

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ



**ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΧΡΗΣΗΣ ΝΕΥΡΑΓΩΓΩΝ ΣΙΛΙΚΟΝΗΣ ΜΕ Ή  
ΧΩΡΙΣ ΤΗ ΧΡΗΣΗ Τ3 ΚΑΙ BDNF ΩΣ ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟ  
ΤΩΝ ΑΥΤΟΜΟΣΧΕΥΜΑΤΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΓΕΦΥΡΩΣΗ ΝΕΥΡΙΚΩΝ  
ΕΛΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΣΕ ΑΡΟΥΡΑΙΟΥΣ**

**Υποψήφιος Διδάκτωρ:** Ιωάννης Κορμπάκης

**Τριμελής συμβουλευτική επιτροπή:**

1. Καθηγητής Ορθοπαιδικής Αριστείδης Β. Ζούμπος (*Επιβλέπων*)
2. Καθηγητής Ορθοπαιδικής Παναγιώτης Ι. Παπαγγελόπουλος
3. Καθηγήτρια Ανατομίας Ελίζαμπεθ Ο. Τζόνσον

***ΑΘΗΝΑ 2017***

Ημερομηνία αίτησης υποψηφίου 28/6/12

Ημερομηνία ορισμού τριμελούςσυμβουλευτικής επιτροπής 9/10/12

Μέλη της τριμελούς: Καθηγητής Ορθοπαιδικής Αριστείδης Β. Ζούμπος (Επιβλέπων)

Καθηγητής Ορθοπαιδικής Παναγιώτης Ι. Παπαγγελόπουλος

Καθηγήτρια Ανατομίας Ελίζαμπεθ Ο. Τζόνσον

Ημερομηνία κατάθεσης της διδακτορικής διατριβής Δεκέμβριος 2017

Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ

 ΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΑΝΑ ΙΗΤΡΟΝ, ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ,  
ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝ  
ΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ, ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙ  
ΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ  
ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ ΉΓΗΣΑΣΘ  
ΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗ  
Ν ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΑΣΘΑΙ, Κ  
ΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ, Κ  
ΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΑΥΤΕΟΥ ΑΔΕΛΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝ  
ΕΣΙΝ ΑΡΡΕΣΙ, ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ,  
ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥ  
ΓΓΡΑΦΗΣ, ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ  
ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣ  
ΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝ  
ΤΟΣ, ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΞΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΛΟ  
ΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ, ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ, ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ  
ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟ  
ΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗ  
ΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗ, ΕΙΡΞΕΙΝ, ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ  
ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕΥ  
ΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥ  
ΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΪΟΝ ΔΩΣΩ, ΑΓΝΩΣ Δ  
Ε ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝ  
ΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ, ΟΥ ΤΕΜΕΛ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘ  
ΙΩΝΤΑΣ, ΕΚΧΛΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙ ΠΡ  
ΗΞΙΟΣ ΤΗΣΔΕ, ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΩ  
ΕΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤ  
ΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΗΣ, Τ  
ΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥ  
ΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡ  
ΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ, Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑ,  
Η ΙΔΩ, Η ΔΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΚΑΤΑ Β  
ΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΒΕΣΘΑΙ  
ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟ  
ΙΑΥΤΑ, ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕ  
Α ΠΟΙΕΟΝΤΙ, ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ, ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘ  
ΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ, ΠΑΡΑ Π  
ΔΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΔΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙ  
ΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΛΩ.

Το πειραματικό σκέλος της παρούσας Διδακτορικής Διατριβής πραγματοποιήθηκε στο Ερευνητικό και Πειραματικό Κέντρο της ΕΛΠΕΝ ΑΕ, μετά από λήψη υποτροφίας από το Ερευνητικό και Πειραματικό Κέντρο της ΕΛΠΕΝ ΑΕ.

*Αφιερώνεται στα παιδιά μου Ευγενία και Αλέξανδρο*

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Ευχαριστώ και ευγνωμονώ ολόψυχα τον Καθηγητή Οθοπαιδικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών και Επιβλέπον μέλος Δ.Ε.Π. της Διατριβής μου κ. Αριστείδη Β. Ζούμπο, για την επιστημονική και ανθρώπινη στήριξη και καθοδήγηση που γενναιόδωρα μου παρέχει καθ' όλα αυτά τα χρόνια.

Ευχαριστώ τον Καθηγητή Οθοπαιδικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών κ. Παναγιώτη Ι. Παπαγγελόπουλο που αρχικά ως μέλος της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής και μετά ως επιβλέπων, με καλοσύνη και υπομονή μου διέθεσε χρόνο και στήριξη όποτε ήταν απαραίτητο.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα και ευγνωμονώ την Καθηγήτρια Ανατομίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών κ. Ελίζαμπεθ Ο. Τζόνσον που ως μέλος της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής, ήταν πάντα δίπλα μου στην σχεδίαση στην πορεία και στην ολοκλήρωση της παρούσας Διατριβής. Οι συμβουλές της ήταν πάντοτε στοχευμένες και καθοριστικές για την επιτυχή ολοκλήρωση της Διατριβής.

Θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον Διευθυντή του Ερευνητικού και Πειραματικού Κέντρου της ΕΛΠΕΝ ΑΕ, κ. Απόστολο Παπαλόη και στην Υπεύθυνη του τμήματος Υποτροφιών κα Αναΐδα Γκιάτα για την επιστημονική και υλική στήριξη που μου παρείχαν. Πολύτιμη ήταν και η συμβολή του επιστημονικού και βοηθητικού προσωπικού του Ερευνητικού και Πειραματικού Κέντρου της ΕΛΠΕΝ ΑΕ, χωρίς την βοήθεια του οποίου η εκπόνηση της παρούσας διατριβής θα ήταν ανέφικτη.

Ευχαριστώ τον τέως Συντονιστή Διευθυντή της Ε' Ορθοπαιδικής Κλινικής – Μονάδας Άκρας Χειρός του Ασκληπιείου Βούλας Παναγιώτη Κίννα τόσο για την ανεκτίμητη βοήθεια του στην πραγματοποίηση της Διδακτορικής Διατριβής όσο και για την κλινική εμπειρία στις παθήσεις των περιφερικών νεύρων καθώς και για την έμπρακτη βοήθεια του στην μετά την ειδικότητα μετεκπαίδευσή μου.

Ευχαριστώ και ευγνωμονώ τον Συντονιστή Διευθυντή της Ε' Ορθοπαιδικής Κλινικής-Μονάδας Άκρας Χειρός του Ασκληπιείου Βούλας Βασίλειο Ν. Ψυχογιό για την ανεκτίμητη βοήθειά

του εδώ και δέκα χρόνια τόσο κατά την περίοδο της Ειδικότητας στην Ορθοπαιδική Χειρουργική όσο και κατά την περίοδο της μετεκπαίδευσης μου στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής καθώς και μετέπειτα. Η συμβολή του στην πραγματοποίηση της Διδακτορικής Διατριβής ήταν κάτι παραπάνω από καθοριστική αφού ήταν δίπλα μου βοηθώντας με κάθε στιγμή που τον χρειάστηκα.

Ευχαριστώ ιδιαιτέρως την Ιατρό Παθολογοανατόμο του Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής του Γενικού Κρατικού Αθηνών Γ. Γεννηματάς κ. Αναστασία Δημητριάδη για την ανεκτίμητη βοήθεια στην ιστολογική ανάλυση των δειγμάτων.

Ευχαριστώ τον Διευθυντή Φυσιάτρο του Τμήματος Φυσικής Ιατρικής του Ασκληπιείου Βούλας κ. Ιωάννη Σιούτη για την ανεκτίμητη βοήθεια του στον σχεδιασμό και στην πραγματοποίηση της ηλεκτροφυσιολογικής εξέτασης των πειραματόζωων.

Ευχαριστώ τον Βασίλειο Μποίκου για τη βοήθειά του στην Στατιστική Ανάλυση των αποτελεσμάτων.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τους Δάσκαλους μου στο Washington University in Saint Louis και συγκεκριμένα τον Pr. Stavro Thomopoulos για την εμπειρία που απλόχερα μου έδωσε στην Μηχανική των Ιστών καθώς τον Pr. Richard Gelberman και Susan Mackinnon για τις γνώσεις που μου μεταδύσαν όσον αφορά την παθολογία των περιφερικών νεύρων.

*Αθήνα, Δεκέμβριος 2017*

Ιωάννης Φ. Κορμπάκης

<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....</b>	<b>11</b>
1.1 ΜΙΚΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΙΣΤΩΝ .....	11
1.2 ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΟΥ .....	14
1.3 ΝΕΥΡΙΚΗ ΑΙΜΑΤΩΣΗ .....	18
1.4 ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΒΛΑΒΩΝ .....	20
1.5 ΝΕΥΡΙΚΗ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ .....	21
1.6 ΜΙΚΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΕΛΙΚΗΣ ΣΥΡΡΑΦΗΣ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΟΥ .	24
1.7 ΝΕΥΡΙΚΑ ΕΛΛΕΙΜΜΑΤΑ .....	25
1.8 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΜΕΙΩΣΗΣ ΤΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΕΛΛΕΙΜΜΑΤΟΣ .....	27
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΓΕΦΥΡΩΣΗ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΕΛΛΕΙΜΜΑΤΩΝ.....</b>	<b>29</b>
2.1 ΝΕΥΡΙΚΑ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΑ .....	29
2.2 ΜΙΚΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΕΧΝΙΚΗ ΓΕΦΥΡΩΣΗΣ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΕΛΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΜΕ ΝΕΥΡΙΚΑ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΑ .....	34
2.3 ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΛΟΓΗ ΤΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΟΣ .....	38
2.4 ΑΓΓΕΙΟΥΜΕΝΑ ΝΕΥΡΙΚΑ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΑ.....	40
2.5 ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΧΡΗΣΗΣ ΑΓΓΕΙΟΥΜΕΝΩΝ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΩΝ.....	43
2.6 ΜΙΚΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΕΧΝΙΚΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΑΓΓΕΙΟΥΜΕΝΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΟΣ .....	44
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΓΕΦΥΡΩΣΗ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΕΛΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΧΡΗΣΗ ΝΕΥΡΑΓΩΓΩΝ.....</b>	<b>47</b>
3.1 ΝΕΥΡΙΚΗ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ ΔΙΑΜΕΣΟΥ ΝΕΥΡΑΓΩΓΩΝ (ΕΝΣΩΛΗΝΟΠΟΙΗΣΗ) .....	47
3.2 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΝΕΥΡΙΚΗΣ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗΣ ΔΙΑΜΕΣΟΥ ΤΩΝ ΝΕΥΡΑΓΩΓΩΝ.....	48
3.3 ΜΙΚΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΕΧΝΙΚΗ ΕΝΣΩΛΗΝΩΠΟΙΗΣΗΣ .....	53
3.4 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΝΕΥΡΑΓΩΓΩΝ .....	54



3.5 ΥΛΙΚΑ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΤΩΝ ΝΕΥΡΑΓΩΓΩΝ.....	56
--	----

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΧΡΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ ΠΟΥ ΤΡΟΠΟΠΟΙΟΥΝ ΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΕΝΤΟΣ ΤΟΥ ΑΓΩΓΟΥ ..... 61**

4.1 ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΔΟΜΙΚΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ ΤΟΥ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΣΤΡΩΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΝΕΥΡΙΚΗ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ .....	61
--	----

4.1.1 ΦΙΜΠΡΙΝΗ.....	61
---------------------	----

4.1.2 ΛΑΜΙΝΙΝ.....	62
--------------------	----

4.1.3 ΚΟΛΛΑΓΟΝΟ .....	63
-----------------------	----

4.2 ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ.....	64
--	----

4.2.1 ΚΥΤΤΑΡΑ SCHWANN.....	64
----------------------------	----

4.3 ΜΕΣΕΓΧΥΜΑΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΜΥΕΛΟΥ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ.....	66
---	----

4.3.1 ΙΝΟΒΛΑΣΤΕΣ.....	66
-----------------------	----

4.4 ΝΕΥΡΟΤΡΟΦΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ .....	68
------------------------------------	----

4.5 ΜΕΘΟΔΟΙ ΤΟΠΙΚΗΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΝΕΥΡΟΤΡΟΦΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ.....	69
---	----

4.5.1 ΑΜΕΣΗ ΤΟΠΙΚΗ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗ .....	69
--	----

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΝΕΥΡΟΤΡΟΦΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ..... 75**

5.1 ΙΝΟΒΛΑΣΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ (FGF).....	75
--	----

5.2 ΝΕΥΡΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ (NGF).....	76
--	----

5.2.1 GLIAL CELL-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR (GDNF).....	76
--	----

5.2.2 GLIAL GROWTH FACTOR (GGF).....	77
--------------------------------------	----

5.2.3 ΝΕΥΡΟΤΡΟΦΙΝΗ-3 (NT-3) .....	77
-----------------------------------	----

5.2.4 CILIARI NEUROTROPHIC FACTOR (CNTF) .....	78
--	----

5.2.5 VASCULAR ENDOTELIAL GROWTH FACTOR (VEGF).....	79
---	----

5.2.6 LEUKEMIA INHIBITORY FACTOR (LIF) .....	79
--	----

5.2.7 INSULIN LIKE GROWTH FACTOR I (IGF-1) .....	79
5.2.8 PLATELET-DERIVED GROWTH FACTOR (PDGF).....	80
5.2.9 BRAIN – DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR (BDNF).....	80
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΡΟΛΟΣ ΟΡΜΟΝΩΝ ΣΤΗΝ ΝΕΥΡΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ .....</b>	<b>89</b>
6.1 ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΑ.....	89
6.1.1 ΤΕΣΤΟΣΤΕΡΟΝΗ .....	89
6.1.2 ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΚΗ ΟΡΜΟΝΙΚΗ .....	90
6.2 ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΚΩΝ ΟΡΜΟΝΩΝ –ΤΡΟΠΟΣ ΔΡΑΣΗΣ Τ3 .....	91
6.3 ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΚΩΝ ΟΡΜΟΝΩΝ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΕΠΙΠΕΔΟ.....	93
6.4 ΤΟΠΙΚΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗ Τ3 – ΝΕΥΡΙΚΗ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ.....	95
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΜΕΘΟΔΟΣ .....</b>	<b>97</b>
7.1 ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ .....	97
7.2 ΠΙΛΟΤΙΚΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ.....	97
7.3 ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΑΚΤΗΣΗΣ ΑΙΣΘΗΤΙΚΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ .....	109
7.4 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	116
7.5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	117
7.5.1 Ισχιακός λειτουργικός δείκτης (SFI).....	141
7.5.2 Βάρος νωπού μυ (Wet Muscle).....	144
7.5.3 ΗΛΕΚΤΡΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ.....	145
7.5.4 ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΑ .....	148
7.5.5 ΣΥΓΚΑΜΨΕΙΣ – ΑΥΤΟΝΟΜΙΑ .....	152
<b>ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....</b>	<b>153</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....</b>	<b>162</b>
<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....</b>	<b>177</b>

# **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

## **1.1 ΜΙΚΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΙΣΤΩΝ**

Στην ορθοπαιδική χειρουργική όλο και συχνότερα αντιμετωπίζονται βλάβες ιστών που να χρήζουν μικροχειρουργική αποκατάσταση. Οι πιο συνηθισμένες βλάβες που αντιμετωπίζονται με την μικροχειρουργική τεχνική είναι οι βλάβες των τενόντων, οι βλάβες των περιφερικών νεύρων και αυτές των αγγείων.

Η μικροχειρουργική είναι χειρουργική τεχνική στην οποία είναι απαραίτητη η χρήση συσκευών μεγέθυνσης όπως είναι το χειρουργικό μικροσκόπιο. Πέρα όμως από την συσκευή μεγέθυνσης, είναι απαραίτητη η χρήση ειδικών χειρουργικών εργαλείων που καθιστά εύκολο τον χειρισμό και την συρραφή πολύ λεπτών ιστών. Με την βοήθεια της μεγέθυνσης και των κατάλληλων μικροχειρουργικών εργαλείων καθώς και με την συνεχή εξοικείωση των χειρουργών έχουν διαδοθεί διάφορες μικροχειρουργικές τεχνικές για την συρραφή των τενόντων και των νεύρων που αποβλέπουν στο καλύτερο αποτέλεσμα της χειρουργικής αποκατάστασης αυτών των ιστών.(1,3)

Όσον αφορά τους τένοντες, είναι πρωταρχικής σημασίας η αύξηση της δύναμης συγκράτησης των κολοβωμάτων τουλάχιστον μέχρι την στιγμή που τα τενόντια κολοβώματα ενωθούν με την ολοκλήρωση της διαδικασίας επούλωσης. Αυτό είναι απαραίτητο ώστε να είναι δυνατή η παρακολούθηση ενός επαρκούς προγράμματος κινητοποίησης των τενόντων άμεσα μετεγχειρητικά προκειμένου να μην αναπτυχθούν συμφύσεις οι οποίες θα επηρεάσουν σημαντικά το λειτουργικό αποτέλεσμα. Οι μηχανικές ιδιότητες της συρραφής των τενόντων εξαρτώνται από την αντοχή του υλικού συρραφής (υλικό και διάμετρος ραμμάτων) καθώς και από την ικανότητα συγκράτησης του ράμματος στον τένοντα που εξαρτάται κυρίως από την μικροχειρουργική τεχνική συρραφής.(4-6)

Για την αύξηση της συγκράτησης των ραμμάτων στα τενόντια κολοβώματα έχουν προταθεί διάφορες μικροχειρουργικές τεχνικές συρραφής που διαφέρουν στο βάθος της ραφής, στον αριθμό των περασμάτων δια του τένοντα, στο είδος και στον αριθμό των θηλιών και στην θέση και τον αριθμό των κόμπων. (7)

Οι πιο διαδεδομένες τεχνικές συρραφής είναι των τεσσάρων και των οχτώ περασμάτων. Πρόσφατα δε στο πλαίσιο μιας τροποποίησης των θηλιών στην Winters-Gelberman συρραφής εισήχθη η τεχνική των μισών δεμένων θηλιών που αυξάνει κατά μεγάλο βαθμό την δύναμή συγκράτησης των τενόντων κολοβωμάτων. Στο πλαίσιο της ίδιας μελέτης δοκιμάστηκε και μια συρραφή με μισές δεμένες θηλιές χωρίς τελικό κόμπο με τα ίδια δύναμή συγκράτησης με την κλασική 8 περασμάτων Winters-Gelberman συρραφή.(8-9)

Επίσης σε άλλη μελέτη δοκιμάστηκε να αυξηθεί η δύναμη συγκράτησης των ραμμάτων τροποποιώντας την επιφάνεια των ραμμάτων ώστε να προσκολλώνται περισσότερο στους ιστούς. Φάνηκε ότι η χρήση ραμμάτων που είναι επενδυμένα με κολλώδη ουσία μπορεί να αυξήσει την ισχύ της συρραφής κατά 21%.(10)

Όσον αφορά τα νεύρα, οι τεχνικές μικροχειρουργικής δεν έχουν σαν κύριο στόχο τόσο την εμβιομηχανική ισχύ της συρραφής όσο τον σωστό προσανατολισμό των νευρικών κολοβωμάτων. Με την ανάπτυξη της μικροχειρουργικής τεχνικής αναπτύχθηκαν διάφορες τεχνικές συρραφής των περιφερικών νεύρων. Οι πιο σημαντικές είναι η επινευρική, η περινευρική και η ενδονευρική.(11,12)

Κυρίαρχο ρόλο διαδραματίζει η βιολογική μηχανική των ιστών τόσο στην επούλωση στους τένοντες όσο και στη νευρική αναγέννηση στις βλάβες των περιφερικών νεύρων. Με την ανάπτυξη της βιολογική μηχανικής των ιστών υπάρχει η δυνατότητα της χρήσης διαφόρων κυττάρων και αυξητικών παραγόντων που χορηγούνται είτε συστηματικά αλλά πολύ συχνότερα τοπικά στο σημείο της ιστικής βλάβης προκειμένου να επιταχυνθεί η διαδικασία της αναγέννησης των ιστών. Η διοχέτευση των κυττάρων και των αυξητικών παραγόντων στο σημείο της βλάβης γίνεται κυρίως με την χρήση ικριωμάτων.(13,14)

Πρόσφατα χρησιμοποιήθηκαν ενδοτενόντια ικρίωματα προκειμένου να χορηγηθούν ο αυξητικός παράγοντας BMP-12 και να εμφυτευτούν πολυδύναμα κύτταρα προερχόμενο από τον λιπώδη ιστό. Τα αποτελέσματα δεν ήταν ενθαρρυντικά λόγω της φλεγμονώδους αντίδρασης που προκάλεσε το ικρίωμα στο σημείο της βλάβης. Προκειμένου να αποφευχθεί αυτή η αντίδραση εισήχθησαν νέα ικρίωματα που καλύπτουν εξωτερικά τον τένοντα. Μέσα σε αυτά εμφυτεύθηκαν πολυδύναμα κύτταρα από τον λιπώδη ιστό. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι δυνητικά μπορεί να ευοδώσουν την επούλωση των τενόντων αφού η μέθοδος αυτή είχε ρυθμιστικό ρόλο στην φλεγμονώδη αντίδραση.(15,16)

Κατά ανάλογο τρόπο η χρήση νευροτροφικών παραγόντων και διαφόρων κυττάρων, μέσω νευρικών αγωγών, επηρεάζουν την νευρική αναγέννηση. (17)

Τις τελευταίες δεκαετίες με συνεχώς αυξανόμενη συχνότητα συναντούμε βλάβες στα περιφερικά νεύρα που οφείλονται σε ανοιχτά ή κλειστά τραύματα και σε κακώσεις που προκαλούν λύση της συνέχειας του νεύρου ή εξελκυσμό αυτού. Σε πολλούς από αυτούς τους τραυματισμούς προκύπτει κάποιου βαθμού νευρικό έλλειμμα. Σε αυτές τις περιπτώσεις η κλινική εικόνα είναι χαρακτηριστική και παρουσιάζεται με πλήρη απώλεια της λειτουργίας του νεύρου.

Ο ρόλος της μικροχειρουργικής αλλά και της βιολογική μηχανικής των ιστών στην αποκατάσταση τέτοιων νευρικών βλαβών είναι σημαντικός και είναι αντικείμενο πολλών μελετών. Η μελέτη του μηχανισμού δράσης κάθε νευροτροφικού παράγοντα και των διαφόρων κυττάρων στην νευρική αναγέννηση απαιτεί πολύ καλή γνώση της ανατομίας και της φυσιολογίας του νεύρου και του φαινομένου της νευρικής αναγέννησης.

## 1.2 ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΟΥ

Η γνώση της δομής και του μηχανισμού λειτουργίας του περιφερικού νεύρου είναι απαραίτητη για την κατανόηση της παθοφυσιολογίας μιας νευρικής βλάβης, της θεραπείας και της διαδικασίας της νευρικής αναγέννησης της καθώς και της λειτουργικής αποκατάστασης αυτής.

Το περιφερικό νεύρο αποτελείται από τις νευρικές ίνες (νευρικοί άξονες) και από συνδετικό ιστό που δημιουργεί περιβλήματα που προστατεύουν και θρέφουν τους νευρικούς άξονες. Οι κινητικές νευρικές ίνες εκφύονται από το κυτταρικό σώμα των νευρικών κυττάρων( νευρώνων) που βρίσκονται στα πρόσθια κέρατα του νωτιαίου μυελού. Οι αισθητικές αντίστοιχα από τους νευρώνες που βρίσκονται στα ραχιαία γάγγλια και οι συμπαθητικές νευρικές ίνες από τα συμπαθητικά γάγγλια.(18)

Η αναλογία μεταξύ του μεγέθους του νευρικού άξονα και του κυτταρικού σώματος είναι πολύ μεγάλη εξαιτίας της μεγάλης απόστασης που εκτείνεται ο άξονας σε σχέση με την διάμετρο του κυτταρικού σώματος. Υπολογίζεται ότι ο άξονας περιέχει το 90% του κυτταροπλάσματος του νευρικού κυττάρου. Μια τοπική βλάβη του άξονα σε μεγάλη απόσταση από το κυτταρικό σώμα επηρεάζει την δομή και την λειτουργία ολόκληρου του κυττάρου.(19)

Σε κάθε περιφερικό νεύρο υπάρχουν εμμύελες και αμύελες νευρικές ίνες. Στις μεν πρώτες κάθε νευράξονας περιβάλλεται από ένα κύτταρο Schwann σε κάθε επίπεδο ενώ στις αμύελες ίνες ένα κύτταρο Schwann περιβάλλει πολλούς άξονες μαζί. Στις εμμύελες ίνες, ανάμεσα σε δυο κύτταρα Schwann λείπει το περίβλημα μυελίνης και σχηματίζονται οι σταθμοί του Ranvier που είναι υπεύθυνοι για την γρήγορη μετάδοση του νευρικού ερεθίσματος αφού αυτό μεταδίδεται μόνο μέσω των σημείων αυτών.(20)

Η κάθε νευρική ίνα αποτελείται από το αξονόπλασμα το οποίο περιέχει μία σειρά από πρωτεΐνες και δομικά στοιχεία του κυτταροσκελετού , όπως οι

μικροσωληνίσκοι και τα μικροινίδια. Οι μικροσωληνίσκοι αποτελούνται από τα προϊόντα πολυμερισμού της  $\alpha$  και  $\beta$  τουμπουλίνης και τα μικροινίδια κατασκευάζονται από ακτίνη και μία σειρά από άλλες πρωτεΐνες.(21)

Πρέπει επίσης να αναφερθεί ότι οι νευρικές ίνες κατατάσσονται ανάλογα με το μέγεθος τους σε A, B και C. Οι πρώτες έχουν την μεγαλύτερη διάμετρο και μεταδίδουν κινητικά και αισθητικά ερεθίσματα ενώ οι ίνες C μεταδίδουν ερεθίσματα του αυτόνομου συστήματος.(22)

Ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό του νευρικού κυττάρου είναι η ορθόδρομη μεταφορά ουσιών από το κυτταρικό σώμα προς τον άξονα καθώς και η παλίνδρομη μεταφορά ουσιών προς την αντίθετη κατεύθυνση. Η ιδιαιτερότητα αυτού του αμφιδρόμου μηχανισμού μεταφοράς έγκειται στο γεγονός ότι τα συστατικά μεταφέρονται σε αποστάσεις πολλαπλάσιες της διαμέτρου του κυτταρικού σώματος.

Η ορθόδρομη μεταφορά, με την οποία μεταφέρονται ουσίες στον άξονα που έχουν συντεθεί στο κυτταρικό σώμα, διαχωρίζεται σε γρήγορη (20-400mm/ημέρα) και αργή (0.1-30mm/ημέρα). Η γρήγορη μεταφορά είναι υπεύθυνη για την μετακίνηση συστατικών που είναι απαραίτητα για την παρασκευή των μεμβρανών και των ενδοκυτταρικών οργανιδίων και για την πραγματοποίηση της καταναλώνεται μεγάλη ποσότητα ενέργειας. Με την αργή μεταφορά μετακινούνται μεγάλες ποσότητες πρωτεϊνών του κυταροσκελετού.(23)

Με την παλίνδρομη μεταφορά γίνεται ανακύκλωση χρησιμοποιημένων υλικών που μεταφέρθηκαν από το κυτταρικό σώμα. Επίσης μεταφέρονται από τον άξονα στο σώμα νευροτροφικοί παράγοντες (NGF), οι οποίοι μεταφέρουν πληροφορίες για την κατάσταση των αξόνων και γενικότερα για το περιβάλλον που επικρατεί στην περιφέρεια του κυττάρου. Και η παλίνδρομη μεταφορά απαιτεί μεγάλη ποσότητα ενέργειας.(24)

Κάθε νευρική ίνα περιβάλλεται από χαλαρό συνδετικό ιστό που λέγεται ενδονεύριο. Το ενδονεύριο είναι διαπερατό σε ουσίες και προς τις δυο

κατευθύνσεις και για αυτόν τον λόγο σε παθολογικές καταστάσεις μπορεί να υποστεί ενδονεύριο οίδημα. Μια ομάδα από νευρικές ίνες, που έχουν ενδιάμεσα τους ενδονεύριο, περιβάλλονται από ένα ισχυρό περίβλημα που λέγεται περινεύριο σχηματίζοντας μια νευρική δεσμίδα. Το περινεύριο αποτελείται από πολλαπλά στρώματα κυττάρων που είναι στενά συνδεδεμένα μεταξύ τους, σχηματίζοντας έναν φραγμό στο πέρασμα των ουσιών (πρωτεΐνες διαφόρου μοριακού βάρους, φερριτίνη κ.α) και προς τις δύο κατευθύνσεις. Στην επιφάνεια του περινευρίου υπάρχουν αγγεία . Κάποια από αυτά διαπερνούν το περινεύριο και εισέρχονται στο ενδονεύριο περιβαλλόμενα από ένα κάλυμμα περινευρίου. Το περινεύριο λείπει στην περιοχή του νεύρου κοντά στην τελική κινητική πλάκα διευκολύνοντας την διέλευση ουσιών προς το ενδονεύριο σε εκείνη την περιοχή.(25)

Η λειτουργία του περινευρίου στο περιφερικό νεύρο είναι διπλή. Πρώτον λόγω των μηχανικών του ιδιοτήτων αποτελεί ένα προστατευτικό περίβλημα του ενδονευρίου από εξωτερικό τραύμα και δεύτερον λόγω του φραγμού που δημιουργεί στην διαπερατότητα ουσιών , διατηρεί ένα σταθερό περιβάλλον στο ενδονεύριο συνθήκη απαραίτητη για την ομαλή λειτουργία των νευρικών ινών. Εντός κάθε δεσμίδας η ενδονευρική πίεση είναι θετική (1,2-1,5mmHg) και αυξάνεται σε πιεστικά φαινόμενα του νεύρου και σε κακώσεις χωρίς λύση της συνέχειας αυτού.(26)

Το εξωτερικό περίβλημα ενός περιφερικού νεύρου ονομάζεται επινεύριο, και αποτελείται από πυκνό συνδετικό ιστό και έχει ως κύρια λειτουργία την προστασία του νεύρου από κάποιο εξωτερικό τραύμα. Εξωτερικά το επινεύριο καλύπτεται από έναν ιστό τύπου βλεννογόνου που το διαχωρίζει από τους γειτονικούς ιστούς και προσφέρει στο νεύρο μεγάλη κινητικότητα που σε ορισμένα σημεία του σώματος όπως στην περιοχή του βραχιόνιου πλέγματος μπορεί να φτάνει τα πέντε εκατοστά. Τα εν τω βάθει στρώματα του επινευρίου αποτελούνται από χαλαρό συνδετικό ιστό που βρίσκεται ανάμεσα στις δεσμίδες και τις συγκροτεί. . Το επινεύριο περιέχει πλούσιο αγγειακό δίκτυο που είναι υπεύθυνο για την θρέψη του νεύρου. Επίσης περιέχει ινοβλάστες και μακροφάγα. Αξίζει να σημειωθεί ότι το πάχος του επινευρίου μεταβάλλεται στην πορεία ενός νεύρου, φθάνοντας το 75%



της διαμέτρου του σε σημεία που το νεύρο δέχεται πίεση ή τριβή όπως είναι κοντά στις αρθρώσεις.(18)

### 1.3 ΝΕΥΡΙΚΗ ΑΙΜΑΤΩΣΗ

Για την πλήρη κατανόηση του μηχανισμού βλάβης ενός περιφερικού νεύρου καθώς και του τρόπου αποκατάστασης αυτής, είναι απαραίτητη η λεπτομερής γνώση της αγγείωσης τους.

Η λειτουργία των περιφερικών νεύρων απαιτεί ικανή ποσότητα ενέργειας που διασφαλίζεται από την πλούσια αιμάτωση που παρέχεται μέσω των διασυνδέσεων των αγγείων που βρίσκονται στο επινεύριο, στο περινεύριο και στο ενδονεύριο. Τα αγγεία του επινευρίου εκτείνονται επιμήκως και εμπλουτίζονται από τμηματικά εξωνευρικά αγγεία. Τα αγγεία που διατρέχουν το περινεύριο έχουν επιμήκη κατεύθυνση και αφού διανύσουν μεγάλη απόσταση στο περινεύριο, εισέρχονται στο ενδονεύριο με λοξή φορά. Το πέρασμα των αγγείων διαμέσου των στρωμάτων του περινευρίου τους δημιουργεί ένα μηχανισμό βαλβίδας που περιορίζει την παροχή αίματος στο ενδονεύριο.

Μέσα στις δεσμίδες υπάρχει ένα ενδονευρικό δίκτυο που αποτελείται κυρίως από τριχοειδή αγγεία, μικρές αρτηρίες και φλέβες. Έχει βρεθεί ότι τα επιμήκη ενδονεύρια αγγεία έχουν την ικανότητα να αντιρροπούν την πιθανή καταστροφή των εξωνευρικών αγγείων που προκαλείται κατά την μεταφορά ενός νεύρου.(27)

Η κατεύθυνση της αιματικής ροής στην ενδονευρια μικροκυκλοφορία δεν είναι σταθερή και μπορεί να μεταβληθεί αν το νεύρο υποστεί μία εξωτερική πίεση ή καταστραφεί ένα τμηματικό αγγείο προκειμένου να διατηρηθεί μια επαρκή παροχή αίματος. Αντίθετα έχει παρατηρηθεί ότι ο εξελκυσμος των νεύρων προκαλεί μεγάλη βλάβη στην ενδονεύρια μικροκυκλοφορία όπως για παράδειγμα η επιμήκης έλξη κατά 15% του κνημιαίου νεύρου προκαλεί πλήρη καταστροφή στην ενδονεύρια μικροκυκλοφορία.(28)

Υπάρχουν δυο μηχανισμοί εκλεκτικής μεταφοράς στην νευρική κυκλοφορία που εμποδίζουν την ανεξέλεγκτη μεταφορά ουσιών στο ενδονεύριο διατηρώντας

ένα σταθερό περιβάλλον γύρω από τις νευρικές ίνες. Ο ένας είναι ο αιματονευρικός φραγμός στον οποίο τα μικρά αγγεία του ενδονευρίου εμποδίζουν την μεταφορά πολλών ουσιών στο ενδονεύριο και ο άλλος είναι ο φραγμός διάχυσης διαμέσου του περινευρίου. (18)

Οι παραπάνω δύο μηχανισμοί παραβλάπτονται κυρίως με τραύματα ή με χειρουργικές επεμβάσεις στα περιφερικά νεύρα. Συγκεκριμένα η βιολογική απάντηση ενός περιφερικού νεύρου σε κάποιο τραύμα είναι μια φλεγμονώδη αντίδραση που προκαλεί μια αύξηση της διαπερατότητας των πρωτεϊνών από τα αγγεία. Τα αγγεία του επινευρίου είναι τα πρώτα στα οποία αυξάνει η διαπερατότητα μετά από κάποιο τραύμα και ακολουθεί η αύξηση της διαπερατότητας του αιματονευρικού φραγμού των αγγείων του ενδονευρίου με συνέπεια την δημιουργία ενδονευρίου οιδήματος αφού αυτός ο χώρος δεν περιέχει λεμφαγγεία.

Αν το τραύμα που έχει υποστεί ένα νεύρο είναι μετρίου βαθμού, τότε επηρεάζεται μόνο η διαπερατότητα των αγγείων του επινευρίου (διφασική αύξηση διαπερατότητας άμεσα και μετά από δυο εβδομάδες) και προκαλείται επινευρικό οίδημα. Εάν ο ερεθισμός του νεύρου είναι χρόνιος, τότε προκαλείται χρόνιο οίδημα του επινευρίου με επακόλουθη ίνωση αυτού και δυσλειτουργία του νεύρου.

Όταν το νεύρο υποστεί ένα σοβαρό τραύμα τότε επηρεάζεται ο αιματονευρικός φραγμός και δημιουργείται οίδημα εντός των δεσμίδων. Όταν αυτό διαρκεί για μεγάλο χρονικό διάστημα, τότε δημιουργείται ίνωση εντός του ενδονευρίου με αποτέλεσμα την σοβαρή έκπτωση της λειτουργίας των νευρικών ινών.(29)

## 1.4 ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΒΛΑΒΩΝ

Έχοντας γνώση της δομής του περιφερικού νεύρου είναι χρήσιμη η κατηγοριοποίηση των νευρικών βλαβών. Ο Seddon δημιούργησε μία κατάταξη τριών σταδίων.(30)

Ο πρώτος βαθμός νευρικής βλάβης κατά Seddon λέγεται νευροαπραξία και είναι η τοπική διακοπή της μετάδοσης του νευρικού ερεθίσματος. Στην νευροαπραξία διατηρείται η συνέχεια του νευρικού άξονα , αλλά η λειτουργική έκπτωση του νεύρου οφείλεται σε μια οξεία τοπική απομυελίνωση της νευρικής ίνας που είναι συνήθως αποτέλεσμα μιας τοπικής πίεσης του νεύρου. Η λειτουργία του νεύρου αποκαθίσταται όταν ανακατασκευαστεί το περίβλημα της μυελίνης.

Ο δεύτερος βαθμός κατά Seddon ονομάζεται αξονότμηση και ορίζεται ως η απώλεια της συνέχειας της νευρικής ίνας στο επίπεδο της νευρικής βλάβης. Συνήθως είναι το αποτέλεσμα μίας σοβαρής νευρικής πίεσης ή μίας νευρικής βλάβης από εξελκυσμό. Τέλος το στάδιο τρία αναφέρεται στην νευρότμηση στην οποία έχουμε λύση της συνέχειας του νεύρου. Σε τέτοιου είδους βλάβες είναι απαραίτητη η χειρουργική αποκατάσταση.

Σε αντίθεση με την παραπάνω κατάταξη που βασίζεται κυρίως σε λειτουργικά κριτήρια, ο Sunderland δημιούργησε μία κατάταξη με παθολογοανατομικά κριτήρια. Οι δύο πρώτοι βαθμοί αυτής της κατάταξης αντιστοιχούν σε αυτή κατά Seddon. Στο τρίτο στάδιο κατά Sunderland υπάρχει λύση της συνέχειας του νευρικού άξονα και του ενδονεύριου. Στον τέταρτο βαθμό υπάρχει καταστροφή και του περινευρίου. Τέλος στις πέμπτου βαθμού βλάβες υπάρχει πλήρη διατομή του νεύρου.(31)

## 1.5 ΝΕΥΡΙΚΗ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ

Με εξαίρεση τις νευρικές βλάβες πρώτου βαθμού, σε όλες τις άλλες ακολουθείται η διαδικασία της νευρικής αναγέννησης κάθε νευρικού άξονα, αφού πρώτα αντιμετωπισθεί χειρουργικά η λύση της συνέχειας του νεύρου στις περιπτώσεις της νευρότμησης.

