 ώρες) και παρακεταμόλη (1 mg / kg / 12 ώρες) για μία εβδομάδα και (β) την ομάδα χωρίς ΜΣΑΦ, όπου χορηγήθηκε μόνο παρακεταμόλη για μία εβδομάδα.

Στις 12 εβδομάδες μετεγχειρητικά, μελέτες αγωγιμότητας νεύρων εφαρμόστηκαν και στα δύο σκέλη όλων των ζώων. Τα ζώα στη συνέχεια θανατώθηκαν υπό αναισθησία με αιμορραγία της οπίσθιας κοίλης φλέβας, και παρασκευάστηκαν δείγματα των επισκευασμένων ισχιακών νεύρων για ιστολογική αξιολόγηση.

4.3.2 Χρησιμοποιούμενα ζώα εργαστηρίου

Στην παρούσα μελέτη επιστρατεύθηκαν 42 αρσενικοί επίμυες (τύπου Wistar Albino Rats), ηλικίας περίπου 2 μηνών και βάρους 200-240 γραμμαρίων. Η προμήθεια των ζώων εργαστηρίου έγινε από το Τμήμα Ζωικών προτύπων Βιοϊατρικής Έρευνας του Ελληνικού Ινστιτούτου Pasteur κατόπιν έγκρισης του Πρωτοκόλλου (Αριθμός έγκρισης: 1088) από τη Διεύθυνση Κτηνιατρικών Υπηρεσιών του Νομού Αθηνών, Περιφέρειας Αττικής.

Οι συνθήκες διαβίωσης και χειρισμού των επιμυών υπήρξαν σύμφωνες με τις διατάξεις του Προεδρικού Διατάγματος 56/2013, οι οποίες αφορούν στην "Προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς σκοπούς", σε συμμόρφωση με την Οδηγία της Ευρωπαϊκής Ένωσης 2010/63/EE .

Τα ζώων εργαστηρίου που συμπεριλήφθηκαν στην έρευνα στεγάζονταν σε θάλαμο με τεχνητά ρυθμιζόμενη θερμοκρασία, αερισμό και φωτισμό. Η θερμοκρασία του θαλάμου κυμαινόταν στους $19 \pm 2^\circ\text{C}$. Η ρύθμιση του φωτισμού γινόταν με χρονοδιακόπτη ώστε να υπάρχουν 12 ώρες με φώς και 12 ώρες με σκοτάδι, ενώ η ανανέωση του αέρα γινόταν δέκα φορές την ώρα με την σχετική υγρασία να κυμαίνεται σε επίπεδα $55 \pm 5\%$.

χορηγούνταν ειδική τροφή για ζώα εργαστηρίου (EΛBIZ 510), σε μορφή pellets, κατά βούληση. Η χορήγηση του νερού γινόταν *ad libitum* από το δίκτυο της πόλης. Η σήμανση των ζώων διενεργήθηκε μετά την πάροδο της δεκαήμερης προσαρμογής τους στο χώρο του Εργαστηρίου, με ανεξίτηλο χρώμα κατά μήκος της ουράς των.

4.3.3 Χαρακτηριστικά των επιμυνών της μελέτης

			Βάρος Χειρουργείου	Βάρος Θανάτωσης		
A1	P	Control	435	562		
A2	P	PRP	428	558		
A3	P	Control	434	518		
A4	P	PRP	392	562		
B1	P	Control	390	480		
B2	P	PRP	440	580		
B3	P	PRP	490	644		
B4	P	Control	432	580		
C1	M	PRP	384	482		
C2	M	PRP	410	516		
C3	M	Control	460	562		
C4	M	Control	442	586		
D1	M	Control	406	505		
D2	M	PRP	402	506		
D3	M	PRP	470	592		
D4	M	PRP	435	554		
E1	P	Control	378	444		
E2	P	PRP	394	468		
E3	P	Control	396	522		
E4	P	PRP	416	506		
Z1	M	MSC	454	520		
Z2	M	MSC	480	516		
Z3	M	MSC	476	544		
Z4	M	MSC	475	566		
H1	M	Control	435	522		
H2	M	PRP	450	546		
H3	M	PRP	452	536		
H4	M	Control	424	502		
L1	M	MSC	474	560		
U1	P	MSC	461	536		
L2	M	Control	452	520		
U2	P	MSC	482	552		
U3	M	MSC	384	438		
U4	P	MSC	465	544		
I1	P	MSC	438	512		
I2	P	MSC	446	520		
I3	M	Control	473	480		
I4	M	PRP	414	530		
K1	P	MSC	442	498		
K2	P	MSC	414	454		
K3	P	MSC	480	526		

Υπόμνημα: Το P αντιστοιχεί σε επιμύες που έλαβαν παρακεταμόλη, και M σε αυτούς που έλαβαν παρακεταμόλη και μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη.

4.3.4 Τυχαιοποίηση των επιμυών σε ομάδες

Στην παρούσα έρευνα, τα ζωικά πρότυπα χωρίστηκαν ισόποσα, τυχαία σε τρεις επιμέρους ομάδες: (1) η ομάδα των μαρτύρων (control group) στην οποία έγινε μόνο η χειρουργική επιδιόρθωση των νεύρων, (2) η ομάδα PRP, όπου απομονώθηκε αυτόλογο διάλυμα PRP από αίμα περιφερικής φλέβας και εγχύθηκε τοπικά για την αποκατάσταση του νεύρου, και (3) η ομάδα MSCs, όπου τα b-MSC που ελήφθησαν από τον ομόπλευρο μυελό του μηριαίου οστού, χορηγήθηκαν απευθείας τοπικά στην περιοχή αποκατάστασης του νεύρου. Κάθε ομάδα «θεραπείας» υποδιαιρέθηκε περαιτέρω σε δύο «αντιφλεγμονώδεις» υποομάδες: (α) την ομάδα με ΜΣΑΦ και (β) την ομάδα χωρίς χορήγηση ΜΣΑΦ, παρά μόνο παρακεταμόλη.

Πίνακας 3: Ομάδες θεραπείας και «αντιφλεγμονώδεις» ομάδες.

Ομάδες «Θεραπείας»	C (μόνο χειρουργείο)	PRP (αποκατάσταση νεύρων + διήθηση με διάλυμα PRP)	MSCs (αποκατάσταση νεύρων + διείσδυση MSC που προέρχονται από τον μυελό του μηριαίου οστού)
			«Αντιφλεγμονώδεις» υποομάδες
Μόνο P	7 (C - P)	7 (PRP - P)	7 (MSC - P)
ΜΣΑΦ και P	7 (C - ΜΣΑΦ + P)	7 (PRP - ΜΣΑΦ + P)	7 (MSC - ΜΣΑΦ + P)

Υπόμνημα: P: παρακεταμόλη, C: μόνο συρραφή των νευρικών κολοβωμάτων

4.3.5 Μελέτη αγωγιμότητας νεύρων

Στην παρούσα μελέτη, όλες οι ηλεκτροδιαγνωστικές μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν τυφλά από τον ίδιο ερευνητή, χρησιμοποιώντας την ίδια συσκευή EMG σε διάστημα τριών μηνών μετά την χειρουργική επέμβαση. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε η συσκευή EMG (Keypoint® Classic, Medtronic, Copenhagen, Denmark). Οι ρυθμίσεις

φίλτρου χαμηλής και υψηλής ταχύτητας ήταν στα 20 Hz και 10 kHz, αντίστοιχα. Το ερέθισμα είχε διάρκεια 0,3 ms, συχνότητα 0,5 Hz και ταχύτητα σάρωσης 5 ms / div. Χρησιμοποιήθηκε υπερουδική διέγερση.

Για την επίτευξη της μέτρησης χρησιμοποιήθηκαν ηλεκτρόδια επιφανείας δακτυλίου για τις καταγραφές, ενώ οι αρουραίοι είχαν λάβει γενική αναισθησία (0,5 mg / kg μεδετομιδίνης και 50 mg / kg κεταμίνης ενδομυϊκά). Υποδόρια ηλεκτρόδια βελόνας πλατίνας (Grass, Astro-Med Inc., West Warwick, RI, USA) χρησιμοποιήθηκαν για διέγερση του ισχιακού νεύρου?.

Τα σύνθετα προκλητά δυναμικά ενέργειας των μυών (CMAP) καταγράφηκαν από τον γαστροκνήμιο μυ και των δύο οπίσθιων σκελών. Ο λανθάνων χρόνος από το ερέθισμα στην πρώτη απόκλιση από τη γραμμή βάσης μετρήθηκε σε χιλιοστά του δευτερολέπτου (ms), το ύψος CMAP από την πρώτη αρνητική έως την επόμενη θετική κορυφή σε χιλιοστά Volt (mV), η διάρκεια CMAP από την αρχική απόκλιση μέχρι την επάνοδο στην ισοηλεκτρική γραμμή σε ms και το εμβαδόν της συνολικής απάντησης (area) CMAP σε ms * mV.

4.3.6 Ιστολογική μελέτη

Στην παρούσα μελέτη, για την διερεύνηση των ιστολογικών χαρακτηριστικών των νευρικών κολοβωμάτων του ισχιακού νεύρου των υποκειμένων που υποβλήθηκαν σε χειρουργείο, πραγματοποιήθηκε η εξής διαδικασία κατόπιν της θανάτωσης των υποκειμένων.

Το ισχιακό νεύρο, κατόπιν χειρουργικής παρασκευής του, τοποθετήθηκε σε ρυθμιστικό διάλυμα φορμαλίνης 10%. Στη συνέχεια, ο ιστός που ενσωματώθηκε σε παραφίνη τεμαχίστηκε σε σειριακές τομές πάχους 0,3 έως 0,5 mm σε θετικά φορτισμένα πλακίδια. Οι τομές χρωματίστηκαν με χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης και αξιολογήθηκαν ανοσοϊστοχημικά με S-100 αντίσωμα (πολυκλωνικό κουνέλι) ως δείκτης για τη θήκη μυελίνης (Dako, Glostrup, Denmark).

Όσον αφορά το αντίσωμα S100, οι ιστοί υπέστησαν προεπεξεργασία με τη μέθοδο ανάκτησης επιτόπων (HIER) (PT, Dako) προκαλούμενη από θερμότητα χρησιμοποιώντας το Dako Envision Flex Retrieval Solution σε υψηλό pH και 96-98°C για 20 λεπτά. Ο ιστός επώαστηκε σε θερμοκρασία δωματίου για 30 λεπτά σύμφωνα με το πρωτόκολλο ανοσοϊστοχημείας IHC του Dako Envision Flex Kit, που χρησιμοποιεί

διαμινοβενζιδίνη ως χρωμογόνο. Τα δείγματα φωτογραφήθηκαν με ένα μικροσκόπιο φωτός (Axioskop 2 Plus, Zeiss, Oberkochen, Γερμανία). Οι νευράξονες ανοσοχρώθηκαν έντονα με αντιγόνο S-100 και μετρήθηκε ο απόλυτος αριθμός τους.

Ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν φυσιολογικά ισχιακά νεύρα από το αντίθετο μη χειρουργημένο, αριστερό πόδι. Ο απόλυτος αριθμός νευραξόνων μετρήθηκε εξετάζοντας έξι τυχαία επιλεγμένα πεδία (ένα κέντρο, πέντε περιφέρειες) με τη χρήση ψηφιακού μετρητή με μεγέθυνση x40 από τρεις τοποθεσίες: εγγύς έως νευρική επιδιόρθωση, απομακρυσμένη έως νευρική επιδιόρθωση και πολύ απομακρυσμένη (0,3 cm) στην αποκατάσταση νεύρων.

Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε τόσο χειροκίνητα με μικροσκοπία φωτός, όσο και από τη διεπαφή λογισμικού ImagePro Plus® v6.0 (Media Cybernetics Inc., Rockville, MD, USA) και εφαρμόστηκε στις περιοχές ενδιαφέροντος για μέτρηση νευραξόνων και για την εκτίμηση της μορφομετρίας των κυττάρων.

4.4 Στατιστική Ανάλυση:

Τα δεδομένα που συλλέχθηκαν, αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας το πακέτο στατιστικής ανάλυση SPSS Version 21 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας $p < 0,05$.

Αρχικά, το τεστ Kolmogorov-Smirnov χρησιμοποιήθηκε για ανάλυση κανονικότητας των παραμέτρων. Ακόμη, χρησιμοποιήθηκε αμφίδρομο μοντέλο ANOVA για την εξέταση της αλληλεπίδρασης μεταξύ του παράγοντα «θεραπείας» και του «αντιφλεγμονώδους» παράγοντα. Δεδομένου ότι δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση, συγκρίθηκε στην πορεία ο παράγοντας «θεραπείας» ανεξάρτητα από τον παράγοντα «αντιφλεγμονώδες» και ο παράγοντας «αντιφλεγμονώδες» ανεξάρτητα από τον παράγοντα «θεραπείας».

Η σύγκριση του παράγοντα μεταβλητών μεταξύ ομάδων «θεραπείας» πραγματοποιήθηκε για κάθε υποομάδα «αντιφλεγμονώδους» ξεχωριστά χρησιμοποιώντας το μονόδρομο μοντέλο ANOVA. Πραγματοποιήθηκαν συγκρίσεις κατά ζεύγη χρησιμοποιώντας το τεστ Bonferroni. Η σύγκριση των μεταβλητών μεταξύ των υπο-ομάδων του «αντιφλεγμονώδους» παράγοντα για κάθε ομάδα «θεραπείας» πραγματοποιήθηκε ξεχωριστά χρησιμοποιώντας τα ανεξάρτητα δείγματα t-test.

5. Αποτελέσματα

Η μέτρηση των σύνθετων μυϊκών δυναμικών ενέργειας (CMAP) που διενεργήθηκε στο τρίμηνο μετά από την θεραπευτική παρέμβαση στους γαστροκνήμιους μύες των υποκειμένων στο χειρουργημένο δεξί πόδι, παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών ομάδων θεραπείας ($p < 0,005$).

Συγκεκριμένα, η ομάδα που έλαβε θεραπεία με PRP παρουσίασε σημαντικά υψηλότερη τιμή στην CMAP σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ($p = 0,001$). Η ομάδα που έλαβε θεραπεία με MSCs, παρουσίασε επίσης στατιστικά σημαντικό καλύτερο αποτέλεσμα σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ($p = 0,006$). Επιπλέον, δεν βρέθηκε διαφορά μεταξύ των «αντιφλεγμονωδών» υποομάδων ανεξάρτητα από τη «θεραπεία» ($p = 0,939$) (Πίνακας 4 και Γράφημα 1). Το αμφίδρομο ANOVA δεν έδειξε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των παραγόντων «θεραπείας» και «αντιφλεγμονώδους θεραπείας» ($p = 0,704$).

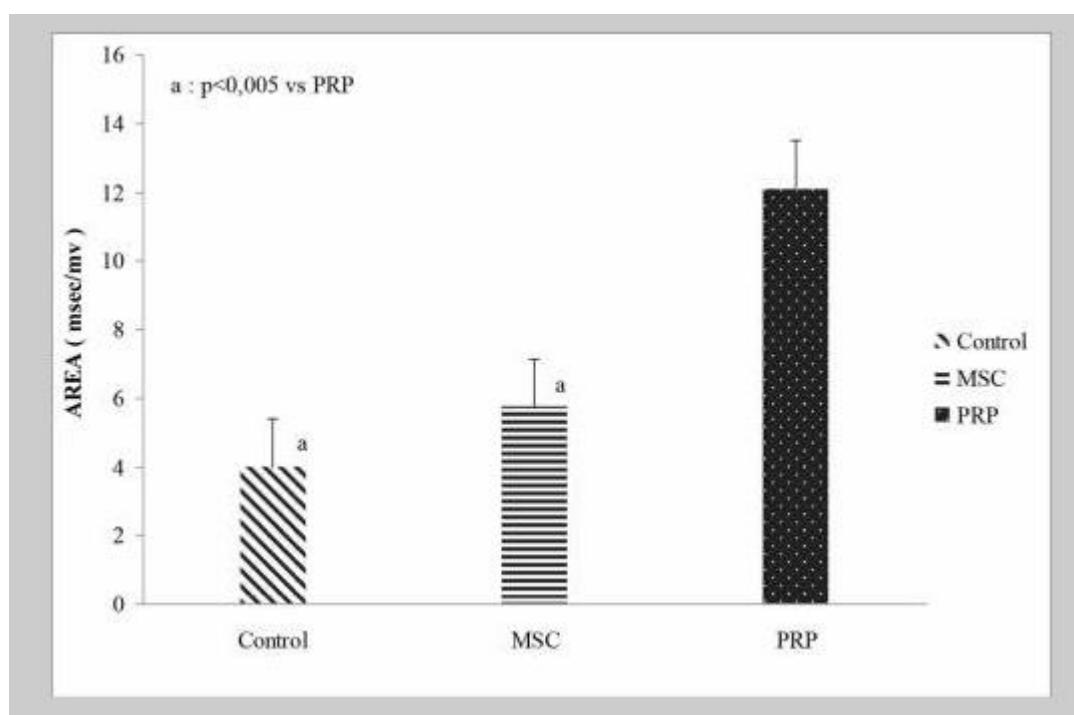
Πίνακας 4: Εύρος CMAP (mV / msec) του χειρουργημένου σκέλους.

	Υποομάδα χωρίς ΜΣΑΦ	Υποομάδα με ΜΣΑΦ	Σύγκριση μεταξύ των υποομάδων	Σύγκριση ομάδων «θεραπείας» ανεξάρτητα από τις «αντιφλεγμονώδεις» υποομάδες	μεταξύ
	Μέση τιμή ± SD	Μέση τιμή ± SD		Μέση τιμή ± SE	
Έλεγχος	4,62 ± 3,28 ^α	3,37 ± 2,68 ^β	$p = 0,467$	3,99 ± 1,38 ^β	
MSC	4,88 ± 3,54 ^α	6,60 ± 5,01 ^α	$p = 0,463$	5,74 ± 1,34 ^β	
PRP	12,52 ± 8,79	11,68 ± 4,94	$p = 0,823$	12.10 ± 1.34	

Σύγκριση μεταξύ ομάδων «θεραπείας»	$p = 0,036$	$p = 0,006$	$p < 0,0005$
	Μέση τιμή $\pm$ SE	Μέση τιμή $\pm$ SE	Αλληλεπίδραση μεταξύ των ομάδων θεραπείας και των «αντιφλεγμονωδών» υποομάδων, $p = 0,704$
Σύγκριση μεταξύ «αντιφλεγμονωδών» υποομάδων ανεξάρτητα από τις ομάδες «θεραπείας»	7.34 $\pm$ 1.12	7.21 $\pm$ 1.10	$p = 0,939$

Όπου α $p < 0,05$ έναντι της ομάδας PRP. β $p < 0,005$ έναντι της ομάδας PRP.

SD, τυπική απόκλιση; SE, τυπικό σφάλμα



Γράφημα 1: Εύρος του CMAP του χειρουργημένου σκέλους μεταξύ των ομάδων «θεραπείας» ανεξάρτητα από τις «αντιφλεγμονώδεις» υποομάδες.