Κατά την διαδικασία της νευρικής αναγέννησης τα προσβεβλημένα νευρικά κύτταρα υφίστανται μεταβολές τόσο κεντρικότερα όσο και περιφερικά της βλάβης προκειμένου να αναγεννηθεί ο νευρικός άξονας. Έτσι η βλάβη της νευρικής ίνας προκαλεί κεντρικά δομικές μεταβολές στο κυτταρικό σώμα, προκειμένου αυτό να είναι ικανό να παράγει αξονόπλασμα για την αναγέννηση της νευρικής ίνας.(32)

Οι κυριότερες μεταβολές στο κυτταρικό σώμα είναι η μετακίνηση του πυρήνα προς την περιφέρεια του σώματος και η εξαφάνιση του βασόφιλου υλικού από το κυτταρόπλασμα γεγονός που υποδηλώνει αποδιοργάνωση του ενδοπλασματικού δικτύου . Όσον αφορά σε βιοχημικό επίπεδο η νευρική βλάβη προκαλεί αύξηση της σύνθεσης του RNA και των πρωτεϊνων.

Έχει βρεθεί επίσης ότι επιβραδύνεται η μεταφορά ουσιών προς τον άξονα που έχουν να κάνουν με την μετάδοση του νευρικού ερεθίσματος ενώ παράλληλα επιταχύνεται η μεταφορά συστατικών σχετικών με την διαδικασία της αναγέννησης. Όλες αυτές οι μεταβολές πιθανόν είναι αποτέλεσμα της παλίνδρομης μεταφοράς ουσιών από τον άξονα προς το κυτταρικό σώμα καθώς και ουσιών που παράγονται από τα μη νευρικά κύτταρα.(33)

Μετά από μια νευρική βλάβη, στο κεντρικό κολόβωμα της νευρικής ίνας, κάθε άξονας εκφυλίζεται για μια απόσταση που αντιστοιχεί σε μερικούς σταθμούς του Ranvier, αφήνοντας το αντίστοιχο τμήμα του ενδονεύριου σαν σωλήνα άδειο. Μετά από κάποιο χρονικό διάστημα, το κεντρικό κολόβωμα κάθε άξονα σχηματίζει αρκετά τελικά και παράπλευρα νημάτια τα οποία έχουν μεγάλη κινητικότητα και προχωρούν προς την περιφέρεια και σχηματίζουν τον επονομαζόμενο κώνο ανάπτυξης. Το σύνολο αυτών τα οποία προχωρούν εντός

ενός ενδονεύριου σωλήνα ,αποτελούν την μονάδα αναγέννησης της νευρικής ίνας (65-68) . Με την πάροδο των εβδομάδων ο αριθμός των νευραξόνων που βρίσκονται σε κάθε τέτοια μονάδα μειώνεται μέχρι που στο τέλος παραμένει μόνο μια η ποια αναπτύσσεται και γίνεται εμμύελη. Όλη αυτή η διαδικασία έχει φανεί ότι επηρεάζεται από διάφορες ουσίες όπως είναι οι νευροτοφικοί παράγοντες. Κατά την διαδικασία της νευρικής αναγέννησης μετα από την χειρουργική αποκατασταση ενός νεύρου δημιουργούνται μικροδεσμίδες ,φαινόμενο το οποίο ονομάζεται διαμερισματοποίηση. (69)

Μετά από μια νευρότμηση ανάλογα φαινόμενα συμβαίνουν στο περιφερικό κολόβωμα κάθε νευρικής ίνας. Το πιο άμεσο γεγονός το οποίο συμβαίνει είναι η βαλλεριανή εκφύλιση (70-74) που είναι η αποδόμηση των νευρικών ίνων από έναν πρωτεολυτικό μηχανισμό που επηρεάζεται από το ασβέστιο. Το μεγαλύτερο μέρος αυτής της διαδικασίας ολοκληρώνεται εντός μίας εβδομάδας.

Προχωρώντας η διαδικασία της αναγέννησης, κάποιοι από τους άξονες του κώνου ανάπτυξης κατευθύνονται εκτός από το περιφερικό κολόβωμα, άλλοι προωθούνται εντός του για μικρή απόσταση και μόνο αυτοί στους οποίους δημιουργείται ένα περίβλημα από κύτταρα Schwann , δύναται να φτάσουν τα όργανα στόχους. Όταν αυτό επιτευχθεί τότε ακολουθεί η ωρίμανση και η αύξηση της διαμέτρου της νευρικής ίνας, γεγονός το οποίο υποστηρίζεται και από ουσίες που προέρχονται από τα όργανα στόχους. (75,76)

Επίσης εντός του πληγέντος νεύρου πολλαπλασιάζονται τα κύτταρα Schwann, οι ινοβλάστες και τα κύτταρα του ενδοθηλίου, εμφανίζονται μακροφάγα και δημιουργούνται νέα αγγεία.

Τα λειτουργικά αποτελέσματα της νευρικής αναγέννησης συχνά δεν είναι ικανοποιητικά κυρίως εξαιτίας της μεγάλης απόστασης που πρέπει να διασχίσει ο άξονας μέχρι τα όργανα στόχους και του κακού προσανατολισμού των αναγεννηθέντων νευρικών ινών.

Η λεπτομερής μελέτη του φαινομένου της νευρικής αναγέννησης έχει αποδείξει ότι υπάρχουν πολλοί παράγοντες που την επηρεάζουν. Ένας τέτοιος είναι οι νευροτροφικοί παράγοντες που παράγονται ή από τα όργανα στόχους ή από δομές των ίδιων των περιφερικών νεύρων όπως για παράδειγμα στα κύτταρα Schwann. Οι νευροτροφικοί παράγοντες λειτουργούν κυρίως στέλνοντας σήματα μέσω της παλίνδρομης μεταφοράς στο κυτταρικό σώμα του νευρικού κυττάρου, οδηγώντας το σε δομικές και βιοχημικές μεταβολές που είναι απαραίτητες για την υποστήριξη της αναγέννησης της κάθε νευρικής ίνας. Υπάρχουν και άλλοι μηχανισμοί με τους οποίους δρουν αυτοί οι παράγοντες όπως η προώθηση του σχηματισμού υποδοχέων για αυτούς στο σημείο της νευρικής βλάβης.(34)

Ένας από τους νευροτροφικούς παράγοντες που έχει αποδειχθεί ότι λειτουργούν ευεργετικά είναι ο NGF (nerve growth factor) ο οποίος αρχικά απομονώθηκε σε σαρκώματα αρουραίων και μετέπειτα βρέθηκε ότι παράγεται από τα εγκεφαλικά κύτταρα και τα κύτταρα Schwann. Άλλοι παράγοντες με παρόμοιες ιδιότητες είναι ο CNTF ( ciliary neurotrophic factor) ,ο BDNF (brain derived neurotrophic factor), ο FGF (fibroblast growth factor) ο οποίος επηρεάζει και την αγγειογένεση του περιφερικού νεύρου και ο IGF1( insulinlike growth factor 1).

Από την χειρουργική τεχνική εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό ο σωστός προσανατολισμός των δεσμίδων που επηρεάζει κατά πολύ το λειτουργικό αποτέλεσμα της νευρικής αναγέννησης. Επίσης το αποτέλεσμα της νευρικής αναγέννησης επηρεάζεται από τον νευροτροπισμό ,την ικανότητα δηλαδή του κεντρικού κολοβώματος της νευρικής ίνας να κατευθύνεται προς την περιφερική, και τις ουσίες που τον επηρεάζουν.(12)

Τέλος ουσίες όπως οι γλυκοπρωτεΐνες, η φιβρονεκτίνη η λαμίνη και ορμόνες όπως οι θυροειδικές και η τεστοστερόνη προάγουν την νευρική ανακατασκευή.

## **1.6 ΜΙΚΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΕΛΙΚΗΣ ΣΥΡΡΑΦΗΣ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΟΥ**

Η αποκατάσταση ενός περιφερικού νεύρου μπορεί να γίνει είτε υπό περιοχική είτε υπό γενική αναισθησία. Είναι απαραίτητη η παρουσία χειρουργικού μικροσκοπίου, εργαλείων μικροχειρουργικής καθώς και μικροραμμάτων. Οι τραυματικές διατομές ενσωματώνονται στις χειρουργικές τομές που καθιστούν την προσπέλαση κατάλληλη για την επαρκή κινητοποίηση του νεύρου.

Στις οξείες διατομές, μετά την εντόπιση των νευρικών κολοβωμάτων, γίνεται καθαρισμός αυτών από θρόμβους και νεαροποίηση τους με νυστέρι.

Στις παλαιές διατομές νευρών, στο κεντρικό κολόβωμα, είναι συχνή η δημιουργία νευρώματος από τις αναπλασσόμενες νευρικές ίνες και από την εναπόθεση κολλαγόνου. Ταυτόχρονα, στο περιφερικό κολόβωμα συμβαίνει ένας πολλαπλασιασμός των κυττάρων Schwann και των ινοκυττάρων και σχηματίζεται μία διόγκωση που ονομάζεται γλοιώμα. Πριν την χειρουργική συρραφή των κολοβωμάτων είναι απαραίτητη η εκτομή των δύο αυτών σχηματισμών.

Ο πιο συχνός τρόπος νευροραφής ονομάζεται επινευρική. Σε αυτή πραγματοποιούνται δύο έως τέσσερις ραφές, διά του επινευρίου, αναλόγως το πάχος του νεύρου. Εξαιτίας του σχηματισμού ουλώδους ιστού από τα ράμματα, προτιμούμε την τοποθέτηση του ελάχιστου δυνατού αριθμού ραμμάτων ώστε να επιτυγχάνεται η χαλαρή συμπλησίαση των κολοβωμάτων.

Τα επιμήκη αγγεία αποτελούν οδηγιά σημεία και σε συνδυασμό με το μέγεθος και την ανατομική θέση των δεσμίδων στα δύο κολοβώματα, βοηθούν τον χειρουργό στον προσανατολισμό των δεσμίδων.

Άλλου είδους νευροραφή είναι η περινευρική που διαφέρει από την προηγούμενη στο ότι οι ραφές τοποθετούνται διά του περινευρίου αφού πρώτα έχουν εντοπιστεί και διαχωριστεί οι νευρικές δεσμίδες. Αυτή η τεχνική είναι δυσκολότερη και απαιτεί περισσότερο χρόνο. Επιπλέον εάν τα ράμματα δεν



τοποθετηθούν σωστά, τότε προκαλούν μεγαλύτερη ουλοποίηση που παρεμποδίζει την προώθηση των αναγεννημένων νευραξόνων δίνοντας πτωχότερα λειτουργικά αποτελέσματα.

## **1.7 ΝΕΥΡΙΚΑ ΕΛΛΕΙΜΜΑΤΑ**

Ένα πολύ σημαντικό κεφάλαιο που απασχολεί συχνά τους χειρουργούς περιφερικών νεύρων, είναι ο τρόπος με τον οποίο αντιμετωπίζεται μια νευρική βλάβη όταν έχει προκύψει ένα νευρικό έλλειμμα. Αυτό μπορεί να έχει προκύψει είτε από κάποιο τραύμα που προκάλεσε τμηματική καταστροφή ενός τμήματος του νεύρου ή από καθυστερημένη συρραφή του που είχε σαν συνέπεια την απομάκρυνση των νευρικών κολοβωμάτων. Άλλοι λόγοι είναι οι νευρικές κακώσεις στις οποίες δεν έχει χαθεί η συνέχεια του νεύρου και η τμηματική εκτομή του νεύρου λόγω κάποιου όγκου. Ο στόχος του χειρουργού σε τέτοιες περιπτώσεις είναι η κατάλληλη επιλογή θεραπείας ώστε να προκύψουν τα καλύτερα λειτουργικά αποτελέσματα.

Η κινητική και η αισθητική ανανέωση είναι συνήθως ανέφικτη όταν συνυπάρχει βαριά νευρική βλάβη και καταστροφή των νευρούμενων ιστών από κάποιο έγκαυμα ή από κάποιο τραυματισμό υψηλής ενέργειας. Η καλύτερη επιλογή θεραπείας είναι οι τενοντομεταφορές και η μεταφορά νευραγγειούμενων δερματικών κρημνών.(35)

Όταν δεν έχουμε βλάβη των νευρούμενων ιστών, πρέπει η επιλογή της χειρουργικής τεχνικής που θα χρησιμοποιήσουμε να έχει σαν κύριο κριτήριο την αποκατάσταση της συνέχειας του περιφερικού νεύρου χωρίς τάση.

Η τάση είναι ένα φαινόμενο που πρέπει να αποφεύγεται στην χειρουργική αποκατάσταση ενός νευρικού ελλείμματος εξαιτίας της δυσκολίας στον καθορισμό του ορίου μέχρι του οποίου διατηρείται η ακεραιότητα της συρραφής και της αιματικής ροής στα νευρικά κολοβώματα. Σε πολλές πειραματικές μελέτες

αποδείχτηκε ότι μία επιμήκυνση του νεύρου της τάξης του 5% προκαλεί μια σοβαρή έκπτωση της νευρικής λειτουργίας και μια ικανού βαθμού μείωση της αιματικής ροής στο νεύρο. ενώ μια επιμήκυνση της τάξης του 15% έχει ως συνέπεια την πλήρη διακοπή της αιματικής ροής.(28,36)

Έχει επίσης αποδειχθεί ότι το όριο της επιμήκυνσης ενός νεύρου κατά την άμεση συρραφή, χωρίς να τίθεται αυτή σε κίνδυνο είναι περίπου 17% . Με βάση τα παραπάνω ο Lundborg και ο Rydevik έχουν ορίσει σαν όριο το 8-10% στην επιμήκυνση του νεύρου κατά την άμεση συρραφή. Μια τετοιου βαθμού επιμήκυνση προκαλεί μείωση στην αιματική ροή του κατά 50%.(28)

Με την καθυστερημένη χειρουργική αποκατάσταση των νεύρων με τμηματικά ελλείμματα , όπου η ίνωση και η βαλλεριανή εκφύλιση έχει προχωρήσει, η ελαστικότητα του έχει μειωθεί κατά 50% με αποτέλεσμα η επιμήκυνση του να είναι περισσότερο προβληματική.(37)

Μελέτες για την μεταβολή της ελαστικότητας των υπό τάση επισκευασμένων χειρουργικά νεύρων έχει αναδείξει ότι αυτά προσαρμόζουν την τάση τους μειώνοντας την με την πάροδο του χρόνου.(stress relaxation). Επίσης έχει αποδειχθεί ότι και τα οξέως και τα χρονίως διατηθέντα νεύρα παρουσιάζουν οξωελαστικές ιδιότητες.(12)

Το stress relaxation των περιφερικών νεύρων σχετίζεται με την αύξηση της αιματικής ροής με τον χρόνο. Σημειώνεται ότι η αιματική ροή των από ημερών διατηθέντων νεύρων είναι μεγαλύτερη από αυτή των οξέων διατηήσεων λόγω της ανάπτυξης νέων αγγείων με το πέρασμα του χρόνου. Έχει βρεθεί ότι η αιμάτωση ενός νεύρου που έχει επιμηκυνθεί κατά 8% , αποκαθίσταται σε 30 λεπτά.(38)

Συμπερασματικά πρέπει να τονιστεί ότι οι οξείες και οι καθυστερημένες χειρουργικές αποκαταστάσεις των περιφερικών νεύρων αποτυγχάνουν όταν το νεύρο επιμηκύνεται κατά περίπου 17% γεγονός που οφείλεται κυρίως στην ισχαιμία που προκαλείται και όχι στην αποτυχία της ραφής.(18)

## 1.8 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΜΕΙΩΣΗΣ ΤΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΕΛΛΕΙΜΜΑΤΟΣ

Υπάρχουν τέσσερις τεχνικές με τις οποίες έχουμε την δυνατότητα να προβούμε σε τελικοτελική συρραφή των νευρικών ελλειμμάτων χωρίς τάση.(18)

Η πιο σύνηθης και απλή μέθοδος είναι αυτή της κινητοποίησης των νευρικών κολοβωμάτων που έγκειται στην απελευθέρωση αυτών από τις ανατομικές δομές που έρχονται σε επαφή, την απελευθέρωση των κολοβωμάτων από τις προσφύσεις με το μεσονεύριο, την κινητοποίηση των νευρικών κλάδων και περιστασιακά επινευρόλυση.

Άλλη συχνή τεχνική για να πετύχουμε την συμπλησίαση των νευρικών κολοβωμάτων είναι η μεταφορά του νεύρου από την θέση του σε κάποια άλλη ώστε να διαγράφει μια πιο ευθεία πορεία. Έτσι μπορούμε να κερδίσουμε αρκετά εκατοστά μήκους που είναι χρήσιμα στην χαλάρωση της τάσης του νεύρου. Την τεχνική αυτή την χρησιμοποιούμε κυρίως στο ωλένιο νεύρο στον αγκώνα, στον παλίνδρομο κινητικό κλάδο του ωλένιου νεύρου στον καρπό, και στο κοινό περνιαίο νεύρο αφαιρώντας την κεφαλή της περόνης.

Μια λιγότερο συχνή μέθοδος για την μείωση της τάσης στο σημείο που θέλουμε να κάνουμε την συρραφή είναι ο περιορισμός του εύρους κίνησης μιας άρθρωσης στις γωνίες που το νεύρο δεν βρίσκεται υπό τάση. Όταν αυτή η πρακτική χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με τις προηγούμενες τεχνικές, τότε η τάση του νεύρου μειώνεται περαιτέρω. Για παράδειγμα, η πρόσθια μεταφορά του ωλένιου νεύρου όχι μόνο αυξάνει το μήκος του από την κινητοποίηση του αλλά πολλαπλασιάζει το αποτέλεσμα από την μεταφορά του νεύρου εντός του κέντρου περιστροφής του αγκώνα κάνοντας έτσι απαραίτητη την μείωση του εύρους κάμψης του αγκώνα.

Μία συντηρητική μέθοδος για την διόρθωση της θέσης της άρθρωσης αρχίζει δύο με τρεις εβδομάδες μετά την συρραφή του νεύρου και έγκειται σε αύξηση κατά δέκα μοιρών εβδομαδιαίως του εύρους κίνησης της άρθρωσης. Η άλλη

μέθοδος είναι η αποκατάσταση του περιορισμού του εύρους κίνησης σε τρία ισόποσα στάδια εντός έξι εβδομάδων.

Η τέταρτη τεχνική για την μείωση της τάσης στο σημείο συρραφής του νεύρου χρησιμοποιείται όταν έχουμε μεγάλα και πολλαπλά νευρικά ελλείμματα στο άνω άκρο που συνοδεύονται με κατάγματα και είναι η βράχυνση των οστών που μπορεί να συνδυαστεί και με τις προαναφερθείσες μεθόδους.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΓΕΦΥΡΩΣΗ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΕΛΛΕΙΜΜΑΤΩΝ

### **2.1 ΝΕΥΡΙΚΑ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΑ**

Για πρώτη φορά χρησιμοποιήθηκε νευρικό μόσχευμα σε ανθρώπους το 1876 από τον Albert. Μετέπειτα επιτυχείς επεμβάσεις με νευρικά μοσχεύματα πραγματοποιήθηκαν από τον Bunnel και τον Balance. Ο Seddon ανέπτυξε την τεχνική του cable grafting όπου αρκετά τμήματα δερματικών νεύρων συγκρατούνται μαζί με ραφές και δημιουργούν ένα μόσχευμα ίδιας περιόδου διαμέτρου με το νεύρο προς επισκευή. Η τεχνική των αγγειούμενων νευρικών μοσχευμάτων πρωτοεφαρμόστηκε από τον Strange το 1947. (39-42)

Αρχικά εξαιτίας των πτωχών αποτελεσμάτων των πρώτων προσπαθειών με τα νευρικά μοσχεύματα, η τεχνική αυτή χρησιμοποιούνταν μόνο όταν οι προσπάθειες με όλες τις προηγούμενες τεχνικές είχαν εξαντληθεί. Με την πάροδο των χρόνων τα αποτελέσματα των νευρικών μοσχευμάτων έγιναν πιο αξιόπιστα αφού αναγνωρίστηκαν δύο βασικοί λόγοι πρώιμης αποτυχίας.

Πρώτον το ελεύθερο νευρικό μόσχευμα πρέπει να συρράπτεται με τα κολοβώματα του νεύρου χωρίς καμία τάση. Δεύτερον, αν κάποιο δερματικό νευρικό μόσχευμα χρησιμοποιείται για την γεφύρωση νευρικού ελλείμματος μεγαλύτερου νεύρου, είναι προτιμότερο να κάνουμε πρώτα διαχωρισμό των δεσμίδων του μοσχεύματος με μικροχειρουργική τεχνική και έπειτα να προβαίνουμε στην γεφύρωση του νευρικού ελλείμματος με δεσμιδική ραφή χωρίς τάση.

Τα νευρικά μοσχεύματα κατατάσσονται με βάση την προέλευσή τους σε αυτομοσχεύματα όταν προέρχονται από τον ίδιο οργανισμό ενώ όταν λαμβάνουμε μόσχευμα από ένα άλλο άτομο του ίδιου είδους ονομάζεται αλλομόσχευμα και όταν αυτό προέρχεται από άλλο είδος ονομάζεται ξενομόσχευμα.

Για να κατανοήσουμε τα πιθανά προβλήματα που μπορεί να προκύψουν από την χρήση νευρικών μοσχευμάτων πρέπει να αναφερθούμε σε κάποιες γενικές θεωρήσεις.

Ένα αυτόλογο νευρικό μόσχευμα συμπεριφέρεται σαν το περιφερικό κολόβωμα του διατμηθέντος νεύρου , όταν αυτό ληφθεί από το νεύρο δότη και γίνει συρραφή του στο νεύρο λήπτη προκειμένου να γεφυρώσει ένα νευρικό έλλειμμα. Υφίσταται ,δηλαδή, την βαλεριανή εκφύλιση, ενώ τα δομικά στοιχεία που είναι από συνδετικό ιστό παραμένουν αναλλοίωτα και παράλληλα διατηρούνται τα κύτταρα Schwann.

Έτσι οι αναγεννημένοι νευράξονες που εξέρχονται από την άκρη του κεντρικού κολοβώματος του διατμηθέντος νεύρου και εισέρχονται στο εγγύς τμήμα του νευρικού μοσχεύματος , συναντούν τις ίδιες συνθήκες που θα συναντούσαν αν η συρραφή γίνονταν με το περιφερικό κολόβωμα του νεύρου χωρίς τάση. Η μόνη διαφορά είναι ότι στην περίπτωση που παρεμβάλλεται νευρικό μόσχευμα , οι αναγεννημένες νευρικές ίνες πρέπει να διαπεράσουν και την ένωση μεταξύ του περιφερικού άκρου του μοσχεύματος και του περιφερικού κολοβώματος του νεύρου. Το αυτόλογο νευρικό μόσχευμα προσφέρει όλα όσα χρειάζεται η νευρική ίνα για την αναγέννηση της , μέσω των κύτταρων Schwann. Με ανάλογο τρόπο λειτουργεί και το φρέσκο αλλομόσχευμα με την διαφορά ότι σε αυτή την περίπτωση είναι απαραίτητη η ανοσοκαταστολή προκειμένου να μην ξεκινήσει η διαδικασία της απόρριψης του μοσχεύματος που προκαλεί την ίνωση του και τελικά την μη λειτουργία του.(12,18)

Στα διατηρημένα αλλομοσχεύματα με διάφορες μεθόδους δεν υπάρχουν ζωντανά κύτταρα (κύτταρα Schwann) , όμως διατηρούνται οι δομές κολλαγόνου. Η διαδικασία της αναγέννησης διαμέσου αυτού του είδους των αλλομοσχευμάτων πραγματοποιείται με την προώθηση των αναγεννημένων αξόνων μέσα στα μοσχεύματα με την συνοδεία κύτταρων Schwann, ενδοθηλιακών κυττάρων, τριχοειδών αγγείων και περινευρικών ινοβλαστών που παράγουν ένα περινευρικό περίβλημα γύρω από μια ομάδα αξόνων σχηματίζοντας μικροδεσμίδες.

Ένα δερματικό νεύρο ή ένα νευρικό στέλεχος μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μόσχευμα. Η λήψη ενός δερματικού νεύρου δεν προκαλεί μία σοβαρή λειτουργική απώλεια και είναι προτιμότερο να εκτελείται όσο το δυνατόν πιο κεντρικά ώστε να ελαττώσουμε την πιθανότητα του ερεθισμού από το νευρικό κολόβωμα που προκαλείται από τον σχηματισμό νευρώματος. Τα δερματικά νεύρα είναι σχετικά λεπτά γεγονός που ευνοεί την επιβίωση τους όταν λαμβάνονται ως ελεύθερα μοσχεύματα.

Εξαιτίας της νοσηρότητας της λήπτριας περιοχής από την λήψη ενός μεγάλου νευρικού στελέχους ως αυτομόσχευμα ,τα στελέχη αυτά χρησιμοποιούνται μόνο σε ειδικές περιπτώσεις όπως είναι όταν το νεύρο βρίσκεται σε κάποιο ακρωτηριασμένο μέλος ή όταν οι μύες που νευρώνει έχουν καταστραφεί ή δεν προκειται να λειτουργήσουν παρά την ύπαρξη του νεύρου αυτού. Για παράδειγμα όταν έχουμε εξελκυσμό του βραχιονίου πλέγματος που δεν αναλαμβάνει , μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε ως αυτομόσχευμα ένα νευρικό στέλεχος όπως το μέσο ή το ωλένιο νεύρο.

Επειδή τα νευρικά στελέχη έχουν μεγάλο σχετικά πάχος , είναι απαραίτητη όποτε είναι δυνατόν η διαφύλαξη της αιμάτωσης τους, χρησιμοποιούμενα ως αγγειούμενα νευρικά μοσχεύματα.

Το νευρικό έλλειμμα που δημιουργείται ως συνέπεια τραυματισμού ενός περιφερικού νεύρου , αυξάνεται κατά την χειρουργική επέμβαση μετά από την εκτομή του νευρικού ιστού που έχει υποστεί βλάβη ή ίνωση στα δύο κολοβώματα του νεύρου. Η απόσταση η οποία προκύπτει , όταν η βλάβη είναι πλησίον μιας άρθρωσης, εξαρτάται από την θέση αυτής.

Στην επιλογή του μήκους του μοσχεύματος πρέπει να λαμβάνεται υπόψη και αυτή η παράμετρος. Αυτό γιατί αν επιλεγεί το μήκος του μοσχεύματος με βάση την απόσταση των κολοβώματων σε μία θέση της άρθρωσης που αυτά τείνουν να συμπλησιάζονται, τότε το μόσχευμα μετά την τοποθέτηση του θα βρίσκεται σε τάση σε ορισμένες θέσεις της άρθρωσης γεγονός που θα θέτει σε κίνδυνο και την συρραφή του και την αιμάτωση του (ειδικά αν το μόσχευμα δεν είναι αγγειούμενο).

Αντίθετα αν επιλέξουμε το μήκος του μοσχεύματος σε θέση της άρθρωσης όπου τα κολοβώματα τείνουν να απομακρύνονται, τότε δεν δημιουργείται τάση σε καμία θέση της άρθρωσης μετεγχειρητικά. Ένα συχνό λάθος είναι ότι ενώ επιλέγεται το σωστό μήκος του μοσχεύματος με βάση τα παραπάνω, γίνεται ακινητοποίηση της άρθρωσης στην θέση της μέγιστης χαλάρωσης του νευρικού μοσχεύματος. Αυτό έχει σαν συνέπεια την δημιουργία συμφύσεων με αποτέλεσμα να υφίσταται τάση το μόσχευμα κατά την έναρξη της πλήρους κινητοποίησης της άρθρωσης με ότι αυτό συνεπάγεται.

Η αιμάτωση των νευρικών μοσχευμάτων είναι ένα κεφάλαιο που έχει μελετηθεί πολύ γιατί η επιβίωση του νευρικού μοσχεύματος σημαίνει ότι επιβιώνουν τα κύτταρα Schwann και ότι το μόσχευμα λειτουργεί όπως το περιφερικό κολόβωμα του νεύρου.

Τα ελεύθερα νευρικά μοσχεύματα επαναγγειωνονται αυτόματα από τοπικά αγγεία που αναστομώνονται με τα αγγεία του μοσχεύματος. Για να επιτευχθεί αυτό πρέπει να υπάρχει στην περιοχή επαρκής αιμάτωση και το νευρικό μόσχευμα να μην έχει μεγάλο πάχος. Η επαναγγείωση του γίνεται μέσω των συμφύσεων που δημιουργούνται τοπικά που με την σειρά τους προκαλούν μείωση της κινητικότητας του νεύρου.

Ένας πιο ασφαλής τρόπος να διαφυλαχτεί η αιμάτωση και η βιωσιμότητα του μοσχεύματος είναι η χρήση νευρικών μοσχευμάτων που διατηρούν την αιματώσή τους μέσω κρημνών ή που διατηρούν αγγεία που αναστομώνονται με τοπικά αγγεία στην περιοχή που τοποθετούνται με τεχνικές μικροχειρουργικής. Πρέπει να σημειωθεί ότι τα αγγειούμενα νευρικά μοσχεύματα είναι λιγότερο ευαίσθητα στην τάση.

Στην κλινική πράξη το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο νεύρο που λειτουργεί ως δότης νευρικού μοσχεύματος είναι το γαστροκνήμιο νεύρο ( sural nerve ). Αυτό εκφύεται από το κνημιαίο νεύρο, σχηματίζοντας μία ξεχωριστή δεσμιδική ομάδα εντός αυτού κεντρικότερα του ιγνυακού βόθρου. Αρχικά πορεύεται ανάμεσα στις δύο κεφαλές του γαστροκνημίου μυός και στην συνέχεια διαπερνά την περιτονία



τους και πορεύεται στο υποδόριο μαζί με την ελάσσονα σαφηνή φλέβα. Εκεί ενώνεται με το έξω γαστροκνήμιο νεύρο που είναι κλάδος του περονιαίου νεύρου. Το μέγεθος αυτού του κλάδου ποικίλει από αμελητέο ως να αποτελεί το μοναδικό νεύρο από το οποίο συνέχεται το γαστροκνήμιο νεύρο.

Το γαστροκνήμιο νεύρο ( sural nerve ) είναι 30-40 εκατοστά και ανευρίσκεται εύκολα στο έξω τμήμα της ποδοκνημικής μέσω μιας μικρής τομής. Εν συνεχεία μέσω μίας ή δύο επιπλέον τομών επί της πορείας του νεύρου , γίνεται προσεκτική παρασκευή και λήψη αυτού μέχρι το σημείο που διαπερνά την περιτονία του γαστροκνημίου.

Το γαστροκνήμιο νεύρο (sural nerve) είναι ένα ιδανικό νεύρο για αυτομόσχευμα, εξαιτίας του ότι ξεκινά σαν μονοδεσμιακό νεύρο και στην πορεία του αποτελείται από πολλές μικρές δεσμίδες. Έτσι αν πρέπει να γεφυρώσουμε ένα μικρό νευρικό έλλειμμα , έχοντας κάνει λήψη όλου του γαστροκνήμιου νεύρου , μπορούμε να επιλέξουμε το τμήμα του που περιέχει ανάλογο αριθμό δεσμίδων με το νεύρο προς γεφύρωση.

Δεύτερη επιλογή νευρικού μοσχεύματος αποτελεί το έσω δερματικό νεύρο του αντιβραχίου που εκφύεται απευθείας από το έσω δευτερέων στέλεχος του βραχιονίου πλέγματος. Αυτό το νεύρο λαμβάνεται μέσω τριών εγκάρσιων τομών ή μιας επιμήκουσ στην έσω πλευρά του αντιβραχίου και μπορούμε να έχουμε ένα μόσχευμα είκοσι εκατοστών μήκους.

Άλλες επιλογές μοσχευμάτων είναι το έξω δερματικό νεύρο του μηρού που έχει μήκος περίπου τριάντα εκατοστά, το ραχιαίο δερματικό νεύρο του αντιβραχίου , το έξω δερματικό νεύρο του αντιβραχίου , το επιπολής κερκιδικό νεύρο και τέλος το σαφηνές νεύρο που έχει μήκος σαράντα εκατοστά και χρησιμοποιείται κυρίως σαν αγγειούμενο μόσχευμα.(12)

## **2.2 ΜΙΚΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΕΧΝΙΚΗ ΓΕΦΥΡΩΣΗΣ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΕΛΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΜΕ ΝΕΥΡΙΚΑ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΑ**

Κατά την χειρουργική αποκατάσταση των νεύρων πρωταρχική σημασία έχει η ένωση των αντίστοιχων περιοχών του κεντρικού και του περιφερικού κολοβώματος του διατμηθέντος νεύρου. Έχει βρεθεί ότι υπάρχει δεσμιδική αντιστοιχία των αναγεννημένων αξόνων και των τελικών οργάνων στόχων.(43)

Έτσι λοιπόν είναι εξαιρετικά σημαντικό ο χειρουργός να αναγνωρίσει τον αρχικό προσανατολισμό των νευρικών κολοβωμάτων στο χώρο. Αυτό γίνεται παρασκευάζοντας το κεντρικό και περιφερικό κολόβωμα μέχρι το σημείο που δίνουν τον πρώτο μεγάλο κλάδο. Όταν η βλάβη βρίσκεται σε ένα περιφερικό σημείο ενός νεύρου, τότε πρέπει να γίνει παρασκευή του νεύρου μέχρι τον διαχωρισμό του.

Από μελέτες του Sunderland προκύπτει ότι η δεσμιδική τοπογραφία ενός νεύρου αλλάζει γρήγορα κατά μήκος της διαδρομής του. Αντίθετα η τοπογραφία των δεσμιδικών ομάδων παραμένει σταθερή για μεγαλύτερη απόσταση. (44-47)

Αν η δεσμιδική θέση στο περιφερικό κολόβωμα και ο προσανατολισμός του κεντρικού κολοβώματος οριστούν , τότε μπορεί να γίνει μια ορθή εκτίμηση των περιοχών των δύο κολοβωμάτων που πρέπει να αντιστοιχιστούν με την χειρουργική αποκατάσταση.

Διάφορες τεχνικές έχουν χρησιμοποιηθεί για την αναγνώριση των αισθητικών και κινητικών νευρικών ίνων. Σε πολλές περιπτώσεις αυτό είναι δύσκολο γιατί , ειδικά στις βλάβες των περιφερικών νεύρων σε κεντρικό επίπεδο , οι δεσμίδες περιέχουν και κινητικές και αισθητικές ίνες.

Αφού γίνει η διερεύνηση, η παρασκευή και ο σωστός προσανατολισμός των νευρικών κολοβωμάτων, συνεχίζουμε κάνοντας εκτομή του νεοσχηματιζόμενου νευρώματος. Αυτό προκαλεί αύξηση της απόστασης μεταξύ των δύο

κολοβωμάτων. Μετά καθορίζεται ο αριθμός των τμημάτων του νεύρου δότη με βάση το πάχος αυτού και το πάχος του νεύρου προς αποκατάσταση. Το μήκος του κάθε τμήματος πρέπει να είναι 10% μακρύτερο από την απόσταση των δύο κολοβωμάτων με την άρθρωση σε θέση έκτασης.

Το επόμενο βήμα είναι η συμπλησίαση και η σύρραφη του ενός άκρου του νευρικού μοσχεύματος με την άκρη του σωστά προσανατολισμένου κεντρικού κολοβώματος. Στη συνέχεια γίνεται το αντίστοιχο με την άλλη άκρη του μοσχεύματος και το περιφερικό κολοβώμα. Ανάλογα του μεγέθους και των δεσμίδων του νεύρου προς χειρουργική αποκατάσταση, αυτά τα βήματα εκτελούνται με διαφορετικούς τρόπους.

Σε ένα μικρό νεύρο διαμέτρου πλησίον αυτής του δερματικού νευρικού μοσχεύματος είναι απαραίτητο ένα μόνο τμήμα νευρικού μοσχεύματος. Το μόσχευμα συμπλησιάζεται στα νευρικά κολοβώματα με ένα ράμμα το οποίο ασφαλίζεται στο επινεύριο του μοσχεύματος και του κολοβώματος. Στη συνέχεια χρησιμοποιούμε άλλα δύο ράμματα για να ασφαλιστεί η συρραφή του νεύρου με το μόσχευμα.

Για ένα πολύ μικρό νεύρο διαμέτρου μικρότερης του δερματικού νευρικού μοσχεύματος, χρησιμοποιούμε μόνο ένα μέρος του μοσχεύματος που παρασκευάζεται με επιμήκη διαχωρισμό του μοσχεύματος με την μικροχειρουργική τεχνική. Έπειτα τοποθετούμε το πολύ λεπτό νευρικό μόσχευμα στο νευρικό κενό συμπλησιάζοντας τα άκρα του μοσχεύματος με τις άκρες των κολοβωμάτων. Μετά από λίγα λεπτά παράγεται ινική που κρατά το μόσχευμα ενωμένο στα άκρα των κολοβωμάτων.

Στην περίπτωση που πρέπει να γεφυρώσουμε ένα νευρικό στέλεχος πολύ μεγαλύτερο σε πάχος από το νευρικό μόσχευμα, ο τρόπος γεφύρωσης του εξαρτάται από το πλήθος των δεσμίδων που περιέχει το νεύρο σε κάθε σημείο του. Συγκεκριμένα μπορεί να συναντήσουμε σε ένα νεύρο πέντε είδη διάταξης των δεσμίδων που περιέχουν.

Στο πρώτο το νεύρο αποτελείται από μία μεγάλη δεσμίδα και λέγεται μονοδεσμιδικό.

Όταν το νεύρο περιέχει μέχρι τέσσερις μεγάλες δεσμίδες ονομάζεται ολιγοδεσμιδικό.

Στο τρίτο είδος το νεύρο περιέχει 5-10 δεσμίδες μεσαίου μεγέθους, όμοιες με αυτές του νευρικού μοσχεύματος και λέγεται ολιγοδεσμιδικό.

Το τέταρτο είδος νεύρου ονομάζεται πολυδεσμιδικό και αποτελείται από περισσότερες από 10-12 μικρές δεσμίδες που είναι οργανωμένες σε ομάδες. Τέλος υπάρχουν νεύρα που λέγονται πολυδεσμιδικά και αποτελούνται από πολλές μικρές δεσμίδες που είναι τοποθετημένες διάχυτα εντός του νεύρου.

Στα κεντρικά επίπεδα, κοντά στην αρχή τους, τα περιφερικά νεύρα παρουσιάζουν συχνά μονοδεσμιδική ή ολιγοδεσμιδική διάταξη και αποτελούνται στην διατομή τους από υψηλό ποσοστό δεσμιδικού ιστού και χαμηλό ποσοστό μη δεσμιδικού ιστού. Προχωρώντας προς την περιφέρεια μικρά τμήματα νεύρου με πολυδεσμιδική διάχυτη διάταξη και με εναλλαγή της κατεύθυνσης των νευρικών ινών ακολουθούνται από μακρύτερα τμήματα με πολυδεσμιδική ομαδοποιημένη διάταξη χωρίς εναλλαγή της κατεύθυνσης των νευρικών ινών.