Αναφορικά στην αναλογία CMAP% (χειρουργημένο σκέλος / ανεγχείρητο * 100), υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των τριών διαφορετικών ομάδων «θεραπείας» ($p = 0,005$). Πιο αναλυτικά, η ομάδα PRP παρουσίασε στατιστικά

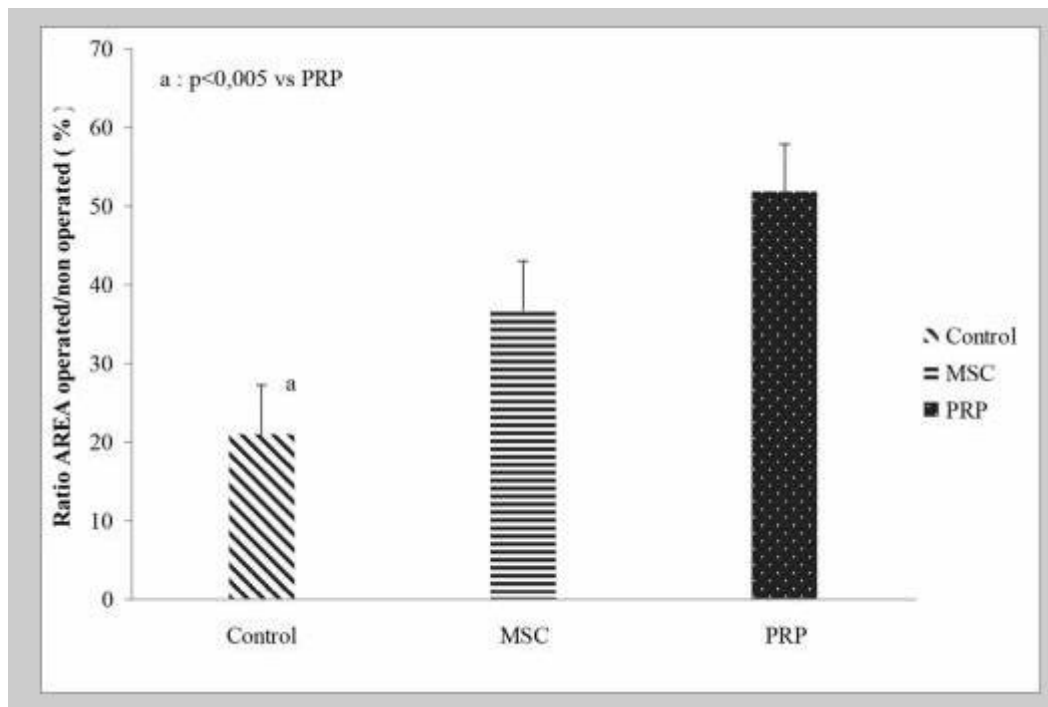
σημαντικά καλύτερα αποτελέσματα σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ($p = 0,003$). Επιπλέον, δεν βρέθηκε διαφορά μεταξύ των «αντιφλεγμονωδών» υποομάδων ανεξάρτητα από τη «θεραπεία» ($p = 0,404$) (Πίνακας 5 και Γράφημα 2). Η αμφίδρομη ANOVA δεν έδειξε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των παραγόντων «θεραπείας» και «αντιφλεγμονώδους θεραπείας» ($p = 0,477$).

Πίνακας 5: Εύρος CMAP% στις διαφορετικές ομάδες θεραπείας.

	Υποομάδα χωρίς ΜΣΑΦ	Υποομάδα με ΜΣΑΦ	Σύγκριση μεταξύ των υποομάδων	Σύγκριση μεταξύ ομάδων «θεραπείας» ανεξάρτητα από τις «αντιφλεγμονώδεις» υποομάδες
	Μέση τιμή ± SD	Μέση τιμή ± SD		Μέση τιμή ± SE
Έλεγχος	22,82 ± 19,70	19,07 ± 17,66 α	$p = 0,724$	20,94 ± 6,26 β
MSC	28,18 ± 11,16	45,61 ± 34,27	$p = 0,277$	36,89 ± 6,07
PRP	49,65 ± 24,42	53,91 ± 24,42	$p = 0,752$	51,78 ± 6,07
Σύγκριση μεταξύ ομάδων «θεραπείας»	$p = 0,161$	$p = 0,047$		$p = 0,005$
	Μέση τιμή ± SE	Μέση τιμή ± SE		Αλληλεπίδραση μεταξύ ομάδων «θεραπείας» και «αντιφλεγμονωδών» υποομάδων, $p =$
Σύγκριση μεταξύ «αντιφλεγμονωδών» υποομάδων	33,55 ± 5,08	39,53 ± 4,94	$p = 0,404$	0,477

ανεξάρτητα από τις
ομάδες «θεραπείας»

Με α $p < 0,05$ έναντι της ομάδας PRP. β $p < 0,005$ έναντι της ομάδας PRP.



Γράφημα 2: Εύρος CMAP% στις διαφορετικές ομάδες θεραπείας.

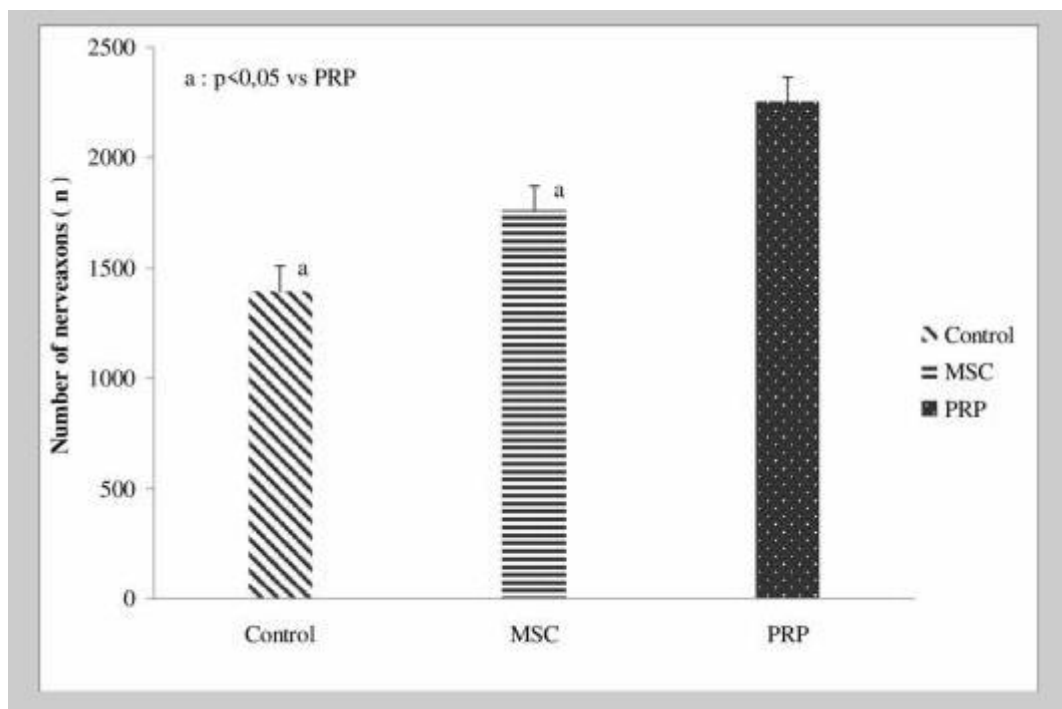
Όσον αφορά τη διάρκεια του CMAP, δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων «θεραπείας». Ωστόσο, το ύψος CMAP του δεξιού γαστροκνήμιου μυός ήταν σημαντικά υψηλότερο για την ομάδα PRP σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου, αλλά δεν ήταν σημαντικό σε σύγκριση με το ανεγχείρητο αριστερό πόδι των υποκειμένων.

Επιπρόσθετα, ο απόλυτος αριθμός νευραξόνων (αριθμός/ μm^2) από το σημείο της νευρικής επιδιόρθωσης ήταν σημαντικά υψηλότερος στην ομάδα PRP σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ($p = 0,005$). Ωστόσο, δεν ήταν το ίδιο στην ομάδα MSC σε σύγκριση με την ομάδα PRP (Γράφημα 3).

Ακριβέστερα, η αναλογία του αριθμού των νευραξόνων ως προς την αποκατάσταση των νEURων, και του αριθμού των νευραξόνων που είναι εγγύς προς την επιδιόρθωση των νEURων (D / P) ήταν σημαντικά υψηλότερη στις ομάδες PRP και MSCs σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ($p = 0,009$ και $p = 0,047$, αντίστοιχα). Δεν βρέθηκε διαφορά μεταξύ των «αντιφλεγμονωδών» υποομάδων ανεξάρτητα από τη θεραπεία

(Πίνακας 6). Το αμφίδρομο αποτέλεσμα ANOVA δεν έδειξε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ της «θεραπείας» και των «αντιφλεγμονωδών παραγόντων» ($p = 0,822$).

Όσον αφορά τη διάμετρο των νευροαξόνων που σχηματίστηκαν πρόσφατα, δεν υπήρχε σημαντική από ιστολογικής άποψης διαφορά μεταξύ των ομάδων «θεραπείας» ή των «αντιφλεγμονωδών» υποομάδων (Εικόνα 1).

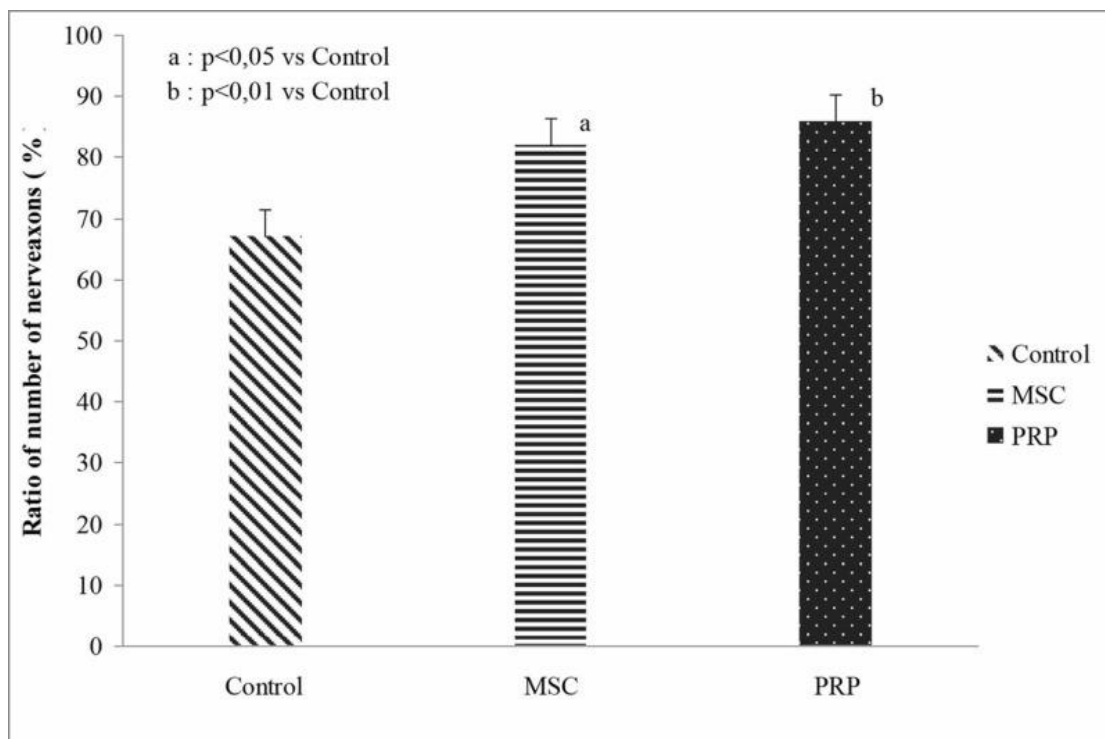


Γράφημα 3: Απόλυτος αριθμός νευραξόνων που βρίσκονται περιφερικά του σημείου αποκατάστασης των νEURων μεταξύ των ομάδων «θεραπείας» ανεξάρτητα από τις «αντιφλεγμονώδεις» υποομάδες.

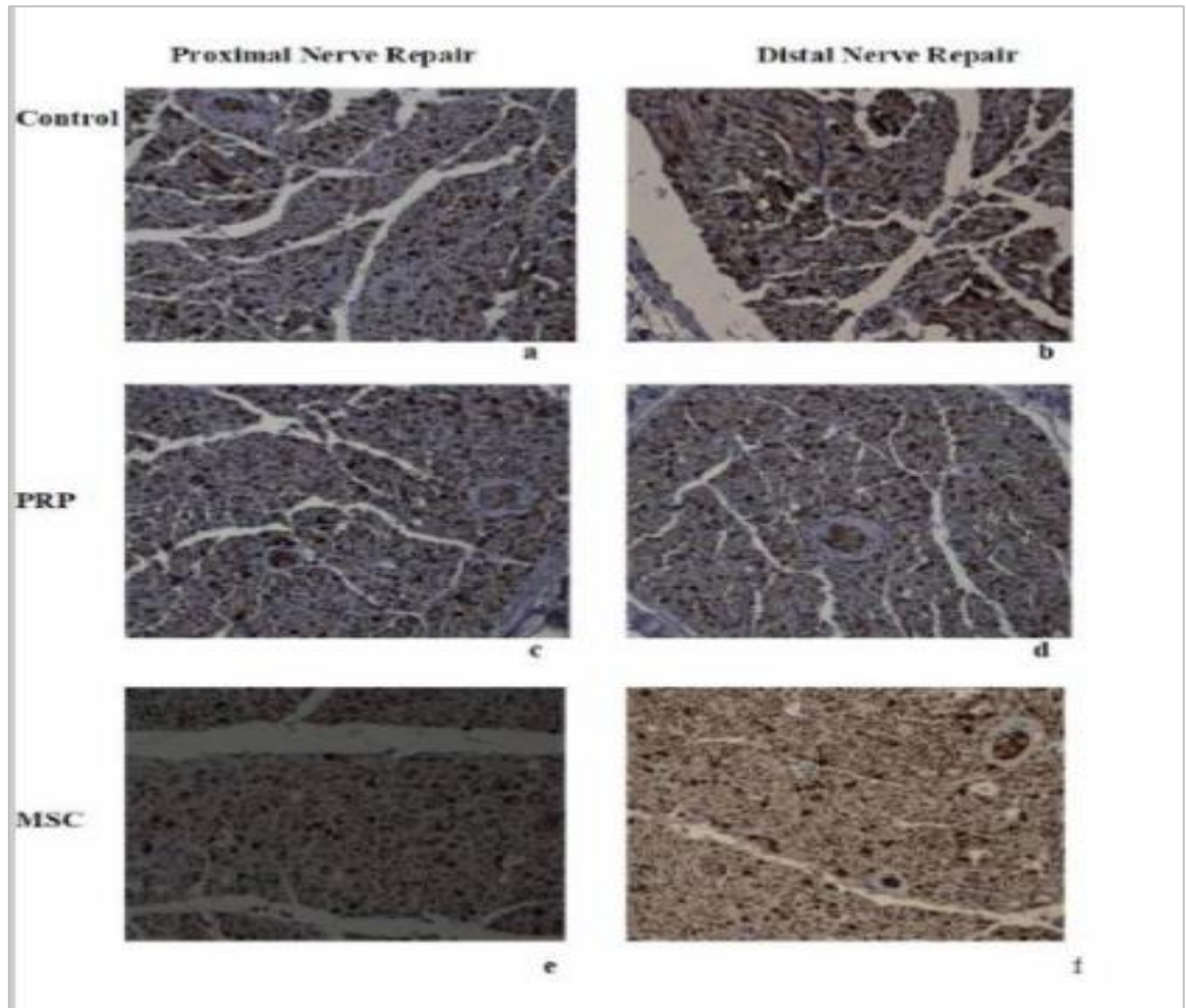
Πίνακας 6: Αναλογία αριθμού νευραξόνων/επιδιόρθωση (D/P) στις επιμέρους ομάδες θεραπείας.

Υποομάδα χωρίς ΜΣΑΦ	Υποομάδα με ΜΣΑΦ	Σύγκριση μεταξύ των υποομάδων	Σύγκριση μεταξύ ομάδων «θεραπείας» ανεξάρτητα από τις «αντιφλεγμονώδεις» υποομάδες
Μέση τιμή ± SD	Μέση τιμή ± SD		Μέση τιμή ± SE

Έλεγχος	62,76	±	71,14	±	p = 0,331	66.9 ± 4.4
	12,42		16,50			
MSC	79,97	±	85,16	±	p = 0,606	82,6 ± 4,3 ^α
	19,80		15,53			
PRP	86,28	±	86,98	±	p = 0,929	86,7 ± 4,3 ^β
	15,95		12,96			
Σύγκριση μεταξύ ομάδων «θεραπείας»	p = 0,066		p = 0.119			p = 0,007
	Μέση τιμή ± SE		Μέση τιμή ± SE			Αλληλεπίδραση μεταξύ ομάδων «θεραπείας» και «αντιφλεγμονωδών» υποομάδων, p = 0,822
Σύγκριση μεταξύ «αντιφλεγμονωδών» υποομάδων ανεξάρτητα από τις ομάδες «θεραπείας»	76,3 3,58	±	81,1 3,48	±	p = 0,348	



Γράφημα 4: Αναλογία αριθμού νευραξόνων/επιδιόρθωση (D/P) στις επιμέρους ομάδες θεραπείας.



Εικόνα 1: Ιστολογία υπό μεγέθυνση x40 εγγύς και περιφερικά έως το σημείο της νευρικής αποκατάστασης των τριών επιμέρους ομάδων «θεραπείας».

(a) Ομάδα ελέγχου εγγύς του σημείου αποκατάστασης των νευρών. (b) Ομάδα ελέγχου περιφερικότερα του σημείου αποκατάστασης νευρών. (c) Ομάδα PRP εγγύς του σημείου αποκατάστασης των νευρών. (d) Ομάδα PRP περιφερικότερα του σημείου αποκατάστασης νευρών. (e) MSCs ομάδα εγγύς του σημείου αποκατάστασης των νευρών. (f) Ομάδες MSC περιφερικότερα του σημείου αποκατάστασης νευρών.

6. Συζήτηση

6.1 Η επίδραση της τοπικής έγχυσης MSCs στην νευρική αναγέννηση:

Στην παρούσα μελέτη, από τα δεδομένα που συλλέχθηκαν από την EMG φάνηκε ότι η τοπική έγχυση MSCs στην περιοχή διατομής του ισχιακού νεύρου, έχει υψηλότερες τιμές από την ομάδα ελέγχου και άρα επιφέρει καλύτερα αποτελέσματα αναφορικά στην νευρική αναγέννηση, σε σύγκριση με την εφαρμογή μεμονωμένα κλασικής νευρικής συρραφής κατά την πρωτογενή αποκατάσταση (ομάδα ελέγχου). Το παρόν υποδεικνύει ότι η χρήση MSCs που προέρχονται από τον μυελό των οστών, μπορεί να είναι ωφέλιμη στην αποκατάσταση κακώσεων περιφερικών νεύρων, όχι μόνο στους επιμύες, αλλά και στον άνθρωπο. Η σύγκριση των δεδομένων της παρούσας μελέτης με την βιβλιογραφία ανέδειξε τα εξής:

Στην μελέτη του Ugutia και των συνεργατών (2019) φάνηκε ότι τα MSCs μπορούν να μεταφερθούν και να διαφοροποιηθούν σε νευρωνικούς πρόδρομους και / ή ώριμους νευρώνες και να προωθήσουν τη νευροπροστασία και τη νευρογένεση. Τα παραπάνω θα μπορούσαν να ωφελήσουν σημαντικά τις νευροεκφυλιστικές διαταραχές, καθώς και στη θεραπεία τραυματικών και κληρονομικών παθήσεων περιφερικών νεύρων αλλά και του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ). Προκειμένου να επιτευχθεί μια ιδανική πηγή MSCs ενηλίκων για τη θεραπεία ασθενειών του ΚΝΣ, απομονώθηκαν και μελετήθηκαν MSCs που προέρχονται από λιπώδη ιστό, μυελό των οστών, δέρμα και ομφάλιο λώρο και μελετήθηκαν για να διερευνηθούν διαφορές όσον αφορά την ικανότητα διαφοροποίησης τους, σε νευρώνες. Η μελέτη έδειξε ότι MSCs από διάφορους ιστούς μπορούν να διαφοροποιηθούν σε κύτταρα που μοιάζουν με νευρώνες και να εκφράσουν διαφορετικά τους προγόνους και τους ώριμους νευρικούς δείκτες, και πιο αποτελεσματικά αυτά που προέρχονται από τον λιπώδη ιστό (154).