Έτσι λοιπόν όταν θέλουμε να γεφυρώσουμε ένα νεύρο που παρουσιάζει ολιγοδεσμιδική διάταξη χρησιμοποιώντας ένα δερματικό νεύρο, προχωρούμε στην ένωση κάθε δεσμίδας με έναν αριθμό τμημάτων του δερματικού νεύρου, χωρίς να γίνει εκτομή του επινευρίου, ώστε να καλυφθεί όλη η διάμετρος της δεσμίδας από μόσχευμα. Συνήθως είναι απαραίτητα δύο ή τρία μόσχευμα για κάθε τέτοιου είδους δεσμίδα.

Σε ένα νεύρο με ολιγοδεσμιδική διάταξη (5-12 δεσμίδες), το μέγεθος των δεσμίδων είναι περίπου όσο το πάχος του δερματικού νευρικού μοσχεύματος. Αυτό κάνει εφικτή την ένωση κάθε τμήματος του μοσχεύματος με μία δεσμίδα. Στα νεύρα με τέτοια διάταξη των δεσμίδων, η σχέση μεταξύ του δεσμιδικού και του μη δεσμιδικού ιστού είναι λιγότερο ευνοϊκή για τις δεσμίδες. Έτσι για να

αποφευχθεί η ένωση ενός μοσχεύματος με μη νευρικό ιστό είναι χρήσιμη η μερική μικροχειρουργική εκτομή του επινευρίου ώστε να αναγνωριστούν καλύτερα οι δεσμίδες. Κατόπιν γίνεται η συρραφή μεταξύ του επινευρίου του κάθε νευρικού μοσχεύματος και του εναπομείναντος επινευρίου κάθε δεσμίδας με ένα συνήθως ράμμα.

Στα νεύρα με πολυδεσμιδική διάταξη των δεσμίδων σε ομάδες, παρατηρούμε στην διατομή τους ομάδες δεσμίδων οι οποίες χωρίζονται μεταξύ τους με το εσωτερικό μέρος του επινευρίου. Σε αυτήν την περίπτωση το ποσοστό του μη δεμιδικού ιστού είναι πολύ υψηλό οπότε είναι απαραίτητη η εκτομή του επινευρικού ιστού για την σωστή αντιστοίχιση των δεσμίδων με το μόσχευμα. Στη συνέχεια ακολουθούμε παρόμοια τεχνική με αυτή που χρησιμοποιούμε στην γεφύρωση ελλειμμάτων σε νεύρα που έχουν ολιγοδεσμιδική διάταξη των δεσμίδων με τη διάφορα ότι κάθε τμήμα νευρικού μοσχεύματος ενώνεται με μία ομάδα δεσμίδων.

Στην περίπτωση των πολυδεσμιδικών τμημάτων νεύρου χωρίς κάποια ομαδοποίηση των δεσμίδων, η σχέση του δεσμιδικού ιστού και του μη είναι πολύ μικρή με αποτέλεσμα η πιθανότητα λάθους αντιστοίχισης των δεσμίδων να είναι μεγάλη. Χειρουργικά κάνουμε συρραφή κάθε τμήματος του νευρικού μοσχεύματος με μία αντίστοιχου εμβαδού επιφάνειας της εγκάρσιας διατομής του κολοβώματος.

Σε όλες τις περιπτώσεις η φορά του τοποθέτησης του νευρικού μοσχεύματος δεν έχει φανεί να επηρεάζει το αποτέλεσμα.

Στο παρελθόν πολλοί ερευνητές χρησιμοποιούσαν μόνο ινική για την συγκράτηση των νευρικών μοσχευμάτων. Με την πάροδο των χρόνων αποδείχτηκε ότι καλύτερα αποτελέσματα έχουμε όταν χρησιμοποιούμε την ινική συνεπικουρικά με τις ραφές.(48)

## 2.3 ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΛΟΓΗ ΤΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΟΣ

Ένα ιδανικό νευρικό μόσχευμα θα πρέπει να ταιριάζει με το νεύρο που θα γεφυρώσει στον αριθμό των αξόνων ,στην εσωτερική νευρική τοπογραφία του, στην πιθανή ύπαρξη κλάδων και στο μήκος του. Στην κλινική όμως πράξη , ο χειρουργός επιλέγει το μόσχευμα με κριτήρια την διάμετρο της εγκάρσιας διατομής του , το συνολικό του μήκος και την νοσηρότητα της δότριας περιοχής.

Για όσον αφορά την διάμετρο της διατομής του μοσχεύματος είναι δυνατόν , αλλά όχι πάντα εφικτό , να γεφυρωθεί ένα έλλειμμα ενός μεγάλου νεύρου (όπως για παράδειγμα κάποιου στελέχους του βραχιονίου πλέγματος) χρησιμοποιώντας σαν νευρικό μόσχευμα ένα τμήμα νεύρου που έχει μία αντίστοιχη διατομή και παρόμοια δεσμιδική κατανομή.(18)

Πιο συχνά όμως η αποκατάσταση των μεγάλων νευρικών στελεχών γίνεται με την χρήση πολλών τμημάτων νευρικού μοσχεύματος μικρότερης διαμέτρου. Κάθε τέτοιο τμήμα περιέχει έναν ορισμένο αριθμό νευρικών αξόνων και ενώνεται χειρουργικά με μια ομάδα δεσμίδων που συνολικά έχουν διάμετρο ίση με αυτήν του μοσχεύματος. Επίσης εξαιτίας της μικρής διαμέτρου των μοσχευμάτων αυτών, κάθε τέτοιο αιματώνεται με διάχυση με αποτέλεσμα να παρατηρείται γρήγορη επαναγγείωση αυτών.

Σε ότι αφορά το μήκος που πρέπει να διαθέτει το νεύρο που θα χρησιμοποιηθεί σαν δότης , αυτό εξαρτάται από το μήκος του ελλείμματος και από το είδος του νεύρου που πρέπει να αποκαταστήσουμε. Για παράδειγμα για την αποκατάσταση λεπτών νεύρων όπως τα δακτυλικά όπου απαιτείται μόνο ένα τεμάχιο για την γεφύρωση του ελλείμματος , το μήκος του νεύρου δότη μπορεί να είναι λίγο μεγαλύτερο από το έλλειμμα. Αντίθετα όταν θέλουμε να γεφυρώσουμε ένα νεύρο μεγάλης διαμέτρου , πρέπει να είναι πολλαπλάσιο του μήκους του ελλείμματος που θέλουμε να αποκαταστήσουμε εξαιτίας της χρήσης πολλών λεπτών τμημάτων μοσχεύματος για την κάλυψη του εμβαδού της διατομής του διατμηθέντος νεύρου.

Σε τέτοιες περιπτώσεις χρησιμοποιούμε συχνά το γαστροκνήμιο νεύρο που έχει μεγάλο μήκος.

Η νοσηρότητα της δότριας περιοχής είναι συχνά ένα πρόβλημα για την λήψη των μοσχευμάτων ,ειδικά όταν απαιτούνται μοσχεύματα μεγάλης διαμέτρου. Ιδανικά καλό είναι η δότρια περιοχή του νευρικού μοσχεύματος να είναι στο ίδιο άκρο με το νευρικό έλλειμμα γεγονός που δεν είναι πάντοτε εφικτό. Επίσης η διαταραχή αισθητικότητας που θα προκύψει από την λήψη ενός δερματικού νευρικού μοσχεύματος πρέπει να είναι η μικρότερη δυνατή και να αφορά περιοχές που η αισθητικότητα να είναι απολύτως αναγκαία.

Για παράδειγμα ένα νευρικό έλλειμμα ενός δακτυλικού νεύρου συνήθως αποκαθίσταται από την χρήση του έσω ή το έξω δερματικού νεύρου του αντιβραχίου και του ραχιαίου δερματικού κλάδου του ωλένιου νεύρου. Αν το δακτυλικό νεύρο προς αποκατάσταση είναι του αντίχειρα ,τότε πρέπει να αποφεύγεται η χρήση σαν μόσχευμα του έξω δερματικού νεύρου του αντιβραχίου του σύστοιχου άκρου επειδή αυτό παρέχει αίσθηση στην παλαμιαία και στην ραχιαία επιφάνεια του αντίχειρα. Κατά τον ίδιο τρόπο πρέπει να αποφεύγεται η χρήση του ραχιαίου δερματικού κλάδου του ωλένιου νεύρου για αποκατάσταση ελλειμμάτων του δακτυλικού νεύρου του σύστοιχου μικρού δακτύλου.

Επίσης καλό είναι το νεύρο δότης να βρίσκεται στο υποδόριο ιστό και όχι εντός κάποιας σημαντικής ανατομικής δομής που μπορεί να της προκληθεί βλάβη κατά την διαδικασία λήψης. Για παράδειγμα η λήψη του τελικού τμήματος του οπίσθιου μεσόστεου νεύρου για την αποκατάσταση ενός δακτυλικού νεύρου μπορεί να προκαλέσει δυσλειτουργία στην έκταση των δακτύλων λόγω της διάνοιξης που απαιτείται στον καθεκτικό σύνδεσμο των εκτεινόντων μύων στον καρπό. (49,50)

## 2.4 ΑΓΓΕΙΟΥΜΕΝΑ ΝΕΥΡΙΚΑ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΑ

Πρώτοι ο Taylor και ο Ham το 1976 εισήγαγαν την μέθοδο του αγγειούμενου νευρικού μοσχεύματος σαν μία τεχνική που βελτιώνει τα αποτελέσματα από την χρήση του ελεύθερου νευρικού μοσχεύματος. Από τότε υπάρχει μεγάλη συζήτηση για την αξία αυτής της τεχνικής. Οι ενδείξεις χρήσης αυτής της τεχνικής δεν είναι καλά καθορισμένες καθώς και η χειρουργική τεχνική λήψης του αγγειούμενου μοσχεύματος παρουσιάζει δυσκολίες. Επίσης δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως η ανωτερότητα αυτής της τεχνικής.(51)

Το σίγουρο είναι ότι αποτελεί μια μέθοδο αποκατάστασης των νευρικών ελλειμμάτων σε επιλεγμένες περιπτώσεις αλλά παραμένει το ερώτημα της πόσο ευρείας χρήσης μπορεί να έχει μία τέτοια τεχνική.

Η ανακατασκευή ενός νευρικού ελλείμματος με την χρήση μη αγγειούμενου νευρικού μοσχεύματος προαπαιτεί την μεταφορά ενός ζωντανού ιστού. Αυτού του είδους τα νευρικά μοσχεύματα μεταφέρονται χωρίς το εξωτερικό αγγειακό τους δίκτυο , οπότε επαναγγειώνονται από τους τοπικούς ιστούς που βρίσκονται στην περιοχή υποδοχής του μοσχεύματος γεγονός που είναι απαραίτητο για την επιβίωση των κυττάρων Schwann και της αποφυγής πρόκλησης ενδονευρικής ίνωσης. Στην περίπτωση που τα μη αγγειούμενα νευρικά μοσχεύματα υποστούν ισχαιμία διαρκείας , ακτινοβοληθούν ή καταψυχθούν , τα κύτταρα Schwann πεθαίνουν και τα αποτελέσματα της χρήσης των μοσχευμάτων αυτών είναι πτωχά. (34)

Από το παραπάνω επιβεβαιώνεται ότι η μεταφορά του νευρικού μοσχεύματος δεν σημαίνει μόνο μεταφορά των δομικών στοιχείων του νεύρου ,όπως είναι οι δεσμίδες , αλλά σημαίνει και μεταφορά των κυττάρων Schwann. Αυτός είναι ο λόγος που αυτά τα μοσχεύματα ενδείκνυνται μόνο όταν οι τοπικοί ιστοί στην περιοχή λήψης του μοσχεύματος είναι ικανοί να επαναγγειώσουν γρήγορα το μόσχευμα.



Με αυτή την λογική , η χρήση ενός αγγειούμενου νευρικού μοσχεύματος σε σχέση με το μη αγγειούμενο θα είχε ως αποτέλεσμα πρώτον τον αυξημένο αριθμό ζωντανών κυττάρων Schwann, δεύτερον μικρότερου βαθμού ενδονευρική ίνωση και τρίτον αύξηση του ποσοστού αναγεννηθέντων νευραξόνων.έχουν γίνει πολλά πειράματα που συγκρίνουν τα αποτελέσματα της χρήσης των δύο αυτών μοσχεύματων.

Φαίνεται ότι επικρατεί μία ομοθυμία στο γεγονός ότι όταν γεφυρώνουμε ένα έλλειμμα σε μια περιοχή με καλή αγγείωση, τα μη αγγειούμενα μοσχεύματα υφίσταται μία περίοδο ισχαιμίας , η οποία δεν συμβαίνει όταν χρησιμοποιούμε αγγειούμενο μόσχευμα. Έχουν γίνει μελέτες που συγκρίνουν ποσοτικά την αιματική ροή μετά από χρήση των δύο αυτών μοσχευμάτων χρησιμοποιώντας ραδιενεργά ισότοπα.(52,53)

Τα αποτελέσματα αποδεικνύουν ότι στα μη αγγειούμενα νευρικά μοσχεύματα παρατηρείται μετεγχειρητικά μια περίοδο ισχαιμίας τριών ημερών. Αντίθετα στα αγγειούμενα νευρικά μοσχεύματα αυτό δεν συνέβαινε. Μετά την τρίτη ημέρα τα μη αγγειούμενα νευρικά μοσχεύματα αρχίζουν να επαναγγειώνονται με γρήγορους ρυθμούς. Παρατηρήθηκε επίσης ότι και στα δύο είδη μοσχευμάτων αύξηση της αιματικής ροής σε επίπεδα υψηλότερα από τα φυσιολογικά για περίπου έξι εβδομάδες μετά από όπου η αιματική ροή επιστρέφει στα φυσιολογικά επίπεδα. Η κύρια διαφορά λοιπόν στην επαναγγείωση των δύο μοσχευμάτων αφορά τις πρώτες τρεις ημέρες οπότε πιθανόν σε αυτό το διάστημα να αρχίζει ο θάνατος των κυττάρων Schwann και η ενδονευρική ίνωση.

Σε κάποιες μελέτες, όπως αυτή του Koshima και Harii, έχει συγκριθεί η νευρική αναγέννηση στο ισχιακό νεύρο αρουραίων χρησιμοποιώντας αγγειούμενα και μη μοσχεύματα . Τα αποτελέσματα της δεν υποστηρίζουν ότι υπάρχει σημαντική διαφορά στην πυκνότητα και στην διάμετρο των αναγεννημένων νευρικών ινών διαμέσου των δύο διαφορετικών τύπων μοσχευμάτων, αλλά ότι η χρήση των αγγειούμενων μοσχευμάτων αυξάνει την ωρίμανση των νευρικών ινών.(54,55)

Άλλη μελέτη από τον Restrepo 23 έδειξε μεγαλύτερη πυκνότητα και διάμετρο των αναγεννημένων νευρικών ινών με την γεφύρωση των νευρικών ελλειμμάτων με αγγειούμενα νευρικά μοσχεύματα.

Λίγες μελέτες 12,28 συγκρίνουν τα λειτουργικά αποτελέσματα της γεφύρωσης των νευρικών ελλειμμάτων με αυτά τα δύο είδη νευρικών μοσχευμάτων. Σε μία έρευνα συγκρίνονται τα λειτουργικά αποτελέσματα (μυικής ισχύς νευρούμενων μύων) της νευρικής αποκατάστασης ελλειμμάτων του μέσου νεύρου σε κουνέλια χρησιμοποιώντας αγγειούμενα και μη μοσχεύματα. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι οι μύες που νευρώνονται από τα νεύρα που έχουν γεφυρωθεί με αγγειούμενα νευρικά μοσχεύματα, παρουσιάζουν 20% μεγαλύτερη ισχύ. Και σε άλλη έρευνα σε ισχιακά νεύρα αρουραίων, τα λειτουργικά αποτελέσματα (ανάλυση βάδισης) ήταν ανώτερα στους αρουραίους που χρησιμοποιήθηκε αγγειούμενο μόσχευμα για την αποκατάσταση του νευρικού ελλείμματος.(56,57)

Συμπερασματικά, σύμφωνα με τα παραπάνω και με βάση άλλες μελέτες τα μη αγγειούμενα νευρικά μοσχεύματα αντιμετωπίζουν μια προσωρινή περίοδο ισχαιμίας τριών περίπου ημερών που δεν είναι εξακριβωμένο κατά πόσο επηρεάζει τον αριθμό των κυττάρων Schwann. Επίσης δεν φαίνεται να επηρεάζεται η ποσότητα της ενδονευρικής ίνωσης όταν τέτοιου είδους μοσχεύματα τοποθετούνται σε μια περιοχή με καλή τοπική αγγείωση. Αντίθετα όταν η αιμάτωση της περιοχής λήψης του μοσχεύματος δεν είναι καλή, η χρήση αγγειούμενου νευρικού μοσχεύματος προκαλεί λιγότερη ίνωση από τη χρήση του μη αγγειούμενου.

Όσον αφορά τα αποτελέσματα των πειραμάτων που συγκρίνουν την νευρική αναγέννηση με την χρήση των δύο αυτών μοσχευμάτων, είναι αντικρουόμενα. Παρόλα αυτά στις έρευνες που μελετούσαν τα λειτουργικά αποτελέσματα φάνηκε η υπεροχή των λειτουργικών αποτελεσμάτων των πειραματόζωων που τα νευρικά τους ελλείμματα αποκαταστάθηκαν με αγγειούμενα νευρικά μοσχεύματα.

## **2.5 ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΧΡΗΣΗΣ ΑΓΓΕΙΟΥΜΕΝΩΝ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΩΝ**

Οι ενδείξεις χρήσης των αγγειούμενων νευρικών μόσχευμάτων καθορίζονται εκτιμώντας την τοπική ιστική αιμάτωση της περιοχής λήψης ,της ανατομικής θέσης του νευρικού ελλείμματος και του μεγέθους αυτού.

Η τοπική ιστική ποιότητα και αιμάτωση κατηγοριοποιείται σε κακής, σε μέτριας ποιότητας και σε φυσιολογική. Πολύ κακής ποιότητας λήπτρια περιοχής έχουμε σε δερματικά εγκαύματα, βλάβες από ηλεκτροπληξία και ισχαιμική ρίκνωση του Volkmann. Μετρίου βαθμού αιμάτωση λήπτρια περιοχή έχουμε κυρίως μετά από αλληπάλληλες επεμβάσεις στην περιοχή. Φυσιολογική τοπική αιμάτωση έχουμε μετά από νυγμώδη τραύματα.

Εξαιτίας του ότι ένα μη αγγειούμενο μόσχευμα για να λειτουργήσει χρειάζεται να επαναγγειωθεί από τους περιβάλλοντες ιστούς, αποτελεί μία ένδειξη για την χρήση αγγειούμενου νευρικού μόσχευματος η παρουσία κακής ποιότητας ιστών και αιμάτωσης της λήπτριας περιοχής. Συνήθως σε μετρίου και καλής ποιότητας αιμάτωσης της λήπτριας περιοχής χρησιμοποιούμε μη αγγειούμενο νευρικό μόσχευμα.

Επίσης έχει υποστηριχτεί ότι η αποκατάσταση κεντρικών βλαβών στα περιφερικά νεύρα , όπου χρησιμοποιούμε συχνά μεγάλα νευρικά στελέχη, είναι προτιμότερη με αγγειουμένα νευρικά μόσχευματα. (18)

## 2.6 ΜΙΚΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΕΧΝΙΚΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΑΓΓΕΙΟΥΜΕΝΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΟΣ

Υπάρχουν πολλά σημεία που πρέπει να γνωρίζουμε για την μεταφορά ενός αγγειούμενου νευρικού μοσχεύματος από την δότρια στην λήπτρια περιοχή.

Αυτά είναι η ανατομία της αγγείωσης του νεύρου , η μέθοδος επαναγγείωσης του νευρικού μοσχεύματος, ο τρόπος σχηματισμού των αγγειούμενων νευρικών μοσχευμάτων που αποτελούνται από πολλά τμήματα (cable grafts) και βέβαια η παρακολούθηση της λειτουργίας (monitoring) του νευρικού μοσχεύματος.

Έχουν χρησιμοποιηθεί αρκετά νεύρα σαν αγγειούμενα νευρικά μοσχεύματα. Συχνά χρησιμοποιούμενο νεύρο είναι το γαστροκνήμιο το οποίο αιματώνεται από την επιπολής γαστροκνήμια αρτηρία και παρουσιάζει πολύ ευαίσθητο αγγειακό μίσχο.(58,59)

Ένα άλλο νεύρο που έχει χρησιμοποιηθεί είναι το επιπολής κερκιδικό που αγγειώνεται από την κερκιδική αρτηρία. Εξαιτίας της σημαντικότητας αυτής , αποφεύγουμε την χρήση αυτού του νεύρου σαν αγγειούμενο νευρικό μόσχευμα.

Πολύ συχνά χρησιμοποιείται σαν αγγειούμενο μόσχευμα το σαφηνές νεύρο με την ομώνυμη αρτηρία του που παρουσιάζει συχνά όμως το πρόβλημα της έλλειψης του αγγειακού μίσχου (20%).Επίσης η χρήση του επιπολής περνιαίου και του κνημιαίου νεύρου με τις ομώνυμες αρτηρίες μας δίνει νευρικά μοσχεύματα μικρού μήκους και απαιτεί την θυσία μεγάλων αγγειακών κλάδων του κάτω άκρου. Τέλος το ωλένιο νεύρο που αγγειώνεται από την άνω ωλένια παράπλευρη αρτηρία χρησιμοποιείται κυρίως στις περιπτώσεις ανακατασκευής κάποιου τμήματος του βραχιόνιου πλέγματος όταν υπάρχει προγαγγλιακός εξελκυσμός της C8 και T1 ρίζας. (58,60)

Είναι ξεκάθαρο ότι η λήψη ενός αγγειούμενου νευρικού μοσχεύματος δεν φείδεται προβλημάτων. Εξαιτίας αυτών αναπτύχθηκαν δύο χειρουργικές τεχνικές που αφορούν την αγγειακή υποστήριξη των μοσχευμάτων.

Στην πρώτη χρησιμοποιείται μόνο η αρτηρία του μοσχεύματος και όχι η φλέβα. Έτσι λοιπόν μετά την αναστόμωση της αρτηρίας με τα τοπικά αγγεία της περιοχής λήψης, αρτηριακό αίμα ρέει στο μόσχευμα και ακολουθεί η χειρουργική τεχνική γεφύρωσης του νευρικού ελλείμματος. Στην δεύτερη μέθοδο χρησιμοποιείται μόνο η φλέβα του νευρικού μοσχεύματος και όχι η αρτηρία, οπότε το αρτηριακό αίμα εισέρχεται μέσω αυτής.

Και για τις δύο παραπάνω τεχνικές προκύπτουν ερωτηματικά σχετικά με το πώς διαμορφώνεται η αγγειακή κυκλοφορία του μοσχεύματος και υπάρχουν μελέτες με αντικρουόμενα αποτελέσματα οπότε πρέπει να είμαστε φειδωλοί στην χρήση των δύο αυτών τεχνικών.(61,62)

Όπως αναφέρθηκε είναι σημαντικό να κατανοήσουμε την τεχνική σχηματισμού αγγειούμενων νευρικών μοσχευμάτων πολλών τεμαχίων (cable grafts) επειδή αυτά είναι απαραίτητα συνήθως όταν πρέπει να αποκαταστήσουμε ένα νευρικό έλλειμμα ενός νεύρου μεγάλης διαμέτρου με πολλά μοσχεύματα μικρότερης.

Για να κατανοήσουμε αυτή την τεχνική είναι απαραίτητο να γνωρίζουμε τον τρόπο που αιματώνεται ένα νεύρο από τα εξωτερικά αγγεία. Συγκεκριμένα πολλά αγγεία που εισέρχονται στο νεύρο απευθείας είναι μικρά περιστικά ή μυοδερματικά κλάδοι αγγείων. Αντίθετα υπάρχουν άλλα που έχουν μεγαλύτερη διάμετρο και διατρέχουν επιμήκως εξωτερικά το νεύρο δίνοντας του αιμάτωση διαμέσου των vasa nervorum. Αυτό το σύστημα αγγείων ονομάζεται κυρίαρχο σύστημα και είναι πιο προσιτό για μικροχειρουργική αναστόμωση με τα τοπικά αγγεία της λήπτριας περιοχής.

Υπάρχουν νεύρα που διαθέτουν και άλλα που δεν έχουν κυρίαρχο σύστημα αγγείωσης. Για παράδειγμα το έσω δερματικό νεύρο του βραχίονα και του αντιβραχίου, δεν διαθέτουν κυρίαρχο σύστημα ενώ το επιπολής κερκιδικό νεύρο διαθέτει ένα τέτοιο σύστημα από την κερκιδική αρτηρία και το ωλένιο νεύρο πολλά τέτοια συστήματα.

Στην περίπτωση που το κυρίαρχο σύστημα αγγείωσης ενός νεύρου που θα χρησιμοποιηθεί ως μόσχευμα διατρέχει όλο το μήκος του ,τότε μπορεί να διαμορφωθεί εύκολα σε νευρικό μόσχευμα πολλών τεμαχίων (cable graft). Ο Fachinelli εισήγαγε την τεχνική της side to side αναδίπλωσης του αγγειούμενου νευρικού μοσχεύματος κόβοντας μόνο το νεύρο και όχι τα αγγεία έτσι ώστε κάθε τμήμα του νεύρου να αιματώνεται από τα vasa nervorum στα οποία παρέχεται αίμα από το ακέραιο κυρίαρχο εξωτερικό αγγειακό σύστημα του μοσχεύματος.(63)

Όταν το νεύρο δεν διατρέχεται ολόκληρο από το κυρίαρχο αγγειακό σύστημα, ο σχηματισμός cable graft παρουσιάζει επιπλέον δυσκολίες αφού ένα τμήμα του νεύρου ( ελεύθερο τμήμα ) δεν θα αιματώνεται απευθείας από τα εξωτερικά αγγεία αλλά μόνο μέσω της ενδονεύριας κυκλοφορίας.

Το μέρος του νεύρου που υποστηρίζεται αγγειακά από το εξωτερικό αγγειακό δίκτυο μπορεί να χωριστεί σε cable αλλά το ελεύθερο τμήμα του δεν μπορεί να διαχωριστεί κατά τον ίδιο τρόπο χωρίς αυτό να έχει επίπτωση στην αγγειακή παροχή του νεύρου.

Μια μέθοδο αναδίπλωσης και τομής του ελεύθερου τμήματος του αγγειούμενου νευρικού μοσχεύματος διατηρώντας την αιμάτωση έχει δημοσιευθεί από τον Breidenbach. Σε αυτήν την μέθοδο το επινεύριο διαχωρίζεται επιμήκως με τη βοήθεια μικροσκοπίου διατηρώντας τα αγγεία του επινευρίου ακέραια. Έπειτα οι νευρικές δεσμίδες διατέμνονται εγκάρσιως χωρίς να τραυματιστούν τα αγγεία του επινευρίου. Έχει αποδειχθεί ότι με αυτόν τον τρόπο διατηρείται μια επαρκή αιματική παροχή στο μόσχευμα.(58)

Μετά την μεταφορά ενός αγγειούμενου νευρικού μοσχεύματος είναι καλό να γίνεται παρακολούθηση της λειτουργίας της αγγειακής αναστόμωσης. Στις περισσότερες περιπτώσεις τα αγγειούμενα νευρικά μοσχεύματα διαθέτουν έναν δερματικό κρημνό που αιματώνεται από τα ίδια αγγεία που αιματώνουν το νευρικό μόσχευμα. Η επιβίωση του δερματικού κρημνού , στις περισσότερες περιπτώσεις, λειτουργεί σαν μάρτυρας της καλής λειτουργίας της αγγειακής αναστόμωσης.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΓΕΦΥΡΩΣΗ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΕΛΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΧΡΗΣΗ ΝΕΥΡΑΓΩΓΩΝ**

### **3.1 ΝΕΥΡΙΚΗ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ ΔΙΑΜΕΣΟΥ ΝΕΥΡΑΓΩΓΩΝ (ΕΝΣΩΛΗΝΟΠΟΙΗΣΗ)**

Η νευρική αναγέννηση διαμέσου φυσικών αυτόλογων ή τεχνητών αγωγών (ενσωληνοποίηση), είναι μία τεχνική που χρησιμοποιείται τις τελευταίες δεκαετίες προκειμένου να πετύχουμε την γεφύρωση των νευρικών ελλειμμάτων των περιφερικών νεύρων.

Ενσωληνοποίηση είναι η εισαγωγή του κεντρικού και του περιφερικού κολοβώματος του διατμηθέντος νεύρου σε ένα υλικό σχήματος σωλήνα , μέσα στον οποίο μπορούμε να τοποθετήσουμε διάφορες ουσίες που βοηθούν στην νευρική αναγέννηση.

Ένας νευραγωγός μπορεί να είναι ένας προσχηματισμένος σωλήνας από διάφορα υλικά ή υλικά που περιτυλίγονται γύρω από το νεύρο. Η σταθεροποίηση του νεύρου στον νευραγωγό γίνεται συνήθως με την τοποθέτηση ραμμάτων ή απλά με την τοποθέτηση των κολοβωμάτων μέσα στις δύο άκρες του σωλήνα. Όταν αυτό επιτευχθεί , αναμένουμε την νευρική αναγέννηση μέσα στο τροποποιημένο περιβάλλον εντός του σωλήνα.

Η ενσωληνοποίηση του διατμηθέντος νεύρου βοηθά στην συγκράτηση και σταθεροποίηση των νευρικών κολοβωμάτων καθώς και τον σωστό προσανατολισμό και την μέγιστη αντιστοιχία των δεσμίδων των νευρικών κολοβωμάτων. Επίσης η τεχνική της ενσωληνοποίησης μειώνει τον σχηματισμό ινώδους ιστού εντός του νεύρου και λειτουργεί σαν οδηγός για τις αναγεννημένες νευρικές ίνες προσανατολίζοντας και διαχωρίζοντας αυτές από το εξωτερικό

περιβάλλον γεγονός που μειώνει την πιθανότητα δημιουργίας νευρώματος και την επαφή του νεύρου με τον τοπικό ουλώδη ιστό. (18,64)

### **3.2 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΝΕΥΡΙΚΗΣ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗΣ ΔΙΑΜΕΣΟΥ ΤΩΝ ΝΕΥΡΑΓΩΓΩΝ.**

Μορφολογικά , η ακολουθία των γεγονότων που σχετίζονται με την νευρική αναγέννηση διαμέσου των νευραγωγών μετά από την γεφύρωση με αυτούς ενός νευρικού ελλείμματος είναι

#### 1) Η μετατραυματική απάντηση:

Εκδηλώνεται αρχικά με είσοδο εντός του αυλού του νευραγωγού αίματος, εξωκυττάρων και ενδοκυττάρων υγρών, που προέρχονται από τα νευρικά κολοβώματα του διατμηθέντος νεύρου. Επιπρόσθετα των ελεύθερα διακινούμενων παραγόντων που παράγονται από τα κολοβώματα , ελευθερώνονται κύτταρα και τροφικοί παράγοντες που βοηθούν την νευρική αναγέννηση.

Εντός μίας εβδομάδας δημιουργείται μία ινική γέφυρα που αποτελείται από ινοβλάστες, ινονεκτίνη, μακροφάγα, λευκοκύτταρα και ερυθροκύτταρα που αποτελεί ένα ικρίωμα για τον προσανατολισμό της κίνησης των ινοβλαστών, των κυττάρων Schwann , και των νευρικών ινών. Οι ινοβλάστες πολλαπλασιάζονται και μαζί με το στρώμα ινικής που υπάρχει στα άκρα των κολοβωμάτων σχηματίζεται ένα κυτταρικό στρώμα γύρω από τα κολοβώματα. Αυτός ο σχηματισμός αποτελεί τον πρόδρομο του σχηματισμού του νέου περινευρίου.

Μετατραυματικά προκαλείται μία φλεγμονώδη αντίδραση και οίδημα που είναι αποτέλεσμα της διαταραχής του αιματονευρικού φραγμού. Το οίδημα μπορεί να δυσκολέψει την χειρουργική αντιστοίχιση των νευρικών δεσμίδων. Έχει υποστηριχθεί ότι η ενσωληνοποίηση του νεύρου μπορεί να περιορίσει το οίδημα του έχοντας καλύτερα αποτελέσματα

Δεν πρέπει βέβαια να λησμονούμε τις εκφυλιστικές μεταβολές που συνοδεύουν μία νευρική βλάβη όπως είναι η Βαλλεριανή εκφύλιση.



2) Μετακίνηση και πολλαπλασιασμός των κυττάρων και των κυτταρικών εκκρίσεων εντός του αυλού του νευραγωγού:

Γίνεται μέσα στο στρώμα ινικής που βρίσκεται μέσα στον νευραγωγό. Αρκετές ημέρες μετά την νευρική βλάβη παρουσιάζεται μία μιτωτική αντίδραση των κυττάρων Schwann που προκαλείται από έναν παράγοντα που παράγεται από τα αναγεννηθέντα νεύρα. Στην νευρική αναγέννηση μέσω νευραγωγών ένα πρώτο κύμα που αποτελείται κυρίως από ινοβλάστες και κύτταρα Schwann προηγείται των αναγεννηθέντων νευρικών αξόνων εντός του νευραγωγού.

Οι νευρικοί άξονες σπάνια αναπτύσσονται χωρίς να υπάρχει κυτταρικό υπόστρωμα εντός του νευραγωγού εξαιτίας των νευροτροφικών παραγόντων που παράγουν τα κύτταρα αυτά, ευοδώνοντας την νευρική ανάπτυξη. Η χρήση των νευραγωγών δημιουργεί εντός του αυλού τους ένα ιδανικό περιβάλλον πλούσιο σε νευροτροφικούς παράγοντες.

Κατά την διάρκεια αυτής της φάσης οι προς αναγέννηση νευρικές ίνες βρίσκουν το μονοπάτι και την κατεύθυνση τους. Παρουσιάζουν επίσης μεγάλη κινητικότητα.

Την ίδια χρονική στιγμή που οι αναγεννηθέντες νευρικοί άξονες κατευθύνονται από το κεντρικό κολόβωμα προς το εσωτερικό του νευραγωγού, κύτταρα συνδετικού ιστού και αγγειακής προέλευσης πολλαπλασιάζονται και κινούνται και αυτά εντός του αυλού τους.

Πολλοί από τους μηχανισμούς της νευρικής κίνησης και της νευρικής ανάπτυξης μπορούν να επηρεαστούν από την μέθοδο της ενσωληνοποίησης. Αρκετές μελέτες υποστηρίζουν ότι η αναγέννηση των νευρικών ινών εξαρτάται από το εξωκυττάριο περιβάλλον και από τροφικούς παράγοντες που παράγονται από μη νευρικά κύτταρα. Με τους νευραγωγούς έχουμε την δυνατότητα όχι μόνο να μελετούμε την επίδραση διαφόρων ουσιών στην νευρική αναγέννηση, αλλά να απομονώνουμε και να μελετούμε ουσίες που συγκεντρώνονται στον νευραγωγό μετά την συρραφή πάνω σε αυτών των νευρικών κολοβωμάτων.

Κλινικά και σύμφωνα με τα παραπάνω οι νευραγωγοί ευοδώνουν την νευρική αναγέννηση συγκεντρώνοντας τους τροφικούς παράγοντες εντός του αυλού τους και δημιουργώντας και οργανώνοντας ένα ικρίωμα πάνω στο οποίο θα αναγεννηθούν οι νευρικοί άξονες και θα κατευθυνθούν στο περιφερικό κολόβωμα.

Για όσον αφορά τα μη νευρικά κύτταρα , όπως είναι οι ινοβλάστες και τα κύτταρα από τα οποία προέρχονται τα αγγεία , είναι τα πρώτα που εισέρχονται στους νευραγωγούς και συντελούν κατά πολύ στην δημιουργία του ενδοαυλικού περιβάλλοντος στο οποίο θα πραγματοποιηθεί η διαδικασία της νευρικής αναγέννησης. Εντός δύο εβδομάδων από την γεφύρωση ενός νευρικού ελλείμματος με έναν νευραγωγό σιλικόνης , σχηματίζονται ομόκεντρες μεμβράνες από τέτοια κύτταρα που εκτείνονται μεταξύ των δύο κολοβωμάτων. Τα αγγειακά κύτταρα βρίσκονται σε μεγαλύτερη ποσότητα πλησίον των κολοβωμάτων.

Έχει παρατηρηθεί ότι ο αριθμός και το μέγεθος των αγγείων αυξάνεται σε νεύρα που αναγέννιούνται μέσω νευραγωγών σιλικόνης. Επίσης τα κύτταρα του περινευρίου δεν σχηματίζουν μεμβράνες αλλά ακολουθούν μια ακανόνιστη πορεία από την εξωτερική επιφάνεια του νεύρου προς το συνδετικό ιστό του ενδονευρίου.

Το εξωκυττάριο στρώμα , που αποτελείται κυρίως από κολλαγόνο, λαμινίνη και φιμπρονεκτίνη, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αναγνώριση και στην συνδετικότητα μεταξύ των κυττάρων, τα οποία είναι φαινόμενα απαραίτητα για την επιτυχή νευρική αναγέννηση.

Επίσης τα κύτταρα schwann είναι πολύ σημαντικά στα πρώιμα στάδια της μυελινοποίησης των νευρικών ινών όπου περιβάλλουν ομάδες μικρών νευρικών ινών ή περιβάλλουν μία μεγάλη νευρική ίνα. Έχει βρεθεί σε πειράματα όπου έγινε αποκατάσταση ενός νευρικού ελλείμματος ενός εκατοστού στο ισχιακό νεύρο του αρουραίου με νευραγωγούς σιλικόνης , ότι η μυελινοποίηση των πρώτων δύο χιλιοστών γίνεται μέσα στις τρεις εβδομάδες , η μυελινοποίηση μέχρι το μέσον του νευραγωγού πραγματοποιείται σε τέσσερις εβδομάδες ενώ η ολοκλήρωση της σε όλο το αναγεννηθέν νεύρο ολοκληρώνεται σε έξι τουλάχιστον εβδομάδες.