Ακόμη, στην έρευνα του Chen και των συνεργατών του (2019) για την επίδραση της έγχυσης MSCs επί κακώσεων του νωτιαίου μυελού, φάνηκε ότι τα τελευταία παρουσιάζουν πολλά υποσχόμενες δυνατότητες για την αναγεννητική ιατρική. Σε αυτήν τη μελέτη, διερευνήθηκε η επίδραση των MSCs στην νευρική αναγέννηση, τόσο *in vivo*, όσο και *in vitro*. Μελετήθηκαν χαρακτηριστικά, συμπεριλαμβανομένης της έκφρασης του δείκτη CD, της διαφοροποίησης και των καμπυλών ανάπτυξης. Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η έγχυση κατόπιν καλλιέργειας

μεσεγγυματικών βλαστοκυττάρων παίζει καταλυτικό ρόλο στη νευρική επιδιόρθωση και δείχνει δυνατότητες για μελλοντικές κλινικές εφαρμογές στον άνθρωπο (155).

Επιπλέον, στην έρευνα του Seo και των συνεργατών (2017) διερευνήθηκε η επίδραση της έγχυσης MSCs στην νευρική αναγέννηση, μετά από κακώσεις του νωτιαίου μυελού σε μοντέλα επιμύων. Τα βλαστοκύτταρα είχαν συλλεχθεί από τον ομφάλιο λώρο εθελοντών και στην συνέχεια καλλιεργήθηκαν σε ειδικές *in vitro* συνθήκες για να χορηγηθούν στους επιμύες. Τα υποκείμενα χωρίστηκαν σε 5 επιμέρους ομάδες: 1) ομάδα ένεσης αλατούχου διαλύματος φωσφορικού (ομάδα ψευδο, $n = 10$), 2) Ομάδα ένεσης πρωτεΐνης Wnt3a (ομάδα πρωτεΐνης Wnt3a, $n = 10$), 3) ομάδα μεταμόσχευσης hMSC (ομάδα MSC, $n = 10$), 4) hMSCs επιμολυσμένα με την ομάδα μεταμόσχευσης φορέα pLenti (ομάδα pLenti-MSC, $n = 10$), και 5) hMSCs επιμολύνθηκαν με την ομάδα μεταμόσχευσης φορέα pLenti + Wnt3a (ομάδα Wnt3a-MSC, $n = 10$). Διεξήχθησαν τεστ συμπεριφοράς καθημερινά για τις πρώτες 3 ημέρες μετά τον τραυματισμό και μετά εβδομαδιαία για 8 εβδομάδες. Επτά εβδομάδες μετά τη μεταμόσχευση (8 εβδομάδες μετά την SCI), οι επιμύες στην ομάδα Wnt3a-MSC πέτυχαν σημαντικά υψηλότερες μέσες βαθμολογίες στις δοκιμές κινητικής συμπεριφοράς από εκείνες των άλλων ομάδων ($p < 0,05$). Οι ανοσοφθοριστικοί λεκέδες έδειξαν μεγαλύτερη ανοσοαντιδραστικότητα των ChAT, GAP43 και MAP2 στην ομάδα Wnt3a-MSC από ό, τι στις άλλες ομάδες. Οι κηλίδες RT-PCR και western αποκάλυψαν μεγαλύτερη έκφραση αυτών των πρωτεϊνών στην ομάδα Wnt3a-MSC από ό, τι στις άλλες ομάδες ($p < 0,05$). Τέλος, οι ερευνητές συμπέραναν ότι η μεταμόσχευση HMSC που εκκρίνει Wnt3a βελτίωσε σημαντικά τη νευρολογική ανάκαμψη και την αξονική αναγέννηση των νευρώνων του νωτιαίου μυελού των ποντικών (156).

Στην μελέτη του Mantovani και των συνεργατών του (2010) φάνηκε ότι η μεταμόσχευση σε επιμύες μεσεγγυματικών βλαστοκυττάρων από τον μυελό των οστών, οδήγησε στην παραγωγή διαφοροποιημένων κυττάρων που ομοιάζουν με τα νευρογλοιακά κύτταρα Schwann (Schwann like cells -SLC) με τελική συνέπεια την ενίσχυση της διεργασίας νευρικής αναγέννησης μετά από κάκωση και στην συνέχεια την μυελίνωση των νευραξόνων (77).

Στην έρευνα του Nanette και των συνεργατών (2010) σε πειραματικά μοντέλα επιμύων, φάνηκε ότι τα μεταμοσχευμένα MSCs προάγουν την ενδογενή νευρωνική ανάπτυξη

και ταυτόχρονα προστατεύουν τους νευρώνες από απόπτωση χάρει στους παράγοντες που εκκρίνουν. Επιπλέον, φάνηκε ότι τα μεταμοσχευμένα MSCs δρουν μέσω της παρακρινικής οδού και συνεπώς συμβάλλουν στο σχηματισμό συνδέσεων με τραυματισμένους νευρώνες με στόχο την ανανέωση τους (79).

Επιπρόσθετα, στην μελέτη του Habisch και των συνεργατών του (2010) φάνηκε ότι τα μεταμοσχευμένα BM-MSCs σε περιοχή νευρικής κάκωσης σε επίμυες οδήγησε σε μείωση της παραγωγής και της έκκρισης των πεπτιδίων Αβ μέσω της ρύθμισης της έκφρασης του γονιδίου της F-spondin και της νευριλψίνης (80). Ανάλογα ευρήματα μείωσης της φλεγμονώδους διεργασίας παρατηρήθηκαν και στην μελέτη του Lee και των συνεργατών (2010), παράλληλα με αυξημένη διαφοροποίηση των MSCs σε νευρογλοιακά κύτταρα, κρίσιμα για την ρύθμιση του μικρο-περιβάλλοντος και την νευρική αναγέννηση (81).

Αντίστοιχα, στην μελέτη του Arthur και των συνεργατών (2008) στην οποία πραγματοποιήθηκε έγχυση απομονωμένων ανθρώπινων DPSCs σε επίμυες, παρατηρήθηκε διαφοροποίηση των σε πλήρως λειτουργικούς νευρώνες, ικανούς για την έκκριση νεστίνης και GFAP υπό συγκεκριμένες συνθήκες μικρο-περιβάλλοντος (78).

Ακόμη, στην έρευνα του Huang και των συνεργατών του (2008) φάνηκε ότι η μεταμόσχευση MSCs από οδοντικό πολφό στον υπόκαμπο επιμύων με γνωστικές διαταραχές, οδήγησε σε διαφοροποίηση των κυτταρικών κλώνων σε ώριμους νευρώνες και NPCs. Οι ερευνητές συμπέραναν ότι η θεραπεία με μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα ενδεχομένως να αποτελεί λύση στην αντιμετώπιση της κατάθλιψης και της άνοιας (82).

6.2 Η επίδραση της τοπικής έγχυσης PRP στην νευρική αναγέννηση:

Στην παρούσα μελέτη, η στατιστική ανάλυση των δεδομένων που συλλέχθηκαν έδειξε ότι η τοπική έγχυση PRP κατά την πρωτογενή επιδιόρθωση της κάκωσης του περιφερικού νεύρου, όχι μόνο επιδεικνύει καλύτερα κλινικά, αλλά και στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα, συγκριτικά με την κλασσική νευρική συρραφή (ομάδα ελέγχου), αλλά και τον συνδυασμό της με τοπική έγχυση MSCs (ομάδα MSCs). Στην παρούσα μελέτη η σύγκριση της επίδρασης της έγχυσης PRP έναντι της έγχυσης μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων πραγματοποιήθηκε τόσο μέσω των αποτελεσμάτων της EMG, αλλά και με βάση τον απόλυτο αριθμό των νευραξόνων. Με βάσει τις

παραμέτρους αυτές, η έγχυση PRP φάνηκε να έχει σημαντική επίδραση στην νευρική αναγέννηση. Ανάλογα είναι και τα αποτελέσματα μελετών που δημοσιεύονται στην διεθνή βιβλιογραφία.

Στην μελέτη του Lichtenfels και των συνεργατών του (2013) σε μοντέλα 32 επιμύων Wistar διερευνήθηκε η αποτελεσματικότητα της έγχυσης PRP κατά την πρωτογενή επιδιόρθωση της κάκωσης του ισχιακού νεύρου. Πιο συγκεκριμένα, οι 32 επιμές Wistar χωρίστηκαν τυχαία σε τέσσερις ομάδες θεραπειών: αυτόλογα νευρικά μοσχεύματα (ANG), σωλήνα πυριτίου συν αλατούχο διάλυμα (SS), σωλήνα πυριτίου συν PRP και σωλήνα πυριτίου συν PRF. Στην ομάδα ANG, τμήμα 10 mm από το ισχιακό νεύρο αποκόπηκε και επανεμφυτεύθηκε μεταξύ των νευρικών κολοβωμάτων. Στις ομάδες SS, PRP και PRF, τμήμα 5 mm από το ισχιακό νεύρο αποκόπηκε και γεφυρώθηκε με αγωγό σιλικόνης 12 mm για τη δημιουργία νευρικού κενού 10 mm. Ο αγωγός γεμίστηκε σύμφωνα με τις διάφορες θεραπείες. Η ανάλυση της διαδρομής πεζοπορίας πραγματοποιήθηκε περιοδικά και την 90η μετεγχειρητική ημέρα πραγματοποιήθηκε ιστομορφομετρική ανάλυση. Το ANG, PRF, και οι ομάδες PRP παρουσίασαν σημαντική λειτουργική βελτίωση σε σχέση με την ομάδα SS ($P = 0,001$) σε 90 ημέρες μετά τη χειρουργική επέμβαση. Η ιστομορφομετρική ανάλυση έδειξε ότι η ομάδα ANG πέτυχε μεγαλύτερη διάμετρο νευρικών ινών στο εγγύς κολόβωμα ενώ συγκρίθηκε με την ομάδα SS ($P = 0,037$) και έδειξε μεγαλύτερη διάμετρο ίνας στο μέσο κολόβωμα σε σύγκριση με την ομάδα PRP ($P = 0,002$) και την ομάδα PRF ($P = 0,001$). Η αξονική διάμετρος και το πάχος της θήκης μυελίνης δεν έδειξαν στατιστική σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων στα τρία κολοβώματα ($P \geq 0,05$). Αυτή η μελέτη υποδηλώνει ότι το PRP και το PRF έχουν θετικά αποτελέσματα στη λειτουργική αποκατάσταση νεύρων. Ωστόσο, αυτές οι ομάδες δεν επιτυγχάνουν σημαντική βελτίωση στην ιστομορφομετρική ανάλυση (145).

Ακόμη, ο Firat κι οι συνεργάτες του (2016) πραγματοποίησαν μελέτη διερεύνησης της επίδρασης του PRP και του υαλουρονικού οξέος σε μοντέλα επιμύων. Στη μελέτη συμμετείχαν 20 αρσενικοί επιμύες Wistar που ζύγιζαν 200 έως 250 γραμμάρια και ηλικίας περίπου 1 έτους. Από τους αρουραίους, δύο χρησιμοποιήθηκαν ως δότες για συγκομιδή μοσχεύματος PRP και αορτής. Συντέθηκαν τρεις τυχαίες ομάδες 6 αρουραίων. Σε όλες τις ομάδες, χρησιμοποιήθηκαν τα αριστερά ισχιακά νεύρα και δημιουργήθηκαν ελλείματα 1 cm. Τα ακέραια ισχιακά νεύρα χρησιμοποιήθηκαν ως ομάδες ελέγχου. Η ομάδα 1 ήταν η ομάδα που τοποθετήθηκε αυτομόσχευμα, η ομάδα

2 ήταν η ομάδα που επισκευάστηκε με υαλουρονικό οξύ που εγχύθηκε μέσω μοσχεύματος αορτής και η ομάδα 3 ήταν η ομάδα που αντιμετωπίστηκε με PRP που εγχύθηκε μέσω μοσχεύματος αορτής. Τα ευρήματα αξιολογήθηκαν ως προς τη λειτουργικότητα του άκρου (ηλεκτρομυογραφία και ανάλυση δοκιμής βάρδισης) και τις ιστοπαθολογικές παραμέτρους στις 12 εβδομάδες. Σε όλες τις ομάδες παρατηρήθηκαν διαφορετικοί βαθμοί αναγέννησης νευραξόνων. Η ομάδα 1 ήταν η πλησιέστερη ομάδα στην ομάδα ελέγχου που έδειξε τον υψηλότερο ρυθμό αναγέννησης νευρών, ακολουθούμενη από την ομάδα 3 όπου η PRP εγχύθηκε μέσω μοσχεύματος αορτής και της ομάδας 2 όπου χρησιμοποιήθηκε υαλουρονικό οξύ αντίστοιχα. Εν κατακλείδι, η μελέτη υπέδειξε ότι το PRP ενισχύει την αναγέννηση των περιφερικών νευρών περισσότερο από το υαλουρονικό οξύ, όταν χρησιμοποιείται σε ένα μοντέλο αγγειακού αγωγού (157).

Στην συστηματική ανασκόπηση του Bastami και των συνεργατών (2016) επιλέχθηκαν δεκαεπτά άρθρα με στόχο την διερεύνηση της σχέσης της έγχυσης PRP και της νευρικής αναγέννησης. Τα αποτελέσματα της χρήσης μόνο PRP ή σε συνδυασμό με βλαστοκύτταρα στη λειτουργική ανάκαμψη και οι ιστολογικές αξιολογήσεις συζητούνται και συγκρίνονται με άλλες θεραπείες, όπως αυτόλογο νευρικό μόσχευμα, αλλομόσχευμα ακυτταρικού νεύρου και συνθετικοί αγωγοί νευρών. Οι συγγραφείς διευκρίνισαν ότι το PRP έδειξε θετικά αποτελέσματα στην επούλωση της νευρικής λειτουργίας, καθώς και ιστολογικές βελτιώσεις στο μοντέλο PNI κοπής νεύρου. Συμπερασματικά, το PRP φαίνεται ένας πολλά υποσχόμενος παράγοντας στην νευρική επιδιόρθωση που δρα σημαντικά στην διεργασία της νευρικής αναγέννησης (158).

Τέλος, στην μελέτη του Zheng και των συνεργατών του (2014) πραγματοποιήθηκε επίσης διερεύνηση της αποτελεσματικότητας του PRP στην νευρική αναγέννηση μετά από κάκωση περιφερικού νεύρου. Το αυτόλογο PRP ελήφθη από αρουραίους με φυγοκέντρηση διπλού σταδίου και χαρακτηρίστηκε από τον προσδιορισμό των αριθμών αιμοπεταλίων και την απελευθέρωση αυξητικών παραγόντων. Σαράντα οκτώ επιμύες Sprague-Dawley χωρίστηκαν τυχαία σε 4 ομάδες (12 / ομάδα), και ταυτοποιήθηκαν ως: 1) αυτομόσχευμα, ANA (αλλομόσχευμα ακυτταρικού νεύρου), 2) ANA φορτωμένο με PRP (ANA + PRP), 3) ANA φορτωμένο με πλάσμα φτωχό σε αιμοπετάλια (PPP, ANA + PPP) και 4) ομάδα ελέγχου. Όλα τα μοσχεύματα εμφυτεύθηκαν για να γεφυρώσουν τις ελλείψεις ισχιακού νεύρου (έλλειμμα μεγέθους 15 mm). Βρέθηκε ότι το PRP με υψηλή συγκέντρωση αιμοπεταλίων εμφάνισε

παρατεταμένη απελευθέρωση αυξητικών παραγόντων. Δώδεκα εβδομάδες μετά τη χειρουργική επέμβαση, η ομάδα αυτομοσχεύματος εμφάνισε το υψηλότερο επίπεδο επανεπένδυσης, ακολουθούμενη από την ομάδα ANA + PRP. Η ομάδα ANA + PRP παρουσίασε καλύτερη ηλεκτροφυσιολογική απόκριση για το εύρος και την ταχύτητα αγωγιμότητας από τις ομάδες ANA και ANA + PPP. Με βάση την ιστολογική αξιολόγηση, οι ομάδες ANA + PRP και autograft είχαν υψηλότερο αριθμό νευρικών ινών αναγέννησης. Η ποσοτική αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο (qRT-PCR) έδειξε ότι το PRP ενίσχυσε την έκφραση νευροτροφινών στα αναγεννημένα νεύρα. Επιπλέον, οι ομάδες ANA + PRP και αυτομοσχεύματος έδειξαν εξαιρετικά φυσιολογικά αποτελέσματα όσον αφορά την πρόληψη της μυϊκής ατροφίας. Συμπερασματικά, η χορήγηση PRP σχετίζεται με κλινικά σημαντική ενίσχυση της νευρικής αναγέννησης σε σύγκριση με τις κλασσικές μεθόδους αποκατάστασης (159).

6.3 Η επίδραση της χορήγησης ΜΣΑΦ στην νευρική αναγέννηση:

Στην παρούσα μελέτη χορηγήθηκαν ΜΣΑΦ σε υποομάδες όλων των ομάδων θεραπείας για να διερευνηθεί αν οι αντιφλεγμονώδεις ομάδες συμβάλλουν στην καλύτερη έκβαση. Ωστόσο, η μελέτη έδειξε ότι η ενδομυϊκή χορήγηση αντιφλεγμονωδών ουσιών δεν φαίνεται να επηρεάζει το τελικό αποτέλεσμα, σε καμία από τις ομάδες θεραπείας. Η σύγκριση με την βιβλιογραφία κατέληξε στην εύρεση τόσο παρόμοιων, όσο και αντιφατικών αποτελεσμάτων.

Πιο αναλυτικά, ο Madura και οι συνεργάτες του (2011) σε μελέτη διερεύνησης της αποτελεσματικότητας της ιβουπροφαίνης στην νευρική αποκατάσταση σε μοντέλα επιμυών, έδειξε ότι η τελευταία, ως αντιφλεγμονώδης παράγοντας, αύξησε σημαντικά την αναγέννηση μετά την διατομή του κνημιαίου νεύρου. Συγκεκριμένα, η μελέτη διεξήχθη σε ενήλικες θηλυκούς επιμύες Wistar, κατόπιν αποκοπής μέρους, μεγέθους 5 χιλιοστών του κνημιαίου νεύρου. Το ίδιο μέρος, επανατοποθετήθηκε στην θέση του τραυματισμού ως ένα ενδιάμεσο μόσχευμα. Στη συνέχεια, τα ζώα έλαβαν αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα ιβουπροφαίνης ή φωσφορικού μέσω οσμωτικής αντλίας για περίοδο 3 εβδομάδων. Μετά τον τραυματισμό καταγράφηκε ο κνημιαίος λειτουργικός δείκτης (TFI) σε εβδομαδιαία βάση. Μετά από 3 μήνες μετρήθηκε η ταχύτητα αγωγιμότητας των νεύρων και το μέγιστο πλάτος του δυναμικού δράσης (PAAP). Επίσης, η ιστομορφομετρική ανάλυση πραγματοποιήθηκε περιφερικότερα της θέσης του τραυματισμού. Τα αποτελέσματά της μελέτης έδειξαν ότι η ιβουπροφαίνη αύξησε

σημαντικά την αναγέννηση μετά την διατομή του κνημιαίου νεύρου και την διεργασία νευρικής επιδιόρθωσης στους μελετώμενους αρουραίους (160).

Από την άλλη, ο Sharp και οι συνεργάτες του (2013) πραγματοποίησαν ερευνητική μελέτη σε 73 επιμύες για να εκτιμήσουν την επίδραση της ιβουπροφαίνης στην νευρική αναγέννηση μετά από κάκωση του νωτιαίου μυελού. Σε 34 αρουραίους χορηγήθηκε ιβουπροφαίνη, ενώ στους 39 μάρτυρες όχι. Δεν παρατηρήθηκαν κλινικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων μετά από διάστημα τριών μηνών, ούτε και ιστοπαθολογικά ευρήματα που να υποστηρίζουν ενίσχυση της νευρικής αναγέννησης από την ιβουπροφαίνη. Οι ερευνητές συμπέραναν ότι η αντιφλεγμονώδης αγωγή δεν έχει επίδραση στην ταχύτητα της διεργασίας νευρικής αναγέννησης (161)

6.4 Περιορισμοί της μελέτης:

Στην παρούσα μελέτη διαπιστώνονται ορισμένοι περιορισμοί. Πιο συγκεκριμένα, στην παρούσα μελέτη οι ερευνητές πραγματοποίησαν μια διαδικασία φυγοκέντρωσης και παρήγαγαν PRP πλούσια σε λευκοκύτταρα και όχι καθαρό PRP (p-PRP) για να το χορηγήσουν τοπικά στο σημείο της κάκωσης του ισχιακού νεύρου. Ακόμη, τα b-MSCs που αναρροφήθηκαν από τους επίμυες, χορηγήθηκαν αμέσως στη θέση πρωτογενούς επιδιόρθωσης των νεύρων αντί να ληφθούν, απομονωθούν και καλλιεργηθούν σε υψηλή συγκέντρωση καθαρών MSCs. Ωστόσο, οι ερευνητές βασίστηκαν στο γεγονός ότι, όπως ισχύει και στην κλινική πρακτική, κατά τη διάγνωση ενός νευρικού τραύματος, η αποκατάσταση νεύρων είναι επείγουσα κατάσταση και δεν υπάρχει χρόνος για προετοιμασία p-PRP ή καλλιέργεια MSCs.

6.5 Πλεονεκτήματα της μελέτης:

Στην παρούσα μελέτη ανευρίσκονται ορισμένα πλεονεκτήματα, τα οποία είναι: (1) η χρήση του αντίπλευρου σκέλους για την προσαρμογή των τιμών EMG μεταξύ τραυματισμένου και μη τραυματισμένου ποδιού για κάθε ζώο και (2) και η χρήση ενός στατιστικά σημαντικού αριθμού ζώων μετά από ανάλυση ισχύος του πρωτοκόλλου.

7. Συμπεράσματα

7.1 Συμπεράσματα:

Οι τραυματισμοί των περιφερικών νεύρων είναι αρκετά συχνοί στον γενικό πληθυσμό και συνιστούν ένα παγκόσμιο πρόβλημα υγείας, το οποίο σχετίζεται άμεσα με μακροχρόνιες αναπηρίες, υψηλό κόστος υγειονομικών παροχών αλλά και αξιοσημείωτο κοινωνικό κόστος (148).

Αν και η μικρο-χειρουργική επιδιόρθωση παραμένει «ο χρυσός κανόνας» στην προσπάθεια ενίσχυσης του εγγενούς δυναμικού αναγέννησης των τραυματισμένων νευραξόνων (149) δεν δύναται να αναδημιουργήσει το κατάλληλο κυτταρικό και μοριακό μικρο-περιβάλλον για την επίτευξη ικανοποιητικής νευρικής αναγέννησης (13). Για αυτό τον λόγο, τα τελευταία χρόνια επιστρατεύεται η ανοσοενισχυτική βιολογική θεραπεία.

Εξάλλου, παθοφυσιολογικές μελέτες έχουν προσδιορίσει ότι τα προϊόντα PRP διαθέτουν σημαντικό θεραπευτικό δυναμικό, τόσο ως νευροπροστατευτικά, όσο και ως νευρογενή συστήματα διαμόρφωσης (114, 123-129, 134, 151). Αντίστοιχα, τα MSCs, είτε προέρχονται από το μυελό των οστών, είτε από τον λιπώδη ιστό, φαίνεται να ενισχύουν την αναγέννηση των νευραξόνων (59, 152). Μάλιστα, τα MSCs παρουσιάζουν ευεργετική δράση, όχι μόνο όταν εγχύονται απευθείας στο τραυματισμένο νεύρο ή στον αγωγό που γεφυρώνει το νευρικό χάσμα, αλλά και όταν χορηγούνται ενδοφλεβίως (62, 85-88).

Ως εκ τούτου, η επίδραση των βιολογικών παραγόντων στην νευρική αναγέννηση συνιστά εδώ και χρόνια ένα πεδίο αμείωτου ερευνητικού και κλινικού ενδιαφέροντος. Έτσι, η παρούσα μελέτη διερεύνησε την επίδραση της έγχυσης PRP και MSCs τοπικά στο τραύμα, κατά την φάση της πρωτογενούς επιδιόρθωσης μετά από διατομή του ισχιακού νεύρου. Η μελέτη αυτή, φέρει το πλεονέκτημα της σύγκρισης της αποτελεσματικότητας της έγχυσης PRP συγκριτικά με την έγχυση MSCs, της διερεύνησης των ιστοπαθολογικών χαρακτηριστικών των νευρικών κολοβωμάτων, καθώς και το πλεονέκτημα της σύγκρισης των ευρημάτων της EMG μεταξύ και των δύο άκρων.

Η μελέτη έδειξε ότι η ομάδα PRP είχε σημαντική επίδραση ($p < 0,05$) στην επισκευή του ισχιακού νεύρου σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου, ενώ η ομάδα MSC είχε θετικό αποτέλεσμα αλλά δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($p = 0,2$). Ο αριθμός των μετρημένων νευραξόνων στην περιοχή που βρίσκεται μακριά από τη θέση επιδιόρθωσης των νεύρων ήταν σημαντικά επαναλαμβανόμενος ($p < 0,05$) και στις δύο ομάδες PRP και MSC σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου.

Συμπερασματικά, τόσο η έγχυση PRP όσο και MSC φαίνεται να διαδραματίζουν ουσιαστικό ρόλο στην ενίσχυση της επιδιόρθωσης των νεύρων όσον αφορά τη λειτουργικότητα, αλλά και την ιστολογική εικόνα. Η ομάδα MSCs έδειξε θετικό αποτέλεσμα, ενώ η ομάδα PRP παρουσίασε όχι μόνο κλινικά σημαντικό αποτέλεσμα, αλλά και στατιστικά σημαντικά καλύτερα αποτελέσματα.

7.2 Προτάσεις:

Είναι γεγονός ότι η επίδραση των βιολογικών παραγόντων στην νευρική αναγέννηση συνιστά εδώ και χρόνια ένα πεδίο αμείωτου ερευνητικού και κλινικού ενδιαφέροντος. Βιολογικά προϊόντα όπως είναι το PRP και τα MSCs φαίνεται να έχουν σημαντική επίδραση στην νευρική αναγέννηση. Ωστόσο, οι μελέτες που τα αξιοποιούν περιορίζονται κατά κανόνα σε ζωικά μοντέλα.

Ως εκ τούτου, προτείνεται οι επαγγελματίες υγείας να δώσουν μεγαλύτερη προσοχή στην έρευνα, και να ενθαρρυνθεί η συμμετοχή τους σε κλινικά πρωτόκολλα διερεύνησης της αποτελεσματικότητας των προαναφερθέντων βιολογικών προϊόντων και σε ανθρώπους-τραυματίες και στην χώρα μας.

Ακόμη, κρίνεται ιδιαίτερα σημαντικό να δοθεί έμφαση στην έρευνα για την κατανόηση του μηχανισμού δράσης του PRP και των MSCs στην νευρική αναγέννηση και την διεργασία της νευροπροστασίας.

Τέλος, δεδομένου ότι πέρα από κακώσεις περιφερικών νεύρων, συχνά στην κλινική πράξη ερχόμαστε αντιμέτωποι με κακώσεις του ΚΝΣ, αλλά και νευροεκφυλιστικές παθήσεις, είναι αδήριτη η ανάγκη να ενισχυθεί η έρευνα της επίδρασης του PRP και των MSCs σε όλα αυτά τα διαφορετικά κλινικά ενδεχόμενα, προκειμένου να βελτιστοποιηθεί η παροχή φροντίδας υγείας των ασθενών αυτών και να μεγιστοποιηθεί η λειτουργικότητα τους, η αυτονομία και η ποιότητα της ζωής τους.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Saladin KS. Human Anatomy. New York: McGraw-Hill; 2011.
2. Zilic L, Garner PE, Yu T, Roman S, Haycock JW, Wilshaw SP. An anatomical study of porcine peripheral nerve and its potential use in nerve tissue engineering. *J Anat.* 2015;227(3):302-314.
3. Schmidt CE, Leach JB. Neural tissue engineering: strategies for repair and regeneration. *Annu Rev Biomed Eng.* 2003;5:293–347.
4. Dahlin LB. Techniques of peripheral nerve repair. *Scand J Surg.* 2008;97:310–316.
5. Stewart JD. Peripheral nerve fascicles: anatomy and clinical relevance. *Muscle Nerve.* 2003;28:525–541.
6. Osawa T, Ishida K, Onodera M, Feng XY, Hayashi S, Nozaka Y. Real electron microscopic images of collagen fibrils in the endoneurium. *J Electron Microsc (Tokyo).* 2002;51(5):341-5.
7. de Preux Charles AS, Verdier V, Zenker J, Peter B, Médard JJ, Kuntzer T, Beckmann JS, Bergmann S, Chrast R. Global transcriptional programs in peripheral nerve endoneurium and DRG are resistant to the onset of type 1 diabetic neuropathy in Ins2 mice. *PLoS One.* 2010 May 26;5(5):e10832.
8. Ma YH, Zeng X, Qiu XC, Wei QS, Che MT, Ding Y, Liu Z, Wu GH, Sun JH, Pang M, Rong LM, Liu B, Aljuboori Z, Han I, Ling EA, Zeng YS. Perineurium-like sheath derived from long-term surviving mesenchymal stem cells confers nerve protection to the injured spinal cord. *Biomaterials.* 2018 Apr;160:37-55.
9. Jessen KR, Mirsky R. The origin and development of glial cells in peripheral nerves. *Nat Rev Neurosci.* 2005 Sep;6(9):671-82.
10. Takebe K, Nio-Kobayashi J, Takahashi-Iwanaga H, Iwanaga T. Histochemical demonstration of a monocarboxylate transporter in the mouse perineurium with special reference to GLUT1. *Biomed Res.* 2008 Dec;29(6):297-306.
11. Reina MA, Boezaart AP, Tubbs RS, Zasimovich Y, Fernández-Domínguez M, Fernández P, Sala-Blanch X. Another (Internal) Epineurium: Beyond the Anatomical Barriers of Nerves. *Clin Anat.* 2020 Mar;33(2):199-206. doi: 10.1002/ca.23442.
12. McCrory P, Bell S, Bradshaw C. Nerve entrapments of the lower leg, ankle and foot in sport. *Sports Med.* 2002;32:371–391.

13. Menorca RM, Fussell TS, Elfar JC. Nerve physiology: mechanisms of injury and recovery. *Hand Clin.* 2013;29(3):317-330.
14. Jobe MT, Martinez SF. Canale & Beaty: Campbell's Operative Orthopaedics. 12th ed. Elsevier; Philadelphia: 2013. Peripheral Nerve Injuries. pp. 3063–3065. Ch 62D.
15. Gupta R, Nassiri N, Hazel A, Bathen M, Mozaffar T. Chronic nerve compression alters Schwann cell myelin architecture in a murine model. *Muscle Nerve.* 2012;45(2):231–41.
16. Sunderland S. A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. *Brain.* 1951;74:491–516.
17. Mackinnon SE, Dellon AL. Surgery of the peripheral nerve. Thieme; New York: 1988.
18. Thomas PK, Holdorff B. Neuropathy due to physical agents. In: Dyck PJ, Thomas PK, editors. Griffin JW editors. Peripheral neuropathy. 3rd ed. W.B. Saunders; Philadelphia: 1993. p. p990.
19. Netscher D, Murphy K, Fiore NA. Hand Surgery: Ch. 70 Nerve compression syndrome. In: Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL, editors. Townsend: Sabiston Textbook of Surgery. 19th ed. Elsevier; 2012. pp. 1982–1984.
20. Wedderburn S, Pateria P, Panegyres PK. Hereditary Neuropathy with Liability to Pressure Palsy Presenting as an Acute Brachial Plexopathy: A Lover's Palsy. *Case Rep Neurol.* 2014 Dec 12;6(3):281-6.
21. Gupta R, Rummeler LS, Palispis W, et al. Local down-regulation of myelin-associated glycoprotein permits axonal sprouting with chronic nerve compression injury. *Exp Neurol.* 2006;200:418–429.
22. Terada N, Saitoh Y, Kamijo A, Yamauchi J, Ohno N, Sakamoto T. Structures and Molecular Composition of Schmidt-Lanterman Incisures. *Adv Exp Med Biol.* 2019;1190:181-198.
23. Tapadia M, Mozaffar T, Gupta R. Compressive neuropathies of the upper extremity: update on pathophysiology, classification, and electrodiagnostic findings. *JHS.* 2010;35A:668–677.
24. Tsao B, Boulis N, Bethoux F, Murray B. Daroff: Bradley's Neurology in Clinical Practice. 6th ed. 2012. Trauma of the Nervous System, Peripheral Nerve Trauma. pp. 984–1001.

25. Zochodne DW, Levy D. Nitric Oxide in damage, disease and repair of the peripheral nervous system. *Cell Mol Biol (Nosi-le-grand)* 2005;51:255–67.
26. Gonzalez Malagon SG, Dobson L, Muñoz AML, Dawson M, Barrell W, Marangos P, Krause M, Liu KJ. Dissection, Culture and Analysis of Primary Cranial Neural Crest Cells from Mouse for the Study of Neural Crest Cell Delamination and Migration. *J Vis Exp.* 2019 Oct 3;(152):10.3791/60051.
27. Shah A, Goel A, Jhavar SS, Patil A, Rangnekar R, Goel A. Neural Circuitry: Architecture and Function-A Fiber Dissection Study. *World Neurosurg.* 2019 May;125:e620-e638.
28. Hall S. Mechanisms of repair after traumatic injury. In: Dyck PJ, Thomas PK, editors. *Peripheral neuropathy*. Elsevier, Saunder; Philadelphia: 2005. pp. 1403–33.
29. Elfar JC, Jacobson JA, Puzas JE, et al. Erythropoietin accelerates functional recovery after peripheral nerve injury. *J Bone Joint Surg Am.* 2008;90:1644–1653.
30. Costigan M, Mannion RJ, Kendall G, et al. Heat shock protein 27:developmental regulation and expression after peripheral nerve injury. *J. Neurosci.* 2005;21:2051–62.
31. Michalski B, Bain JR, Fahnstock M. Long-term changes in neurotrophic factor expression in distal nerve stump following denervation and reinnervation with motor or sensory nerve. *J Neurochem.* 2008;105(4):1244–52.
32. Jessen KR, Mirsky R. The repair Schwann cell and its function in regenerating nerves. *J Physiol.* 2016 Jul 1;594(13):3521–31.
33. Parkinson DB, Bhaskaran A, Arthur-Farraj P, et al. c- Jun is a negative regulator of myelination. *J Cell Biol.* 2008;181:625–637.
34. Taskinen HS, Roytta M. The dynamics of macrophage recruitment after nerve transection. *Acta Neuropathol.* 1997;82:412–425.
35. Rothshenker S. Microglia and macrophage activation and the regulation of complement-receptor-3 (CR3/MAC-1)-mediated myelin phagocytosis in injury and disease. *J. Mol. Neurosci.* 2003;21(1):65–72.
36. Weinberg HJ, Spencer PS. The fate of Schwann cells isolated from axonal contact. *J Neurocytol.* 1978;7(5):555–569.
37. Burnett MG, Zager EL. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. *Neurosurg Focus.* 2004;16:1–7.

38. Wang W, Degrugillier L, Tremp M, Prautsch K, Sottaz L, Schaefer DJ, Madduri S, Kalbermatten D. Nerve Repair With Fibrin Nerve Conduit and Modified Suture Placement. *Anat Rec (Hoboken)*. 2018 Oct;301(10):1690-1696.
39. Babovic N, Klaus D, Schessler MJ, Schimoler PJ, Kharlamov A, Miller MC, Tang P. Assessment of Conduit-Assisted Primary Nerve Repair Strength With Varying Suture Size, Number, and Location. *Hand (N Y)*. 2019 Nov;14(6):735-740.
40. Barton MJ, Morley JW, Stoodley MA, Lauto A, Mahns DA. 2014. Nerve repair: toward a sutureless approach. *Neurosurg Rev* 37(4): 585– 595.
41. Al-Majed AA, Neumann CM, Brushart TM, Gordon T. 2000. Brief electrical stimulation promotes the speed and accuracy of motor axonal regeneration. *J Neurosci* 20(7): 2602– 2608.
42. Snyder CC, Webster HD, Pickens JE, Hines WA, Warden G. Intraneural neurorrhaphy: a preliminary clinical and histological evaluation. *Ann Surg*, 1968. 167(5): p. 691-6.
43. Lubiatowski P, Unsal FM, Nair D, Ozer K, Siemionow M. The epineural sleeve technique for nerve graft reconstruction enhances nerve recovery. *Microsurgery*, 2008. 28(3): p. 160-7.
44. Karacalar, A. H. Cepni, Re: Epineural sleeve neurorrhaphy. *Ann Plast Surg*, 2003. 50(1): p. 101; author reply 102.
45. Goldberg SH, Jobin CM, Hayes AG, et al. Biomechanics and histology of intact and repaired digital nerves: an in vitro study. *J Hand Surg Am*. 2007;32(4):474-482.
46. Watts AC. Primary Ligament Repair for Acute Elbow Dislocation. *JBJS Essent Surg Tech*. 2019 Feb 27;9(1):e8. doi: 10.2106/JBJS.ST.16.00097.
47. Miyamoto Y. Experimental study of results of nerve suture under tension vs. nerve grafting. *Plast Reconstr Surg*, 1979. 64(4): p. 540-9.
48. Moneim, MS. Interfascicular nerve grafting. *Clin Orthop Relat Res*, 1982(163): p. 65-74.
49. Mackinnon SE, Doolabh VB, Novak CB, Trulock EP. Clinical outcome following nerve allografttransplantation. *Plast Reconstr Surg*, 2001. 107(6): p. 1419-29.
50. Gu YD, Wu MM, Zheng YL, Li HR, Xu YN. Arterialized venous free sural nerve grafting. *Ann Plast Surg*, 1985. 15(4): p. 332-9.