### 3) Διαφοροποίηση και ωρίμανση.

Το επόμενο στάδιο είναι η διαφοροποίηση του νευρικού και μη ιστού. Αυτή η διαδικασία περιλαμβάνει τον σχηματισμό των τριχοειδών αγγείων, της λειτουργικής οργάνωσης των νευρικών αξόνων, τον σχηματισμό συνάψεων και τον διαχωρισμό των αναγεννηθέντων νευραξόνων σε κλάδους. Μέρος της ωρίμανσης περιλαμβάνει την δεσμιδοποίηση των νευρικών ιών και την απορρόφηση των νευρικών ιών που δεν ολοκλήρωσαν τον σχηματισμό τους. Η διαμερισματοποίηση των νευρικών αξόνων σε δεσμίδες γίνεται εμφανής περίπου την έκτη εβδομάδα όπου τα κύτταρα Schwann και οι ινοβλάστες σχηματίζουν ένα περινευρικό περίβλημα όμοιο με το περινεύριο που περικλείει κάθε ομάδα αξόνων.

### 4) Ανάπτυξη των νευρικών ιών.

Μετά την μετακίνηση των κυττάρων μέσα στον αυλό του νευραγωγού και την διαφοροποίηση των αναγεννηθέντων δομών, ακολουθεί μία μακρά περίοδο ανάπτυξης των νευρικών ιών με σκοπό την ανάκτηση της ικανότητας του νεύρου να μεταδίδει τα νευρικά ερεθίσματα.

Ο αριθμός και το μέγεθος των αξόνων στα αναγεννημένα νεύρα την περίοδο πριν αυτοί εισχωρήσουν στο περιφερικό κολόβωμα (λιγότερο από έξι εβδομάδες) διαφοροποιείται στο μέγεθος και την μορφολογία τους κατά μήκος του νευραγωγού. Όταν όμως οι νευρικοί άξονες εισχωρούν στο περιφερικό κολόβωμα, η μορφολογία τους φαίνεται να γίνεται πιο ομοιόμορφη κατά μήκος των νευραγωγών. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι ο αριθμός και το μέγεθος των νευρικών ιών δεν αυξάνει γραμμικά με το πέρασμα του χρόνου και ότι η αναγέννηση των νευρικών ιών είναι γρήγορη τους πρώτους τρεις μήνες.

Έχει επίσης αποδειχθεί ότι στις πρώτες εβδομάδες της νευρικής αναγέννησης προκύπτουν διάφορων διαμέτρων αμύελες νευρικές ίνες. Με το πέρασμα του χρόνου οι μεγαλύτερες νευρικές ίνες μετατρέπονται σε εμμύελες. Προχωρώντας η διαδικασία της νευρικής αναγέννησης και σε διάστημα περίπου τριών μηνών η δομή των αναγεννηθέντων νευρικών ιών προσομοιάζει με αυτή του νεύρου πριν

υποστεί βλάβη γεγονός που σημαίνει ότι περίπου μετά από τρεις μήνες ολοκληρώνεται η διαδικασία της νευρικής αναγέννησης με την βοήθεια νευραγωγών.

#### 5) Μυελινοποίηση.

Είναι ένα πολύ σημαντικό μέρος της διαφοροποίησης της νευρικής ίνας με μεγάλη λειτουργική σημασία. Το φαινόμενο αυτό περιλαμβάνει όχι μόνο τον σχηματισμό των μυελινικών περιβλημάτων του κάθε άξονα από τα κύτταρα schwann, αλλά και την διαφοροποίηση του αξονοπλάσματος στις κομβικές και διακομβικές περιοχές καθώς και την αποκατάσταση της σωστής μορφολογίας των κόμβων του Ranvier.

Κατά την γεφύρωση ενός νευρικού ελλείμματος με κάποιου είδους νευραγωγό, τα πρώιμα στάδια της μυελινοποίησης παρουσιάζονται μετά από τρεις εβδομάδες στην εγγύς περιοχή του αυλού του νευραγωγού και αφορά κυρίως τις μεγαλύτερου μεγέθους νευρικές ίνες.

Το φαινόμενο της μυελινοποίησης προχωρά κατά μήκος του νευραγωγού και είναι σε συνάρτηση με την ωρίμανση του αξονοπλάσματος που διαφέρει στις αμύελες και σε εκείνες που πρόκειται να γίνουν εμμύελες και που αρχίζει άμεσα μετεγχειρητικά.

Σε γενικές γραμμές το μυελινικό περίβλημα των νευρικών ινών , που είναι αποτέλεσμα της νευρικής αναγέννησης με την χρήση νευραγωγών, είναι λεπτότερο από το φυσιολογικό στις περισσότερες των περιπτώσεων και ειδικά στις μεγάλου μεγέθους νευρικές ίνες. Πρέπει να σημειωθεί όμως ότι στις μικρού μεγέθους αναγεννημένες νευρικές ίνες είναι συχνό το φαινόμενο όπου το μυελινικό περίβλημα να είναι παχύτερο. Παρόλο το λεπτότερο μυελινικό περίβλημα που διαθέτουν οι μεγαλύτερες αναγεννημένες ίνες , πολλές ηλεκτροφυσιολογικές μελέτες αποδεικνύουν ότι οι ταχύτητες αγωγιμότητας επανέρχεται σε φυσιολογικές τιμές στα νεύρα που έχουν αναγεννηθεί διαμέσου νευραγωγών. (12,18,64,65,66)

### 3.3 ΜΙΚΡΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΕΝΣΩΛΗΝΩΠΟΙΗΣΗΣ

### ΤΕΧΝΙΚΗ

Όταν πρέπει να γεφυρώσουμε ένα νευρικό έλλειμμα με έναν νευραγωγό, αρχικά παρασκευάζουμε τα νευρικά κολοβώματα και συνεχίζουμε κάνοντας χειρουργικό καθαρισμό αυτών από τα πύγματα και από τον νεοσχηματιζόμενο νευρικό και ουλώδη ιστό. Μετά τον χειρουργικό καθαρισμό μετρούμε το νευρικό έλλειμμα που προκύπτει διαλέγοντας το ανάλογο μήκος νευραγωγού. Πρέπει να σημειωθεί ότι το μήκος του πρέπει να είναι 4-6 χιλιοστά μεγαλύτερο του νευρικού ελλείμματος καθότι το κάθε νευρικό κολοβώμα εισέρχεται 2-3 χιλιοστά εντός του νευραγωγού. Τα νευρικά κολοβώματα αφήνονται ελεύθερα προκειμένου να αποκτήσουν τον σωστό προσανατολισμό. Η σταθεροποίηση του νευραγωγού στα νευρικά κολοβώματα γίνεται με λεπτά μη απορροφήσιμα ράμματα (π.χ 9-0) πολυπροπυλενίου ή nylon. Το ράμμα περνά αρχικά από το τοίχωμα του νευραγωγού και εξέρχεται από το άνοιγμα του αυλού του. Συνεχίζοντας η βελόνα διαπερνά το επινεύριο και κατόπιν περνά ξανά το άνοιγμα του αυλού και διαπερνά πάλι το τοίχωμα του νευραγωγού πλησίον του προηγούμενου περάσματος. Κατά τον σχηματισμό του κόμπου το νευρικό κολοβώμα εισέρχεται εντός του αυλού του νευραγωγού. Λιγότερο συχνά τοποθετούμε τα νευρικά κολοβώματα εντός του αυλού χωρίς την χρήση ραμμάτων αλλά σταθεροποιώντας το νεύρο στους τοπικούς ιστούς.(12,18)

### 3.4 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΝΕΥΡΑΓΩΓΩΝ

Τα χαρακτηριστικά που πρέπει να έχει ένας νευραγωγός για να είναι ιδανικός είναι

- να κατασκευάζεται από υλικά αδρανή που να είναι βιοσυμβατά .
- να είναι λεπτός και εύκαμπτος.
- Να είναι διαφανής
- Τα υλικά που αποτελείται να είναι βιοαπορροφήσιμα.
- Να επιβραδύνει τα παθολογικά φαινόμενα της νευρικής αναγέννησης όπως είναι ο σχηματισμός γλοιώματος ,νευρώματος οιδήματος , ισχαιμίας και ίνωσης.
- Να ευοδώνει τα φαινόμενα που βοηθούν την νευρική αναγέννηση όπως την αγγείωση και την συλλογή νευροτροφικών παραγόντων.
- Να έχει εκλεκτική διαπερατότητα

Ένας άλλο χαρακτηριστικό ενός νευραγωγού που επηρεάζει το αποτέλεσμα της νευρικής αναγέννησης είναι η διάμετρος του. Στενοί αγωγοί μπορεί να δημιουργήσουν πειστικά φαινόμενα στο νεύρο ενώ με πολύ φαρδιούς αγωγούς δεν επιτυγχάνεται επαρκής νευρική αποκατάσταση. Έχει βρεθεί ότι η ιδανική διάμετρος ενός νευραγωγού πρέπει να είναι 2-3 φορές μεγαλύτερη του νεύρου προς αποκατάσταση. Οι στενοί νευραγωγοί μπορεί να χρησιμοποιηθούν για μικρής διάρκειας μελέτες ή όταν αυτοί είναι βιοαπορροφήσιμοι. Και αυτό γιατί έχει βρεθεί ότι όταν χρησιμοποιούμε νευραγωγούς με διάμετρο ίση με το νεύρο , τότε συναντούμε πειστικά φαινόμενα μετά τους τέσσερις μήνες. Τα αποτελέσματα της πίεσης του νεύρου μετά τους τέσσερις μήνες είναι η επινευρική ίνωση, η πάχυνση του περινευρίου. Μετά από έξι μήνες από την χειρουργική αποκατάσταση είναι φανερή η εκφύλιση των νευρικών ινών και η διαταραχή του αιματονευρικού φραγμού.

Και το πάχος του τοιχώματος ενός νευραγωγού επηρεάζει την ποιότητα του. Συγκεκριμένα έχει φανεί ότι με η χρήση των νευραγωγών με λεπτότερο τοίχωμα περιορίζει την πιθανότητα δημιουργίας νευρώματος.(67-70)

### **3.5 ΥΛΙΚΑ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΤΩΝ ΝΕΥΡΑΓΩΓΩΝ**

#### **ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ**

Κατά καιρούς έχουν χρησιμοποιηθεί ως νευραγωγοί διάφοροι ιστοί. Ιστορικά αναφέρουμε διάφορα υλικά όπως είναι οστό , περιτόναιο, καζεΐνη, επινεύριο, μυικές περιτονίες, ζελατίνη και λίπος .

Τις τελευταίες δεκαετίες έχουν χρησιμοποιηθεί οι αρτηρίες που όμως η χρήση τους δεν στερείται προβλημάτων. Πολλές φορές οι αρτηρίες εφαρμόζονται σφιχτά στα νευρικά κολοβώματα με αποτέλεσμα να δημιουργούν πιεστικά φαινόμενα. Ένα άλλο πρόβλημα είναι ότι η χρήση αρτηριών ή άλλων βιολογικών υλικών προκαλεί την δημιουργία συμφύσεων μεταξύ του τοιχώματος και των τοπικών ιστών με αποτέλεσμα να επηρεάζεται η ευθεία πορεία του νευραγωγού. Επίσης τα βιολογικοί νευραγωγοί χάνουν γρήγορα την ακεραιότητα τους. Εξαιτίας της συχνής αναντιστοιχίας του μεγέθους του νεύρου και του αρτηριακού μοσχεύματος , χρησιμοποιείται συχνά αρτηριακό αλλομόσχευμα με ότι αυτό συνεπάγεται για την ύπαρξη πιθανών αντιδράσεων ιστοσυμβατότητας.

Συχνά έχουν χρησιμοποιηθεί σαν νευραγωγοί φλέβες ειδικά για νευρικά ελλείμματα που δεν είναι μεγάλα αλλά η χρήση τους δεν προσφέρει ιδιαίτερα πλεονεκτήματα.(12,18)

#### **ΣΥΝΘΕΤΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ**

##### **Μη απορροφήσιμοι**

Έχουν χρησιμοποιηθεί μεταλλικοί νευραγωγοί όπως είναι αυτοί από ταντάλιο και μαγνήσιο που προκαλούν ελάχιστη αντίδραση και λιγότερες συμφύσεις από τα βιολογικούς νευραγωγούς. Παρουσίαζαν όμως μειονεκτήματα όπως η ακαμψία, η μη διαπερατότητα και η δυσκολία στη χρήση τους (χειρουργική τεχνική. Επίσης προκαλούν μακροχρόνια ουλώδη ιστό που έχει τελικά σαν αποτέλεσμα την λειτουργική έκπτωση του νεύρου.



Εστέρες κυτταρίνης (Millipore) είναι ένα αδρανές υλικό που έχει χρησιμοποιηθεί στην κατασκευή νευραγωγών. Πλεονέκτημα του είναι η μερική διαπερατότητα του στα εξωκυττάρια υγρά. Μειονέκτημα του είναι ο συχνός του τεμαχισμός και η ασβεστοποίηση του. Αυτό προκαλεί την θραύση των νευραγωγών με επακόλουθη την συχνή δημιουργία νευρώματος.

Τις τελευταίες δεκαετίες έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως νευραγωγοί σιλικόνης που είναι μη απορροφήσιμοι και μη διαπερατοί δημιουργώντας ένα απομονωμένο περιβάλλον στο οποίο πραγματοποιείται η νευρική αναγέννηση. Μέσα στον αυλό τους μπορούμε να τοποθετήσουμε διάφορες ουσίες μελετώντας την επίδραση τους στην νευρική αναγέννηση. Επιτυχή χειρουργική αποκατάσταση νευρικών ελλειμμάτων του ωλένιου και του μέσου νεύρου με τη χρήση νευραγωγών σιλικόνης, έχει δημοσιευθεί.(69)

Άλλοι μη απορροφήσιμοι νευραγωγοί παρασκευάζονται από υλικά όπως το πολυεθυλαίνιο και από ακρυλικά πολυμερή που μπορεί να είναι και εκλεκτικά διαπερατοί σε ορισμένες ουσίες.

Παρόλο τα καλά αποτελέσματα της χρήσης των νευραγωγών σιλικόνης έχουν το μειονέκτημα ότι είναι σκληροί , δεν είναι εύκαμπτοι και με δεδομένο ότι είναι μη διαπερατοί δεν παρέχεται εξωτερική αιμάτωση και οξυγόνο στο αναγεννηθέν τμήμα του νεύρου εντός του νευραγωγού. Επίσης προκαλούν μία χρόνια αντίδραση του οργανισμού που έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό ουλώδους ιστού που έχει το χαρακτηριστικό ότι προοδευτικά πιέζει τους νευραγωγούς και το νεύρο. Όταν συμβεί αυτό , σε μια περίοδο 6-12 μηνών, το νεύρο παρουσιάζει τις χαρακτηριστικές μεταβολές της χρόνιας πιεστικής απομυελίνωση των νευρικών ινών καθώς και σε πολλές περιπτώσεις η βαλλεριανή εκφύλιση. Πρέπει να υπογραμμιστεί ότι τέτοιου είδους μεταβολές πρωτοεμφανίζονται μετά από 4-5 μήνες από την χειρουργική αποκατάσταση. Για να μειωθεί η πιθανότητα αυτής της επιπλοκής , έχει υποστηριχθεί από αρκετούς ότι οι νευραγωγοί σιλικόνης πρέπει να έχουν διάμετρο 2.5-3 φορές μεγαλύτερη από το νεύρο. (71,72)

### **Βιοαπορροφήσιμοι νευραγωγοί από συνθετικά υλικά.**

Τα τελευταία χρόνια πολλές έρευνες έχουν σαν στόχο την παραγωγή βιοαπορροφήσιμων νευρικών αγωγών με σκοπό την αποφυγή των προβλημάτων που συχνά δημιουργούν οι μη απορροφήσιμοι νευραγωγοί. Αυτοί οι νευραγωγοί αποδομούνται μετά από αρκετό χρόνο προκαλώντας μία μετρίου βαθμού αντίδραση του οργανισμού.

Παρουσιάζουν επίσης σημαντικά πλεονεκτήματα όπως είναι η δυνατότητα των κυτταρών Schwann και βιοενεργών μορίων να συνδέονται με τα τοιχώματα του αγωγού για μεγάλα χρονικά διαστήματα ευοδώνοντας την νευρική αναγέννηση των ίνων.

Οι βιοαπορροφήσιμοι συνθετικοί αγωγοί πλεονεκτούν εξαιτίας της ευκαμψίας τους, της βιοσυμβατότητας τους κατά την παραμονή τους στον οργανισμό και κατά την αποδόμηση τους και βεβαίως για την ύπαρξη πόρων στο τοίχωμα τους που επιτρέπει την εκλεκτική μεταφορά ουσιών.

Αυτοί οι αγωγοί παρασκευάζονται από πολυεστέρες και συμπλέγματα πολυεστέρων που έχουν αποδειχθεί ότι είναι συμβατοί με την διαδικασία της νευρικής αναγέννησης. Τέτοια παραδείγματα είναι το πολυγαλακτικό οξύ (PLLA), το πολυγλυκολικό οξύ (PGA), το poly(lactic acid-ε-caprolactone) , το poly(L-lactide-co-glycolide) και το poly-(caprolactone) (PCL). Ο συμπολυμερισμός των ουσιών επηρεάζει την συμπεριφορά της αποδόμησης και των μηχανικών χαρακτηριστικών των νευραγωγών.(73,77)

Υπενθυμίζεται ότι η αποκατάσταση ενός νευρικού ελλείμματος με την χρήση νευραγωγών είναι ένα γεγονός που απαιτεί ένα χρονικό διάστημα περίπου ενός χρόνου για την ολοκλήρωση της αναγέννησης και της ωρίμανσης των νευρικών ινών. Ως εκ τούτου τα υλικά για την κατασκευή αυτών των νευρικών αγωγών πρέπει να απορροφούνται αργά και να έχουν τις απαραίτητες μηχανικές ιδιότητες ώστε να αντέχουν στις δυνάμεις που ασκούνται κατά την διάρκεια της χειρουργικής γεφύρωσης του νεύρου με κάποιο νευρικό αγωγό.

Πολύ βασικό χαρακτηριστικό των παραπάνω νευρικών αγωγών είναι η διαπερατότητα των τοιχωμάτων τους που είναι απαραίτητη για την ανταλλαγή υγρών και ουσιών ανάμεσα στο περιβάλλον που πραγματοποιείται η νευρική αναγέννηση και στους γύρω ιστούς, εμποδίζοντας την υπέρμετρη αύξηση της πίεσης εντός του αυλού του νευρικού αγωγού.

Η κρυσταλλοποίηση των πολυμερών από τα οποία παρασκευάζονται οι νευραγωγοί επηρεάζουν την διαπερατότητα και την αποδόμηση τους. Επίσης τα κρυσταλλικά στοιχεία που απελευθερώνονται κατά την αποδόμηση των νευραγωγών προκαλούν μία φλεγμονώδη αντίδραση η οποία θέτει σε κίνδυνο την διαδικασία της νευρικής αναγέννησης και την ανάκτηση της νευρικής λειτουργίας.

### **Νευραγωγοί από φυσικά πολυμερή**

Τα φυσικά πολυμερή είναι υλικά βιοσυμβατά που ευοδώνουν την μετακίνηση των απαραίτητων για την νευρική αναγέννηση κυττάρων και δεν είναι τοξικά. Μερικά από αυτά που έχουν χρησιμοποιηθεί , είναι συστατικά του εξωκυττάριου χώρου. Τέτοια είναι η λαμινίνη , η φμπρονεκτίνη και το κολλαγόνο.

Το κολλαγόνο έχει χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή νευραγωγών με πολύ καλά αποτελέσματα. Η διαπερατότητα του κολλαγόνου ευνοεί την διάχυση ουσιών από τα τοιχώματα των νευραγωγών. Επίσης στα τοιχώματα τους συγκολλούνται διάφορα κύτταρα που ευνοούν την νευρική αναγέννηση και την αγγειογένεση.

Γενικά το κολλαγόνο παρουσιάζει μία ασθενή αντιγονική δραστηριότητα η οποία μειώνεται περαιτέρω από την ενζυμική επεξεργασία η οποία έχει ως αποτέλεσμα την απομάκρυνση ενός τελοπεπτιδίου.

Μειονεκτήματα αυτών των νευρικών αγωγών είναι το σχετικά υψηλό κόστος και ότι είναι μηχανικά ασθενείς.

Πολλές μελέτες που ασχολούνται με την αποτελεσματικότητα της χρήσης των νευραγωγών κολλαγόνου για την γεφύρωση νευρικών ελλειμμάτων έχουν

δημοσιευθεί. Σε πολλές από αυτές έχει βρεθεί ότι τα αποτελέσματα της χρήσης αυτών των αγωγών στην γεφύρωση ενός νευρου είναι συγκρίσιμα με την χρήση νευρικού αυτομοσχέματος που αποτελεί το gold standard στην αποκατάσταση των νευρικών ελλειμμάτων. Επίσης αρκετές πειραματικές μελέτες συγκρίνουν αυτούς τους αγωγούς με τους συνθετικούς δίνοντας καλύτερα αποτελέσματα στους νευραγωγούς κολλαγόνου.

Ο πρώτος βιοαπορροφήσιμος αγωγός που χρησιμοποιήθηκε παρασκευάστηκε από πολυμερή ζελατίνης που έχουν άριστη βιοσυμβατότητα, ελαστικότητα και ικανότητα να προσκολλούν πάνω τους κύτταρα που είναι απαραίτητα για την νευρική αναγέννηση. Παρόμοιες ιδιότητες είχαν εξακριβωθεί σε αγωγούς που παράγονται από κυττοσάνη. (78,81)

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΧΡΗΣΗ ΟΥΣΙΩΝ ΠΟΥ ΤΡΟΠΟΠΟΙΟΥΝ ΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΕΝΤΟΣ ΤΟΥ ΑΓΩΓΟΥ**

Η νευρική αναγέννηση είναι μία διαδικασία στην οποία εμπλέκονται κυρίως κύτταρα , ουσίες του εξωκυτταρικού στρώματος ,νευροτροφικοί παράγοντες, κιτοκίνες και ορμόνες. Οι κιτοκίνες και οι νευροτροφικοί παράγοντες είναι πολυπεπίδια που επηρεάζουν με παρόμοιο τρόπο την νευρική αναγέννηση. Η τοπική παρουσία των τροφικών παραγόντων διαδραματίζει ένα σημαντικό ρόλο στην επιβίωση , στην χημειοτακτισμό, στον πολλαπλασιασμό και στην διαφοροποίηση των διαφόρων κυττάρων που εμπλέκονται στην διαδικασία της νευρικής αναγέννησης. Πολλές έρευνες έχουν γίνει τοποθετώντας διάφορες ουσίες εντός των νευραγωγών , μελετώντας την επίδραση που έχουν στην νευρική αναγέννηση διαμέσου αυτών .

### **4.1 ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΔΟΜΙΚΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ ΤΟΥ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΣΤΡΩΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΝΕΥΡΙΚΗ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ**

#### **4.1.1 ΦΙΜΠΡΙΝΗ**

Μετά την διατομή ενός νεύρου, τα νευρικά κολοβώματα παράγουν μία σειρά από συστατικά. Ένα από αυτά είναι τα πολυμερή της φιμπρίνης, μιας πρωτεΐνης, που είναι υπεύθυνη για τον σχηματισμό ενός ικρίωματος πάνω στο οποίο θα στηριχτεί ο νεοσχηματιζόμενος νευρικός ιστός.

Το 1987 σε ένα ερευνητικό πρωτόκολλο γεφυρώθηκε ένα έλλειμμα 10 χιλιοστών με ένα νευραγωγό στο ισχιακό νεύρο αρουραίων χρησιμοποιώντας πλάσμα εντός του νευραγωγού που προκαλούσε την αύξηση του σχηματισμού του ινικού ικριώματος με επακόλουθη αύξηση της νευρικής αναγέννησης και του τακτισμού των κυττάρων Schwann. Πιο πρόσφατα σε παρόμοια έρευνα μελετήθηκε η επίδραση της φιμπρίνης στην νευρική αποκατάσταση, γεφυρώνοντας ένα ίδιο με το προηγούμενο νευρικό έλλειμμα , χρησιμοποιώντας νευραγωγούς στους οποίους είχε τοποθετηθεί γέλη φιμπρίνης. Τα αποτελέσματα επιβεβαιώνουν την ευεργετική της δράση στην νευρική αναγέννηση.(82,83)

Σε άλλη μελέτη συσχετίστηκε η χρήση του υαλουρονικού οξέως στους νευραγωγούς με την αύξηση της ταχύτητας του νευρικού ερεθίσματος, τον αυξημένο αριθμό των αναγεννημένων νευρικών ιών και την πιο πρόωμη μυελινοποίηση αυτών. Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι αυτό οφείλεται στην επίδραση που έχει το υαλουρονικό οξύ στον σχηματισμό της φιμπρίνης. Επίσης έχει βρεθεί ότι η χρήση ιών φιμπρονεκτίνης στην γεφύρωση των νευρικών ελλειμμάτων λειτουργεί ως αγωγός για τα κύτταρα Schwann και τους ινοβλάστες ευνοώντας την νευρική αναγέννηση.(84)

#### **4.1.2 LAMININ**

Είναι μία πρωτεΐνη του εξωκυτταρικού στρώματος που βρίσκεται στην βασική μεμβράνη , αποτελεί μία σημαντική ουσία σύνδεσης που διαδραματίζει ρόλο στην αναγέννηση πολλών ιστών όπως είναι ο νευρικός ιστός. Αρχικά βρέθηκε ότι εισάγοντας γέλη λαμινίνης σε νευραγωγούς επιτεύχθηκε αύξηση των αναγεννημένων νευρικών κυττάρων και της νευρικής αναγέννησης.(85)

Ο ρόλος της λαμινίνης στην νευρική αναγέννηση επιβεβαιώθηκε και σε άλλες έρευνες όπως μία που μελέτησε τον ρόλο της χρήσης γέλης λαμινίνης και κολλαγόνου σε νευραγωγούς σιλικόνης στην γεφύρωση νευρικών ελλειμμάτων τεσσάρων και έξι χιλιοστών σε ισχιακά νεύρα αρουραίων. Από την παραπάνω έρευνα φάνηκε ότι η γεφύρωση των ελλειμάτων των τεσσάρων χιλιοστών είναι το ίδιο επιτυχείς είτε κάνοντας χρήση γέλης κολλαγόνου ή λαμινίνης είτε απλά

φυσιολογικού ορού εντός του νευραγωγού σιλικόνης. Αντίθετα αποδείχτηκε η αποκατάσταση των μεγαλύτερων νευρικών ελλειμμάτων (έξι χιλιοστά) είναι πολύ πιο αποτελεσματική με την τοποθέτηση γέλης κολλαγόνου ή λαμινίνης εντός του νευραγωγού σιλικόνης.(86)

### **4.1.3 ΚΟΛΛΑΓΟΝΟ**

Το κολλαγόνο είναι μία πρωτεΐνη που αποτελεί δομικό στοιχείο σε όλους σχεδόν τους ιστούς του σώματος. Σύμφωνα με μία έρευνα αποτελεί ένα παράγοντα που ευοδώνει την νευρική αναγέννηση.(86)

Το 1990 , ο Rosen μελέτησε τα αποτελέσματα της χρήσης του κολλαγόνου γεφυρώνοντας ένα νευρικό έλλειμμα πέντε χιλιοστών σε τρωκτικά , χρησιμοποιώντας νευραγωγούς πολυγλυκολικού οξέος που περιέχουν κολλαγόνο εντός του αυλού τους. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η αναγέννηση των νευρικών ινών , σε διάστημα δώδεκα μηνών , ήταν παρόμοια με αυτή της γεφύρωσης του νευρικού ελλείμματος με αυτομόσχευμα.(87)

Η θετική επίδραση του κολλαγόνου στην νευρική αναγέννηση αποδεικνύεται από τα πολύ καλά αποτελέσματα που προκύπτουν από την γεφύρωση των νευρικών ελλειμμάτων με την χρήση νευραγωγών κολλαγόνου τυπου I .

## 4.2 ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

### 4.2.1 ΚΥΤΤΑΡΑ SCHWANN

Η μεταμόσχευση κυττάρων εντός των νευραγωγών είναι μία μέθοδος τροποποίησης του περιβάλλοντος στο οποίο πραγματοποιείται η διαδικασία της νευρικής αναγέννησης. Πιο συχνά χρησιμοποιούμε αυτόλογα κύτταρα Schwann. Τα κύτταρα Schwann περιβάλλουν τις νευρικές ίνες με μυελίνη και παράλληλα παράγουν νευροτροφικούς παράγοντες όπως τον NGF, NT3, BDNF γεγονός που κάνει την μεταμόσχευση αυτών πολύ σημαντική στην ευόδωση της νευρικής αναγέννησης.

Ένας περιοριστικός παράγοντας για την χρήση αυτόλογων κυττάρων Schwann σε περιπτώσεις όπου η νευρική αποκατάσταση πρέπει να είναι άμεση, είναι ο χρόνος (περίπου τρεις εβδομάδες) που απαιτείται για τον πολλαπλασιασμό αυτών, ώστε να προκύψει ένας ικανός αριθμός κυττάρων. Άλλο μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι το υψηλό κόστος.

Η μεταμόσχευση των κυττάρων Schwann μπορεί να πραγματοποιηθεί όταν προβαίνουμε στην γεφύρωση ενός νευρικού ελλείμματος είτε με αυτομόσχευμα είτε με κάποιον νευρικό αγωγό. Τα κύτταρα αυτά τοποθετούνται στους νευρικούς αγωγούς με τρεις τρόπους.(88-90)

A) Με έγχυση των κυττάρων στον αυλό απουσία κάποιας σταθεροποιητικής ουσίας.

Στην περίπτωση αυτή τα κύτταρα Schwann δεν μπορούν να συγκρατηθούν σταθερά εντός του νευραγωγού. Παρόλα αυτά έχει αποδειχθεί ότι η όταν η έγχυση γίνεται σε νευραγωγούς κολλαγόνου ή σε αυτομόσχευμα φλεβών, τα αποτελέσματα της νευρικής αναγέννησης είναι καλύτερα από ότι εάν δεν γίνει η μεταμόσχευση των αυτόλογων κυττάρων Schwann.



B) Με εμφύτευση των κυττάρων Schwann σε κάποια γέλη η οποία μετέπειτα τοποθετείται στον αυλό κάποιου νευραγωγού.

Έχει αποδειχθεί από πολλές μελέτες , όπου χρησιμοποιήθηκαν πολλών ειδών νευραγωγοί, ότι με αυτόν τον τρόπο έχουμε σημαντικά αυξημένη νευρική αναγέννηση.

Γ) Με εμφύτευση των κυττάρων Schwann σε κανάλια των νευραγωγών ή σε ίνες που είναι επιμήκως ευθυγραμμισμένες εντός του νευραγωγού.

Τα κανάλια στους νευραγωγούς αυξάνουν την επιφάνεια επαφής μεταξύ των τοιχωμάτων τους και των κυττάρων Schwann. Σε μια έρευνα παρατηρήθηκε ότι η γεφύρωση ενός νευρικού ελλείμματος με έναν αγωγό πολυγλυκολικού οξέος , ο οποίος αποτελούνταν από πέντε κανάλια , είχε ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό αναγεννημένων νευρικών ινών μεγαλύτερης διαμέτρου από αυτές που προέκυπταν με την χρήση αλλομοσχεύματος χωρίς όμως το σύνολο του αναγεννηθέντος νευρικού ιστού να είναι περισσότερο από ότι με το αυτομόσχευμα. Αυτό συνέβαινε εξαιτίας του λιγότερου διαθέσιμου χώρου που διέθεταν αυτού του είδους οι νευραγωγοί σε σχέση με το αυτομόσχευμα.(91,92)

Η χρήση νευραγωγών που διαθέτουν επιμήκως διατεταγμένες ίνες εξασφαλίζουν μια καλύτερη αναλογία ανάμεσα στην επιφάνεια επαφής τους με τα κύτταρα Schwann και τον διαθέσιμο χώρο για την νευρική αναγέννηση.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω η λήψη και ο πολλαπλασιασμός αυτόλογων κυττάρων Schwann , είναι μία διαδικασία χρονοβόρα. Για αυτόν τον λόγο έχουν γίνει αρκετές μελέτες στις οποίες έχουν χρησιμοποιηθεί ετερόλογα κύτταρα Schwann τα οποία προκαλούν μια ανοσολογική αντίδραση περιορίζοντας κατά πολύ την νευρική αναγέννηση. Αντίθετα το 2004 ο Udina έκανε χρήση ετερόλογων κυττάρων Schwann σε αγωγούς κολλαγόνου με παράλληλη συστηματική χορήγηση του ανοσοκατασταλτικού τακρολίμους. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης έδειξαν ότι με αυτόν τον τρόπο επετεύχθη καλύτερη νευρική αναγέννηση σε σχέση με την μη χρήση των κυττάρων Schwann.(93)

Επίσης πολλές μελέτες πραγματοποιήθηκαν προκειμένου να καθοριστεί η ιδανική συγκέντρωση που πρέπει να έχει το διάλυμα των κυττάρων Schwann προς μεταμόσχευση. Τα αποτελέσματα αυτών υποστηρίζουν ότι η μέγιστη νευρική αναγέννηση επιτυγχάνεται με συγκέντρωση κυττάρων Schwann 80 X 10<sup>6</sup> κύτταρα / ml. Πρέπει να αναφερθεί ότι έχει αποδειχθεί ότι η συγχορήγηση κυττάρων Schwann και νευροτροφικών παραγόντων λειτουργεί συνεργικά στην αύξηση της νευρικής αναγέννησης. (88-90)

### **4.3 ΜΕΣΕΓΧΥΜΑΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΜΥΕΛΟΥ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ**

Είναι πολυδύναμα κύτταρα που μπορούν να διαφοροποιηθούν σε κύτταρα διαφόρων ιστών και υπό ορισμένες συνθήκες σε νευρικά κύτταρα. Τα πολυδύναμα αυτά κύτταρα μπορούν να ληφθούν από τον μυελό των οστών και να καλλιεργηθούν.

Το 2005 σε μια έρευνα εμφυτεύθηκαν τέτοια κύτταρα σε ένα βιοαπορροφήσιμο νευραγωγό που χρησιμοποιήθηκε για την γεφύρωση ενός νευρικού ελλείμματος πέντε χιλιοστών σε ισχιακό νεύρο αρουραίου. Η ταχύτητα αγωγιμότητας και η λειτουργική αποκατάσταση ήταν ανώτερη σε σχέση με την χρήση των βιοαπορροφήσιμων αγωγών χωρίς την τοποθέτηση των πολυδύναμων κυττάρων. Παρόμοια καλά αποτελέσματα είχαμε όταν εμφυτεύθηκαν κύτταρα Schwann. Αποδείχτηκε επίσης ότι το μεγαλύτερο ποσοστό των πολυδύναμων κυττάρων μετατρέπονται σε κύτταρα με αδιαφοροποίητο φαινότυπο τα οποία έχουν την ικανότητα να παράγουν νευροτροφικούς παράγοντες. Επίσης πρόσφατα από έρευνες φάνηκε ότι τα πολυδύναμα κύτταρα μπορούν να ληφθούν από τα θυλάκια των τριχών και να αποκτήσουν τα χαρακτηριστικά των κυττάρων Schwann όταν τοποθετηθούν ανάμεσα στα νευρικά κολοβώματα. (94)

#### **4.3.1 *ΙΝΟΒΛΑΣΤΕΣ***

Είναι κύτταρα του συνδετικού ιστού που είναι απαραίτητα για τον σχηματισμό των διαφόρων ιστών του σώματος. Μέσα στην πρώτη εβδομάδα από

την διατομή ενός νεύρου, ινοβλάστες και τα μακροφάγα είναι τα πρώτα κύτταρα που περιέχονται στα υγρά που παράγονται από τα νευρικά κολοβώματα.(95)

Ο ρόλος τους στην νευρική αναγέννηση όταν εισάγονται σε νευραγωγούς είναι διαφορετικός. Και αυτό γιατί έχει αποδειχτεί ότι ευοδώνουν την νευρική αναγέννηση όταν χρησιμοποιήθηκαν σε αγωγούς για την γεφύρωση νευρικού ελλείμματος πέντε χιλιοστών στο ισχιακό νεύρο αρουραίων, αλλά από άλλες έρευνες φάνηκε ότι οι χρήση ινοβλαστών εντός των νευραγωγών προκαλεί τον σχηματισμό ινώδους ιστού εντός του νευρικού αγωγού, εμποδίζοντας το φαινόμενο της νευρικής αναγέννησης. (12,18,88-90)

#### 4.4 ΝΕΥΡΟΤΡΟΦΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Είναι πολυπεπίδια που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην επιβίωση , στην διαφοροποίηση και στην αναγέννηση του νευρικού ιστού στον οργανισμό. Απελευθερώνονται από τα νευρικά κολοβώματα μετά από τη διατομή του νεύρου. Για να επηρεάσει το φαινόμενο της νευρικής αναγέννησης είναι απαραίτητη η τοπική του παρουσία. Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει πολλές εργασίες στις οποίες μελετούνται διάφοροι νευροτροφικοί παράγοντες.

Η θεραπεία με τους νευροτροφικούς παράγοντες έχει τις δυσκολίες της εξαιτίας της υψηλής βιολογικής ενέργειας, της πολλαπλής δράσης σε πολλά όργανα και της μικρής ημίσειας ζωής τους.

Οι νευροτροφικοί παράγοντες πρέπει να χορηγούνται τοπικά , ώστε να επιτυγχάνουμε το μέγιστο θεραπευτικό αποτέλεσμα με τις λιγότερες συστηματικές ανεπιθύμητες ενέργειες. Επίσης λόγω της μικρής βιολογικής ημίσειας ζωής , έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορα συστήματα χορήγησης που εξασφαλίζουν την αργή απελευθέρωση των παραγόντων αυτών για μεγάλο χρονικό διάστημα.

Σημαντικό ρόλο στην για την τοπική χορήγηση των νευροτροφικών ουσιών έχουν οι νευραγωγοί. Παραπάνω έχουν αναφερθεί οι διάφορων ειδών νευραγωγοί. Τα συχνότερα μεγέθη νευραγωγών που χρησιμοποιούνται στα πειράματα με μικρά ζώα είναι διαμέτρου της τάξης του 1-2 χιλιοστών.(17,32,67,96)

## **4.5 ΜΕΘΟΔΟΙ ΤΟΠΙΚΗΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΝΕΥΡΟΤΡΟΦΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ**

Υπάρχουν τρεις βασικοί τρόποι τοπικής χορήγησης μίας πρωτεΐνης , όπως είναι οι νευροτροφικοί παράγοντες, εντός του νευραγωγού που χρησιμοποιείται για να γεφυρώσει ένα έλλειμμα. Ο πρώτος είναι απευθείας τοποθέτηση του νευροτροφικού παράγοντα ( πρωτεΐνη ) εντός του αυλού ενός νευραγωγού ή απελευθέρωση του παράγοντα από τα τοιχώματα αυτού. Ο δεύτερος τρόπος είναι η μεταμόσχευση κυττάρων, στον αυλό του νευραγωγού , που έχουν την ιδιότητα να παράγουν νευροτροφικούς παράγοντες. Η τρίτη εναλλακτική μέθοδος είναι η γονιδιακή θεραπεία το αποτέλεσμα της οποίας είναι η παραγωγή κάποιων κυττάρων που μπορούν να συνθέσουν νευροτροφικούς παράγοντες.