51. Terzis, J.K. Kostopoulos V.K., Vascularized ulnar nerve graft: 151 reconstructions for posttraumatic brachial plexus palsy. *Plast Reconstr Surg*, 2009. 123(4): p. 1276-91.
52. Strauch B, Ferder M, Lovelle-Allen S, Moore K, Kim DJ, J. Llena, Determining the maximal length of a
53. vein conduit used as an interposition graft for nerve regeneration. *J Reconstr Microsurg*, 1996. 12(8): p.521-7.
54. Strauch B, Rodriguez DM, Diaz J, Yu HL, Kaplan G, Weinstein D.E, Autologous Schwann cells drive regeneration through a 6-cm autogenous venous nerve conduit. *J Reconstr Microsurg*, 2001. 17(8): p. 589-95;
55. Chiu, D.T., Strauch B, A prospective clinical evaluation of autogenous vein grafts used as a nerve conduit for distal sensory nerve defects of 3 cm or less. *Plast Reconstr Surg*, 1990. 86(5): p. 928-34.
56. Karacaoglu E, Yuksel F, Peker F, and M.M. Guler, Nerve regeneration through an epineurial sheath: its functional aspect compared with nerve and vein grafts. *Microsurgery*, 2001. 21(5): p. 196-201.
57. Johnson, E.O. and P.N. Soucacos, Nerve repair: experimental and clinical evaluation of biodegradable artificial nerve guides. *Injury*, 2008. 39 Suppl 3: p. S30-6.
58. Dahlin, L.B., L. Anagnostaki, and G. Lundborg, Tissue response to silicone tubes used to repair human median and ulnar nerves. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*, 2001. 35(1): p. 29-34.
59. Medical Research Council. Aids to the examination of the peripheral nervous system, Memorandum no.45, Her Majesty's Stationery Office, London, 1981.
60. Zhang K, Daigle JG, Cunningham KM, Coyne AN, Ruan K, Grima JC, Bowen KE, Wadhwa H, Yang P, Rigo F, Taylor JP, Gitler AD, Rothstein JD, Lloyd TE. Stress Granule Assembly Disrupts Nucleocytoplasmic Transport. *Cell*. 2018 May 3;173(4):958-971.e17.
61. Fu X, Liu G, Halim A, Ju Y, Luo Q, Song AG. Mesenchymal Stem Cell Migration and Tissue Repair. *Cells*. 2019;8(8):784. Published 2019 Jul 28. doi:10.3390/cells8080784.
62. Salgado AJ, Sousa JC, Costa BM, et al. Mesenchymal stem cells secretome as a modulator of the neurogenic niche: basic insights and therapeutic

- opportunities. *Front Cell Neurosci.* 2015;9:249. Published 2015 Jul 13. doi:10.3389/fncel.2015.00249.
63. Liang X., Huang X., Zhou Y., Jin R., Li Q. Mechanical stretching promotes skin tissue regeneration via enhancing mesenchymal stem cell homing and transdifferentiation. *Stem Cells Transl. Med.* 2016;5:960–969.
 64. Cheng Z.K., Ou L.L., Zhou X., Li F., Jia X.H., Melo L.G. Directed migration of mesenchymal stem cells modified with CXCR4 gene to infarcted myocardium improves cardiac performance. *Mol. Ther. J. Am. Soc. Gene Ther.* 2008;16:571–579.
 65. Friedenstein A. J., Deriglasova U. F., Kulagina N. N., Panasuk A. F., Rudakowa S. F., Luriá E. A., et al.(1974b). Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the in vitro colony assay method. *Exp. Hematol.* 1974;2: 83–92.
 66. Glavaski-Joksimovic A., Bohn M. C. Mesenchymal stem cells and neuroregeneration in Parkinson’s disease. *Exp. Neurol.* 2013; 247, 25–38.
 67. Caplan A. I. Mesenchymal stem cells. *J. Orthop. Res.* 1991;9, 641–650.
 68. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F., Krause D., et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The international society for cellular therapy position statement. *Cytotherapy* 2006;8, 315–317.
 69. Teixeira F. G., Carvalho M. M., Neves-Carvalho A., Panchalingam K. M., Behie L. A., Pinto L., et al. Secretome of Mesenchymal progenitors from the Umbilical cord acts as modulator of neural/glial proliferation and differentiation. *Stem Cell Rev.* 2015;11, 288–897.
 70. Gneccchi M., He H., Liang O. D., Melo L. G., Morello F., Mu H., et al. . (2005). Paracrine action accounts for marked protection of ischemic heart by Akt-modified mesenchymal stem cells. *Nat. Med.* 11, 367–368.
 71. Nakano N., Nakai Y., Seo T. B., Yamada Y., Ohno T., Yamanaka A., et al. . (2010). Characterization of conditioned medium of cultured bone marrow stromal cells. *Neurosci. Lett.* 483, 57–61.
 72. Ribeiro C. A., Fraga J. S., Grãos M., Neves N. M., Reis R. L., Gimble J. M., et al. (2012). The secretome of stem cells isolated from the adipose tissue and Wharton jelly acts differently on central nervous system derived cell populations. *Stem Cell Res. Ther.* 3:18.

73. Fraga J. S., Silva N. A., Lourenço A. S., Gonçalves V., Neves N. M., Reis R. L. (2013). Unveiling the effects of the secretome of mesenchymal progenitors from the umbilical cord in different neuronal cell populations. *Biochimie* 95, 2297–2303.
74. Munoz J. R., Stoutenger B. R., Robinson A. P., Spees J. L., Prockop D. J. (2006). Human stem/progenitor cells from bone marrow promote neurogenesis of endogenous neural stem cells in the hippocampus of mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 102, 18171–18176.
75. Ming G. L., Song H. (2005). Adult neurogenesis in the mammalian central nervous system. *Annu. Rev. Neurosci.* 28, 223–250.
76. Taran R, Mamidi MK, Singh G, Dutta S, Parhar IS, John JP, Bhonde R, Pal R, Das AK. In vitro and in vivo neurogenic potential of mesenchymal stem cells isolated from different sources. *J Biosci.* 2014 Mar;39(1):157-69.
77. Mantovani C, Mahay D, Kingham M, Terenghi G, Shawcross SG, Wiberg M. 2010 Bone marrow- and adipose-derived stem cells show expression of myelin mRNAs and proteins. *Regen. Med.* 5 403–410.
78. Arthur A, Rychkov G, Shi S, Koblar SA and Gronthos S. Adult human dental pulp stem cells differentiate toward functionally active neurons under appropriate environmental cues. *Stem Cells.* 2008; 26 1787–1795.
79. Nanette J, GERALYN A, LOUISA W, SCOTT O, GERHARD B and JAN AN. Mesenchymal stem cells for the treatment of neurodegenerative diseases. *Regen Med.* 2010;5: 933–946.
80. Habisch HJ, Schmid B, Arnim CA, Ludolph AC, Brenner R and Storch A. Efficient processing of Alzheimer's Disease amyloid-beta peptides by neuroectodermally converted mesenchymal stem cells. *Stem Cells.* 2010 Dev. 19 629–633.
81. Lee JK, Jin HK, Endo S, Schuchman EH, Carter JE and Bae JS. Intracerebral transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells reduces amyloid-beta deposition and rescues memory deficits in Alzheimer's Disease mice by modulation of immune responses. *Stem Cells* 2010;28: 329–34.
82. Huang AH, Snyder BR, Cheng PH and Chan AW. Putative dental pulp-derived stem/stromal cells promote proliferation and differentiation of endogenous neural cells in the hippocampus of mice. *Stem Cells.* 2008; 26 2654–2663.

83. Das AK, Gopurappilly R and Parhar I. Current status and prospective application of stemcell-based therapies for spinalcord injury. *Curr. Stem Cell Res. Ther.* 2011; 6: 93–104.
84. Gopurappilly R, Pal R, Mamidi MK, Dey S, Bhonde R and Das AK. Stem cells in stroke repair: current success & future prospects. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets.* 2011;10: 741–756.
85. Seo N, Lee SH, Ju KW, Woo J, Kim B, Kim S, Jahng JW, Lee JH. Low-frequency pulsed electromagnetic field pretreated bone marrow-derived mesenchymal stem cells promote the regeneration of crush-injured rat mental nerve. *Neural Regen Res.* 2018 Jan;13(1):145-153.
86. Zhao J, Ding Y, He R, et al. Dose-effect relationship and molecular mechanism by which BMSC-derived exosomes promote peripheral nerve regeneration after crush injury. *Stem Cell Res Ther.* 2020;11(1):360.
87. Sung MA, Jung HJ, Lee JW, Lee JY, Pang KM, Yoo SB, Alrashdan MS, Kim SM, Jahng JW, Lee JH. Human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells promote regeneration of crush-injured rat sciatic nerves. *Neural Regen Res.* 2012;7:2018–2027.
88. Cooney DS, Wimmers EG, Ibrahim Z, Grahammer J, Christensen JM, Brat GA, Wu LW, Sarhane KA, Lopez J, Wallner C, Furtmuller GJ, Yuan N, Pang J, Sarkar K, Lee WP, Brandacher G. Mesenchymal stem cells enhance nerve regeneration in a rat sciatic nerve repair and hindlimb transplant model. *Sci Rep.* 2016;6:31306.
89. Robey P. "Mesenchymal stem cells": fact or fiction, and implications in their therapeutic use. *F1000Res.* 2017;6:F1000 Faculty Rev-524.
90. Wei ZJ, Fan BY, Liu Y, et al. MicroRNA changes of bone marrow-derived mesenchymal stem cells differentiated into neuronal-like cells by Schwann cell-conditioned medium. *Neural Regen Res.* 2019;14(8):1462-1469. doi:10.4103/1673-5374.253532.
91. Yang A, Yu C, Lu Q, Li H, Li Z, He C. Mechanism of Action of Icariin in Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells Int.* 2019;2019:5747298.
92. Sonia Bonilla Amila, Silva Amila, SilvaL Valdés et al. Functional neural stem cells derived from adult bone marrow. *Neuroscience.* 2005;133(1): 85-95.

93. Shun-Fen Tzeng, May J Tsai, Shih-Chieh Hung, Henrich Cheng. Neuronal morphological change of size-sieved stem cells induced by neurotrophic stimuli. *Neuroscience Letters*. 2004;367(1): 23-8.
94. Mahdi Ramezani, Alireza Komaki, Nasrin Hashemi-Firouzi, Keywan Mortezaee, Nafiseh Faraji, Zoleikha Golipoor. Therapeutic effects of melatonin-treated bone marrow mesenchymal stem cells (BMSC) in a rat model of Alzheimer's disease. *Journal of Chemical Neuroanatomy*. 2020; (108).
95. Birgit Neuhuber, Gianluca Gallo, Linda Howard, Fischer Itzhak. Reevaluation of In Vitro differentiation protocols for bone marrow stromal cells: disruption of actin cytoskeleton induces rapid morphological changes and mimics neuronal phenotype. *Journal of Neuroscience Research*. 2004; 77(2):192-204.
96. De-Xiang Ban, Guang-Zhi Ning, Shi-Qing Feng, Ying Wang, Xian-Hu Zhou, Yang Liu & Jia-Tong Chen. Combination of activated Schwann cells with bone mesenchymal stem cells: the best cell strategy for repair after spinal cord injury in rats. *Regenerative Medicine*. 2011;6 (6).
97. Feng Jiao, Wang Tang, He Huang, Zhaoifei Zhang, Donghua Liu, Hongyi Zhang, and Hui Ren. Icariin Promotes the Migration of BMSCs In Vitro and In Vivo via the MAPK Signaling Pathway. *Hindawi Stem Cells International*. 2018.
98. Wenfei Han, Luis A. Tellez, Matthew H. Perkins, Isaac O. Perez, Taoran Qu, Jozelia Ferreira, Tatiana L. Ferreira, Daniele Quinn, Zhong-Wu Liu, Xiao-Bing Gao, Melanie M. Kaelberer, Diego V. Bohorquez, Sara J. Shammah-Lagnado, Guillaume de Lartigue, and Ivan E. de Araujo. A Neural Circuit for Gut-Induced Reward. *Cell* 175. 2018: 665–678.
99. Bastami F, Vares P, Khojasteh A. Healing Effects of Platelet-Rich Plasma on Peripheral Nerve Injuries. *J Craniofac Surg*. 2017 Jan;28(1):e49-e57.
100. Khojasteh A, Behnia H, Naghdi N, et al. Effects of different growth factors and carriers on bone regeneration: a systematic review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2013; 116:e405–e423.
101. Behnia H, Khojasteh A, Soleimani M, et al. Repair of alveolar cleft defect with mesenchymal stem cells and platelet derived growth factors: a preliminary report. *J Craniomaxillofac Surg* 2012; 40:2–7.
102. Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg* 2004; 62:489–496.

103. Angius D, Wang H, Spinner RJ, et al. A systematic review of animal models used to study nerve regeneration in tissue-engineered scaffolds. *Biomaterials* 2012; 33:8034–8039.
104. Geuna S. The sciatic nerve injury model in pre-clinical research. *J Neurosci Methods* 2015; 243:39–46.
105. Kotsovilis S., Markou N., Pepelassi E., and Nikolidakis D. The adjunctive use of platelet-rich plasma in the therapy of periodontal intraosseous defects: a systematic review. *J Periodontal Res* 45,428, 2010.
106. Zheng C, Zhu Q, Liu X, et al. Improved peripheral nerve regeneration using acellular nerve allografts loaded with platelet-rich plasma. *Tissue Eng Part A*. 2014;20(23-24):3228-3240.
107. Andia I., Sanchez M., and Maffulli N. Joint pathology and platelet-rich plasma therapies. *Expert Opin Biol Ther*. 2012.
108. Nguyen R.T., Borg-Stein J., and McInnis K. Applications of platelet-rich plasma in musculoskeletal and sports medicine: an evidence-based approach. *PM R* 3 226, 2011.
109. Cho H.H., Jang S., Lee S.C., Jeong H.S., Park J.S., Han J.Y., Lee K.H., and Cho Y.B. Effect of neural-induced mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma on facial nerve regeneration in an acute nerve injury model. *Laryngoscope* 120,907, 2010.
110. Zheng C., Zhu Q., Liu X., Huang X., He C., Jiang L., Quan D., Zhou X., and Zhu Z. Effect of platelet-rich plasma (PRP) concentration on proliferation, neurotrophic function and migration of Schwann cells in vitro. *J Tissue Eng Regen Med* 2013.
111. Wu YN, Wu CC, Sheu MT, et al. Optimization of platelet-rich plasma and its effects on the recovery of erectile function after bilateral cavernous nerve injury in a rat model. *J Tissue Eng Regen Med* 2016; 10:E294–E304.
112. Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 1997; 55 (11): 1294–1299.
113. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM et al. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 85 (6): 638–646.

114. Huang Y, Bornstein MM, Lambrichts I, Yu HY, Politis C, Jacobs R. Platelet-rich plasma for regeneration of neural feedback pathways around dental implants: a concise review and outlook on future possibilities. *Int J Oral Sci.* 2017;9(1):1-9. doi:10.1038/ijos.2017.1
115. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999; 14 (4): 529–535.
116. Heibrich G, Kleis WK, Hafner G et al. Comparison of platelet, leukocyte, and growth factor levels in point-of-care platelet-enriched plasma, prepared using a modified Curasan kit, with preparations received from a local blood bank. *Clin Oral Implants Res* 2003; 14 (3): 357–362.
117. Corigliano M, Sacco L, Baldoni E. [CGF-una proposta terapeutica per la medicina rigenerativa.] *Odontoiatria* 2010; 1: 69–81.
118. Ehrenfest DD, Sammartino G, Shibli JA et al. Guidelines for the publication of articles related to platelet concentrates (platelet-rich plasma-PRP, or platelet-rich fibrin-PRF): the international classification of the POSEIDO. *Poseido* 2013; 1 (1): 17–27.
119. Dohan Ehrenfest DM. Classification of platelet concentrates (platelet-rich plasma-PRP, platelet-rich fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. *Muscles Ligaments Tendons J* 2014; 4 (1): 3–9.
120. Kuffler DP. Platelet-rich plasma promotes axon regeneration, wound healing, and pain reduction: fact or fiction. *Mol Neurobiol* 2015; 52 (2): 990–1014.
121. Fabbro MD, Bortolin M, Taschieri S et al. Antimicrobial properties of platelet-rich preparations. A systematic review of the current pre-clinical evidence. *Platelets* 2016; 27 (4): 276–285.
122. Dagum AB. Peripheral nerve regeneration, repair, and grafting. *J Hand Ther* 1998; 11 (2): 111–117.
123. Qin J, Wang L, Sun Y et al. Concentrated growth factor increases Schwann cell proliferation and neurotrophic factor secretion and promotes functional nerve recovery in vivo. *Int J Mol Med* 2016; 37 (2): 493–500.

124. Gentile P, Bottini DJ, Spallone D et al. Application of platelet-rich plasma in maxillofacial surgery: clinical evaluation. *J Craniofac Surg* 2010; 21 (3): 900–904.
125. Albanese A, Licata ME, Polizzi B et al. Platelet-rich plasma (PRP) in dental and oral surgery: from the wound healing to bone regeneration. *Immun Ageing* 2013; 10: 23.
126. Georgakopoulos I, Tsantis S, Georgakopoulos P et al. The impact of platelet rich plasma (PRP) in osseointegration of oral implants in dental panoramic radiography: texture based evaluation. *Clin Cases Miner Bone Metab* 2014; 11 (1): 59–66
127. Unsicker K, Strelau J. Functions of transforming growth factor-beta isoforms in the nervous system. Cues based on localization and experimental in vitro and in vivo evidence. *Eur J Biochem* 2000; 267 (24): 6972–6975.
128. Gordon T, Sulaiman O, Boyd JG. Experimental strategies to promote functional recovery after peripheral nerve injuries. *J Peripher Nerv Syst* 2003; 8 (4): 236–250
129. Sulaiman W, Dreesen TD. Effect of local application of transforming growth factor- β at the nerve repair site following chronic axotomy and denervation on the expression of regeneration-associated genes. Laboratory investigation. *J Neurosurg* 2014; 121 (4): 859–874.
130. Graham S, Leonidou A, Lester M et al. Investigating the role of PDGF as a potential drug therapy in bone formation and fracture healing. *Expert Opin Investig Drugs* 2009; 18 (11): 1633–1654.
131. Yamazaki T, Sabit H, Oya T et al. Activation of MAP kinases, Akt and PDGF receptors in injured peripheral nerves. *J Peripher Nerv Syst* 2009; 14 (3): 165–176.
132. Burnouf T, Goubran HA, Chen TM et al. Blood-derived biomaterials and platelet growth factors in regenerative medicine. *Blood Rev* 2013; 27 (2): 77–89.
133. Hellman U, Malm L, Ma LP et al. Growth factor PDGF-BB stimulates cultured cardiomyocytes to synthesize the extracellular matrix component hyaluronan. *PLoS One* 2010; 5 (12): e14393.
134. Mackenzie F, Ruhrberg C. Diverse roles for VEGF-A in the nervous system. *Development* 2012; 139 (8): 1371–1380.