### ***4.5.1 ΑΜΕΣΗ ΤΟΠΙΚΗ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗ***

Ένας νευροτροφικός παράγοντας μπορεί να χορηγηθεί εντός του αυλού κάποιου αγωγού που είναι άδειος ή που περιέχει είδη κάποιο υλικό όπως είναι η γέλη ινικής. Στους άδειους νευρικούς αγωγούς υπάρχει ο διαθέσιμος χώρος για την νευρική αναγέννηση ενώ στους αγωγούς που περιέχουν κάποιο υλικό , η νευρική αναγέννηση ευνοείται από την υποστηρικτική λειτουργία αυτού του υλικού.

Πολλές φορές , σε διάφορα πειράματα που μελετούν την νευρική αναγέννηση, έχουν χρησιμοποιηθεί νευραγωγοί σιλικόνης. Αυτοί είναι μη διαπερατοί με αποτέλεσμα να παρουσιάζουν το πλεονέκτημα ότι μπορούν να συγκρατήσουν στον αυλό τους τις ουσίες που παράγονται από τα νευρικά κολοβώματα ή αυτές που εμείς χορηγούμε άμεσα υπό μορφή διαλύματος εντός του αυλού.

Ο Rich το 1989 σύγκρινε τον αριθμό των αναγεννημένων εμμέλων νευρικών ινών γεφυρώνοντας ένα νευρικό έλλειμμα με νευραγωγούς σιλικόνης με ή χωρίς την έγχυση διαλύματος NGF. Αποδείχθηκε ότι η τοπική χρήση διαλύματος

αύξησε τον αριθμό των αναγεννημένων εμμύλων νευρικών ινών. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώθηκαν και από πολλές μεταγενέστερες έρευνες.(97)

Τα τελευταία χρόνια , όλο και περισσότερο , η προσθήκη των νευροτροφικών παραγόντων γίνεται και σε βιοαπορροφήσιμους νευραγωγούς εξαιτίας των επιπλοκών που παρουσιάζονται από την χρήση των μη απορροφήσιμων αγωγών.

Ένας εναλλακτικός τρόπος για να γίνει χορήγηση ενός νευροτροφικού παράγοντα τοπικά ανάμεσα στα νευρικά κολοβώματα είναι η τοποθέτηση του παράγοντα σε ένα στρώμα κάποιας άλλης ουσίας η οποία στην συνέχεια τοποθετείται εντός κάποιου νευρικού αγωγού. Υλικά που χρησιμοποιούνται για τον σχηματισμό αυτών των ειδικών στρωμάτων είναι η ηπαρίνη , η λαμινίνη, και η γέλη κολλαγόνου.

Με την χρήση αυτών των υλικών δημιουργείται ένα πιο παχύρευστο περιβάλλον εντός του αυλού του νευραγωγού που κάνει πιο δύσκολη την έξοδο από αυτόν του νευροτροφικού παράγοντα. Επίσης οι ουσίες του στρώματος αλληλεπιδρούν με τους νευροτροφικούς παράγοντες επιμηκώνοντας την απελευθέρωση τους, προστατεύοντας τους από την ενζυματική αποδόμηση και αρκετές φορές λειτουργούν συνεργικά στην αύξηση της νευρικής αναγέννησης.

Αντίθετα όταν χρησιμοποιούμε υψηλής πυκνότητας γέλες είναι πιθανό να λειτουργήσουν σαν φυσικό εμπόδιο στην διαδικασία της νευρικής αναγέννησης επιβραδύνοντας ή διακόπτοντας την.

Οι νευροτροφικοί παράγοντες αλλά και άλλες ουσίες μπορεί να χορηγηθούν με την χρήση διαφόρων συστημάτων έγχυσης ή οσμωτικών μικροαντλιών. Αυτές οι αντλίες είναι συσκευές που τοποθετούνται στον οργανισμό και αποτελούνται από έναν αποθηκευτικό χώρο, στο οποίο υπάρχει η ουσία προς χορήγηση , και από ένα διπλανό χώρο που περιέχει μία οσμωτικά ενεργή ουσία που περικλείεται από μία ημιδιαπερατή μεμβράνη.

Όταν αυτός ο χώρος έρθει σε επαφή με υδατικό περιβάλλον, τότε το νερό εισέρχεται στον χώρο που υπάρχει η οσμωτικά ενεργής ουσία, ασκώντας με την σειρά του μία πίεση στον αποθηκευτικό χώρο που υπάρχει η ουσία προς χορήγηση απελευθερώνοντας την, μέσω ενός καθετήρα, εντός του νευραγωγού ή ανάμεσα στα νευρικά κολοβώματα. Από τα παραπάνω συμπεραίνουμε ότι ο ρυθμός χορήγησης εξαρτάται από την οσμωτικά ενεργή ουσία και όχι από το συστατικό προς χορήγηση και είναι σταθερός. Έχουν γίνει πολλές έρευνες χρησιμοποιώντας αυτού του είδους τις αντλίες για χρονικά διαστήματα μεγαλύτερα των τεσσάρων εβδομάδων, μελετώντας την δράση διαφόρων νευροτροφικών παραγόντων και την συνέργεια τους στην νευρική αναγέννηση.

Όταν δεν επιθυμούμε σταθερή αλλά περιοδική χορήγηση μιας ουσίας, χρησιμοποιούμε τα συστήματα έγχυσης. Αυτά αποτελούνται από έναν αποθηκευτικό χώρο που εμφυτεύονται εντός του οργανισμού υποδορίως στον οποίο χορηγείται περιοδικά η ουσία (π.χ νευροτροφικός παράγοντας). Από τον χώρο αυτόν η ουσία εγχύεται εντός του νευραγωγού μέσω καθετήρων έγχυσης.

Η χρήση των δύο παραπάνω συσκευών έχει το μειονέκτημα ότι είναι μη απορροφήσιμες με αποτέλεσμα να απαιτείται δεύτερη χειρουργική επέμβαση για την αφαίρεσή τους. Επίσης η εμφύτευσή τους παρουσιάζει τεχνικές δυσκολίες, ιδιαίτερα σε περιοχές που δεν υπάρχει πολύς χώρος, λόγω του μεγάλου μεγέθους τους και της δυσκολίας εμφύτευσης και συγκράτησης του καθετήρα έγχυσης στο ακριβές σημείο. Τα παραπάνω κάνουν περιορισμένη την ευρεία κλινική εφαρμογή τους. Παρόλα αυτά χρησιμοποιούνται συχνά σε πειραματικά πρωτοκόλλα για την διερεύνηση της δράσης διαφόρων ουσιών στην νευρική αναγέννηση.

Ένας άλλος τρόπος διάθεσης μίας ουσίας στο σημείο της νευρικής βλάβης είναι διαμέσου της χρήσης βιοαπορροφήσιμων πολυμερών μικροσφαιριδίων. Με τα μικροσφαιρίδια μπορούμε να εξατομικεύσουμε την δόση για κάθε νευρική βλάβη εμφυτεύοντας τον κατάλληλο αριθμό από αυτά σε έναν νευραγωγό. Επίσης μπορούμε να μελετήσουμε την δράση και την αλληλεπίδραση πολλών ουσιών μαζί χρησιμοποιώντας μικροσφαιρίδια που περιέχουν διαφορετικές ουσίες. Τα

μικροσφαιρίδια μπορούν να τοποθετηθούν στο τοίχωμα ενός νευραγωγού ή στον αυλό του ( υδατικό διάλυμα ή υδατική γέλη).

Τα τελευταία χρόνια έχουν πραγματοποιηθεί πολλές μελέτες για την γεφύρωση νευρικών ελλειμμάτων χρησιμοποιώντας μικροσφαιρίδια με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Παρόλα αυτά δεν είναι ευρέως διαδεδομένη η χρήση τους εξαιτίας της τεχνικής δυσκολίας ενσωμάτωσης των πρωτεϊνών στα μικροσφαιρίδια.

Με την βοήθεια της τεχνολογίας υπάρχει η δυνατότητα απελευθέρωσης των νευροτροφικών παραγόντων από τα τοιχώματα των νευρικών αγωγών , αφήνοντας τον αυλό τους κενό για την αναγέννηση των νευρικών ινών. Έτσι επιτυγχάνουμε γρηγορότερη επανανεύρωση, ιδιαίτερα όταν έχουμε να αποκαταστήσουμε μεγάλα νευρικά ελλείμματα, σε σχέση με την χρήση νευρικών αγωγών που στον αυλό τους έχει τοποθετηθεί μία ουσία σε παχύρρευστη μορφή.

Ένας απλός τρόπος απελευθέρωσης νευροτροφικών παραγόντων από τα τοιχώματα του νευρικού αγωγού είναι η ενσωμάτωση αυτών σε τεμάχια φμπρονεκτίνης που χρησιμοποιήθηκε από τον Whitworth το 1996 ενσωματώνοντας τον νευροτροφικό παράγοντα NGF. Το μειονέκτημα της ενσωμάτωσης των νευροτροφικών παραγόντων στα τοιχώματα των νευρικών αγωγών είναι ότι το υλικό από το οποίο αποτελείται ο αγωγός θα πρέπει να έχει και τις μηχανικές ιδιότητες ενός αγωγού αλλά και την ιδιότητα της απελευθέρωσης των ουσιών γεγονός που στην πράξη αποδεικνύεται δύσκολο.(98)

Τα τελευταία χρόνια το πρόβλημα αυτό ξεπεράστηκε χρησιμοποιώντας νευραγωγούς που αποτελούνται από δύο μέρη. Το ένα παρέχει τις μηχανικές ιδιότητες των νευραγωγών και δεύτερο , που βρίσκεται εσωτερικά ή εξωτερικά του πρώτου, παρέχει την ιδιότητα χορήγησης του νευροτροφικού παράγοντα με την μορφή μικροσφαιρίδιων ή με την μορφή περιβλημάτων που περιέχουν τους παράγοντες ενωμένους με ομοιοπολικούς δεσμούς.



Ένας τέτοιου είδους αγωγός παρασκευάστηκε από μη απορροφήσιμο poly(ethylene-co-vinyl acetate) (EVAc) που εσωτερικά περιβάλλεται από έναν πορώδη μανδύα EVAc/bovine serum albumin(BSA) που περιέχει νευροτροφικούς παράγοντες που απελευθερώνεται κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες.

Παρόμοιας δομής (δύο τμημάτων) νευαγωγοί αλλά βιοαπορροφήσιμοι έχουν κατασκευασθεί από poly(D,L-lactide) (PLA). Το εσωτερικό τμήμα του αποτελείται από πορώδες PLA και περιέχει FGF-2 ενώ το εξωτερικό είναι ισχυρότερο και παρεμποδίζει την διάχυση ουσιών. Τα αποτελέσματα της χρήσης αυτών των αγωγών ήταν καλύτερα από αυτά της χρήσης τους χωρίς τον νευροτροφικό παράγοντα.

Με βάση τις έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί με νευρικούς αγωγούς που περιέχουν νευροτροφικούς παράγοντες στο τοίχωμα τους, η νευρική αναγέννηση ευοδώνεται σε σχέση με τους ιδίων υλικών αγωγούς χωρίς τους νευροτροφικούς παράγοντες. Παρόλα αυτά στις περισσότερες από αυτές τις έρευνες φάνηκε ότι με την χρήση αυτομοσχεύματος είχαμε καλύτερα αποτελέσματα.(12,88-90)

## **2) ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑ**

Η γονιδιακή μεταφορά στα νεύρα που έχουν υποστεί βλάβη, αποτελεί έναν τρόπο με τον οποίο μπορούμε να μεταβάλουμε το τοπικό περιβάλλον στην περιοχή της νευρικής βλάβης. Η μέθοδος αυτή παρουσιάζει δυσκολίες όπως είναι η επάρκεια της μεταφοράς των γονιδίων. Στην περίπτωση που χρησιμοποιείται ως φορέας γονιδίων κάποιος ιός, τότε υπάρχει και το πρόβλημα της ασφάλειας για κάποια λοίμωξη.

Στην αποκατάσταση των βλαβών των περιφερικών νευρών προτιμάται η χρήση προσωρινών φορέων ώστε να αποφεύγονται οι ανεπιθύμητες ενέργειες της χρήσης τους μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας της νευρικής αναγέννησης. Συχνά χρησιμοποιείται σαν φορέας ο αδενοϊός σε μικρές δόσεις και με τοπική χορήγηση του.

Η γονιδιακή μεταφορά έχει χρησιμοποιηθεί στην γενετική τροποποίηση των κυττάρων Schwann ώστε να παράγουν μεγαλύτερη ποσότητα του νευροτροφικού παράγοντα FGF-2. Συγκεκριμένα η τοποθέτηση αυτών των κυττάρων σε νευρικούς αγωγούς σιλικόνης που χρησιμοποιούνται στη αποκατάσταση νευρικών ελλειμμάτων ισχιακών νευρών αρουραίων (15mm) , αύξησε την νευρική αναγέννηση σε σχέση με την ομάδα που δεν χρησιμοποιήθηκαν τα τροποποιημένα αυτά κύτταρα.(99)

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΝΕΥΡΟΤΡΟΦΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ**

### **5.1 ΙΝΟΒΛΑΣΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ (FGF)**

Ο FGF προκαλεί τον πολλαπλασιασμό πολλών ειδών κυττάρων. Όσον αφορά τον ρόλο του στην αποκατάσταση των νευρικών βλαβών, κατά την διατομή του νεύρου παράγεται από τα νευρικά κολοβώματα και αυξάνει την νευρική αναγέννηση.

Το 1992 χρησιμοποιήθηκε σε μια μελέτη στην αποκατάσταση νευρικού ελλείμματος του στυτικού νεύρου σε αρουραίους με θετικά αποτελέσματα στην νευρική αποκατάσταση. Ένα χρόνο μετά ο Walter χορήγησε εντός ενός συνθετικού αγωγού ανασυνδυσμένο FGF για να γεφυρώσει ένα νευρικό έλλειμμα 15 χιλιοστών σε αρουραίους. Στην ομάδα που χορηγήθηκε ο FGF παρατηρήθηκε ανάκτηση της λειτουργικής κινητικής ικανότητας των νευρούμενων μυών, πράγμα το οποίο δεν έγινε στην ομάδα που δεν χορηγήθηκε ο νευροτροφικός παράγοντας.(100,101)

Μελέτες πραγματοποιήθηκαν και σε άλλα ζώα όπως αυτή όπου χρησιμοποιήθηκε ο FGF στην αποκατάσταση ελλειμμάτων του ισχιακού νεύρου του σκύλου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η χορήγηση του FGF αύξησε την αναγέννηση των εμμύλων νευρικών ινών χωρίς όμως να επιτυγχάνουμε την ποιότητα και την ταχύτητα της νευρικής αποκατάστασης που πετυχαίνουμε με το αυτομόσχευμα.(102)

Πιο πρόσφατες έρευνες χρησιμοποίησαν για την γεφύρωση ενός νευρικού ελλείμματος δέκα χιλιοστών τον νευροτροφικό παράγοντα FGF ενωμένο με κολλαγόνο μέσα σε ένα συνθετικό νευρικό αγωγό. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι με αυτόν τον τρόπο η νευρική αναγέννηση ήταν συγκρίσιμη με την χρήση αυτομοσχεύματος και πολύ ανώτερη από αυτήν που επετεύχθη με την χορήγηση του κολλαγόνου χωρίς τον νευροτροφικό παράγοντα. (103)

## **5.2 ΝΕΥΡΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ (NGF)**

Είναι ένας σημαντικός νευροτροφικός παράγοντας που διαδραματίζει κύριο ρόλο στην νευρική ανάπτυξη και αναγέννηση. Το 1989 εξετάστηκε το φαινόμενο της νευρικής αναγέννησης του ισχιακού νεύρου των αρουραίων με τη χρήση νευραγωγού σιλικόνης. Παρατήρησε ότι όταν έκανε τοπική έγχυση NGF με συγκέντρωση 1mg/ml εντός του νευρικού αγωγού σιλικόνης, τότε ο αριθμός των αναγεννημένων εμύελων νευρικών ινών διπλασιάζονταν , το πάχος του μυελινικού περιβλήματος αύξανε και το νεύρο φαίνονταν πιο ώριμο σε σχέση με την χρήση του νευρικού αγωγού σιλικόνης χωρίς τον νευροτροφικό παράγοντα επίσης και από άλλες έρευνες προκύπτει ότι η χρήση του νευροτροφικού αυτού παράγοντα οδηγεί σε αύξηση της ταχύτητας μετάδοσης του ερεθίσματος στο αναγεννημένο νεύρο.(97)

Έκτοτε έχουν χρησιμοποιηθεί πολλοί από τους προαναφερθείσες μέθοδοι τοπικής χορήγησης του NGF που έχουν αυξήσει την δράση του στην διαδικασία της νευρικής αναγέννησης. Ενδεικτικά αναφέρουμε ότι έχουν γίνει έρευνες στις οποίες ο NGF χορηγήθηκε μαζί με ηπαρίνη σε στρώμα ινικής, με μικροσφαιρίδια είτε με την χρήση αδενουίου. Τα αποτελέσματα αυτών έδειξαν ότι ο NGF επιταχύνει την νευρική αναγέννηση.(88-90)

### **5.2.1 GLIAL CELL-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR (GDNF)**

Είναι ένας νευροτροφικός παράγοντας που εκκρίνεται, μετά από μια νευρική βλάβη, από τα κύτταρα Schwann. Έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει την επιβίωση των κινητικών και αισθητικών νευρώνων, την ανάπτυξη των αναγεννημένων νευρικών ινών, την μετακίνηση των κυττάρων Schwann , και την επιβίωση των ντοπαμινεργικών νευρώνων.

Το 2002 γεφυρώθηκε ένα νευρικό έλλειμμα 8 χιλιοστών στο προσωπικό νεύρο αρουραίων , χρησιμοποιώντας συνθετικούς νευρικούς αγωγούς (PEVA) που περιείχαν GDNF. Τα αποτελέσματα απέδειξαν ότι με αυτόν τον τρόπο επετεύχθη

ο σχηματισμός περισσότερων εμύελων νευρικών ινών σε σχέση με την ομάδα που δεν χρησιμοποιήθηκε αυτός ο παράγοντας. Χρησιμοποιώντας την ίδια μέθοδο για την γεφύρωση νευρικών ελλειμμάτων 15 χιλιοστών στο ισχιακό νεύρο αρουραίων αποδείχθηκε η αποτελεσματικότητα της στην αύξηση της νευρικής αναγέννησης.(104)

Πιο πρόσφατα μελετήθηκε η αποκατάσταση νευρικών ελλειμμάτων 13 χιλιοστών στο ισχιακό νεύρο αρουραίων , χρησιμοποιώντας νευρικούς αγωγούς σιλικόνης στους οποίους ο αυλός είχε γεμισθεί με στρώμα ινικής , ηπαρίνη και GDNF (100ng/ml). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα η παρουσία του παράγοντα λειτούργησε ευεργετικά στο μέγεθος των εμύελων ινών και ήταν συγκρίσιμα με την χρήση νευρικού ισομοσχεύματος όσον αφορά την πυκνότητα των αναγεννημένων νευρικών ινών και του ποσοστού αναγέννησης του νευρικού ιστού.(105)

### **5.2.2 GLIAL GROWTH FACTOR (GGF)**

Είναι ένας νευροτροφικός παράγοντας που παράγεται από τα νευρικά κύτταρα και επηρεάζει ευεργετικά τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων Schwann. Το 2005 εξετάστηκε η δράση αυτού του παράγοντα εισάγοντας σε νευρικούς αγωγούς σιλικόνης και γεφυρώνοντας με αυτούς νευρικά ελλείμματα 2-4 εκατοστών στο κοινό περονιαίο νεύρο κουνελιών. Φάνηκε λοιπόν ότι ο GGF επιδρά αυξάνοντας ποσοτικά τα κύτταρα Schwann , τον βαθμό της αναγέννησης των νευρικών ινών και μειώνοντας το ποσοστό μείωσης της μυϊκής μάζας σε σχέση με τους ελέγχους.(106)

### **5.2.3 ΝΕΥΡΟΤΡΟΦΙΝΗ-3 (NT-3)**

Έχει ένα σημαντικό ρόλο στην θρέψη, στην ανάπτυξη και στην διαφοροποίηση των νευρικών κυττάρων καθώς και στην ευόδωση της πραγματοποίησης νευρικών συνάψεων. Έχουν γίνει πολλά πειραματικά

πρωτοκόλλα που στόχο έχουν να προσδιορίσουν την δράση της NT-3 στην αναγέννηση των περιφερικών νεύρων.

Σε ένα πρωτόκολλο μελετήθηκε η δράση του NT-3 χρησιμοποιώντας νευρικούς αγωγούς στους οποίους τοποθέτησε στον αυλό τους φμπρονεκτίνη με NT-3 (500ng/ml) για να αποκαταστήσει χειρουργικά ένα νευρικό έλλειμμα 10 mm στο ισχιακό νεύρο αρουραίων. Αποδείχτηκε ότι η χρήση του NT-3 προκαλεί αυξημένη αναγέννηση των νευρικών ινών σε σχέση με την ομάδα ελέγχου την δέκατη πέμπτη μέρα. Μετά από 8 μήνες και στις δύο ομάδες είχαν αναπτυχθεί νευρικές ίνες παρόμοιας διαμέτρου με την διαφορά ότι στην ομάδα που χρησιμοποιήθηκε ο συγκεκριμένος νευροτροφικός παράγοντας είχαν αναπτυχθεί περισσότερες εμμέλες νευρικές ίνες.(107)

Σε ένα άλλο πειραματικό πρωτόκολλο χρησιμοποιήθηκαν πορώδης νευρικοί αγωγοί γεμισμένοι με στρώμα κολλαγόνου στους οποίους χορηγήθηκε στην μία ομάδα NT-3 (1μg/ml) , στην δεύτερη BDNF (1μg/ml) και στην τρίτη FGF-1 ,προκειμένου να γεφυρώσουν νευρικά ελλείμματα 10 mm στο ισχιακό νεύρο αρουραίων. Μετά από 8 εβδομάδες φάνηκε ο νευροτροφικός παράγοντας NT-3 και ο BDNF προκαλούσε ίδιου βαθμού αύξηση της νευρικής αναγέννησης η οποία ήταν κατώτερη της αναγέννησης που είχαμε με την χρήση του νευροτροφικού παράγοντα FGF-1.(108)

#### **5.2.4 CILIARI NEUROTROPHIC FACTOR (CNTF)**

Αποτελεί έναν νευροτροφικό παράγοντα που η δράση του έχει μελετηθεί με αρκετές έρευνες. Zhang et al χορήγησε στον αυλό νευρικών αγωγών σιλικόνης τον συγκεκριμένο παράγοντα και γεφύρωσε με αυτούς νευρικά ελλείμματα 10 mm σε ισχιακά νεύρα αρουραίων. Τα αποτελέσματα έδειξαν, σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, μία αύξηση του αριθμού και της διαμέτρου των αναγεννημένων νευρικών ινών που έχει ως συνέπεια την αυξημένη ταχύτητα αγωγής στο αναγεννημένο ισχιακό νεύρο και μία αύξηση των δυναμικών συσπόμενων πρόσθιο κνημιαίο μυ.(109)

### **5.2.5 VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF)**

Είναι ένας τροφικός παράγοντας που ενεργεί άμεσα στον αγγειακό ιστό και έμμεσα στην νευρική ανάπτυξη των περιφερικών νεύρων αφού έχει αποδειχθεί ότι η αποτελεσματικότητα αυτής εξαρτάται από την δημιουργία νέων αγγείων.

Σε μία έρευνα χορηγήθηκε VEGF (500-700ng/ml) σε μία γέλη που αποτελείται κυρίως από λαμινίνη η οποία με την σειρά της εισήχθη στον αυλό νευρικών αγωγών σιλικόνης που χρησιμοποιήθηκαν για την αποκατάσταση νευρικών ελλειμμάτων ισχιακών νεύρων αρουραίων. Τα αποτελέσματα της απέδειξαν ότι η προσθήκη της ουσίας VEGF αύξησε την αγγειακή εισχώρηση εντός των νευρικών αγωγών κατά τρόπο μη γραμμικά εξαρτώμενο με την δόση χορήγησης. Επίσης φάνηκε ότι η χορήγηση του VEGF σχετίζεται με την αύξηση της αναγέννησης των νευρικών ινών και με την μετακίνηση των κυττάρων Schwann.(109)

### **5.2.6 LEUKEMIA INHIBITORY FACTOR (LIF)**

Αποτελεί έναν παράγοντα που ευοδώνει την νευρική αναγέννηση. Σε μία έρευνα χορηγήθηκε ο LIF με την μορφή υδατικής γέλης (100 ng/ml) εντός νευρικών αγωγών σιλικόνης οι οποίοι χρησιμοποιήθηκαν στην γεφύρωση νευρικών ελλειμμάτων 10mm σε ισχιακά νεύρα αρουραίων. Τα αποτελέσματα απέδειξαν την συσχέτιση της χρήσης αυτού του παράγοντα και της αύξησης της νευρικής αναγέννησης.(88-90)

### **5.2.7 INSULIN LIKE GROWTH FACTOR I (IGF-1)**

Είναι και αυτός ένας παράγοντας που επηρεάζει την νευρική αποκατάσταση των περιφερικών νεύρων. Η θετική επίδραση που έχει στην νευρική αναγέννηση αποδείχτηκε από μία έρευνα στην οποία γεφυρώθηκε ένα νευρικό

έλλειμμα 20 mm ισχιακού νεύρου αρουραίου με την χρήση αυτομοσχεύματος και ταυτόχρονα χορηγήθηκε ο IGF-1 με συγκέντρωση 100mg/ml με οσμωτική αντλία με ρυθμό 0.25μl/h. Επίσης με βάση άλλη πειραματική έρευνα έχει αποδειχθεί ότι ο IGF-1 μπορεί να λειτουργήσει συνεργικά στην ανάπτυξη των αναγεννημένων νευρικών ινών , με άλλους νευροτροφικούς παράγοντες όπως ο NGF .(110).

### **5.2.8 PLATELET-DERIVED GROWTH FACTOR (PDGF)**

Αποδείχτηκε ο ρόλος του στην ευόδωση της αναγέννησης των νευρικών ινών των περιφερικών νεύρων από τα αποτελέσματα της χειρουργικής αποκατάστασης νευρικών ελλειμμάτων του ισχιακού νεύρου αρουραίων με την χρήση νευραγωγών σιλικόνης οι οποίοι είχαν γεμισθεί με PDGF που βρισκόταν σε γέλη κολλαγόνου. (89)

### **5.2.9 BRAIN – DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR (BDNF)**

Είναι ένας νευροτροφικός παράγοντας που ταυτοποιήθηκε για πρώτη φορά το 1982, αποτελείται από 120 αμινοξέα και είναι ομόλογη κατά 50% με τον NGF. Οι αρχικές έρευνες του απέδωσαν ένα ρόλο στο κεντρικό νευρικό σύστημα και συγκεκριμένα στον ιπόκαμπο, στα αισθητικά γάγγλια και στα οπτικά γάγγλια. Μετέπειτα διευκρινίστηκε ο ρόλος του στην επιβίωση των κινητικών νευρώνων διαμέσου της ένωσης του με τους υποδοχείς που εκφράζονται στα κινητικά νευρικά κύτταρα. Ο BDNF μεταφέρεται στους κινητικούς νευρώνες από τους σκελετικούς μύες και έχει βρεθεί ότι βοηθά στην επιβίωση των κινητικών νευρώνων που έχουν υποστεί αξονότμηση, όταν χορηγηθεί στις σωστές φαρμακολογικές δόσεις. Βρέθηκε επίσης ότι υφίσταται παλίνδρομη μεταφορά από τους νευρικούς άξονες προς το κυτταρικό σώμα των κινητικών νευρώνων. Σε πειραματικές μελέτες in



νίνο φαίνεται ότι ο BDNF ευοδώνει την επιβίωση των διατμηθέντων προσωπικών και ισχιακών νεύρων των νεογέννητων αρουραίων.(17,32,67,88-90)

Έκτοτε πολλοί ερευνητές έχουν ασχοληθεί με τον πιθανό ρόλο που διαδραματίζει ο νευροτροφικός αυτός παράγοντας στη αποκατάσταση νευρικών βλαβών στο κεντρικό και στο περιφερικό νευρικό σύστημα. Για όσον αφορά το κεντρικό νευρικό σύστημα, πολύ σημαντικό ρόλο στην διευκρίνιση του ρόλου του BDNF στην νευρική αναγέννηση μετά από μία νευρική βλάβη, είχε μία μελέτη στην οποία αφού προκαλείται μία βλάβη στο επίπεδο του νωτιαίου μυελού σε αρουραίους, μεταμοσχεύθηκαν τροποποιημένοι ινοβλάστες ικανοί να παράγουν νευροτροφικούς παράγοντες. Σε κάθε ομάδα χρησιμοποιήθηκε ένας τύπος ινοβλαστών που παράγει έναν νευροτροφικό παράγοντα.

Είναι γνωστό ότι μετά από μία τραυματική βλάβη του νωτιαίου μυελού ακολουθεί απομυελίνωση των νευρικών ινών. Η επαναμυελίνωση αυτών δεν είναι πάντα εφικτή εξαιτίας της απόπτωσης που υφίσταται τα ολιγοδενδροκύτταρα που είναι τα υπεύθυνα κύτταρα για την επαναμυελίνωση. Από τα παραπάνω συμπεραίνουμε ότι μία πιθανή αύξηση του πολλαπλασιασμού των ολιγοδενδροκυττάρων, επαγόμενη από νευροτροφικούς παράγοντες, θα είχε σαν αποτέλεσμα την πληρέστερη και γρηγορότερη επαναμυελίνωση του νωτιαίου μυελού.

Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι στις ομάδες που είχαν μεταμοσχευθεί ινοβλάστες που παράγουν BDNF ή NT-3, υπήρχαν περισσότερα ολιγοδενδροκύτταρα και αυξημένη επαναμυελίνωση των νευρικών αξόνων σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Το γεγονός αυτό φαίνεται ότι οφείλεται στην ικανότητα των ολιγοδενδροκυττάρων, μετά από μία νευρική βλάβη, να εκφράζουν τους υποδοχείς trkB και trkC στους οποίους ενώνονται οι παραπάνω νευροτροφικοί παράγοντες. Επίσης στις συγκεκριμένες ομάδες παρουσιάστηκε αυξημένος αριθμός αναγεννημένων νευρικών ινών γεγονός που μπορεί από μόνο του να προκαλεί αύξηση του αριθμού των ολιγοδενδροκυττάρων.(111)

Σε αρκετά ακόμα ερευνητικά πρωτόκολλα που ασχολούνται με την αποκατάσταση των νευρικών βλαβών στον νωτιαίο μυελό, έχει μελετηθεί η επίδραση του BDNF στην αποκατάσταση αυτών. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η τοπική χορήγηση αυτού του νευροτροφικού παράγοντα στο σημείο της βλάβης οδηγεί, μέσω της παλίνδρομης μεταφοράς του στο κυτταρικό σώμα των νευρώνων, αυξημένη επιβίωση των νευρικών κυττάρων μετά την βλάβη. Επίσης η τοπική χορήγηση του BDNF στο σημείο του νωτιαίου μυελού που έχει υποστεί βλάβη, έχει φανεί ότι προκαλεί μία μικρότερη απώλεια της έκπτωσης της νευρικής λειτουργίας στην πρώιμη μετεγχειρητική περίοδο.

Το 2000 έγινε μια μελέτη προκειμένου να αποδειχθεί εάν η συνεχής τοπική χορήγηση, μέσω μίας αντλίας, διαφόρων νευροτροφικών παραγόντων (NT-3, BDNF, NGF) στο σημείο της νευρικής βλάβης του νωτιαίου μυελού, βελτιώνει τα λειτουργικά αποτελέσματα μέσω της αύξησης της επιβίωσης των νευρικών κυττάρων και της ευόδωσης της νευρικής αναγέννησης των νευρικών ιών. Τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας αποδεικνύουν ότι η τοπική χρήση του BDNF οδηγεί σε καλύτερα λειτουργικά αποτελέσματα σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Με βάση και άλλες έρευνες αυτό πιθανόν να οφείλεται στο γεγονός ότι ο BDNF προστατεύει τα νευρικά κύτταρα στα οποία οι νευρικοί άξονες έχουν υποστεί μικρού βαθμού βλάβη, από τις συνέπειες αυτών. Επίσης έχει φανεί ότι αυτός ο νευροτροφικός παράγοντας προλαμβάνει τον θάνατο μίας μερίδας νευρικών κυττάρων που έχουν υποστεί μεγαλύτερη νευρική βλάβη.(112)

Στην ίδια έρευνά φάνηκε ότι η ενδομυελική έγχυση του BDNF στο σημείο της βλάβης, επιταχύνει την μετακίνηση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων Schwann και ευοδώνει τον σχηματισμό του μυελικού περιβλήματος σε μεγαλύτερο βαθμό από την ομάδα ελέγχου και από τις ομάδες στις οποίες εγχύθηκε NGF ή NT-3. Επίσης τα αποτελέσματα υποστηρίζουν ότι ο BDNF ευοδώνει σε μικρό βαθμό την αναγέννηση των νευρικών ιών.

Η δράση του BDNF στις νευρικές βλάβες του νωτιαίου μυελού εξετάστηκε και στις περιπτώσεις όπου η χορήγηση του δεν έγινε στην οξεία φάση τις βλάβης

αλλά κάποιες εβδομάδες μετά. Συγκεκριμένα έξι εβδομάδες μετά από μία βλάβη στην αυχενική μοίρα του νωτιαίου μυελού αρουραίων μεταμοσχεύθηκαν τροποποιημένοι ινοβλάστες, ικανοί να παράγουν BDNF και NT-3, ενώ στην ομάδα ελέγχου μεταμοσχεύθηκαν απλοί ινοβλάστες χωρίς αυτήν την ιδιότητα.

Πρέπει εδώ να αναφερθεί ότι η νευρική αποκατάσταση των χρόνιων νευρικών βλαβών του νωτιαίου μυελού με την μέθοδο της μεταμόσχευσης ινοβλαστών στο σημείο της νευρικής βλάβης εμφανίζει κάποιες ιδιαιτερότητες που την κάνουν δυσκολότερη από την αποκατάσταση των οξέων νευρικών βλαβών. Μία τέτοια είναι ότι έχει παρατηρηθεί ότι αυξάνεται ο κυτταρικός θάνατος των νευρικών κυττάρων εξαιτίας του ότι το σημείο της νευρικής βλάβης υφίσταται μία δεύτερη επέμβαση. Επίσης στο σημείο της νευρικής βλάβης δημιουργείται ινώδης ιστός και εμφανίζονται μία σειρά από γλυκοπρωτείνες που επιβραδύνουν την νευρική αναγέννηση.

Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η καθυστερημένη μεταμόσχευση ινοβλαστών που παράγουν BDNF και NT-3 βοηθούν την επιβίωση και την αποφυγή της ατροφίας των νευρικών κυττάρων που έχουν υποστεί αξονότμηση. Επίσης αυτού του είδους η μεταμόσχευση ευοδώνει την νευρική αναγέννηση των νευρικών ινών και φαίνεται ότι συνδέεται με μία μέτρια αύξηση των λειτουργικών αποτελεσμάτων. Αξίζει να σημειωθεί ότι η νευρική αναγέννηση και τα λειτουργικά αποτελέσματα είναι ανώτερα όταν η μεταμόσχευση των ινοβλαστών που παράγουν νευροτροφικούς παράγοντες γίνει κατά την οξεία φάση της νευρικής βλάβης .(113)

Ο ρόλος του BDNF στην νευρική αναγέννηση επιβεβαιώνεται από μία έρευνα στην οποία εξετάστηκαν τα αποτελέσματα της συνδιασμένης θεραπευτικής αγωγής, μετά από μία νευρική βλάβη του νωτιαίου μυελού, με μονοδοσική χορήγηση μεθυλπρεζολόνης και συνεχή έγχυση BDNF τοπικά στο σημείο της νευρικής βλάβης μεσω μίας οσμωτικής αντλίας για έξι εβδομάδες . Συγκεκριμένα εκτιμήθηκε η αντιφλεγμονώδη δράση του , η αναγέννηση των νευρικών ινών και τα λειτουργικά αποτελέσματα της αποκατάστασης με την χρήση των δύο αυτών ουσιών.

Με την βοήθεια της ανοσοιστοχημείας , χρησιμοποιώντας μάρτυρες για τα φλεγμονώδη κύτταρα και για τους αναγεννημένους νευρικούς άξονες, αποδείχτηκε ότι ο BDNF δεν μεταβάλλει την δράση της μεθυλπρεζολόνης στην μείωση της αιματογενούς φλεγμονώδους αντίδρασης που προκαλείται μετά από κάποια τραυματική νευρική βλάβη στον νωτιαίο μυελό. Επίσης η συνδυασμένη χορήγηση προκαλεί αυξημένη αναγέννηση των νευρικών ινών και καλύτερα λειτουργικά αποτελέσματα σε σχέση με την ομάδα στην οποία χορηγήθηκε μόνο κορτιζόνη κατά την οξεία φάση της νευρικής βλάβης.(114)

Ομοίως με το κεντρικό νευρικό σύστημα , έχουν πραγματοποιηθεί πολλές μελέτες προκειμένου να διευκρινιστεί ο ρόλος του BDNF στο περιφερικό νευρικό σύστημα και στην αναγέννηση του μετά από κάποια νευρική βλάβη. Το 1996 ο Utley με του συνεργάτες του, πραγματοποίησαν μία μελέτη χρησιμοποιώντας σαν νευρικό μοντέλο το ισχιακό νεύρο των αρουραίων. Σε αυτή συγκρίνανε τα αποτελέσματα της νευρικής αποκατάστασης του νευρικού ελλείμματος με πρωτογενή επινευρική συρραφή , με την γεφύρωση με την βοήθεια ενός νευρικού αγωγού κολλαγόνου, καθώς και με την χρήση των νευραγωγών και την χορήγηση του BDNF μέσω αντλίας ή μέσω της ομοιοπολικής ένωσης του με τον νευρικό αγωγό.(115)

Από αυτή την μελέτη προέκυψαν ενδιαφέροντα στοιχεία που βοήθησαν τις μετέπειτα έρευνες. Πρώτα από όλα φάνηκε ότι ο παράγοντας αυτός έχει την ικανότητα να διατηρεί την βιολογική του δράση εντός του οργανισμού (in vivo). Δεύτερον, η ομάδα που αντιμετωπίστηκε με τη χρήση των νευραγωγών κολλαγόνου στους οποίους ήταν συνδεδεμένος ο BDNF, παρουσίασε τα καλύτερα λειτουργικά αποτελέσματα (walking track analysis). Ακολουθεί η ομάδα στην οποία έγινε χορήγηση του νευροτροφικού παράγοντα με την χρήση αντλίας. Τα πτωχότερα αποτελέσματα επετευχθησάν με την πρωτογενή επινευρική συρραφή. Από τα παραπάνω αποδεικνύεται η θετική επίδρασή του BDNF στην νευρική αναγέννηση.