135. Hermann DM, Zechariah A. Implications of vascular endothelial growth factor for postischemic neurovascular remodeling. *J Cereb Blood Flow Metab* 2009; 29 (10): 1620–1643.
136. Liang G, Cline GW, Macica CM. IGF-1 stimulates de novo fatty acid biosynthesis by Schwann cells during myelination. *Glia* 2007; 55 (6): 632–641.
137. Nagata K, Itaka K, Baba M et al. Muscle-targeted hydrodynamic gene introduction of insulin-like growth factor-1 using polyplex nanomicelle to treat peripheral nerve injury. *J Control Release* 2014; 183: 27–34.
138. Grothe C, Nikkhah G. The role of basic fibroblast growth factor in peripheral nerve regeneration. *Anat Embryol* 2001; 204 (3): 171–177.
139. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev* 2003; 83 (3): 835–870.
140. Wang James HC. Can PRP effectively treat injured tendons? *Muscles Ligaments Tendons J* 2014; 4 (1): 35–37.
141. Anitua E, Sánchez M, Orive G et al. Delivering growth factors for therapeutics. *Trends Pharmacol Sci* 2008; 29 (1): 37–41.
142. Nishida K, Suzuki T, Kakutani K et al. Gene therapy approach for disc degeneration and associated spinal disorders. *Eur Spine J* 2008; 17 (Suppl 4): 459–466.
143. Sawamura Y, Ikeda J, Miyamachi K et al. Full functional recovery after surgical repair of transected abducens nerve: case report. *Neurosurgery* 1997; 40 (3): 605–607.
144. Kuffler DP, Reyes O, Sosa IJ et al. Neurological recovery across a 12-cm-long ulnar nerve gap repaired 3.25 years post trauma: case report. *Neurosurgery* 2011; 69 (6): E1321–E1326.
145. Lichtenfels M, Colomé L, Sebben AD. Effect of platelet rich plasma and platelet rich fibrin on sciatic nerve regeneration in a rat model. *Microsurgery* 2013; 33:383–390.
146. Giannessi E, Coli A, Stornelli MR, et al. An autologously generated platelet-rich plasma suturable membrane may enhance peripheral nerve regeneration after neurorrhaphy in an acute injury model of sciatic nerve neurotmesis. *J Reconstr Microsurg* 2014; 30:617–626.

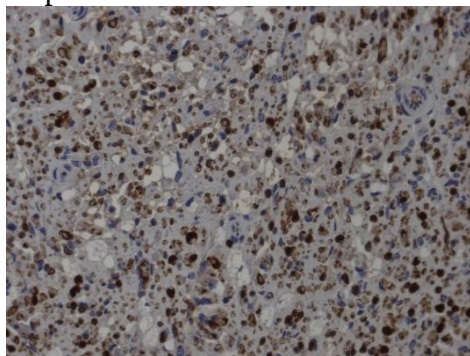
147. Kucuk L, Gunay H, Erbas O, et al. Effects of platelet-rich plasma on nerve regeneration in a rat model. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2014; 48:449–454.
148. Chuang MH, Ho LH, Kuo TF, Sheu SY, Liu YH, Lin PC, Tsai YC, Yang CH, Chu CM, Lin SZ. Regenerative Potential of Platelet-Rich Fibrin Releasate Combined with Adipose Tissue-Derived Stem Cells in a Rat Sciatic Nerve Injury Model. *Cell Transplant*. 2020 Jan-Dec;29:963689720919438.
149. Fowler JR, Lavasani M, Huard J, Goitz RJ. Biologic strategies to improve nerve regeneration after peripheral nerve repair. *J Reconstr Microsurg*. 2015 May;31(4):243-8.
150. Faroni A, Mobasser SA, Kingham PJ, Reid AJ. Peripheral nerve regeneration: experimental strategies and future perspectives. *Adv Drug Deliv Rev*. 2015 Mar;82-83:160-7.
151. Anitua E, Pascual C, Pérez-Gonzalez R, Antequera D, Padilla S, Orive G, Carro E. Intranasal delivery of plasma and platelet growth factors using PRGF-Endoret system enhances neurogenesis in a mouse model of Alzheimer's disease. *PLoS One*. 2013 Sep 19;8(9):e73118.
152. McGrath AM, Brohlin M, Kingham PJ, Novikov LN, Wiberg M, Novikova LN. Fibrin conduit supplemented with human mesenchymal stem cells and immunosuppressive treatment enhances regeneration after peripheral nerve injury. *Neurosci Lett*. 2012 May 16;516(2):171-6.
153. Kokkalas N, Kokotis P, Diamantopoulou K, et al. Platelet-rich Plasma and Mesenchymal Stem Cells Local Infiltration Promote Functional Recovery and Histological Repair of Experimentally Transected Sciatic Nerves in Rats. *Cureus*. 2020;12(5):e8262. Published 2020 May 24.
154. Urrutia DN, Caviedes P, Mardones R, Minguell JJ, Vega-Letter AM, Jofre CM. Comparative study of the neural differentiation capacity of mesenchymal stromal cells from different tissue sources: An approach for their use in neural regeneration therapies. *PLoS One*. 2019 Mar 11;14(3):e0213032.
155. Chen YT, Tsai MJ, Hsieh N, Lo MJ, Lee MJ, Cheng H, Huang WC. The superiority of conditioned medium derived from rapidly expanded mesenchymal stem cells for neural repair. *Stem Cell Res Ther*. 2019 Dec 16;10(1):390.

156. Seo DK, Kim JH, Min J, Yoon HH, Shin ES, Kim SW, Jeon SR. Enhanced axonal regeneration by transplanted Wnt3a-secreting human mesenchymal stem cells in a rat model of spinal cord injury. *Acta Neurochir (Wien)*. 2017 May;159(5):947-957.
157. Firat C, Aytekin AH, Durak MA, Geyik Y, Erbatur S, Dogan M, Elmas O, Dagli AF, Celik H. Comparison of the effects of PRP and hyaluronic acid in promoting peripheral nerve regeneration An experimental study with vascular conduit model in rats'. *Ann Ital Chir*. 2016;87:362-374.
158. Bastami F, Vares P, Khojasteh A. Healing Effects of Platelet-Rich Plasma on Peripheral Nerve Injuries. *J Craniofac Surg*. 2017 Jan;28(1):e49-e57.
159. Zheng C, Zhu Q, Liu X, Huang X, He C, Jiang L, Quan D. Improved peripheral nerve regeneration using acellular nerve allografts loaded with platelet-rich plasma. *Tissue Eng Part A*. 2014 Dec;20(23-24):3228-40.
160. Madura T, Tomita K, Terenghi G. Ibuprofen improves functional outcome after axotomy and immediate repair in the peripheral nervous system. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2011 Dec;64(12):1641-6.
161. Sharp KG, Yee KM, Stiles TL, Aguilar RM, Steward O. A re-assessment of the effects of treatment with a non-steroidal anti-inflammatory (ibuprofen) on promoting axon regeneration via RhoA inhibition after spinal cord injury. *Exp Neurol*. 2013 Oct;248:321-37.

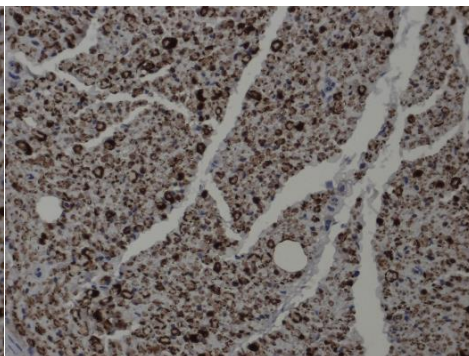
Παράρτημα

Παρακάτω φαίνονται οι εικόνες από τη παθολογοανατομική ανάλυση, υπό 40.000 μεγέθυνση, στις οποίες έγιναν οι μετρήσεις από όλα τα ζώα της μελέτης πριν τη συρραφή (proximal) και 0,3 cm μετά τη συρραφή (distal). Το γράμμα αντιστοιχεί στο κλουβί και το νούμερο στο ζώο.

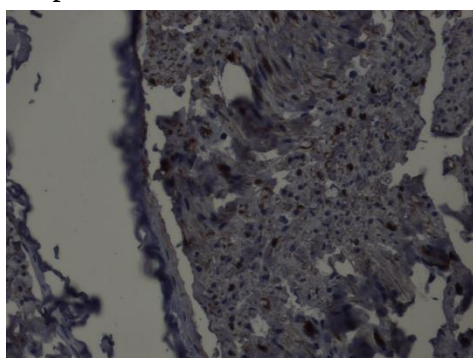
A1 proximal



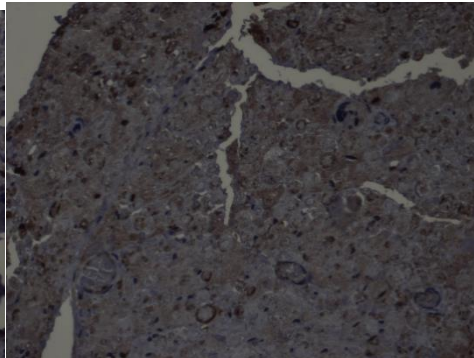
A1 distal



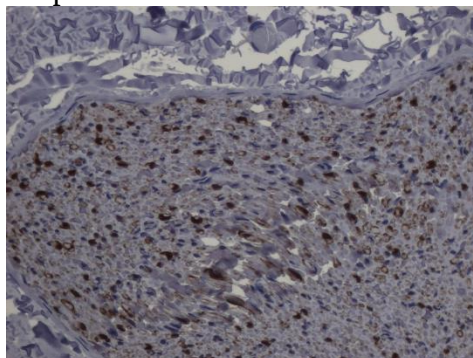
A2 proximal



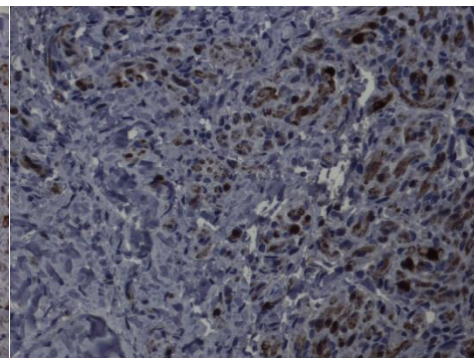
A2 distal



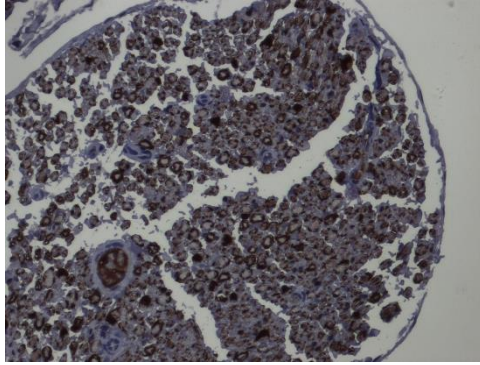
A3 proximal



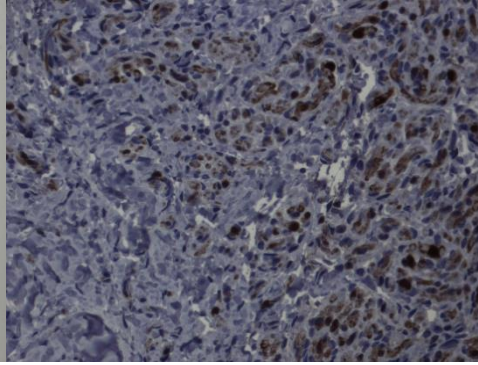
A3 distal



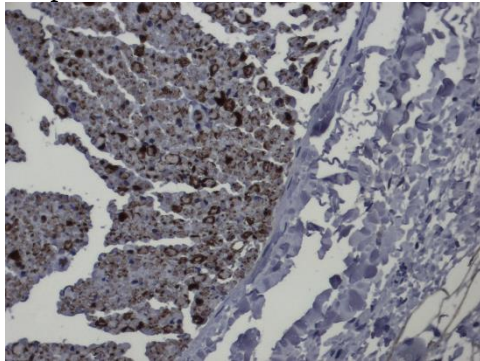
A4 proximal



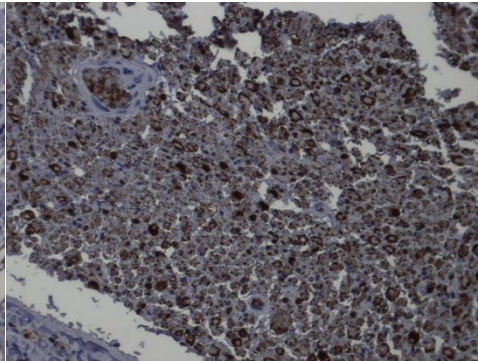
A4 distal



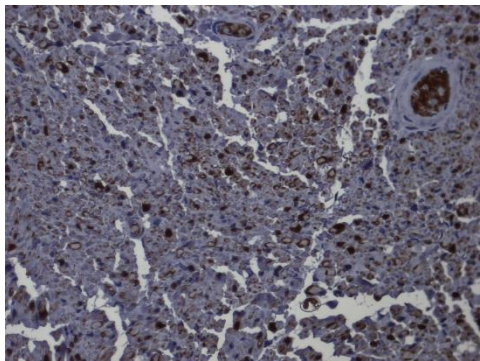
B1 proximal



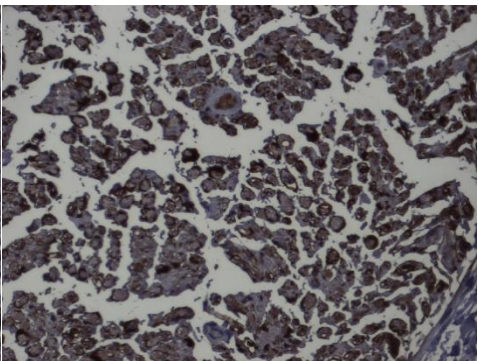
B1 distal



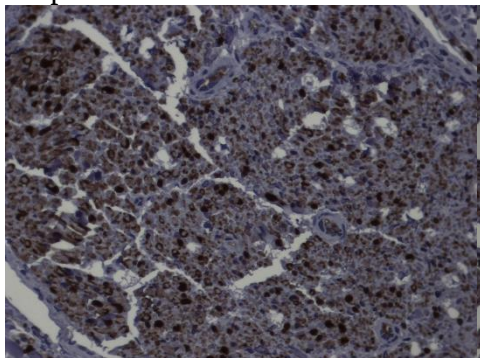
B2 proximal



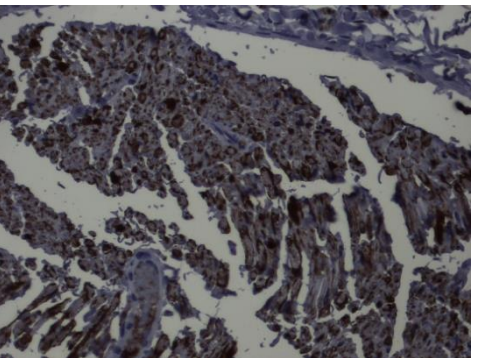
B2 distal



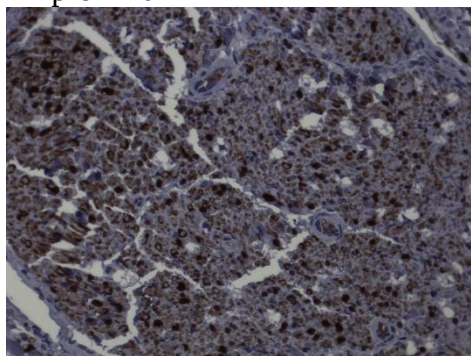
B3 proximal



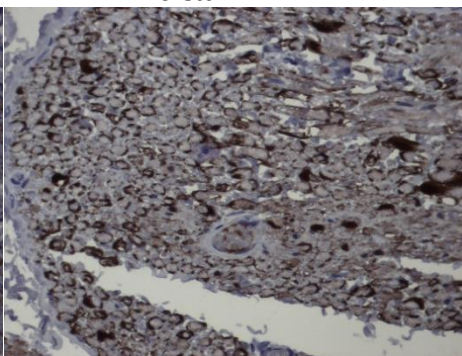
B3 distal



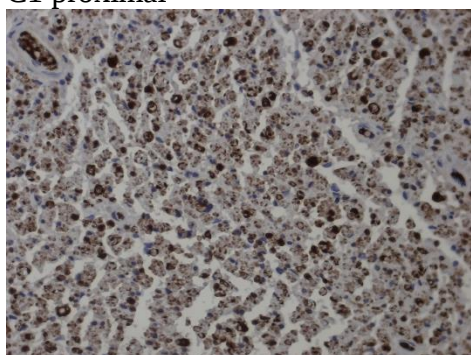
B4 proximal



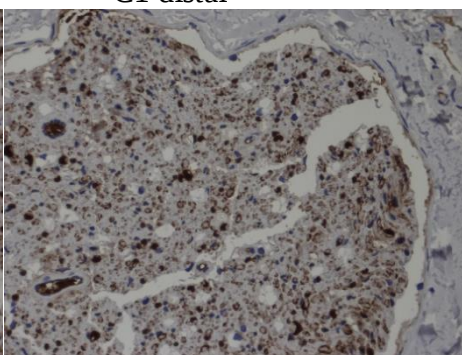
B4 distal



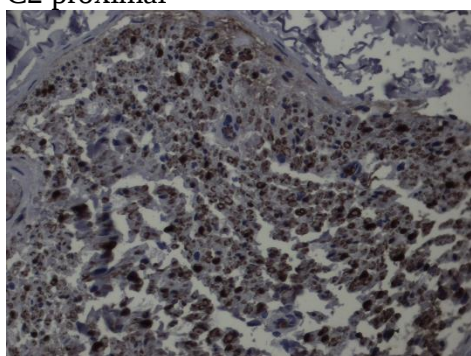
C1 proximal



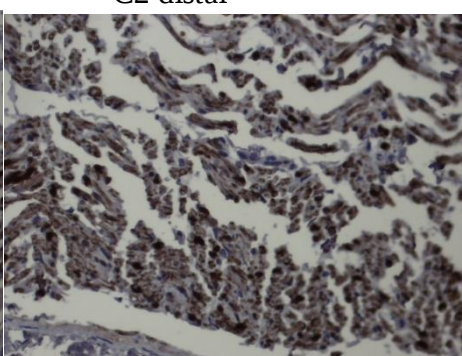
C1 distal



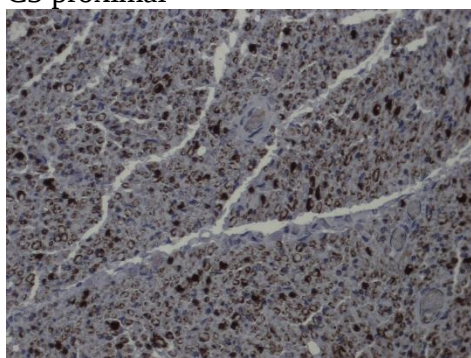
C2 proximal



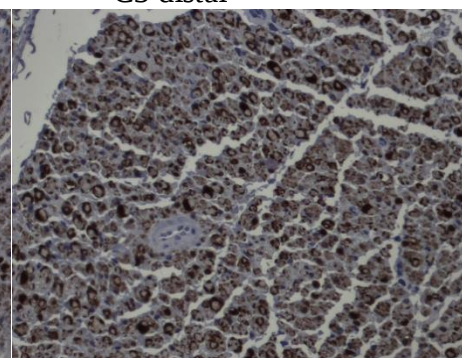
C2 distal



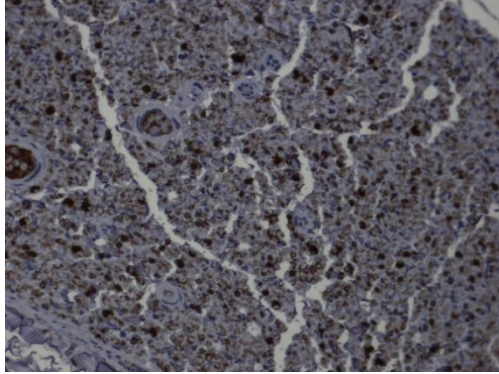
C3 proximal



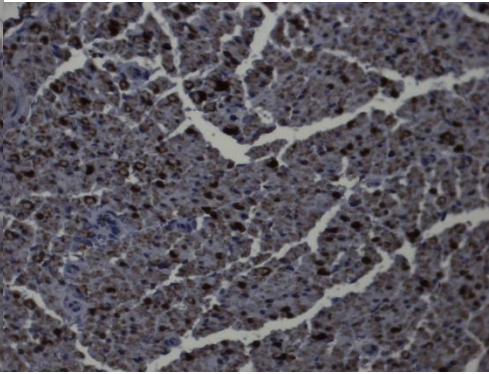
C3 distal



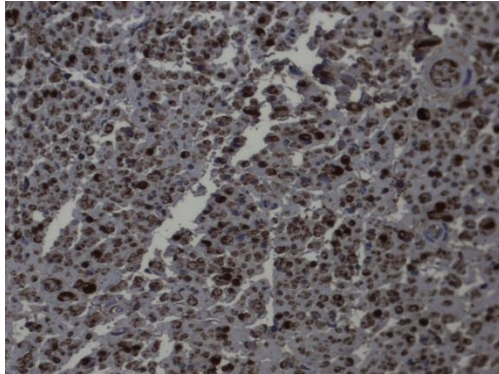
C4 proximal



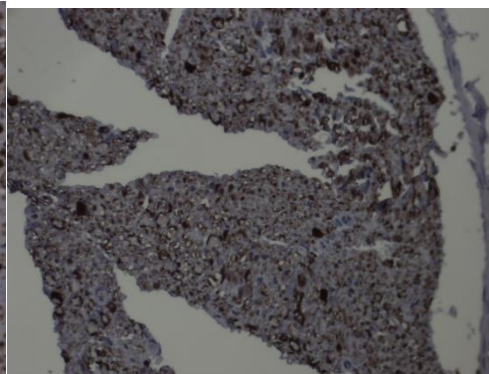
C4 distal



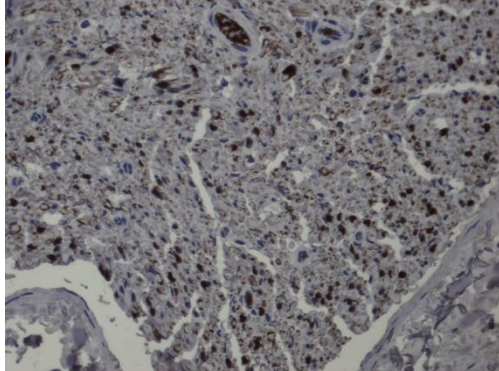
D1 proximal



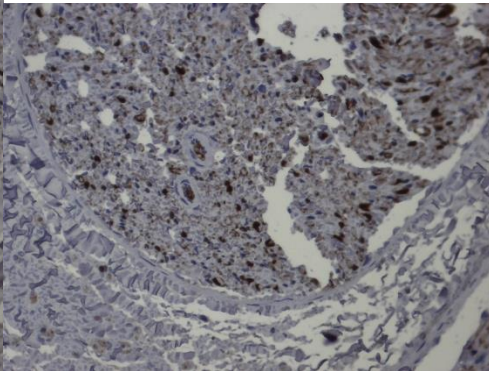
D1 distal



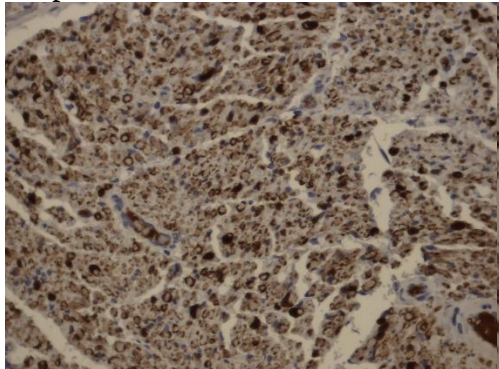
D2 proximal



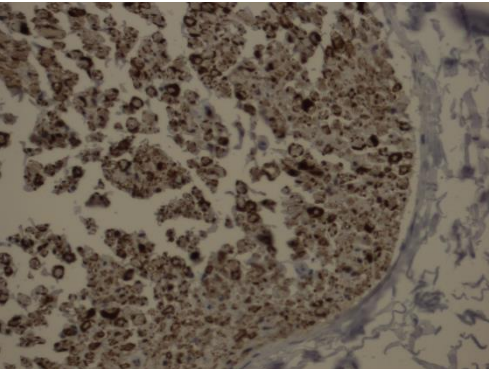
D2 distal



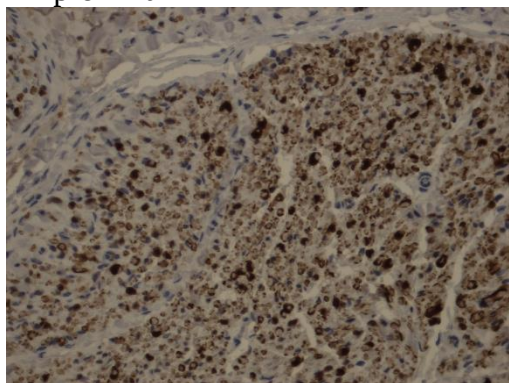
D3 proximal



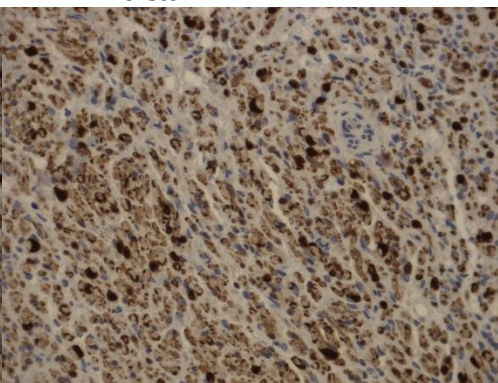
D3 distal



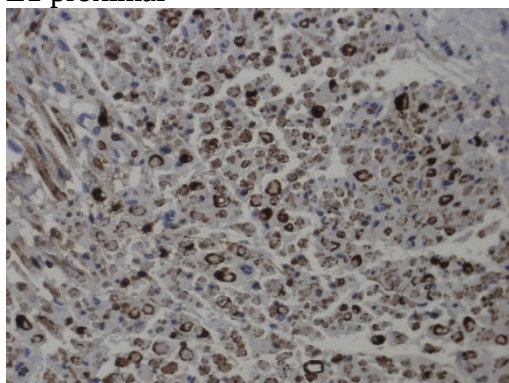
D4 proximal



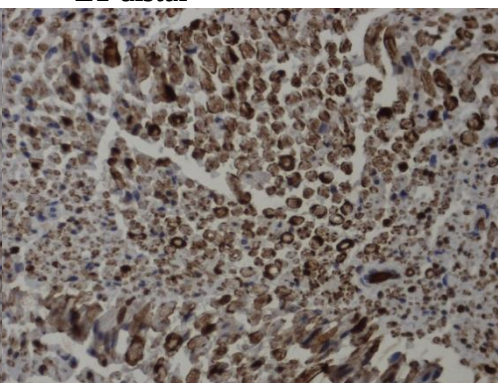
D4 distal



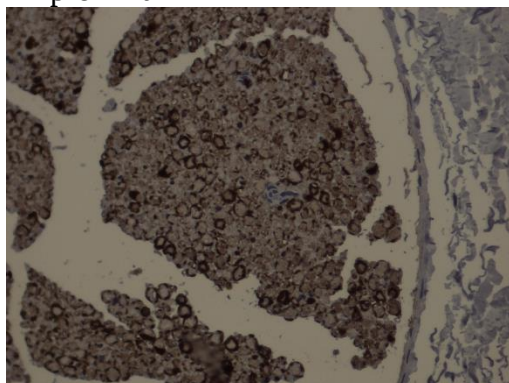
E1 proximal



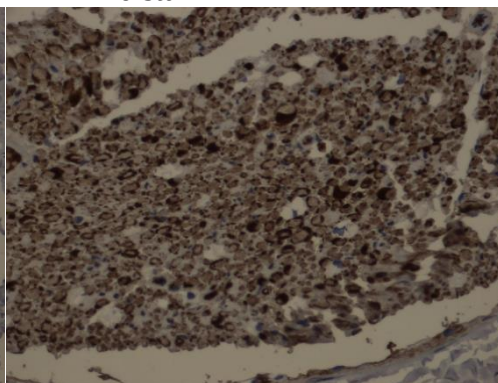
E1 distal



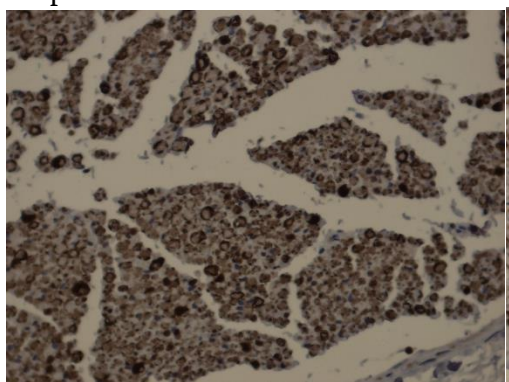
E2 proximal



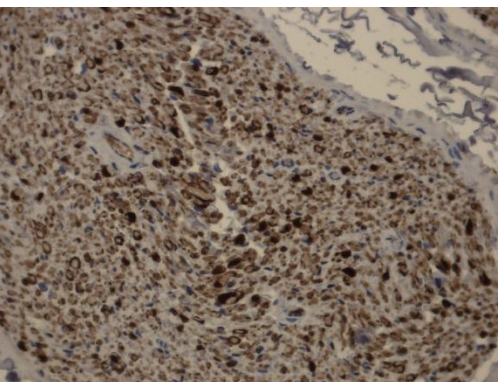
E2 distal



E3 proximal



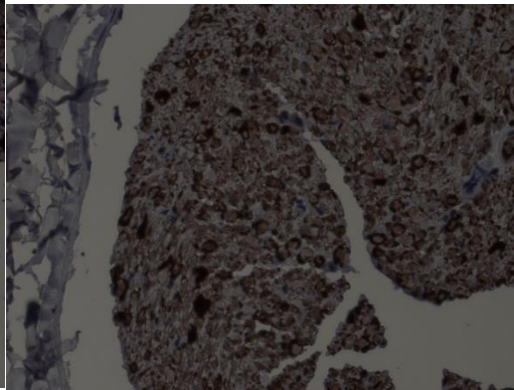
E3 distal



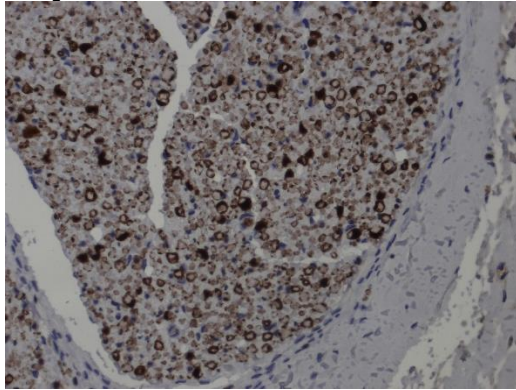
E4 proximal



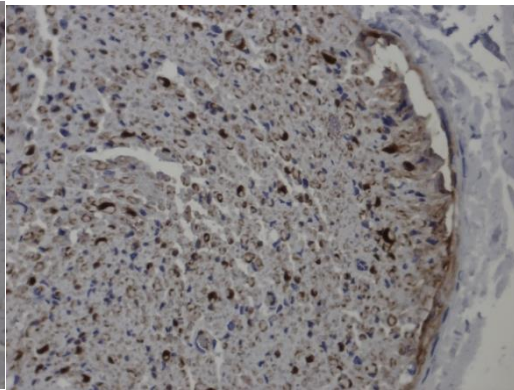
E4 distal