Τα αποτελέσματα των λειτουργικών δοκιμασιών μαζί με αυτά της ηλεκτροφυσιολογικής μελέτης και της παθολογοανατομικής ανάλυσης των χειρουργημένων ισχιακών νεύρων καταδεικνύουν μία ανάλογη σχέση μεταξύ της διαμέτρου των αναγεννημένων νευρικών ιών , της ταχύτητας αγωγιμότητας και των λειτουργικών αποτελεσμάτων. Αντίθετα δεν φαίνεται να προκύπτει μία τέτοια σχέση μεταξύ του αριθμού των αναγεννημένων νευρικών ιών που καταμετρούνται στα αναγεννημένο νεύρο και των λειτουργικών και ηλεκτροφυσιολογικών αποτελεσμάτων.

Λίγα χρόνια αργότερα σε μία πειραματική μελέτη εξετάσθηκε αν η τοπική χορήγηση του BDNF μαζί με τον CNTF στο σημείο της νευρικής βλάβης λειτουργεί συνεργικά όσον αφορά την νευρική αναγέννηση του περιφερικού νεύρου. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης δείχνουν ότι η τοπική χρήση δύο νευροτροφικών παραγόντων κατά την χειρουργική αποκατάσταση μιας νευρικής βλάβης οδηγεί σε καλύτερα λειτουργικά αποτελέσματα σε σχέση με την χορήγηση ενός. Η ιστολογική ανάλυση των αναγεννημένων νευρικών ιών δείχνει ότι η συγχορήγηση των δύο νευροτροφικών παραγόντων έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία μεγαλύτερης διαμέτρου νευρικών ιών , γεγονός που αντικατοπτρίζεται με καλύτερα λειτουργικά και ηλεκτροφυσιολογικά αποτελέσματα. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στην ύπαρξη στο νευρικό κύτταρο διαφορετικών υποδοχέων για κάθε νευροτροφικό παράγοντα. (116)

Επίσης με δεδομένο ότι έχει αποδειχθεί ότι μία γλυκοπρωτεϊνη που είναι συνδεδεμένη με την μυελίνη επιβραδύνει την νευρική αναγέννηση των σπονδυλικών γαγγλίων, στην έρευνα αυτή φαίνεται ότι η χορήγηση ενός νευροτροφικού παράγοντα οδηγεί σε μείωση της έκφρασης αυτής της γλυκοπρωτεΐνης οπότε και σε αύξηση της νευρικής αναγέννησης. Κατά ανάλογο τρόπο η συγχορήγηση και των δύο νευροτροφικών παραγόντων οδηγεί σε περαιτέρω μείωση αυτής της γλυκοπρωτεΐνης και σύμφωνα με την ιστολογική εξέταση σε μεγαλύτερο αριθμό αναγεννημένων νευρικών ιών.

Στην ίδια κατεύθυνση κινούνται και τα αποτελέσματα μίας άλλης έρευνας στην οποία σαν μοντέλο περιφερικού νεύρου χρησιμοποιήθηκε το προσωπικό νεύρο κουνελιού. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της , η γεφύρωση ενός νευρικού ελλείμματος της τάξης των 15 mm με την χρήση νευρικών αγωγών κολλαγόνου που περιέχει γέλη κολλαγόνου και BDNF , δίνει τα ίδια λειτουργικά αποτελέσματα με την γεφύρωση του νευρικού ελλείμματος με την χρήση αυτομοσχεύματος.(117)

Ο ρόλος του BDNF στην νευρική αναγέννηση μελετήθηκε επίσης από τα αποτελέσματα της γεφύρωσης ενός νευρικού ελλείμματος του κνημιαίου κλάδου του ισχιακού νεύρου αρουραίων με την χρήση αυτομοσχεύματος μήκους 20 mm και με την χορήγηση ή μη του BDNF τοπικά μέσω μίας οσμωτικής αντλίας. Μετά από έξι εβδομάδες τα πειραματόζωα υπέστησαν ευθανασία, οπότε και μετρήθηκαν οι κινητικοί νευρώνες στα πρόσθια κέρατα του νωτιαίου μυελού και οι αναγεννημένες νευρικές ίνες περιφερικά της συρραφής του αυτομοσχεύματος και του περιφερικού κολοβώματος του διατμηθέντος νεύρου. Επίσης εξετάστηκε το μέγεθος των αναγεννημένων νευρικών ινών.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η τοπική χρήση του BDNF στην περιοχή όπου έγινε η χειρουργική αποκατάσταση με την χρήση του αυτομοσχεύματος , είχε ως αποτέλεσμα την παρουσία μεγαλύτερου αριθμού νευρικών κυττάρων στα πρόσθια κέρατα του νωτιαίου μυελού , πιθανόν λόγω της αυξημένης επιβίωσης τους που προκαλεί ο BDNF μέσω της παλίνδρομης μεταφοράς του στο κυτταρικό σώμα των νευρικών κυττάρων. Αντίθετα η χρήση αυτού του νευροτροφικού παράγοντα δεν φαίνεται να επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό τη διάμετρο και τον αριθμό των αναγεννημένων νευρικών ινών. (118)

Στα πλαίσια της έρευνας για τους πιθανούς παράγοντες που ευοδώνουν την νευρική αναγέννηση των αισθητικών νευρικών ινών, εξετάστηκε ο ρόλος του BDNF στις μεταβολές που υφίστανται τα αισθητικά νευρικά κύτταρα, προκειμένου να αναγεννηθούν οι άξονες τους, μετά από μία περιφερική βλάβη. Η καινοτομία της έρευνας αυτής ήταν ότι δεν εξετάστηκαν τα αποτελέσματα της χορήγησης του BDNF αλλά τα αποτελέσματα της εξουδετέρωσης του ενδογενώς παραγόμενου

BDNF , μετά από μία νευρική βλάβη , στους αισθητικούς νευρώνες. Αυτή γίνεται με τη χορήγηση αντισωμάτων κατά του BDNF που χορηγούνται με την βοήθεια μίας οσμωτικής αντλίας για ένα διάστημα τριών ημερών , από την νευρική βλάβη, στον πέμπτο οσφυϊκό ραχιαίο γάγγλιο.

Αποδείχθηκε λοιπόν, με βάση και την σύγκριση με την ομάδα ελέγχου στην οποία δεν χορηγήθηκαν αυτά τα αντισώματα, ότι η εξουδετέρωση του ενδογενούς BDNF έχει ως αποτέλεσμα την μείωση της έκφρασης των γονιδίων που εκφράζονται από τα αισθητικά νευρικά κύτταρα ως απάντηση στην νευρική βλάβη. Στα ίδια αποτελέσματα οδηγήθηκαν οι ερευνητές όταν χορήγησαν τα αντισώματα τρεις ημέρες πριν την νευρική βλάβη. Ένα πολύ σημαντικό στοιχείο αυτής της έρευνας είναι ότι φάνηκε πως η καθυστερημένη χορήγηση (μετά από μία εβδομάδα) των αντισωμάτων δεν έχει επίδραση στην έκφραση των παραπάνω γονιδίων. Αυτό αποτελεί μία ένδειξη ότι η δράση του BDNF περιορίζεται κυρίως στην πρώιμη περίοδο μετά την νευρική βλάβη.(119)

Σε άλλη έρευνα όπου χρησιμοποιήθηκε νευρικό αλλομόσχευμα για την γεφύρωση νευρικού ελλείμματος σε ισχιακό νεύρο αρουραίων, διαπιστώθηκε ότι ο BDNF εκφράζεται στο τέταρτο οσφυϊκό επίπεδο του νωτιαίου μυελού σε αυξημένα επίπεδα , φτάνοντας στην ανώτερη τιμή του ανάμεσα στην τέταρτη και όγδοη εβδομάδα από την νευρική βλάβη.(120)

Τα τελευταία χρόνια όλο και περισσότεροι ερευνητές ασχολούνται με την γεφύρωση όλο και μεγαλύτερων νευρικών ελλειμμάτων καθώς και με την πιθανή ευεργετική επίδραση των νευροτροφικών παραγόντων στην επιτυχή αποκατάσταση αυτών των νευρικών βλαβών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η χρήση γενετικά τροποποιημένων neural stem cells στην γεφύρωση νευρικών ελλειμμάτων 15mm σε ισχιακά νεύρα αρουραίων με την χρήση βιοαπορροφήσιμων νευρικών αγωγών. Η γενετική αλλαγή αυτών των κυττάρων τους προσδίδει την ικανότητα να παράγουν αυξημένη ποσότητα BDNF ή GDNF.

Μετά από οκτώ εβδομάδες , όπου έγιναν οι απαραίτητες μετρήσεις, παρατηρήθηκε ότι ο βαθμός της μυελοποίησης των αναγεννημένων νευρικών ινών

και το μέγεθος τους ήταν μεγαλύτερο από ότι στην ομάδα στην οποία χρησιμοποιήθηκαν μη τροποποιημένα neural stem cells. Επίσης η λειτουργική αποκατάσταση η οποία εκτιμήθηκε με την ανάλυση βάδισης και τον ηλεκτροφυσιολογικό έλεγχο, ήταν αρκετά καλύτερη στην ίδια ομάδα. Τα συμπεράσματα αυτά δείχνουν ότι μεγάλα νευρικά ελλείμματα πιθανόν να είναι δυνατόν να αποκατασταθούν χειρουργικά με την χρήση των κατάλληλων νευρικών αγωγών και νευροτροφικών παραγόντων.(121)

Σε άλλη πειραματική μελέτη και πάλι με την χρήση τροποποιημένων γενετικά κυττάρων αποδεικνύεται πρώτον η θετική επίδραση του BDNF στην νευρική αναγέννηση και δεύτερον ότι αυτός ο νευροτροφικός παράγοντας δεν λειτουργεί συνεργικά με τον ηλεκτρικό ερεθισμό του προς αναγέννηση νεύρου όπου έχει αποδειχθεί ότι ευοδώνει την αναγέννηση των νευρων. (122)



## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΡΟΛΟΣ ΟΡΜΟΝΩΝ ΣΤΗΝ** **ΝΕΥΡΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ**

### **6.1 ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΑ**

Υπάρχουν επαρκείς ενδείξεις ότι οιστρογόνα όπως είναι η εστραδιόλη λειτουργούν προστατευτικά στο νευρικό σύστημα. Πράγματι έχει φανεί ότι καθυστερεί την εμφάνιση και την εξέλιξη νευρολογικών παθήσεων όπως την νόσο Alzheimer και μειώνει τις εγκεφαλικές βλάβες και τον κυτταρικό θάνατο μετά από εγκεφαλικά ισχαιμικά επεισόδια. Φαίνεται λοιπόν ότι η εστραδιόλη λειτουργεί και μειώνοντας τον κίνδυνο εμφάνισης νευρικών βλαβών αλλά και μειώνοντας την έκταση αυτών και αυξανοντας την αντοχή των εγκεφαλικών κυττάρων όταν συμβεί μία βλάβη (123).

Όσον αφορά το περιφερικό νευρικό σύστημα φαίνεται ότι η τοπική χορήγησή τους μέσα σε νευραγωγό σιλικόνης ευοδώνει την νευρική αναγέννηση ισχιακών νεύρων αρουραίων που έχουν υποστεί βλάβη.(124)

#### **6.1.1 ΤΕΣΤΟΣΤΕΡΟΝΗ**

Ο ρόλος της τεστοστερόνης στο νευρικό σύστημα είναι αντικείμενο πολλών μελετών. Έχει φανεί πως εκτός από τον ρόλο που έχει στην ωρίμανση του νευρικού συστήματος, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο και στην αναγέννηση του περιφερικού νευρικού συστήματος μετά από νευρική βλάβη. Συγκεκριμένα σε μία μελέτη φάνηκε ότι η χορήγηση τεστοστερόνης αμέσως μετά από μία νευρική βλάβη λειτούργησε θετικά στην λειτουργική αποκατάσταση. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στην ένωση αυτής της ορμόνης σε προυπάρχοντες υποδοχείς και στην ρύθμιση της αντίδρασης στην κυτταρική βλάβη(125)

## **6.1.2 ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΚΗ ΟΡΜΟΝΙΚΗ**

Εδώ και πολλές δεκαετίες έχει φανεί ότι οι θυρεοειδικές ορμόνες αποτελούν έναν από τους βασικούς ρυθμιστές της ανάπτυξης και ωρίμανσης του νευρικού συστήματος. Πολλές κλινικές και πειραματικές μελέτες αποδεικνύουν ότι μη επαρκή επίπεδα θυρεοειδικών ορμονών στον οργανισμό κατά την ανάπτυξη, προκαλούν ιστολογικές και βιοχημικές ανωμαλίες στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Πιο λίγα είναι τα δεδομένα για το κατά πόσο οι θυρεοειδικές ορμόνες επηρεάζουν την ανάπτυξη του περιφερικού νευρικού συστήματος.(126,127)

Το 1970 ο Clos et al παρατήρησαν μείωση στον αριθμό και στην διάμετρο των εμύελων νευρικών ινών σε ισχιακά νεύρα αρουραίων ηλικίας 12 ημερών που είχαν γίνει υποθυρεοειδικά με χορήγηση προπυλθειουρακίλης κατά την περίοδο της κύησης. Άλλη έρευνα απέδειξε ότι ο νεογνικός υποθυρεοειδισμός καθυστερεί την ωρίμανση των αμύελων νευρικών ινών επιβραδύνοντας την αύξηση της διαμέτρου των ινών και την ανάπτυξη των αντίστοιχων κυττάρων Schwann. (128)

Ακολούθησαν έρευνες οι οποίες διερεύνησαν τα αποτελέσματα της συστηματικής χρήσης της 3,5,3 τριωδοθυροξίνης (T3) στην αναγέννηση των περιφερικών νεύρων. Φάνηκε ότι η χορήγηση T3 είχε σαν αποτέλεσμα την γρηγορότερη επιμήκυνση των αναγεννημένων νευρικών ινών που πιθανόν οφείλεται στην αυξημένη πρωτεϊνική σύνθεση στο επίπεδο των νευρικών κυττάρων. Επίσης τα αποτελέσματα άλλων πειραματικών πρωτοκόλλων συσχετίζουν την θετική επίδραση της συστηματικής χορήγησης των θυρεοειδικών ορμονών στην ανάκτηση της αίσθησης και της κινητικής λειτουργίας μετά την αποκατάσταση μίας νευρικής βλάβης. Παρόλα αυτά σε πολλές μελέτες φάνηκε ότι ο υπερθυρεοειδισμός , που προκαλείται με την χορήγηση T3 , δεν ευνοεί την αναγέννηση των αισθητικών νευρικών ινών και την μυϊκή επανανεύρωση. (129)

## 6.2 ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΚΩΝ ΟΡΜΟΝΩΝ – ΤΡΟΠΟΣ ΔΡΑΣΗΣ T3

Οι θυρεοειδικές ορμόνες δρουν στα όργανα στόχους διαμέσου υποδοχέων που βρίσκονται στον πυρήνα των κυττάρων. Τα γλοία του κεντρικού και τα κύτταρα Schwann του περιφερικού νευρικού συστήματος αποτελούν στόχους για την τριωδοθυροξίνη διαμέσου των πυρηνικών υποδοχέων. Αυτοί κωδικοποιούνται από δύο διαφορετικά γονίδια TRα( ισομερή TRα1, TRα2 και TRα3) και TRβ (TRβ1 και TRβ2).(130)

Υπάρχουν διάφοροι μηχανισμοί με τους οποίους οι θυρεοειδικές ορμόνες , επιδρώντας στα κύτταρα Schwann, επιταχύνουν την αναγέννηση των περιφερικών νευρών. Πρώτα από όλα η T3 επηρεάζει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων Schwann αυξάνοντας τον. Αυτό αποδεικνύεται από το γεγονός ότι σε υποθυρεοειδικούς αρουραίους, ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων Schwann είναι μειωμένος. Δεύτερον , η T3 ερεθίζει την παραγωγή νευροτροφικών παραγόντων από τα κύτταρα Schwann. Αυτοί με την σειρά τους ευοδώνουν την αναγέννηση των νευρικών ιών.

Τρίτον, η θυρεοειδικές ορμόνες πιθανολογείται πως επηρεάζουν απευθείας την μυελινοποίηση των νευρικών ιών. Αυτό υποστηρίζεται εξαιτίας της παρατήρησης ότι η T3 αυξάνει την έκφραση των γονιδίων της μυελίνης.

Ένας μηχανισμός με τον οποίο η T3 ρυθμίζει τις λειτουργίες των κυττάρων Schwann είναι ενεργοποιώντας ή απενεργοποιώντας την έκφραση διαφόρων γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την παραγωγή πρωτεϊνών, από τα κύτταρα αυτά, που επηρεάζουν την νευρική αναγέννηση στη πρόιμη φάση. Έτσι για παράδειγμα από μία έρευνα αποδείχτηκε ότι η T3 αυξάνει γρήγορα και προσωρινά , μόνο στα κύτταρα Schwann, την έκφραση διαφόρων γονιδίων όπως το *erg-1*, *erg-2*, *erg-3*, *junB*, *c-fos* και *fosB*. Αυτή η άμεση προσωρινή έκφραση διαφόρων γονιδίων μετά από μία νευρική βλάβη μπορεί να έχει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη, την

επιβίωση και την διαφοροποίηση των νευρικών ιών κατά την νευρική αναγέννηση.(131)

Έχει παρατηρηθεί, με την βοήθεια της ανοσοαντίδρασης στην πρωτεΐνη S100, ότι οι υποδοχείς αυτοί εκφράζονται κυρίως στα κύτταρα Schwann. Παρόλα αυτά βρέθηκε ότι το φαινόμενο της εμφάνισης των θυροειδικών υποδοχέων μπορεί να συμβεί και στα κινούμενα στην περιοχή μακροφάγα και στους ινοβλάστες. Παρατηρήθηκε επίσης ότι τοπικά και χρονικά η επανεμφάνιση αυτών των υποδοχέων ακολουθεί το φαινόμενο της βαλεριανής εκφύλισης που συμβαίνει μετά από μία νευρική βλάβη στο επίπεδο των νευρικών ιών, καθώς και ότι οι θυροειδικοί υποδοχείς εξαφανίζονται εκ νέου μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας της νευρικής αναγέννησης.(132-134)

Για όσο αφορά τον ρόλο των θυροειδικών ορμονών και των υποδοχέων τους στην διαδικασία της νευρικής αναγέννησης υπάρχουν ενδείξεις ότι η έκφραση των πυρηνικών υποδοχέων στα κύτταρα Schwann επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τον βαθμό επαφής που έχουν αυτά με τους νευρικούς άξονες.

Μία τέτοια ένδειξη είναι το γεγονός ότι έχει παρατηρηθεί ότι σε ακέραιο ισχιακό νεύρο όπου τα κύτταρα schwann περιβάλλουν τους ακέραιους νευρικούς άξονες δεν εκφράζονται θυροειδικοί υποδοχείς. Αντίθετα μετά από κάποια νευρική βλάβη όπου τα κύτταρα schwann στο περιφερικό κολόβωμα του νεύρου χάνουν την επαφή με τους νευρικούς άξονες, παρατηρείται μία πρόσκαιρη αύξηση της έκφρασης των θυροειδικών υποδοχέων που μειώνονται εκ νέου μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας της νευρικής αναγέννησης όπου τα κύτταρα Schwann και οι νευρικοί άξονες αποκτούν ξανά στενή επαφή μεταξύ τους.

Έχει επίσης παρατηρηθεί ότι σε έναν όγκο των περιφερικών νεύρων που ονομάζεται νευριλίωμα και που αποτελείται από κύτταρα schwann απουσία νευρικών ιών δεν υπάρχουν θυροειδικοί υποδοχείς. Αντίθετα στο νευροίνωμα που είναι ένας άλλος όγκος των περιφερικών νεύρων, διατηρείται η επαφή των κυττάρων schwann με τους άξονες και δεν παρατηρούνται θυροειδικοί υποδοχείς στα κύτταρα schwann. Τέλος σε καλλιέργειες των κυττάρων που υπάρχουν στα

νεύρα έχει φανεί ότι όταν τα κύτταρα schwann καλλιεργούνται μόνα τους, εκφράζουν θυροειδικούς υποδοχείς. Αυτό δεν παρατηρείται όταν καλλιεργούνται κύτταρα schwann που είναι σε επαφή με νευρικές ίνες.

Οι παραπάνω παρατηρήσεις μας οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η επαφή των νευρικών ιών με τα κύτταρα schwann μπλοκάρει την παραγωγή πυρηνικών θυροειδικών υποδοχέων από αυτά.

### **6.3 ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΘΥΡΟΕΙΔΙΚΩΝ ΟΡΜΟΝΩΝ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΕΠΙΠΕΔΟ**

Η ένωση των θυροειδικών ορμονών με τους αντίστοιχους πυρηνικούς υποδοχείς προκαλεί μία σειρά από αλλαγές στο νευρικό κύτταρο. Είναι γνωστό ότι μετά από μία νευρική βλάβη προκαλούνται μία σειρά από μεταβολές στις νευρικές ίνες και στο κυτταρικό σώμα των νευρικών κυττάρων. Μία τέτοια είναι αυτή της έκφρασης των πρωτεϊνών που αποτελούν δομικά συστατικά του κυτταροσκελετού ο οποίος υφίσταται εκφύλιση μετά από μία νευρική βλάβη. Ξέρουμε ότι τα μικροϊνίδια αποτελούν το ικρίωμα του κυτταροσκελετού ενώ η τουμπουλίνη και η μικροσωληνίσκοι έχουν βασικό ρόλο στην νευρική αναγέννηση και ταχεία μεταφορά συστατικών εντός του νευρικού κυττάρου.

Η πιθανή επίδραση των θυροειδικών ορμονών στην έκφραση των πρωτεϊνών που σχετίζονται με το κυτταροσκελετό είναι ένα σημαντικό κεφάλαιο που έχει εξετασθεί από αρκετά πειραματικά πρωτόκολλα. Έχει βρεθεί ότι η συνχορήγηση της T3 και του NGF στα ραχιαία γάγγλια ευοδώνει την παραγωγή από το νευρικό κύτταρο της δυνεινης που είναι μία πρωτεΐνη που έχει ρόλο στην ταχεία μετακίνηση των σωματιδίων διαμέσου των μικροσωληνίσκων και στην παλίνδρομη μεταφορά ουσιών μέσα στο νευρικό κύτταρο. Επίσης η χορήγηση της T3 ή του παράγοντα NGF ξεχωριστά αυξάνει την ποσότητα της τουμπουλίνης που παράγει το νευρικό κύτταρο. Μελέτες επίσης υποστηρίζουν ότι οι θυροειδικές ορμόνες επηρεάζουν την σύνθεση και τον πολυμερισμό των πρωτεϊνών των μικροσωληνίσκων.(135)

Προς την ίδια κατεύθυνση έχει πραγματοποιηθεί μία μελέτη στην οποία με την βοήθεια της ανοσοκυτταροχημικής και της western blots ανάλυσης, εξετάζεται ο μηχανισμός με τον οποίο οι θυροειδικές ορμόνες ευοδώνουν την νευρική αναγέννηση. Συγκεκριμένα με τις δύο αυτές τεχνικές ποσοτικοποιούμε την έκφραση των πρωτεϊνών των νευροινιδίων της τουμπουλίνης και της βιμεντίνης στα χειρουργημένα ισχιακά νεύρα αρουραίων στα οποία χορηγήθηκε τοπικά T3 κάνοντας σύγκριση με τα χειρουργημένα ισχιακά νεύρα στα οποία δεν χορηγήθηκε T3 καθώς και με τα ετερόπλευρα αχειούρητα ισχιακά νεύρα.

Τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας ήταν ότι η τοπική χρήση της θυροειδικής ορμόνης στα χειρουργημένα ισχιακά νεύρα ήταν καταρχήν ότι ρυθμίζει την ποσότητα της τουμπουλίνης και των μικροινιδίων στα χειρουργημένα ισχιακά νεύρα αλλά όχι της βιμεντίνης ( τουλάχιστον αυτού του ισομερούς που αναγνωρίζει το συγκεκριμένο αντίσωμα της έρευνας). Επίσης η τοπική χορήγηση της T3 επιταχύνει την επανεμφάνιση των νευροινιδίων και της τουμπουλίνης στο περιφερικό κολόβωμα του χειρουργημένου νεύρου.

Μελετώντας τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας διαπιστώθηκε ότι τα επίπεδα των νευροινιδίων και της τουμπουλίνης επηρεάζονται από την τοπική χορήγηση της T3, σε μεγαλύτερο βαθμό, μετά τις δύο πρώτες εβδομάδες από την χειρουργική αποκατάσταση δηλαδή μετά την ολοκλήρωση του φαινομένου της βαλεριανής εκφύλισης κατά την οποία αποδομείται ο κυτταροσκελετός του περιφερικού κολοβώματος.

Μετά την ολοκλήρωση της βαλεριανής εκφύλισης και με την έναρξη της ανάπτυξης των νευρικών ινών εντός του περιφερικού κολοβώματος (δύο εβδομάδες), πρώτα εμφανίζονται οι πρωτεΐνες του κυτταροσκελετού στην ομάδα στην οποία έχει χορηγηθεί T3 και μετέπειτα στην ομάδα που δεν έγινε τοπική χορήγηση της ορμόνης. Επίσης παρατηρήθηκε ότι σε ένα χρονικό διάστημα τεσσάρων εβδομάδων από την χειρουργική αποκατάσταση, τα νεύρα στα οποία έγινε τοπική χρήση T3 περιείχαν νευρικές ίνες με μεγαλύτερη διάμετρο εξαιτίας της μεγαλύτερης έκφρασης των πρωτεϊνών του κυτταροσκελετού.(132-135)

## 6.4 ΤΟΠΙΚΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗ T3 – ΝΕΥΡΙΚΗ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ

Σε πολλές έρευνες έχει εξετασθεί η επίδραση της συστηματικής χορήγησης των θυροειδικών ορμονών στην αναγέννηση των περιφερικών νεύρων. Τα αποτελέσματα είναι πολλές φορές αλληλοσυγκρουόμενα εξαιτίας πιθανόν των παρενεργειών που προκαλεί η ενδοπεριτονεακή χορήγηση των θυροειδικών ορμονών στα πειραματόζωα.(129)

Προκειμένου να αποφευχθούν οι ανεπιθύμητες ενέργειες της συστηματικής χρήσης των θυροειδικών ορμονών στα πειραματόζωα, τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει αρκετά πειραματικά πρωτόκολλα στα οποία γίνεται τοπική χορήγηση της θυροειδικής ορμόνης στην περιοχή της νευρικής βλάβης και τα οποία οδηγούν σε σημαντικά συμπεράσματα για τον ρόλο της T3 στην διαδικασία της νευρικής αναγέννησης.

Φαίνεται λοιπόν ότι η T3 μεταφέρεται με την παλίνδρομη μεταφορά των νευρικών αξόνων, στο σώμα των νευρικών κυττάρων. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού των νευρικών κυττάρων που επιβιώνουν και άρα την αύξηση των νευρικών ινών που αναγεννούνται. Επίσης οι θυροειδικές ορμόνες οδηγούν σε πολλαπλασιασμό των κυττάρων Schwann και σε αύξηση των παραγόμενων από αυτά τροφικών παραγόντων που είναι απαραίτητοι για την αναγέννηση του νεύρου.(131)

Σε πειραματικό πρωτόκολλο που πραγματοποιήθηκε το 1998 μελετήθηκε η δράση της T3 όταν χορηγείται μία μόνο δόση τοπικά κατά την χειρουργική αποκατάσταση ενός νευρικού ελλείμματος ισχιακού νεύρου αρουραίων με την χρήση νευρικών αγωγών σιλκόνης. Τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με τα αντίστοιχα της ομάδας όπου δεν χρησιμοποιήθηκε η θυροειδική ορμόνη. Σύμφωνα με την παθολογοανατομική ανάλυση, στις τέσσερις εβδομάδες μετά την χειρουργική επέμβαση, η χρήση της T3 έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη περισσότερων εμμύελων νευρικών ινών σε όλο το μήκος του νευρικού αγωγού,

μεγαλύτερης διαμέτρου και με παχύτερο μυελινικό περίβλημα. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώθηκαν από αντίστοιχη ανάλυση μετά από οχτώ εβδομάδες από την αποκατάσταση του νευρικού ελλείμματος.(136)

Αντίστοιχα αποτελέσματα παρουσιάζουν και άλλες έρευνες στις οποίες έγινε τοπική χρήση της T3 εντός βιοαπορροφήσιμων νευρικών αγωγών.(137)



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΜΕΘΟΔΟΣ

### 7.1 ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Η πειραματική μελέτη πραγματοποιείται σε 56 Wistar αρουραίους ηλικίας 8-10 εβδομάδων και βάρους 250-280gr. Προηγήθηκε η έγκριση της από τον ΕΟΦ. (αρ. πρωτοκόλλου 2986/24-05-2012) Οι αρουραίοι χωρίζονται σε τέσσερις ομάδες [AG (N=8) SIL (N=16), BDNF (N=16), T3 (N=16) ] τυχαία. (Εικόνα 1)

ΟΜΑΔΕΣ	8 weeks	16 weeks
SIL	8	8
BDNF	8	8
T3	8	8
AG	-	8

Εικόνα 1 Συνοπτική απεικόνιση ομάδων

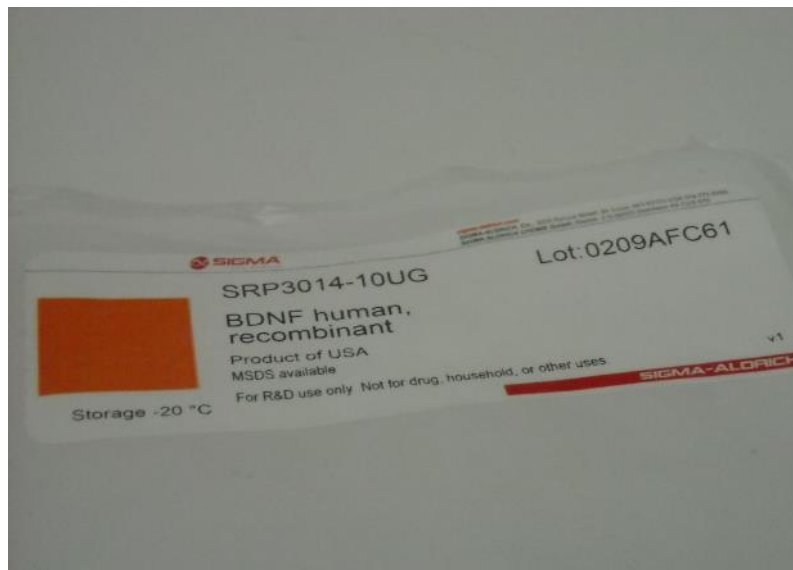
### 7.2 ΠΙΛΟΤΙΚΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ

Πριν την έναρξη του πειραματικού πρωτοκόλλου έγιναν πιλοτικά πειράματα σε Wistar αρουραίους προκειμένου να οριστικοποιηθούν όσο το δυνατόν περισσότερο οι μέθοδοι με τις οποίες θα πραγματοποιηθεί κάθε στάδιο του πειραματικού πρωτοκόλλου αλλά και να διαπιστωθούν πιθανές δυσκολίες και προβλήματα στην εκτέλεση του πρωτοκόλλου καθώς και ο τρόπος αντιμετώπισής τους. Πιο συγκεκριμένα στα πιλοτικά πειράματα εξετάστηκαν:

- 1) **Χειρουργική τεχνική.** Καταρχήν πραγματοποιήθηκαν χειρουργικές επεμβάσεις σε 10 πτωματικά παρασκευάσματα αρουραίων (ex vivo) και κατόπιν in vivo σε 10 αρουραίους αμφοτερόπλευρα προκειμένου να γίνει εξοικείωση του χειρουργού με όλα τα στάδια της χειρουργικής επέμβασης. Κατά το στάδιο αυτό καθορίστηκαν με ακρίβεια όλες οι χειρουργικές παράμετροι (επιλογή τομής δέρματος, παρασκευή ισχιακού νεύρου,

δημιουργία νευρικού ελλείμματος, χρήση αυτομοσχεύματος, μέγεθος ραμμάτων, ορισμός διαμέτρου νευραγωγού σιλκόνης, τρόπος τοπικής χορήγησης ουσιών εντός του νευραγωγού, λήψη νευρικού και μυϊκού παρασκευάσματος προς ιστολογική εξέταση). Κατά αυτόν τον τρόπο διασφαλίστηκε κατά τον δυνατόν η εκμηδένιση της χειρουργικής μεταβλητής αναμεσά στα πειραματόζωα. Επίσης καθορίστηκε η διάρκεια της χειρουργικής επέμβασης.

- 2) **Νάρκωση και αντιβιοτική αγωγή.** Δοκιμάστηκε η γενική νάρκωση με ισοφλουράνιο και η ενδομυϊκή ενέσιμη αναισθησία με κεταμίνη και ξυλαζίνη. Με βάση την διάρκεια της χειρουργικής επέμβασης και οι δύο τρόποι ήταν καλά ανεκτοί. Η τελική επιλογή ήταν η χρήση της ενδομυϊκής αναισθησίας που ήταν η λιγότερο ακριβή επιλογή. Με δεδομένο ότι στις ομάδες όπου χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της ενσωληνοποίησης εμφυτεύθηκε ξένο σώμα (νευρικός αγωγός), αποφασίστηκε να χορηγηθεί σε όλες τις ομάδες αντιβιοτική αγωγή παρόλο τις άσηπτες συνθήκες κάτω από τις οποίες διεξήχθη το πείραμα.
- 3) **Συγκέντρωση των ουσιών που χορηγούνται.** Χρησιμοποιήθηκαν 18 αρουραίοι. Με βάση την βιβλιογραφία χρησιμοποιήθηκαν οι συγκεντρώσεις T3 και BDNF. (115,117,136,137) Τα πειραματόζωα παρακολουθήθηκαν για τυχόν παρενέργειες για έξι εβδομάδες. Στις έξι εβδομάδες έγινε ηλεκτροφυσιολογικός έλεγχος όπου δεν διαπιστώθηκε κάποια νευροπάθεια προερχόμενη από την χρήση των νευραγωγών. **(Εικόνα 2)**

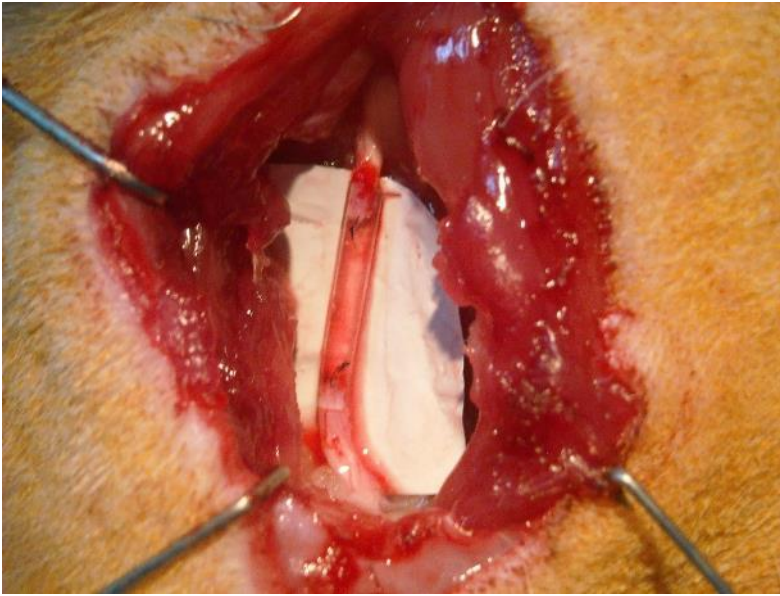


Εικόνα 2 Συσκευασία BDNF της εταιρείας sigma.