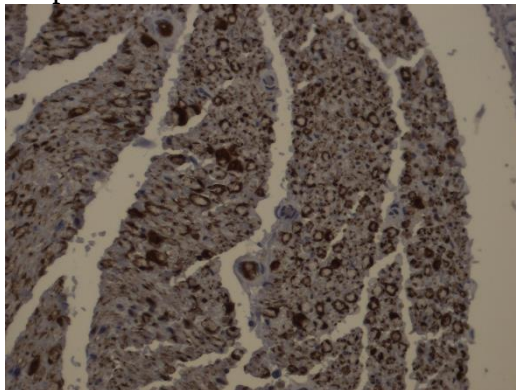
H1 proximal



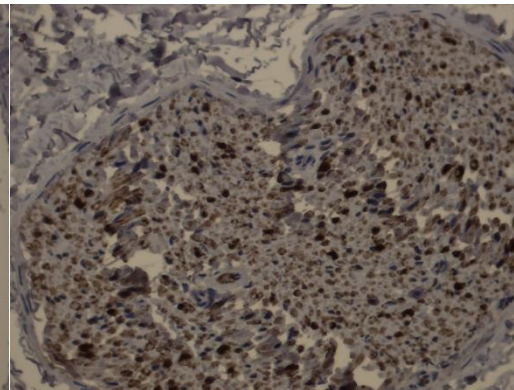
H1 distal



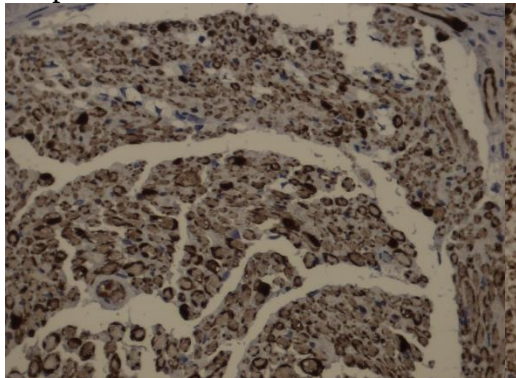
H2 proximal



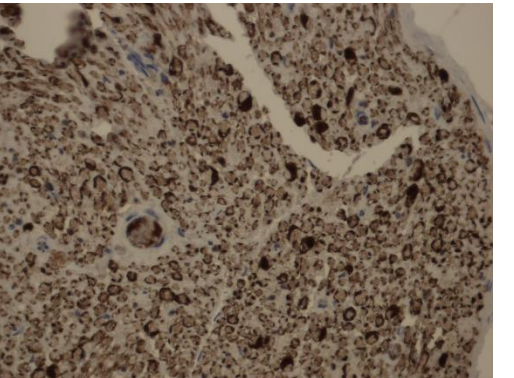
H2 distal



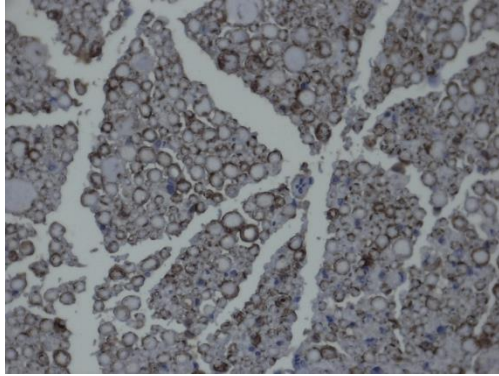
H3 proximal



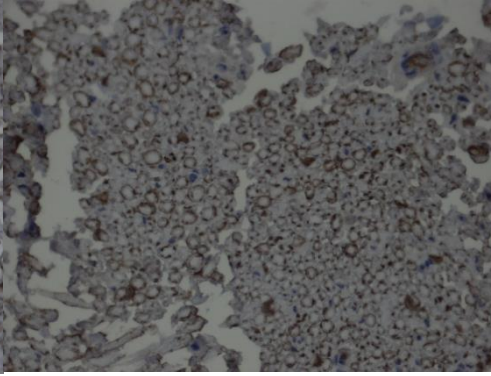
H3 distal



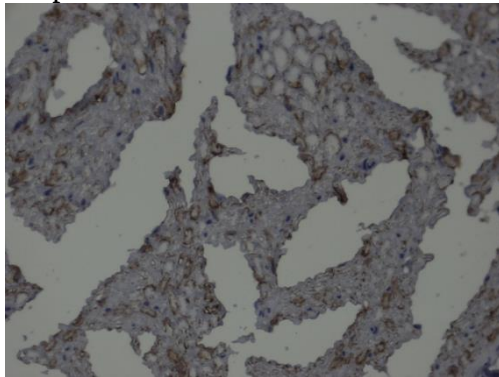
H4 proximal



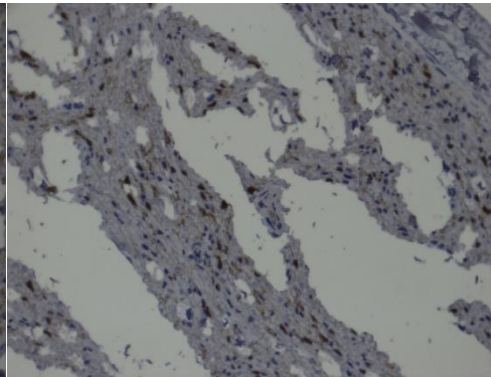
H4 distal



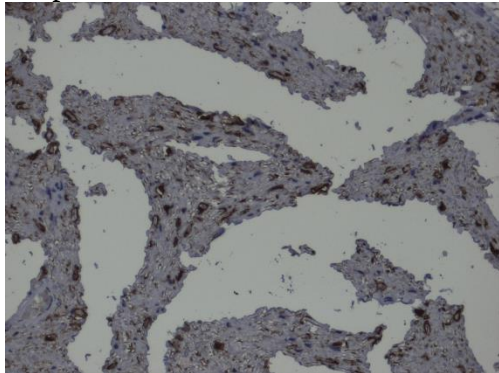
U1 proximal



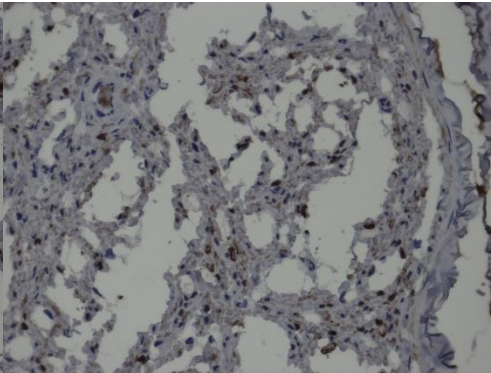
U1 distal



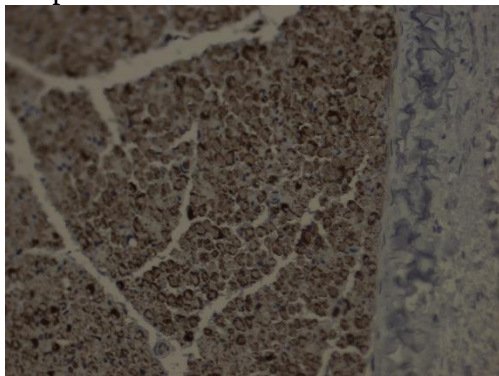
U2 proximal



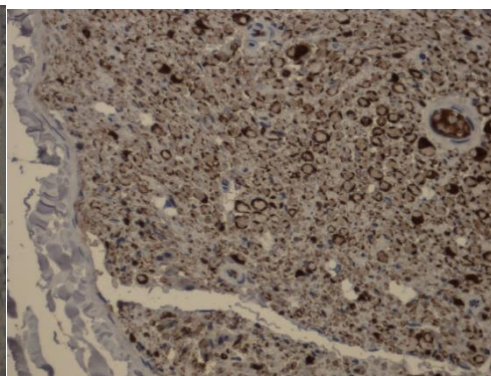
U2 distal



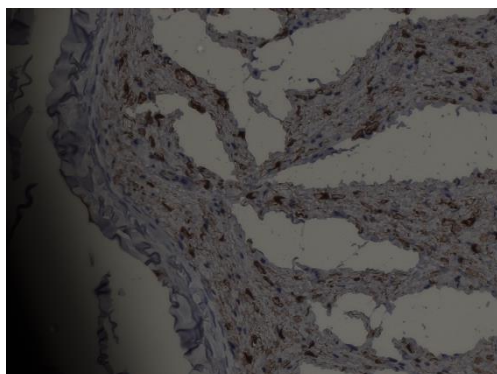
U3 proximal



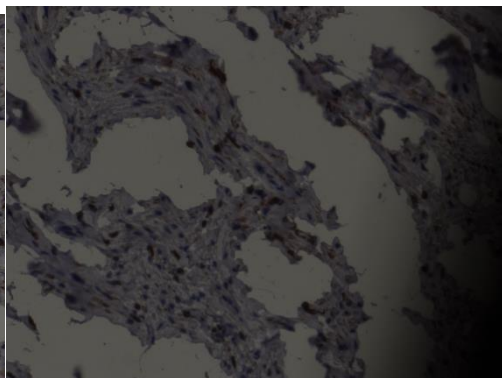
U3 distal



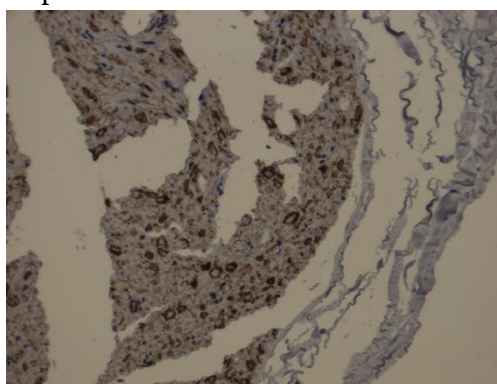
U4 proximal



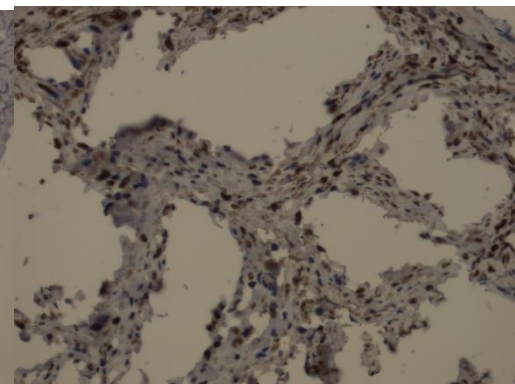
U4 distal



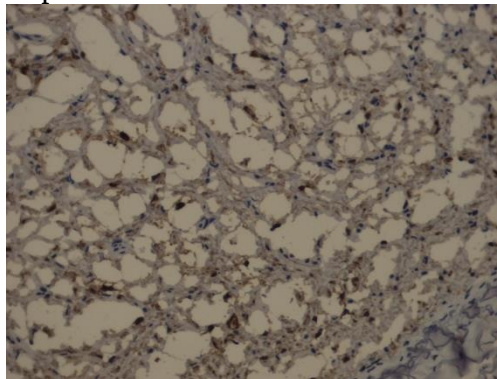
I1 proximal



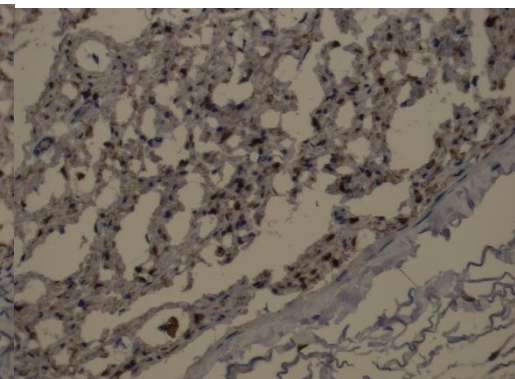
I1 distal



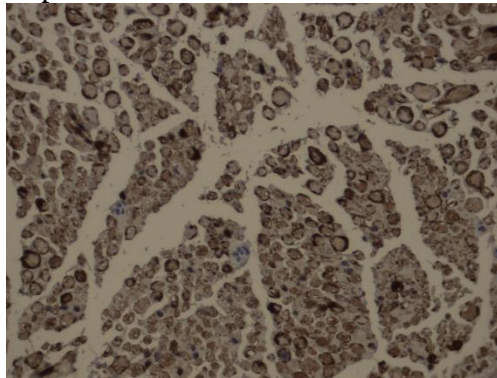
I2 proximal



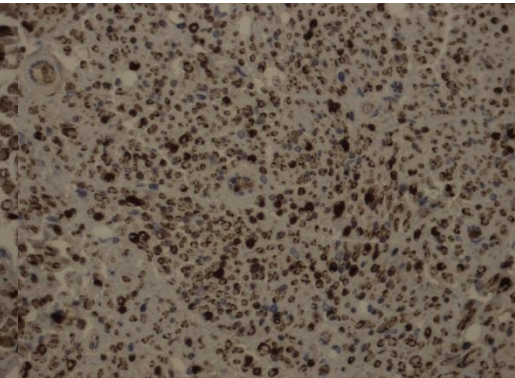
I2 distal



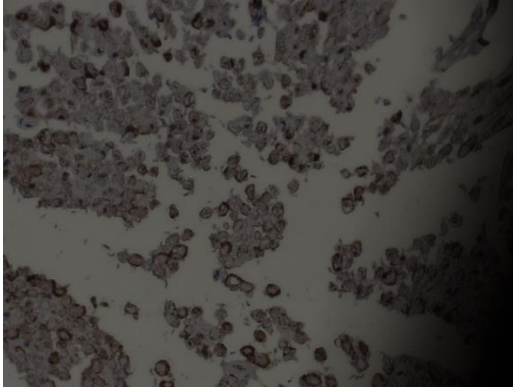
I3 proximal



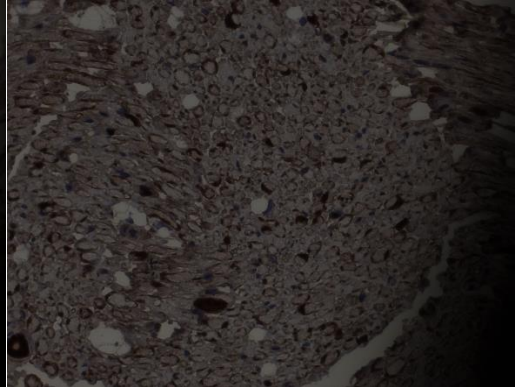
I3 distal



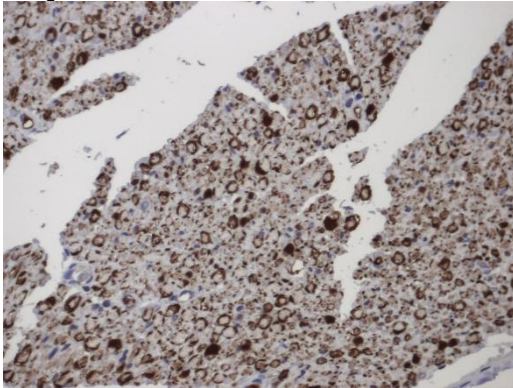
I4 proximal



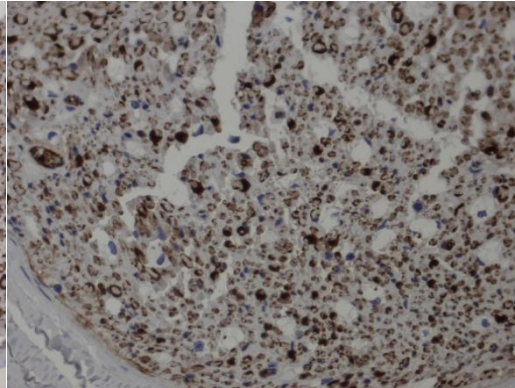
I4 distal



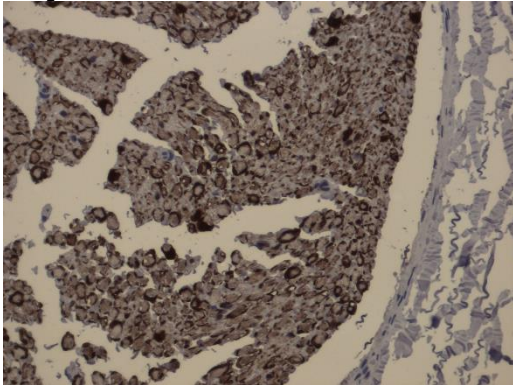
Z1 proximal



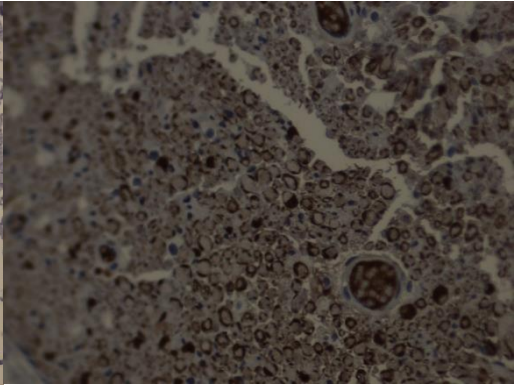
Z1 distal



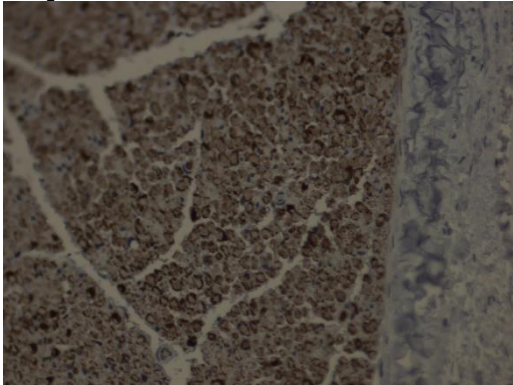
Z2 proximal



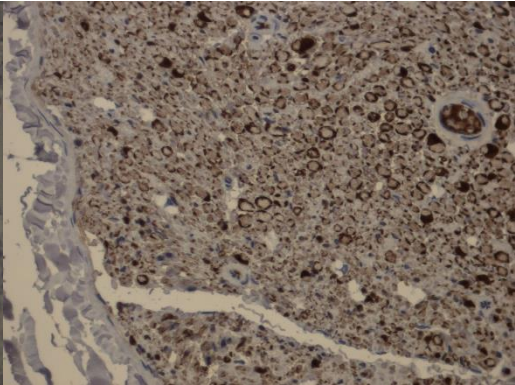
Z2 distal



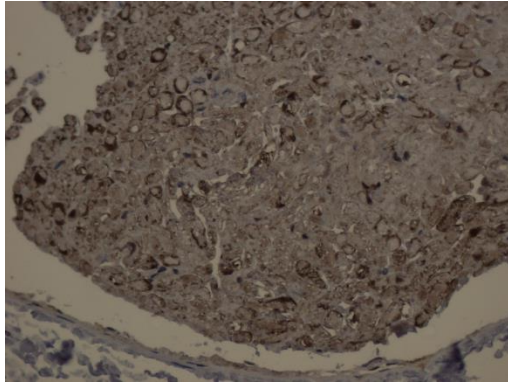
Z3 proximal



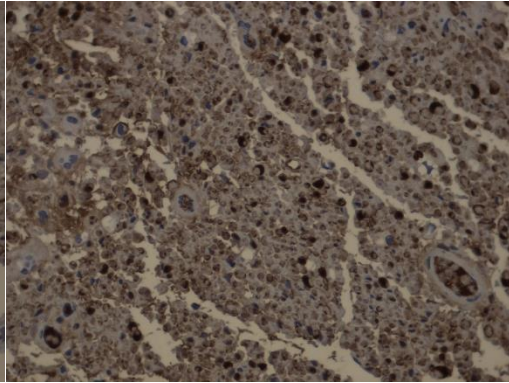
Z3 distal



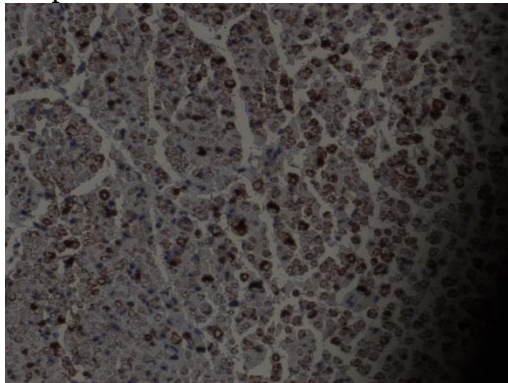
Z4 proximal



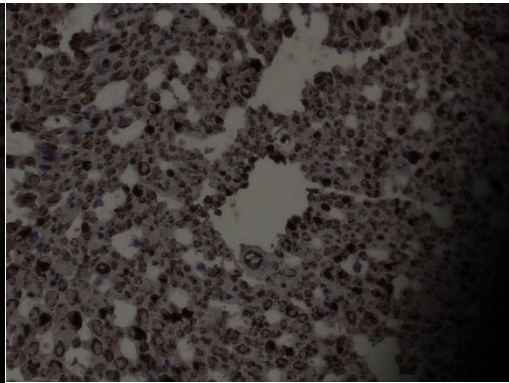
Z4 distal



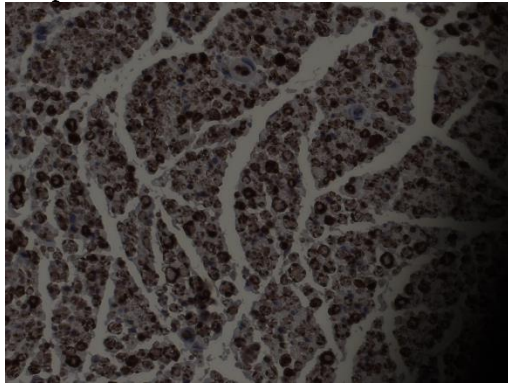
K1 proximal



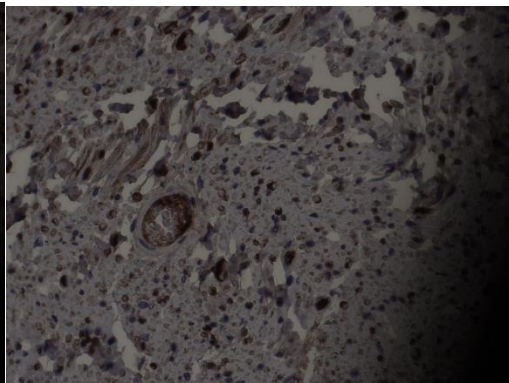
K1 distal



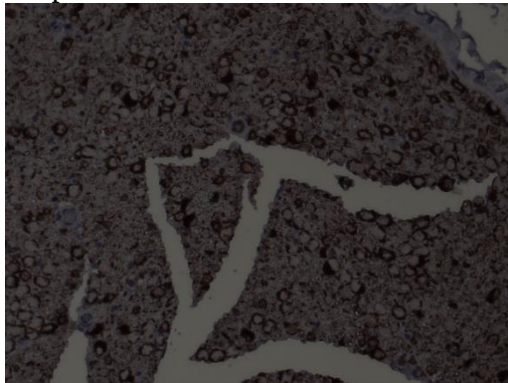
K2 proximal



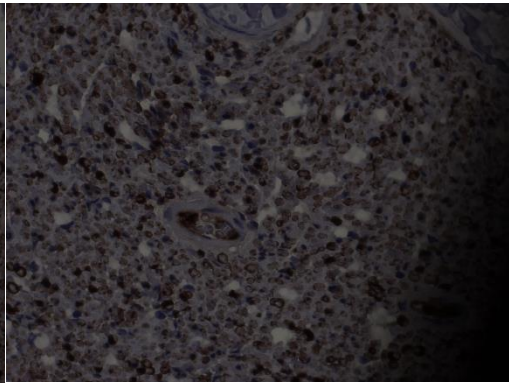
K2 distal



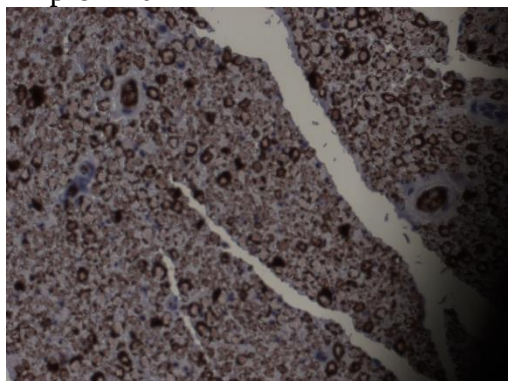
K3 proximal



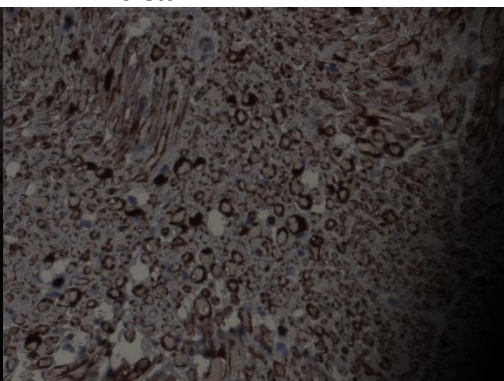
K3 distal



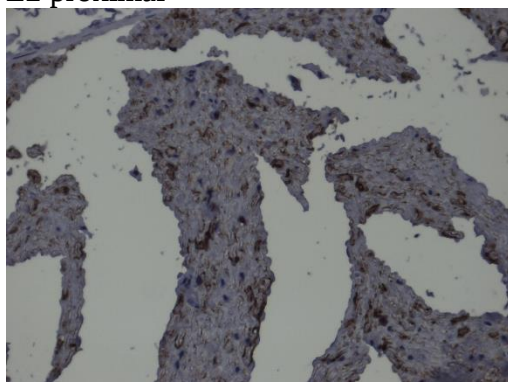
L1 proximal



L1 distal



L2 proximal



L2 distal