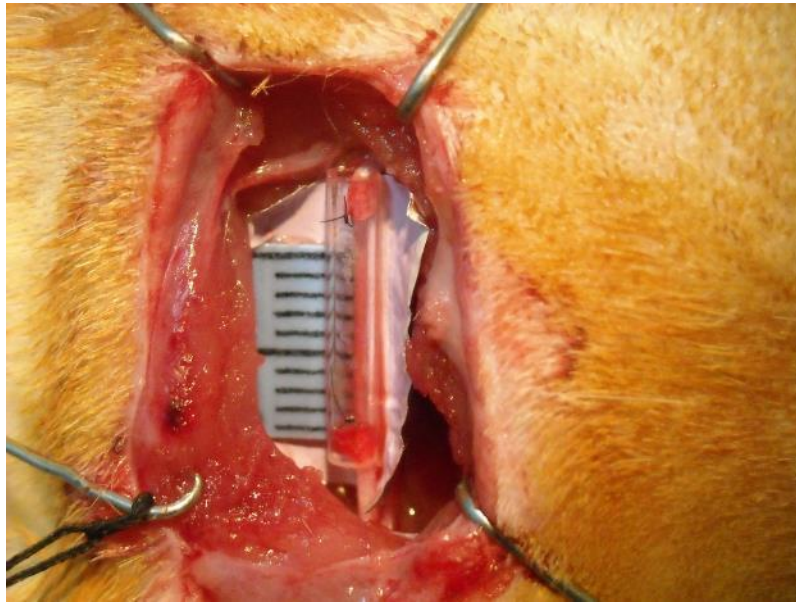
Στα πιλοτικά πειράματα δοκιμάστηκε η χρήση μικροραμμάτων μεγέθους 7-0, 8-0, 9-0 και 10-0. Τελικά με βάση την βιβλιογραφία και με βάση την εξοικείωση του χειρουργού καθορίστηκε η χρήση ραμμάτων 9-0 Ethilon για τα αυτομοσχεύματα και 8-0 Ethilon για την συρραφή του νευραγωγού σιλκόνης στα νευρικά κολοβώματα του διατμηθέντος νεύρου. Στα πιλοτικά πειράματα φάνηκε πως η σταθεροποίηση των νευραγωγών σιλκόνης ήταν ευκολότερη και καλύτερη με ράμματα 8-0 εξαιτίας της μεγαλύτερης βελόνας που αυτά διαθέτουν που είναι ικανή να διαπερνά το τοίχωμα του νευραγωγού χωρίς να παραμορφώνεται. Η χρήση λεπτότερου ράμματος 9-0 για την συρραφή των αυτομοσχευμάτων πλεονεκτεί καθώς δημιουργείται λιγότερος ουλώδης ιστός στο σημείο της συρραφής.(11,12,18)

Πρέπει να αναφερθεί ότι η επιλογή του νευρικού αγωγού από σιλκόνη φάνηκε στα πιλοτικά πειράματα ως ιδανική εφόσον επιλεγεί αγωγός κατάλληλης διαμέτρου. Η ιδανική διάμετρος νευραγωγού για την γεφύρωση των νευρικών ελλειμμάτων φάνηκε ότι είναι 1,5mm. Και αυτό γιατί παρατηρήθηκε ότι η χορηγούμενη υγρή ουσία που χορηγήθηκε εντός των αγωγών σιλκόνης αυτής της διαμέτρου παρέμενε σταθερά χωρίς να παρατηρείται διάχυση της στους περιβάλλοντες ιστούς μετά από 24 ώρες. Παράλληλα δεν παρατηρήθηκαν πιεστικά

φαινόμενα κατά τον ηλεκτροφυσιολογικό έλεγχο που διενεργήθηκε στις 6 εβδομάδες. Αντίθετα φάνηκε πως η χρήση νευρικών αγωγών σιλικόνης μεγαλύτερης εσωτερικής διαμέτρου οδηγούσε σε άμεση διάχυση της εγχυόμενης ουσίας στους περιβάλλοντες ιστούς. (Εικόνα 3, 4)



*Εικόνα 3 Επιλογή διαμέτρου νευραγωγού 1.5mm Στην συγκεκριμένη εικόνα φαίνεται ότι το υγρό διάλυμα εντός του νευραγωγού παραμένει ανάμεσα στα νευρικά κολοβώματα.*



*Εικόνα 4 Επιλογή διαμέτρου νευρικού αγωγού 2mm. Στην συγκεκριμένη εικόνα φαίνεται ότι το υγρό διάλυμα διαχέεται στους περιβάλλοντες ιστούς και δεν παραμένει εντός του νευραγωγού.*

Κατά την διαδικασία των πιλοτικών πειραμάτων καθορίστηκε η διάρκεια της χειρουργικής επέμβασης. Η αποκατάσταση των νευρικών ελλειμάτων με αυτομόσχευμα είχε μέση διάρκεια 30 λεπτά ενώ η αποκατάσταση των ελλειμμάτων με την τεχνική της ενσωληνοποίησης είχε μέση διάρκεια 20 λεπτά. Με βάση τους παραπάνω χρόνους επιλέχθηκε και το κατάλληλο πρωτόκολλο αναισθησίας και αντιβιοτικής αγωγής.

Όσον αφορά την δόση των χορηγούμενων ουσιών επιλέχθηκαν αυτές που έχουν χρησιμοποιηθεί σε αντίστοιχα πρωτοκόλλα στο παρελθόν. Δεν παρατηρήθηκαν ανεπιθύμητες ενέργειες από την τοπική χρήση του BDNF και του T3. Στα παραπάνω πιλοτικά πειράματα δοκιμάστηκε ο τρόπος διεξαγωγής του ηλεκτροφυσιολογικού ελέγχου καθώς και όλων των υπόλοιπων λειτουργικών δοκιμασιών με βάση την βιβλιογραφία.(115,117,136,137)

## ΟΜΑΔΕΣ

Οι αρουραίοι χωρίζονται σε τέσσερις ομάδες [AG (N=8) ,SIL (N=16), BDNF(N=16), T3 (N=16)]. Σε όλους τους αρουραίους γίνεται τμηματική εκτομή του δεξιού ισχιακού νεύρου δημιουργώντας έλλειμμα δέκα χιλιοστών.

Η ομάδα AG αποτελείται από 8 αρουραίους που το νευρικό έλλειμμα που δημιουργείται γεφυρώνεται χρησιμοποιώντας το διατμηθέν τμήμα που αφαιρέθηκε ανεστραμμένο. Στις υπόλοιπες τρεις ομάδες χρησιμοποιείται η τεχνική της ενσωληνοποίησης με αγωγούς σιλικόνης.

Στην ομάδα SIL που αποτελείται από 16 αρουραίους χορηγήθηκε εντός των αγωγών σιλικόνης ισοτονικό ηλεκτρολυτικό διάλυμα ενώ στις ομάδες BDNF και T3 γίνεται χρήση νευρικών αγωγών σιλικόνης και χορηγείται εντός αυτών διάλυμα BDNF και T3 αντίστοιχα. Η συγκέντρωση του διαλύματος BDNF είναι 300μg/ml. Όσον αφορά το διάλυμα του T3, παρασκευάζεται από τη διάλυση 1 mg 3,3,5 triiodo-L-thyronine σε 1ml 0,01N NaOH και την εξουδετέρωση αυτού με διάλυμα 0,01HCL προκειμένου να παρασκευασθεί διάλυμα με PH=7.8. Η χορήγηση των παραπάνω διαλυμάτων γίνεται μονοδοσικά εντός του νευρικού αγωγού κατά την διάρκεια της χειρουργικής επέμβασης.

Κάθε μία από τις ομάδες SIL, BDNF και T3 χωρίζεται σε δύο ομάδες με ισάριθμους αρουραίους (N=8) με βάση την στιγμή της ευθανασίας. Έτσι τα μισά πειραματόζωα των ομάδων αυτών θανατώνονται στις 8 εβδομάδες ενώ τα υπόλοιπα στις 16 εβδομάδες μαζί με αυτά της ομάδας AG.

## ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΕΠΕΜΒΑΣΗ

Για την χειρουργική επέμβαση ακολουθούμε πρωτόκολλο ενδομυϊκής ενέσιμης αναισθησίας με κεταμίνη 100mg/kg (Imalgene, Merial) και ξυλαζίνη 20mg/kg (Rompun, Bayer) στην ίδια σύριγγα. Όσον αφορά την αναλγησία χορηγούμε υποδόρια βουτορφανόλη 1-2mg/kg (Dolorex, Merck) και μελοξικάμη 3mg/kg (Metacam, Boehringer Ingelheim) πριν την έναρξη της επέμβασης.

Επίσης χορηγείται υποδόρια ενροφλοξασίνη 10mg/kg (Baytril, Bayer) για αντιβιοτική αγωγή παρά τις άσηπτες συνθήκες κάτω από τις οποίες διενεργείται το πείραμα.

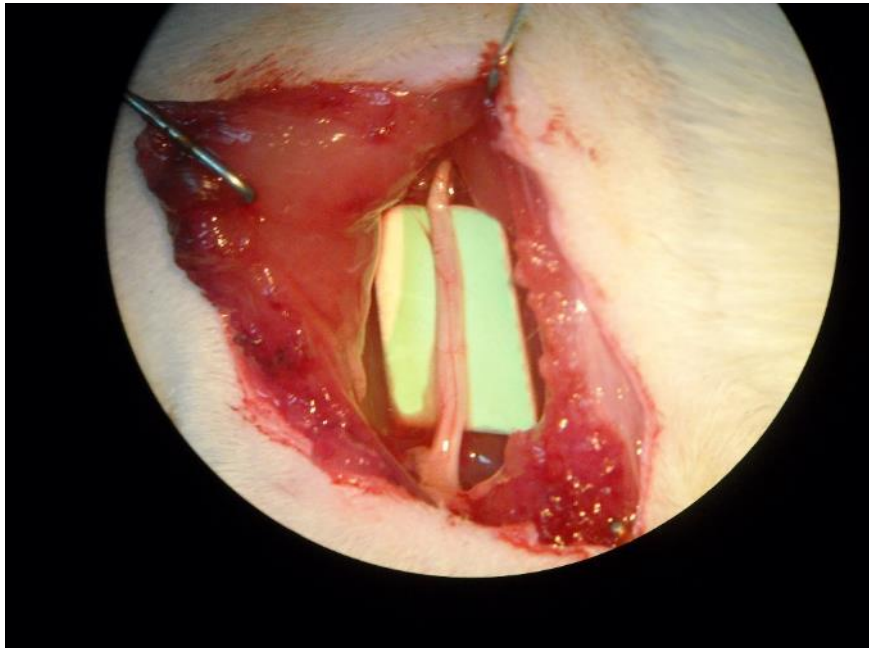
Οι αρουραίοι τοποθετούνται σε πρηνή θέση και κάτω από άσηπτες συνθήκες πραγματοποιείτε η χειρουργική επέμβαση με βάση τους παρακάτω χειρουργικούς χρόνους.

- 1) Γίνεται επιμήκης τομή δέρματος στη δεξιά γλουτιαία χώρα παράλληλα με το μηριαίο οστόν.
- 2) Διήνιση των ινών του μείζονα γλουτιαίου μυός (Εικόνα 5)



*Εικόνα 5 Διάνοιξη μυϊκών ομάδων*

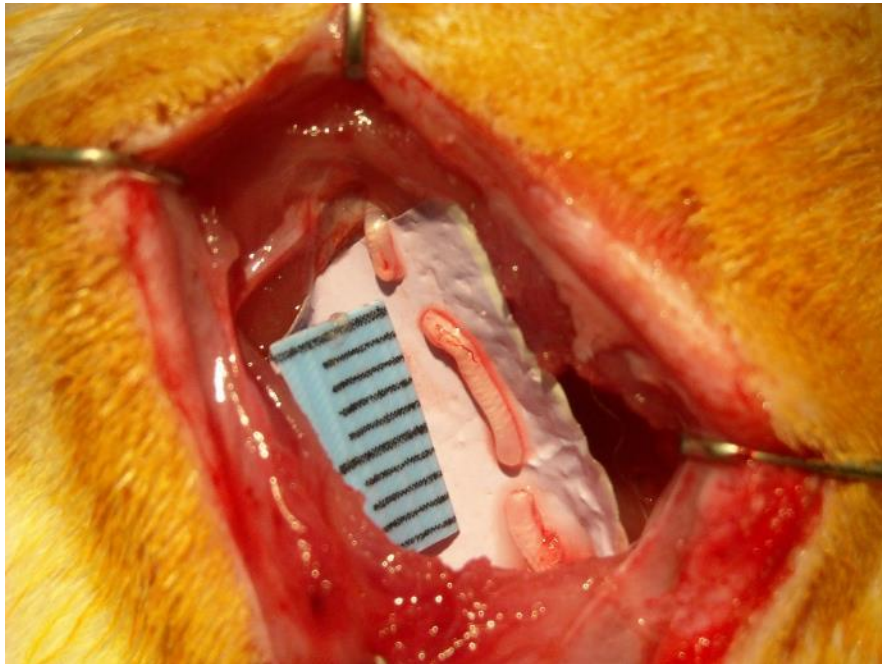
- 3) Παρασκευή του ισχιακού νεύρου καθόλο το μήκος του χρησιμοποιώντας χειρουργικό μικροσκόπιο και με βάση τις αρχές της μικροχειρουργικής τεχνικής (Εικόνα 6)



*Εικόνα 6 Παρασκευή ισχιακού νεύρου*

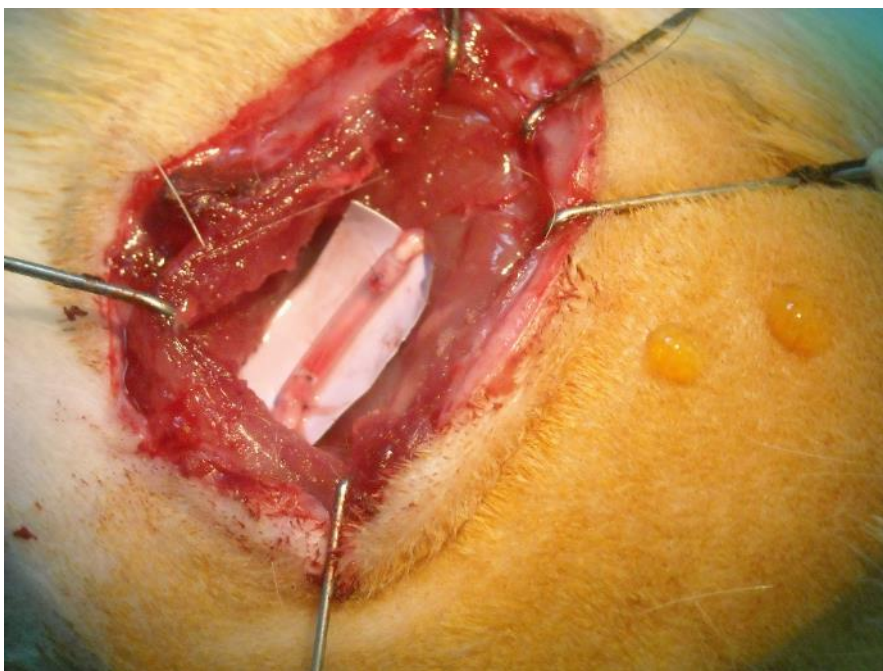


Δημιουργία νευρικού ελλείμματος 10 mm. (Εικόνα 7)

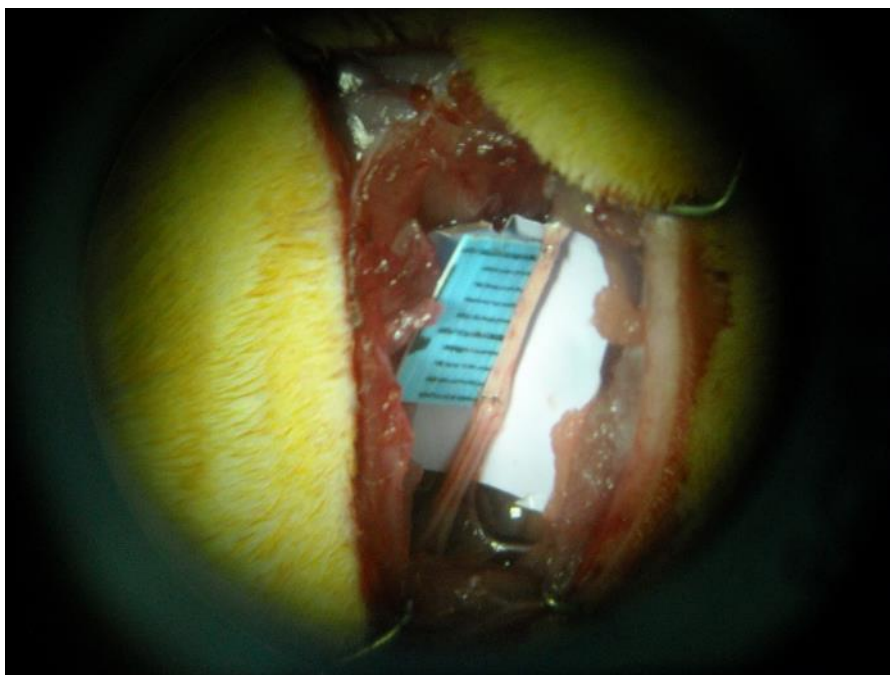


*Εικόνα 7 Εκτομή τμήματος του ιχιακού νεύρου ώστε να δημιουργηθεί νευρικό έλλειμμα 10 mm.*

4) Γεφύρωση νευρικού ελλείμματος (εικόνα 8)



*Εικόνα 8 Γεφύρωση νευρικού ελλείμματος με νευραγωγό σιλικόνης*



*Εικόνα 9. Γεφύρωση νευρικού ελλείμματος με αυτομόσχευμα*

- 5) Συμπλησίαση ινών γλουτιαίου μυ με ράμμα vicryl 5-0 και συρραφή του δέρματος με μεμονωμένα ράμματα nylon 4-0. (εικόνα )



*Εικόνα 10 Συρραφή δέρματος*

Στους αρουραίους της ομάδας AG διενεργούμε τμηματική εκτομή 10mm κεντρικά της διαίρεσης του. Το εκτομηθέν τμήμα αναστρέφεται 180 μοίρες και ακολούθει η συρραφή του στα νευρικά κολοβώματα με ράμμα ethilon 9-0.

Στις υπόλοιπες ομάδες, χρησιμοποιώντας την τεχνική της ενσωληνοποίησης γίνεται τμηματική εκτομή 7mm από το ισχιακό νεύρο δημιουργώντας ένα έλλειμα 10mm. Κατόπιν προχωρούμε στην μικροχειρουργική γεφύρωση του χρησιμοποιώντας νευρικούς σωλήνες σιλικόνης. Το μήκος των αγωγών είναι 14mm. Κατά αυτόν τον τρόπο τα κολοβώματα του διατμηθέντος νεύρου εισχωρούν κατά 2mm σε κάθε πλευρά εντός του αγωγού σιλικόνης. Τα κολοβώματα σταθεροποιούνται εντός του νευραγωγού σιλικόνης με ράμμα 8-0 nylon ethilon. **(Εικόνες 7-9)**

Μετά την χειρουργική επέμβαση τα πειραματόζωα παρακολουθούνται καθημερινά εκτιμώντας το χειρουργικό τραύμα και την γενικότερη κατάσταση. Τυχόν επιπλοκές του χειρουργικού τραύματος αντιμετωπίζονται με πλαστική δέρματος. (Εικόνες 11-12)



*Εικόνα 11 Έλλειμμα δέρματος την δεύτερη μετεγχειρητική μέρα*



*Εικόνα 12 Αντιμετώπιση διάσπασης τραύματος με πλαστική δέρματος*

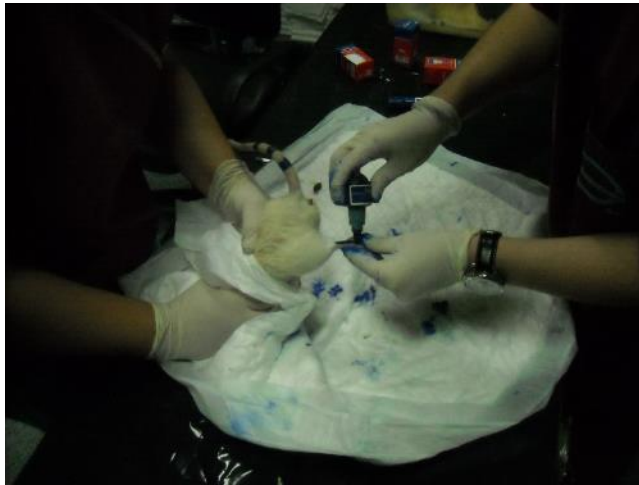
### **7.3 ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΑΚΤΗΣΗΣ ΑΙΣΘΗΤΙΚΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ**

Στην δοκιμασία ανάκτησης της αισθητικής λειτουργίας τέθηκαν δύο στόχοι. Ο πρώτος ήταν να εκτιμήσουμε την χρονική στιγμή κατά την οποία αποκτά αίσθηση το έξω τμήμα του ποδιού. Αυτό γίνεται εκτιμώντας τη παρουσία αντανακλαστικού απόσυρσης ή φωνητικής αντίδρασης μετά από τον ερεθισμό του έξω τμήματος του ποδιού με ερέθισμα πόνου προερχόμενο από την πίεση μίας μικρής λαβίδας στις 20-25-30-35 ημέρες. Την ίδια δοκιμασία την εκτελούμε και στο εσωτερικό τμήματος του ποδιού που η νεύρωση προέρχεται από το σαφηνές νεύρο καθώς και στο φυσιολογικό άκρο.

Η ποσοτική εκτίμηση του αντανακλαστικού απόσυρσης πραγματοποιείται την εβδομάδα 8, 12 και 16. Το ερέθισμα είναι το ίδιο με την προηγούμενη διαδικασία εκτιμούμε ποσοτικά το αντανακλαστικό απόσυρσης με ανάλογο τρόπο. Όταν δεν υπάρχει κάποιο αντανακλαστικό απόσυρσης, τότε το κατατάσσουμε ως απών. Όταν είναι μικρότερο του ενός εκατοστού το κατατάσσουμε σε πρώτου βαθμού, ενώ όταν είναι μεγαλύτερο του ενός εκατοστού σε δευτέρου βαθμού. (138,139)

#### **ΑΝΑΛΥΣΗ ΒΑΔΙΣΗΣ**

Τα πειραματόζωα αφήνονται να βαδίσουν σε ένα διάδρομο ο οποίος είναι στρωμένος με ειδικό στυλόχαρτο που είναι ικανό να απορροφά την ειδική μελάνη με την οποία βάφονται και τα δύο πέλματα των αρουραίων. (Εικόνα 13)



*Εικόνα 13 Διαδικασία στην οποία βάφονται τα πέλματα με μελάνη*

Σε κάθε στυπόχαρτο σημειώνεται ο κωδικός του πειραματόζωου χωρίς να αναφέρεται σε ποια από τις ομάδες ανήκει το κάθε πειραματόζωο. Αφού περπατήσουν πάνω στο χαρτί πραγματοποιείται μέτρηση και εκτίμηση διαφόρων παραμέτρων του αποτυπώματος. Συγκεκριμένα έχει βρεθεί ότι οι πιο σημαντικοί παράμετροι είναι.

- 1) το μήκος του κάθε αποτυπώματος (PL)
- 2) η απόσταση μεταξύ του πρώτου και του πέμπτου δακτύλου (TS).
- 3) η απόσταση μεταξύ του δευτέρου και του τετάρτου δακτύλου (IT)

Οι παράμετροι αυτοί υπολογίζονται τόσο στο φυσιολογικό (N) όσο και στο χειρουργημένο (E) σκέλος και όταν προκύπτει διαφορά στις αποστάσεις στο ίδιο στυπόχαρτο, τότε χρησιμοποιούμε την μεγαλύτερη. Με βάση αυτούς υπολογίζεται ο ισχιακός λειτουργικός δείκτης (SFI) σύμφωνα με τον τύπο που περιεγράφηκε από τον Brain και τους συνεργάτες του.(140)

$$\text{SFI} = -38.3 \text{ PLF} + 109.5 \text{ X TSF} + 13.3 \text{ ITF} - 8.8$$

Στην πειραματική μελέτη, οι παραπάνω τιμές υπολογίζονται ανά τέσσερις εβδομάδες (4 – 8 – 12 - 16 weeks timepoint).

ΔΕΙΚΤΗΣ	ΕΡΜΗΝΕΙΑ
SFI	Λειτουργικός ισχιακός δείκτης
PLF	Μήκος πέλματος
TSF	Απόσταση δαχτύλων
ITF	Απόσταση ενδιάμεσων δαχτύλων

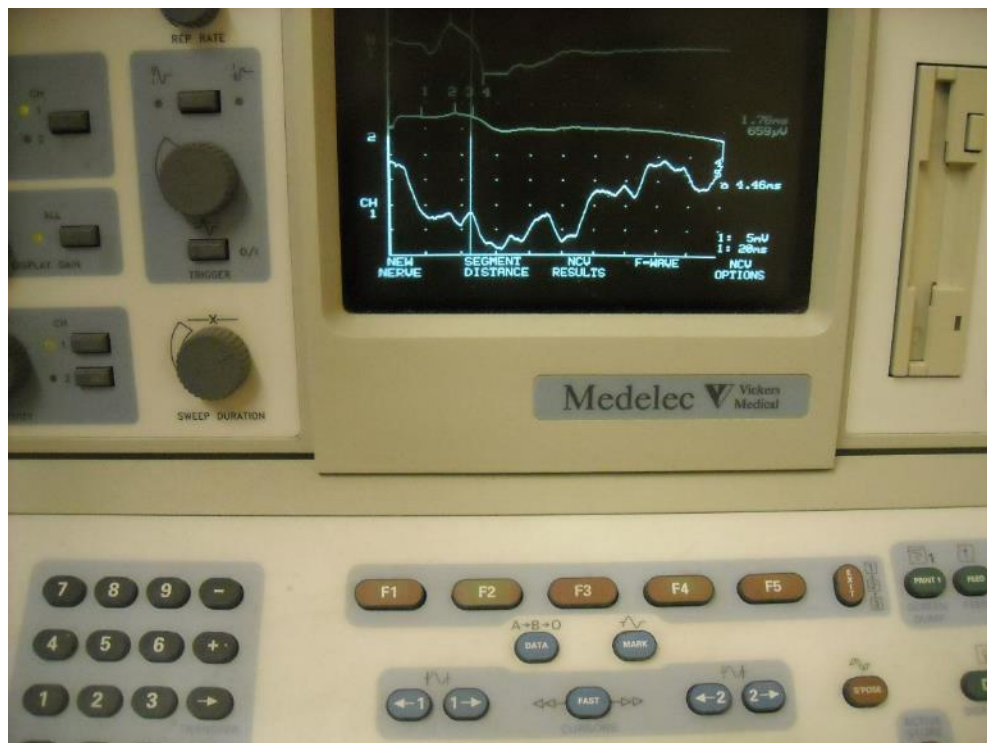
Εικόνα 14 Επεξήγηση παραμέτρων του υπολογισμού της ανάλυσης βάρδισης

## ΗΛΕΚΤΡΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ (32)

Μετά την ολοκλήρωση της δοκιμασίας βιάδισης, δίδεται ενέσιμη νάρκωση και αφού γίνει αποκάλυψη των ισχιακών νεύρων αμφοτερόπλευρα διενεργούμε ηλεκτρομυογράφημα *in vivo*. Χρησιμοποιούμε δύο ηλεκτρόδια, ένα ερεθισμού και ένα καταγραφής. Το πρώτο ηλεκτρόδιο το τοποθετούμε κεντρικά από το σημείο της νευρικής βλάβης ενώ το δεύτερο το τοποθετούμε στην μάζα του γαστροκνήμιου μυός και πάντα σε συγκεκριμένη και προκαθορισμένη απόσταση από το πρώτο.

Δίδοντας ηλεκτρικά ερεθίσματα διαμέσου του ηλεκτροδίου ερεθισμού καταγράφουμε τον χρόνο μεταξύ ερεθισμού και μυϊκής σύσπασης. Ύστερα τοποθετούμε το ηλεκτρόδιο ερεθισμού περιφερικά του σημείου της νευρικής βλάβης και μετρούμε ξανά την καθυστέρηση μεταξύ ηλεκτρικού ερεθισμού και μυϊκής σύσπασης. Γνωρίζοντας το μήκος της νευρικής βλάβης υπολογίζουμε την ταχύτητα αγωγιμότητας στο αναγεννηθέν νεύρο στην περιοχή της νευρικής βλάβης. Την ταχύτητα αγωγιμότητας την εκφράζουμε ως ποσοστό επί της ταχύτητας αγωγιμότητας στο μη χειρουργημένο ισχιακό νεύρο. Οι μετρήσεις αυτές γίνονται και στο φυσιολογικό ισχιακό νεύρο οπότε γίνεται και η σύγκριση. Επίσης υπολογίζουμε το εμβαδό κάτω από την καμπύλη του κινητικού δυναμικού που προκαλείται από την σύσπαση του γαστροκνήμιου μυ ως αποτέλεσμα του ηλεκτρικού ερεθισμού και εκφράζεται ως ποσοστό επί του μη χειρουργημένου αριστερού άκρου.(116).**(Εικόνα 15**





*Εικόνα 15 Ηλεκτρομυογράφος (Μυογρίλις μ της Deltamed) που χρησιμοποιήθηκε στις μετρήσεις. Στην εικόνα αυτή διακρίνονται οι μετρήσεις από τρία διαφορετικά πειραματόζωα.*

## ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Μετά την ολοκλήρωση του ηλεκτροφυσιολογικού ελέγχου ακολουθείται η διαδικασία της ευθανασίας. Για την ευθανασία/δειγματοληψία γίνεται αρχικά αναισθησία με Κεταμίνη 100mg/kg (Imalgene, Merial) και Ξυλαζίνη 20mg/kg (Romprun, Bayer) στην ίδια σύριγγα ενδομυϊκά. Κατόπιν η ευθανασία γίνεται με ενδοφλέβια έγχυση διαλύματος νατριούχου πεντοβαρβιτάλης 2gr/kg (Dolethal, Vetoquinol).

Μετέπειτα γίνεται αμφοτερόπλευρα εκτομή του ισχιακού νεύρου.



*Εικόνα 16 Εκτομή παρασκευασμάτων. Διακρίνονται τα κολοβώματα μαζί με τμήματα μυϊκού ιστού καθώς και το αναγεννημένο νεύρο . Ο νευραγωγός έχει αφαιρεθεί*

Τα παρασκευάσματα μονιμοποιούνται σε γλουταραλδεΰδη 2,5% όπου παραμένουν τουλάχιστον 24 ώρες. Έπειτα γίνεται απόπλυση με Sorensen's buffer. Γίνονται δύο εγκάρσιες τομές 5mm κεντρικά και περιφερικά από το σημείο της νευρικής βλάβης και μία επιμήκης τομή. (Εικόνα 16) Τα παρασκευάσματα εμποτίζονται σε 1% τетроξείδιο του Οσμίου( $OsO_4$ ) και τοποθετούνται για μία ώρα σε ψυγείο  $-4^{\circ}C$ . Στη συνέχεια γίνεται πλύση δύο φορές με Milloning's buffer, όπου παραμένουν μία ώρα ανά φορά, και τοποθέτηση στην ιστοκινέτα όπου ακολουθείται η τυπική διαδικασία αφυδάτωσης, ώστε να μπορούν να τοποθετηθούν σε παραφίνη. Ακολουθεί σκλήνωση των τομών, ως προς την επιφάνεια διατομής τους και εμπέδωσή τους σε κύβο παραφίνης. Λαμβάνονται τομές σε μικροτόμο και μικροσκοπούνται σε οπτικό μικροσκόπιο.

Χρησιμοποιήθηκε μεγέθυνση ως X400 (LEICA MICRO) και έγινε υπολογισμός του αριθμού των αναγεννημένων νευρικών καθώς και της διαμέτρου

των αναγεννημένων νευρικών ινών με την βοήθεια προγράμματος στον υπολογιστή που είναι συνδεδεμένος με το μικροσκόπιο [image J(NIH)]. Τέλος εκτιμήθηκε η οργάνωση (πτωχη, μετρια ή καλη) των αναγεννημένων νευρικών ινών καθώς και ο βαθμός ίνωσης (σοβαρού, μέτριου ελάχιστου) στο αναγεννηθέν νεύρο.

### **ΒΑΡΟΣ ΠΡΟΣΘΙΟΥ ΚΝΗΜΙΑΙΟΥ ΜΥ**

Μετά την εκτομή των νEURων γίνεται προσεκτική παρασκευή του πρόσθιου κνημιαίου μυ αμφοτερόπλευρα όπου ζυγίζεται σε ζυγαριά ακριβείας (Denver Instrument Company A-200DS) . Το βάρος του μυ εκφράζεται σε ποσοστό επί του μη χειρουργικού ελέγχου του αριστερού άκρου. (141)

Κατά την μετεγχειρητική περίοδο και μέχρι την ευθανασία γίνεται εκτίμηση του χειρουργικού τραύματος εκτίμηση των συγκάμψεων των δακτύλων, καταγραφή των περιπτώσεων αυτονομίας και προσεκτική εκτίμηση των ελκών πίεσης των χειρουργημένων άκρων καθώς και της πορείας τους σε σχέση με τον χρόνο. (Εικόνα 17)



*Εικόνα 17 Παράδειγμα αυτονομίας χειρουργημένου άκρου την τέταρτη εβδομάδα*

## 7.4 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται σαν μέση τιμή (mean) μαζί με τη σταθερή απόκλιση (standard deviation). Η κανονικότητα της κατανομής των παραμέτρων μελετήθηκε με το Kolmogorov-Smirnov test. Οι διαφορές μεταξύ των ομάδων της μελέτης αναλύθηκαν με την μέθοδο ανάλυσης διασποράς (ANOVA) και στη συνέχεια με τα post hoc tests Hochberg's GT2 και Games-Howell ώστε να ανιχνευθούν ειδικότερα οι διαφορές μεταξύ των ομάδων. **(Παράρτημα)**

Σε όποια αποτελέσματα είτε οι μετρήσεις δεν ακολουθούσαν την κανονική κατανομή ή διαπιστώθηκε μεγάλη απόκλιση στην κατανομή μεταξύ των διαφορετικών ομάδων σε συνδυασμό με διαφορά στο μέγεθος του δείγματος μεταξύ των ομάδων, η ανάλυσή πραγματοποιήθηκε με την μέθοδο Kruskal-Wallis ANOVA on ranks, και στη συνέχεια η post hoc σύγκριση των ομάδων έγινε με την μέθοδο Mann-Whitney-U test. Ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας θεωρήθηκε το  $p < 0.05$ . Όλες οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα IBM SPSS 23.0 for Windows. Επιπλέον, όπου κρίνεται απαραίτητο παρατίθενται και τα αντίστοιχα γραφήματα, είτε από το SPSS, είτε από το Microsoft Excel.

## 7.5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 1) ΟΜΑΔΑ SIL

Η ομάδα SIL παρουσίασε πτωχά αποτελέσματα τόσο στις λειτουργικές δοκιμασίες όσο και στην ιστολογική ανάλυση. Συγκεκριμένα όσον αφορά την δοκιμασία ανάκτησης της αισθητικότητας φάνηκε ότι το 37,5% των αρουραίων δεν κατάφερε να ανακτήσει αισθητικότητα σε όλη την περίοδο παρατήρησης των 40 ημερών και ένα ίδιο ποσοστό ανέκτησε αισθητικότητα όχι πριν τις 35 ημέρες.

Ανάλογα αποτελέσματα είχαμε και στην δοκιμασία του αντανακλαστικού απόσυρσης (Withdrawal Reflex-WR). Συγκεκριμένα το 23,6% των αρουραίων δεν εμφάνισε αντανακλαστικό απόσυρσης (απών) στις 16 εβδομάδες. Το ποσοστό αυτό είναι ακόμη μεγαλύτερο στις μικρότερης διάρκειας παρατήρηση, φτάνοντας το 43% των αρουραίων στις 8 εβδομάδες παρατήρησης να μην εμφανίζουν αντανακλαστικό απόσυρσης. Επίσης στις 16 εβδομάδες η πλειονότητα των αρουραίων εμφάνισαν αντανακλαστικό απόσυρσης 1<sup>ου</sup> βαθμού (64%) ενώ μόνο το 12,3 % παρουσίασε αντανακλαστικό απόσυρσης 2<sup>ου</sup> βαθμού.

Ο ισχιακός λειτουργικός δείκτης (SFI) στην ομάδα SIL δεν παρουσίασε ιδιαίτερη βελτίωση κατά την διάρκεια παρατήρησης. Πιο συγκεκριμένα στις 8 εβδομάδες παρατήρησης ο δείκτης αυτός ήταν -95,6 ενώ στις 16 εβδομάδες βελτιώθηκε σε μικρό βαθμό φτάνοντας την τιμή - 90,6. (Παράρτημα)



*Εικόνα 18 Αποτυπώματα πελμάτων της ομάδας SIL στις 16 εβδομάδες*

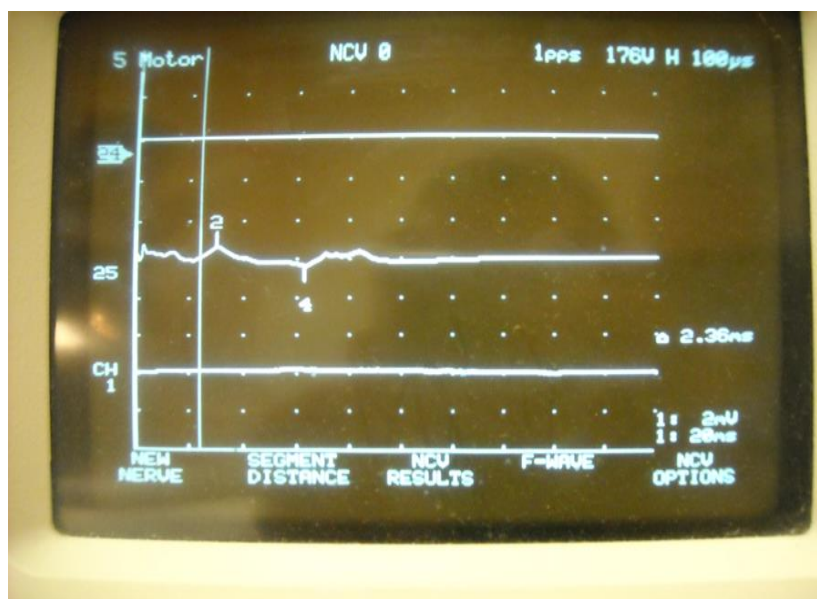
Κατά την διάρκεια της παρατήρησης των πειραματόζωων καταγράφηκε η παρουσία αυτονομίας και συγκάμψεων στα χειρουργημένα άκρα. Μεγάλο ποσοστό (31%) της ομάδας SIL παρουσίασε αυτονομία στο χειρουργημένο άκρο ενώ το 13% εμφάνισε συγκάμψεις.

Σημαντικού βαθμού μυϊκή ατροφία εκδηλώθηκε στην ομάδα SIL τόσο στις 8 όσο και στις 16 εβδομάδες μη καταφέροντας να ξεπεράσει το 30% του βάρους του φυσιολογικού μυ στις 16 εβδομάδες παρατήρησης.

Ο ηλεκτροφυσιολογικός έλεγχος πραγματοποιήθηκε στις 8 και στις 16 εβδομάδες.

Η ταχύτητα αγωγιμότητας στις 16 εβδομάδες έφτασε στο 29% της ομάδας ελέγχου με ακόμα πτωχότερα αποτελέσματα στις 8 εβδομάδες παρατήρησης (22%). Αντίστοιχα αποτελέσματα ανέδειξε η μέτρηση του δυναμικού (CMAP)

όπου στην ομάδα SIL ήταν περίπου 26% σε σχέση με την ομάδα ελέγχου στις 16 εβδομάδες παρατήρησης. (Εικόνα 19)

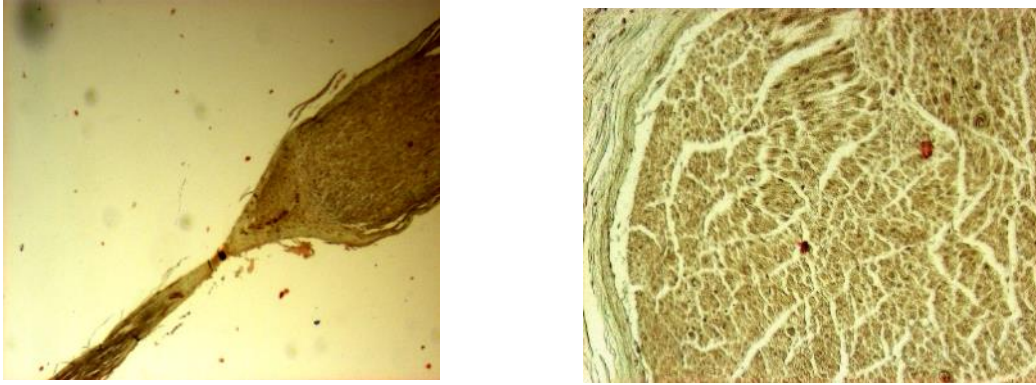


Εικόνα 19 Ηλεκτροφυσιολογικός έλεγχος της ομάδας SIL στις 16 εβδομάδες

Η ιστολογική ανάλυση επιβεβαίωσε τα αποτελέσματα των λειτουργικών δοκιμασιών. Αρχικά μακροσκοπικά φάνηκε πως στο 25% των χειρουργημένων ισχιακών νεύρων της ομάδας SIL δεν υπήρξε νευρική αναγέννηση. Μικροσκοπικά η ομάδα SIL παρουσίασε στην πλειοψηφία (66,7%) μέτρια οργάνωση και προσανατολισμό των αναγεννημένων νευρικών ινών. Οσον αφορά την ενδονευρική ίνωση, η ομάδα αυτή εμφάνισε στο 50% των αναγεννημένων νεύρων μέτρια ίνωση και στο 41,7% σοβαρού βαθμού ίνωση.

Η διάμετρος των αναγεννημένων νευρικών ινών περιφερικά της νευρικής βλάβης ήταν 1,3 µm στις 8 εβδομάδες ενώ στις 16 εβδομάδες δεν ξεπέρασε τα 2

μm. Κατά ανάλογο τρόπο ο αριθμός των αναγεννημένων ήταν 1100/πεδίο στις 8 εβδομάδες και 1700/πεδίο στις 16 εβδομάδες. (Εικόνα 20)



*Εικόνα 20 Επιμήκης(X2.5) και εγκάρσια τομή(X10) του αναγεννηθέντος νεύρου στην ομάδα SIL*



## 2) ΟΜΑΔΑ BDNF

Τόσο οι λειτουργικές δοκιμασίες όσο και η ιστολογική ανάλυση έδειξε ότι η χορήγηση BDNF λειτούργησε ευεργετικά στην νευρική αναγέννηση. Συγκεκριμένα όσον αφορά την δοκιμασία ανάκτησης της αισθητικότητας φάνηκε ότι όλοι οι αρουραίοι ανέκτησαν αισθητικότητα μέχρι την περίοδο παρατήρησης των 40 ημερών με την πλειψηφία (43%) να ανακατα αισθητικότητα στις 35 ημέρες.

Αντίστοιχα αποτελέσματα είχαμε και στην δοκιμασία του αντανακλαστικού απόσυρσης( Withdrawal Reflex-WR). Όλα τα πειραματόζωα εμφάνισαν αντανακλαστικό απόσυρσης από τις 8 εβδομάδες. Συγκεκριμένα στις 8 εβδομάδες παρατήρησης, το 75% των αρουραίων εμφάνισε αντανακλαστικό απόσυρσης πρώτου βαθμού και το 25% δευτέρου βαθμού. Το ποσοστό αυτό αντιστρέφεται στις 16 εβδομάδες όπου το 75% των αρουραίων είχε αντανακλαστικό απόσυρσης δευτέρου βαθμού.

Ο ισχιακός λειτουργικός δείκτης (SFI) στην ομάδα BDNF παρουσίασε βελτίωση σε όλη την διάρκεια παρατήρησης. Πιο συγκεκριμένα στις 8 εβδομάδες παρατήρησης ο δείκτης αυτός ήταν -86,25 ενώ στις 16 εβδομάδες βελτιώθηκε περαιτέρω φτάνοντας την τιμή - 75.50. (Παράρτημα)



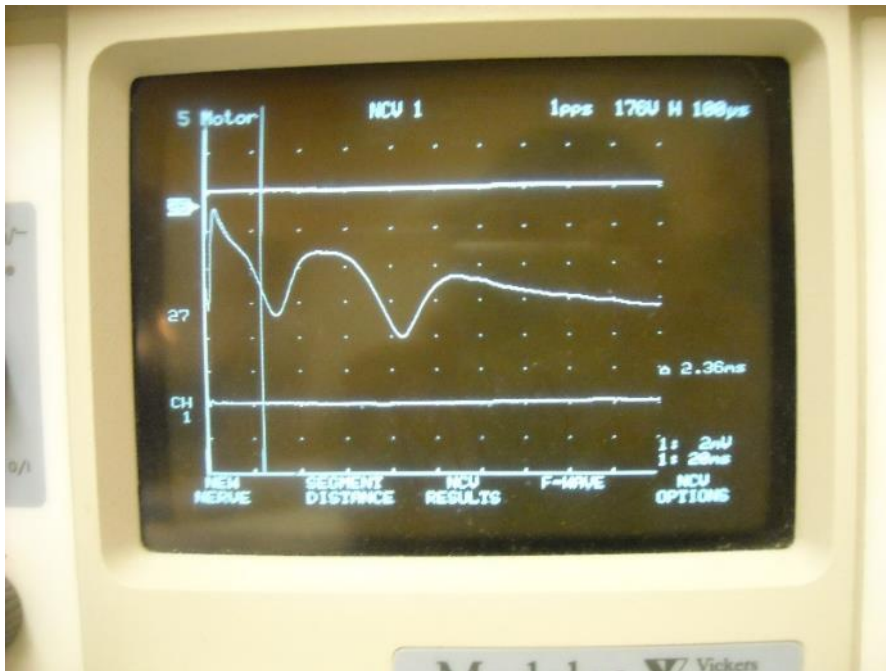
*Εικόνα 21 Αποτυπώματα πελμάτων της ομάδας BDNF στις 16 εβδομάδες*

Κατά την διάρκεια της παρατήρησης των πειραματόζωων καταγράφηκε αυτονομία στο 12,5% των αρουραίων της ομάδας BDNF ενώ στο 25% κατεγράφησαν συγκάμψεις.

Η χρήση του BDNF φάνηκε πως επέδρασε ως ένα βαθμό στην διατήρηση του βάρους του μυ αφού στις 16 εβδομάδες παρατήρησης η ομάδα BDNF καταφερε να διατηρήσει το 47,8% του βάρους του φυσιολογικού μυ.

Τα αποτελέσματα του ηλεκτροφυσιολογικού έλεγχου που πραγματοποιήθηκε στις 8 και στις 16 εβδομάδες κινήθηκαν προς την ίδια κατεύθυνση με τις υπόλοιπες λειτουργικές δοκιμασίες.

Συγκεκριμένα η ταχύτητα αγωγιμότητας στις 8 εβδομάδες έφτασε στο 40% της ομάδας ελέγχου με ακόμα καλύτερα αποτελέσματα στις 16 εβδομάδες παρατήρησης (53,7%). Αντίστοιχα αποτελέσματα ανέδειξε η μέτρηση του δυναμικού (CMAP) όπου στην ομάδα BDNF ήταν περίπου 58,3% σε σχέση με την ομάδα ελέγχου στις 16 εβδομάδες παρατήρησης.



Εικόνα 22 Ηλεκτροφυσιολογικός έλεγχος της ομάδας BDNF στις 16 εβδομάδες

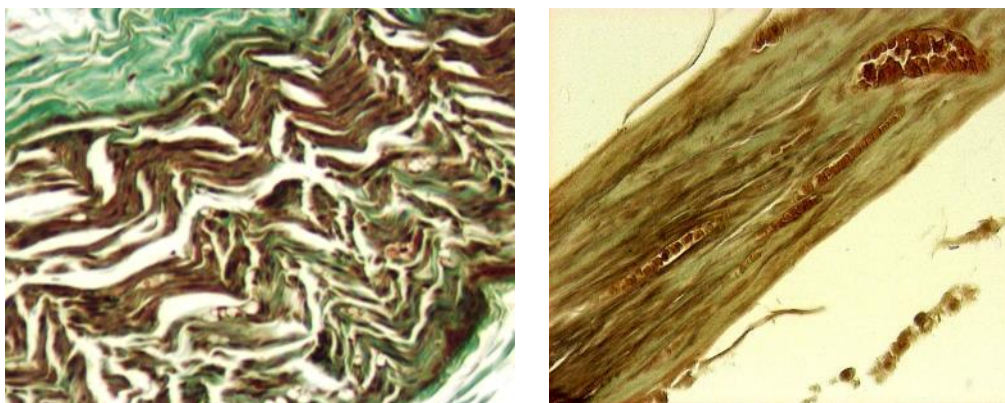
Η ιστολογική ανάλυση ανέδειξε ότι πως σε όλα τα χειρουργημένα νεύρα της ομάδας BDNF υπήρξε κάποιου βαθμού νευρική αναγέννηση. (Εικόνα 23)



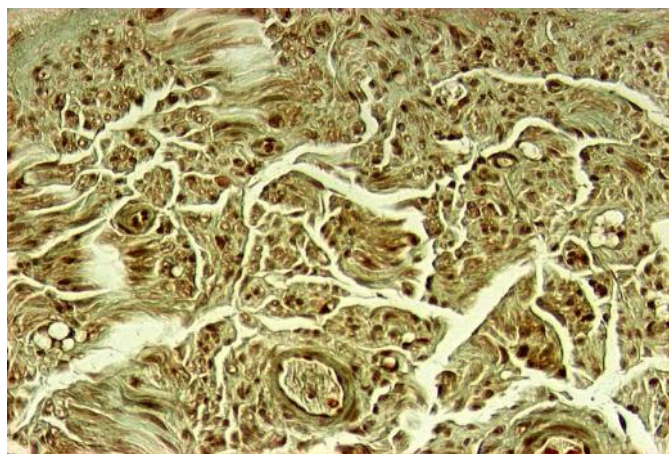
Εικόνα 23. Αναγεννημένο νεύρο εντός του νευρικού αγωγού της ομάδας BDNF

Μικροσκοπικά η ομάδα BDNF παρουσίασε στην πλειονότητα (62,5%) μέτρια οργάνωση και προσανατολισμό των αναγεννημένων νευρικών ινών. Όσον αφορά την ενδονευρική ίνωση, η ομάδα αυτή εμφάνισε στο 62,5% των αναγεννημένων νεύρων μέτρια ίνωση και στο 25% σοβαρού βαθμού ίνωση.

Η διάμετρος των αναγεννημένων νευρικών ινών περιφερικά της νευρικής βλάβης ήταν 2,4  $\mu\text{m}$  στις 8 εβδομάδες ενώ στις 16 εβδομάδες έφτασε τα 3,7  $\mu\text{m}$ . Κατά ανάλογο τρόπο ο αριθμός των αναγεννημένων ήταν 2650/ανά πεδίο στις 8 εβδομάδες και 3950/ανά πεδίο στις 16 εβδομάδες. (Εικόνες 24, 25)



*Εικόνα 24. Επιμήκης τομή του αναγεννηθέντος νεύρου στην ομάδα BDNF (X20)*



*Εικόνα 25. Εγκάρσια τομή του αναγεννηθέντος νεύρου στην ομάδα BDNF (X20)*

### 3) ΟΜΑΔΑ T3

Οι λειτουργικές δοκιμασίες όσο και η ιστολογική ανάλυση έδειξε ότι η χορήγηση T3 διαφοροποίησε εν μέρει την συμπεριφορά της συγκεκριμένης ομάδας. Στην δοκιμασία ανάκτησης της αισθητικότητας φάνηκε ότι όλοι οι αρουραίοι ανέκτησαν αισθητικότητα μέχρι την περίοδο παρατήρησης των 40 ημερών με την διαφορά ότι η πλειονότητα (56,3%) ανακτά αισθητικότητα στις 30 ημέρες.

Αντίστοιχα αποτελέσματα είχαμε και στην δοκιμασία του αντανακλαστικού απόσυρσης( Withdrawal Reflex-WR). Όλα τα πειραματόζωα εμφάνισαν αντανακλαστικό απόσυρσης από τις 8 εβδομάδες. Συγκεκριμένα στις 8 εβδομάδες παρατήρησης, το 56% των αρουραίων εμφάνισε αντανακλαστικό απόσυρσης πρώτου βαθμού και το 44% δευτέρου βαθμού. Στην ομάδα αυτή η πλειονότητα των αρουραίων (75%) είχε αντανακλαστικό απόσυρσης δευτέρου βαθμού μόλις από την δωδέκατη εβδομάδα. (Παράρτημα)

Ο ισχιακός λειτουργικός δείκτης (SFI) στην ομάδα T3 παρουσίασε τάχιστα βελτίωση κυρίως τις πρώτες 8 εβδομάδες φτάνοντας στην τιμή -79. Ο ρυθμός βελτίωσης του ισχιακού δείκτη επιβραδύνθηκε τις επόμενες εβδομάδες παρατήρησης φτάνοντας στην τιμή -71,6 την 16 εβδομάδα. (Εικόνα 26)



Εικόνα 26 Αποτυπώματα πελμάτων της ομάδας T3 στις 16 εβδομάδες

Κατά την διάρκεια της παρατήρησης των πειραματόζωων καταγράφηκε αυτονομία μόλις στο 6,3% των αρουραίων της ομάδας T3 ενώ στο 13% κατεγράφησαν συγκάμψεις.

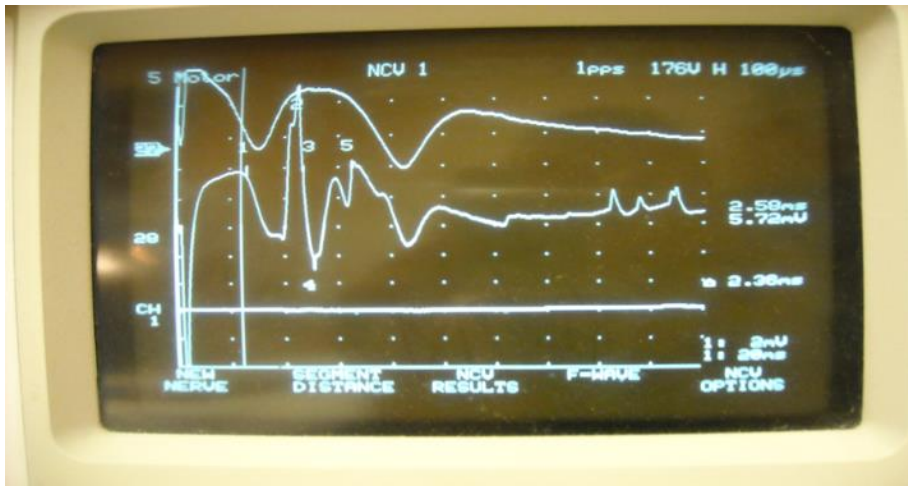
Η χρήση του T3 φάνηκε πως επέδρασε σημαντικά στην διατήρηση του βάρους του μυ αφού στις ήδη από τις 8 εβδομάδες παρατήρησης η ομάδα T3 κατάφερε να διατηρήσει το 47% του βάρους του φυσιολογικού μυ. Το βάρος του μυ αυξήθηκε περαιτέρω φτάνοντας το 56,3% του φυσιολογικού στις 16 εβδομάδες.

Τα αποτελέσματα του ηλεκτροφυσιολογικού έλεγχου επιβεβαίωσε την σχετικά γρήγορη επανανεύρωση από τις 8 εβδομάδες παρατήρησης.

Συγκεκριμένα η ταχύτητα αγωγιμότητας στις 8 εβδομάδες έφτασε στο 57% της ομάδας ελέγχου με μικρή περαιτέρω βελτίωση στις 16 εβδομάδες παρατήρησης (62,3%). Αντίστοιχα αποτελέσματα ανέδειξε η μέτρηση του δυναμικού (CMAP) όπου στην ομάδα T3 ήταν περίπου 43,4% σε σχέση με την ομάδα ελέγχου στις 8 εβδομάδες παρατήρησης και 50,1% στις 16 εβδομάδες. (Εικόνες 27, 28)

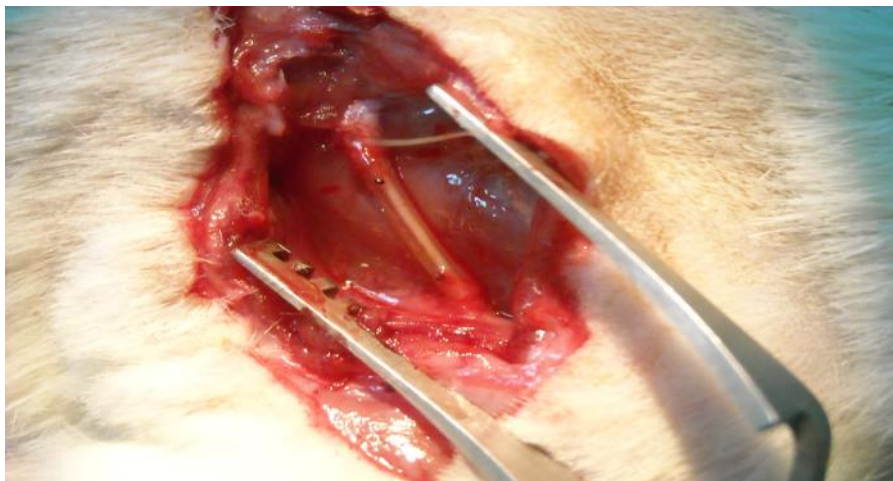


Εικόνα 27 Ηλεκτροφυσιολογικός έλεγχος της ομάδας T3 στις 16 εβδομάδες.



Εικόνα 28 Ηλεκτροφυσιολογικός έλεγχος της ομάδας T3 στις 16 εβδομάδες.

Η ιστολογική ανάλυση ανέδειξε ότι πως σε όλα τα χειρουργημένα νεύρα της ομάδας T3 υπήρξε κάποιου βαθμού νευρική αναγέννηση. (Εικόνες 29, 30)



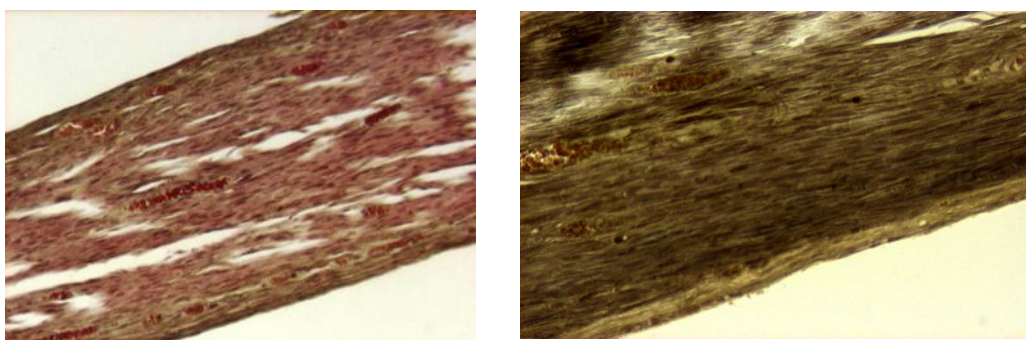
Εικόνα 29 Αναγεννημένο νεύρο εντός του νευρικού αγωγού στην ομάδα T3.





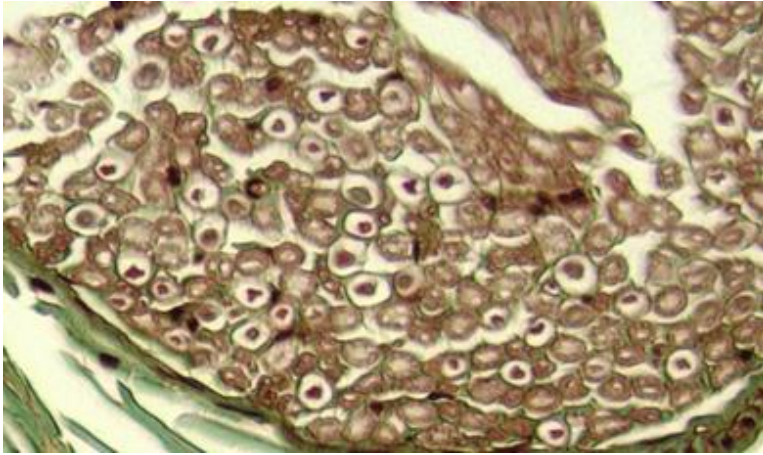
*Εικόνα 30. Αναγεννημένο νεύρο στην ομάδα T3 μετά την αφαίρεση του νευρικού αγωγού*

Μικροσκοπικά η ομάδα T3 διαφοροποιείται στο ότι εμφάνισε στην πλειονότητα (62,5%) καλή οργάνωση και προσανατολισμό των αναγεννημένων νευρικών ινών. Στην ίδια κατεύθυνση κινήθηκαν και τα αποτελέσματα που αφορούν την ενδονευρική ίνωση όπου η ομάδα αυτή εμφάνισε στο 68,8% των αναγεννημένων νεύρων μέτρια ίνωση. **(Εικόνα 31)**



*Εικόνα 31. Επιμήκης τομή του αναγεννηθέντος νεύρου στην ομάδα T3 (X10)*

Η διάμετρος των αναγεννημένων νευρικών ινών περιφερικά της νευρικής βλάβης ήταν 3,3  $\mu\text{m}$  στις 8 εβδομάδες ενώ στις 16 εβδομάδες έφτασε τα 4,1  $\mu\text{m}$ . Κατά ανάλογο τρόπο ο αριθμός των αναγεννημένων ήταν 2300 στις 8 εβδομάδες και 3000 στις 16 εβδομάδες. (Εικόνα 32)



Εικόνα 32. Εγκάρσια τομή του αναγεννηθέντος νεύρου στην ομάδα T3 (X20)

#### 4) ΑΥΤΟΜΟΣΧΕΥΜΑ (AG)

Η χρήση του αυτομοσχέυματος (AG) αποτελεί τον συνήθη τρόπο γεφύρωσης των νευρικών ελλειμμάτων. Όσον αφορά την δοκιμασία ανάκτησης της αισθητικότητας φάνηκε ότι όλοι οι αρουραίοι ανέκτησαν αισθητικότητα μέχρι την περίοδο παρατήρησης των 40 ημερών με την πλειονότητα (62,5%) να ανακτά αισθητικότητα στις 35 ημέρες.

Τα αποτελέσματα της δοκιμασίας του αντανακλαστικού απόσυρσης (Withdrawal Reflex-WR). Όλα τα πειραματόζωα εμφάνισαν αντανακλαστικό απόσυρσης από τις 8 εβδομάδες. Συγκεκριμένα στις 8 εβδομάδες παρατήρησης, το 75% των αρουραίων εμφάνισε αντανακλαστικό απόσυρσης πρώτου βαθμού και το 25% δευτέρου βαθμού. Στις 16 εβδομάδες το 88% των αρουραίων είχε αντανακλαστικό απόσυρσης δευτέρου βαθμού. **(Παράρτημα)**

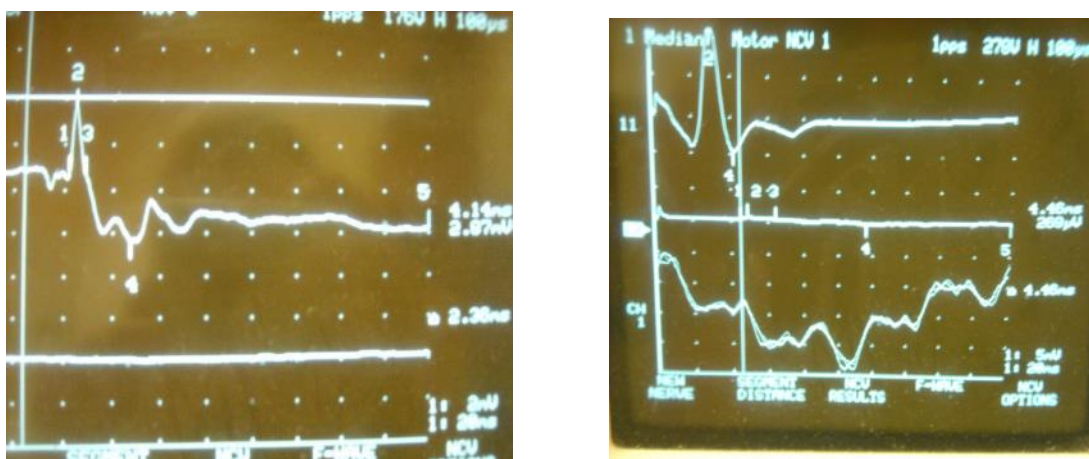
Ο ισχιακός λειτουργικός δείκτης (SFI) στην ομάδα AG παρουσίασε βελτίωση σε όλη την διάρκεια παρατήρησης και κυρίως μετά την τέταρτη εβδομάδα. Την τεταρτη εβδομάδα ο δείκτης αυτος ήταν -98,3 ενώ την ογδοη εβδομάδα έφτασε στο - 81.88. Η βελτίωση συνεχίστηκε με τον ίδιο ρυθμό και τις επόμενες εβδομάδες φτάνοντας την δεκατηεκτη εβδομάδα στην τιμή - 63.13. **(Εικόνα 33)**



*Εικόνα 33 Αποτυπώματα πελμάτων της ομάδας AG στις 16 εβδομάδες*

Κατά την διάρκεια της παρατήρησης των πειραματόζων καταγράφηκε τονομία στο 12,5% των αρουραίων της ομάδας AG ενώ στο 25% κατεγράφησαν αυσυγκάμψεις. Η χρήση του AG φάνηκε πως επέδρασε θετικά στην διατήρηση του βάρους του μυ αφού στις 16 εβδομάδες παρατήρησης η ομάδα AG κατάφερε να διατηρήσει το 58,1% του βάρους του φυσιολογικού μυ.

Ο ηλεκτροφυσιολογικός έλεγχος πραγματοποιήθηκε στις 16 εβδομάδες. Η ταχύτητα αγωγιμότητας στις 16 εβδομάδες παρατήρησης έφτασε το 59,6% της ομάδας έλεγχου. Αντίστοιχα αποτελέσματα ανέδειξε η μέτρηση του δυναμικού (CMAP) όπου στην ομάδα AG ήταν περίπου 66,3% σε σχέση με την ομάδα ελέγχου στις 16 εβδομάδες παρατήρησης. (Εικόνα 34)



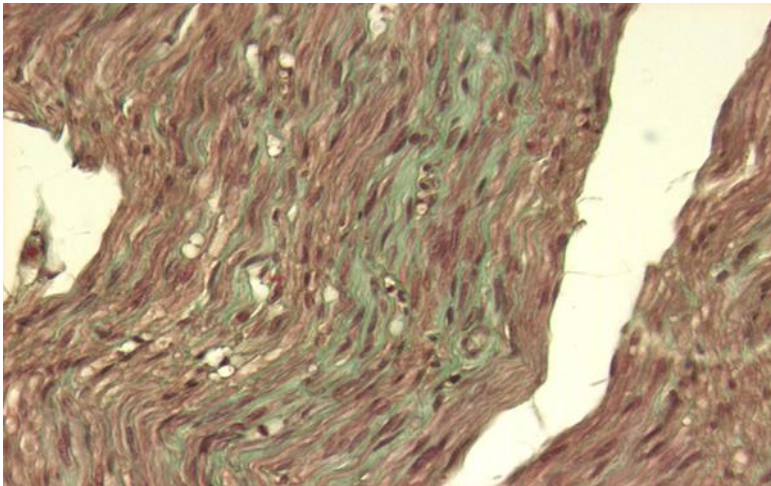
Εικόνα 34 Ηλεκτροφυσιολογικός έλεγχος της ομάδας AG στις 16 εβδομάδες

Η ιστολογική ανάλυση ανέδειξε ότι πως σε όλα τα χειρουργημένα νεύρα της ομάδας AG υπήρξε κάποιου βαθμού νευρική αναγέννηση.



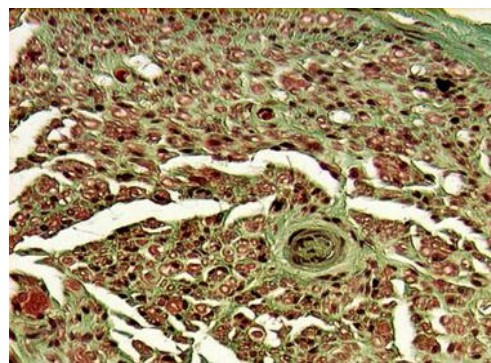
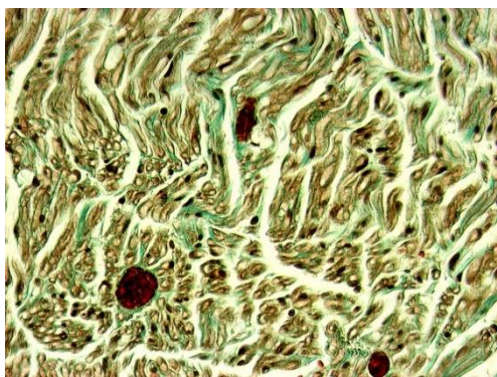
*Εικόνα 35. Ισχιακό νεύρο στις 16 εβδομάδες μετά την γεφυρωσή του με αυτομόσχευμα.*

Μικροσκοπικά η ομάδα AG παρουσίασε στην πλειονότητα (62,5%) μέτρια οργάνωση και προσανατολισμό των αναγεννημένων νευρικών ιών. Όσον αφορά την ενδονευρική ίνωση, η ομάδα αυτή εμφάνισε στο 50% των αναγεννημένων νευρών μέτρια ίνωση και στο 50% σοβαρού βαθμού ίνωση. **(Εικόνα 36)**



*Εικόνα 36. Επιμήκης τομή του αναγεννηθέντος νεύρου στην ομάδα T3(X10)*

Η διάμετρος των αναγεννημένων νευρικών ιών περιφερικά της νευρικής βλάβης ήταν 4μm. Κατά ανάλογο τρόπο ο αριθμός των αναγεννημένων ήταν 5200/ανά πεδίο στις 16 εβδομάδες. **(Εικόνα 37)**



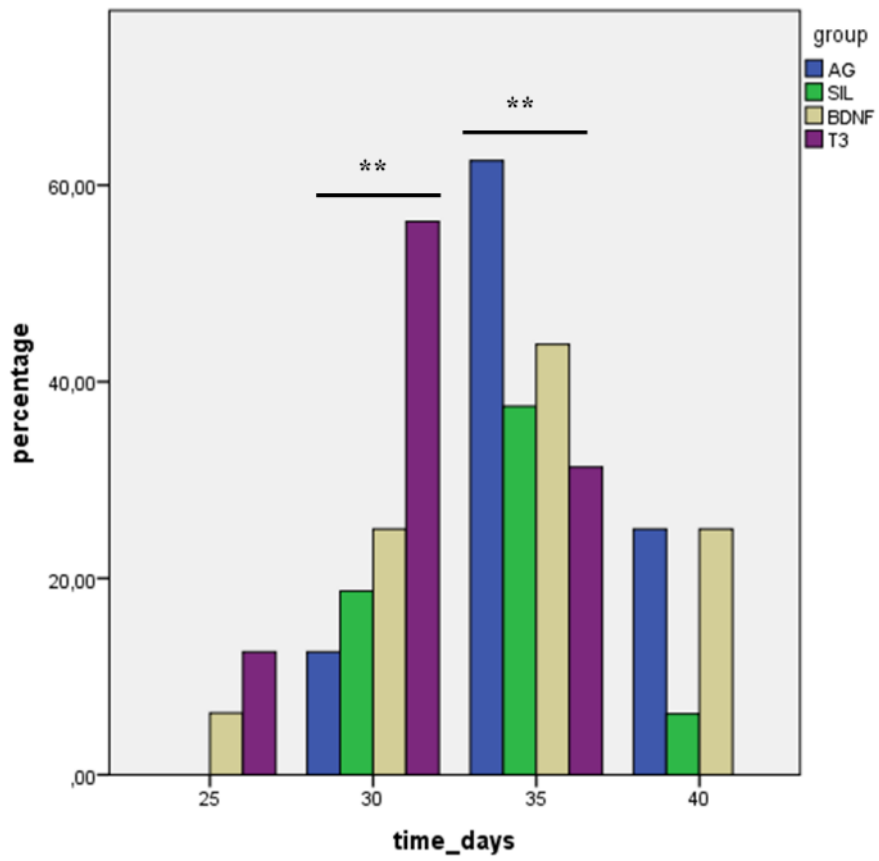
*Εικόνα 37. Εγκάρσια τομή του αναγεννηθέντος νεύρου στην ομάδα T3 (X20)*

Η συγκριση των αποτελεσματος κάθε δοκιμασίας σε συνάρτηση με τον χρόνο οδηγεί σε σημαντικά συμπεράσματα όσον αφορά την δράση κάθε μεθόδου στην νευρική αναγέννηση.

#### **Δοκιμασία ανάκτησης αισθητικότητας (Sensory test)**

Η ανάλυση των δεδομένων που αφορούν την ανάκτηση της αίσθησης έγινε μέσω της διασταυρωμένης πινακοποίησης (Cross tabulation). όπου φαίνεται ότι η πλειοψηφία (56%) των αρουραίων της ομάδας που χορηγήθηκε θυρεοειδική ορμόνη (T3) ανέκτησαν αισθητικότητα στις 30 μέρες ενώ στις ομάδες του AG (63%) και BDNF (44%) ανέκτησαν την αισθητικότητα στις 35 μέρες. Τα πτωχότερα αποτελέσματα καταγράφηκαν στην ομάδα SIL όπου στο 37,5% των πειραματόζων δεν εμφανίστηκε ανάκτηση αισθητικότητας μέχρι το χρονικό όριο των 40 ημερών. **(Εικόνα 38)**





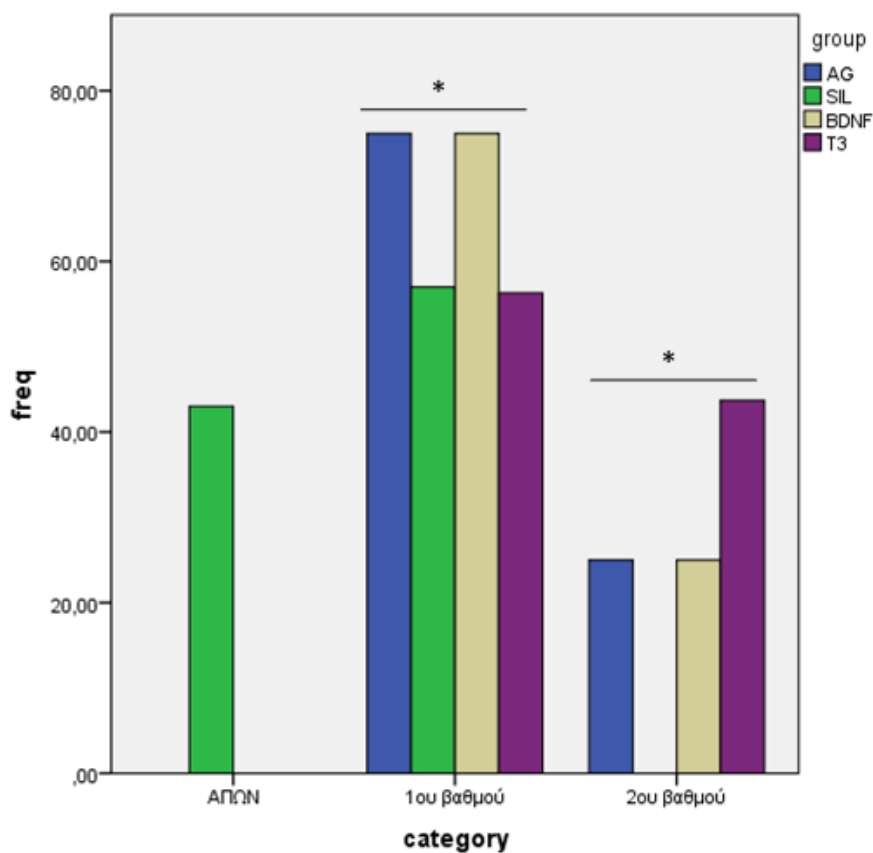
Εικόνα 38 Γραφική απεικόνιση αποτελεσμάτων της ανάκτησης αισθητικότητας

## Αντανακλαστικό απόσυρσης (Withdrawal Reflex-WR)

Αντίστοιχη μεθοδολογία (cross-tabulation) χρησιμοποιήθηκε και για την ανάλυση της ανάκτησης της αισθητικής λειτουργίας (functional recovery). Παραθέτουμε τα αποτελέσματα και τα σχετικά γράφηματα για τις 8, 12 και 16 εβδομάδες αντίστοιχα

### 8 εβδομάδες

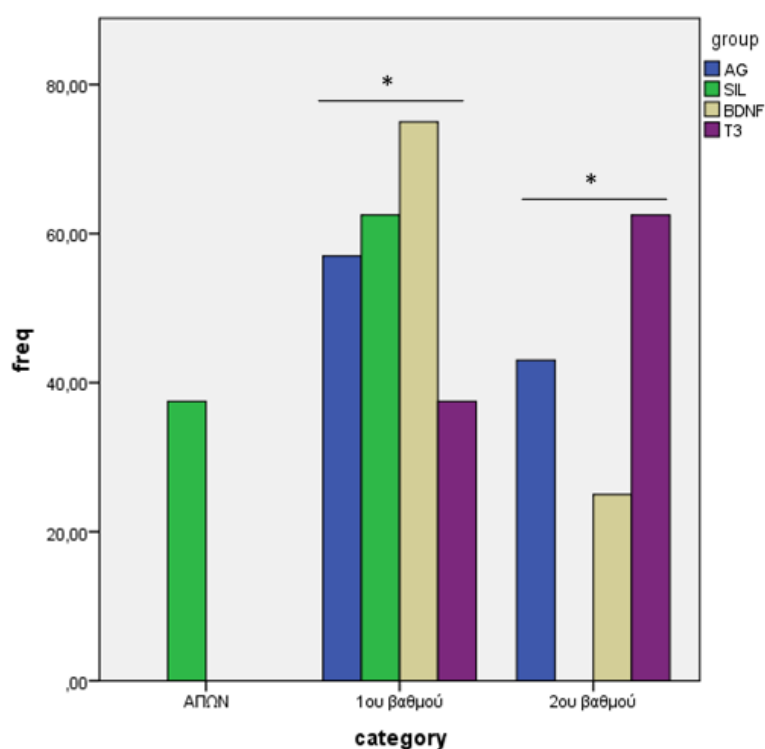
Στην ομάδα SIL το 43% των αρουραίων δεν εμφανίζει αντανακλαστικό, γεγονός που δείχνει πιθανόν απουσία ανανέυρωσης μέχρι την συγκεκριμένη χρονική στιγμή. Αντίθετα όλα τα πειραματόζωα των υπόλοιπων ομάδων παρουσιάζουν κάποιου βαθμού αντανακλαστικό. Πιο συγκεκριμένα οι ομάδες AG και BDNF παρουσιάζουν ακριβώς την ίδια συμπεριφορά, ενώ η ομάδα T3 επιδεικνύει μεγαλύτερο ποσοστό ζώων όπου η ανάκτηση της αισθητικής λειτουργίας κατατάσσεται ως 2ου βαθμού (44%). (Εικόνα 39)



Εικόνα 39 Γραφική απεικόνιση αποτελεσμάτων αντανακλαστικού απόσυρσης στις 8 εβδομάδες

## 12 εβδομάδες

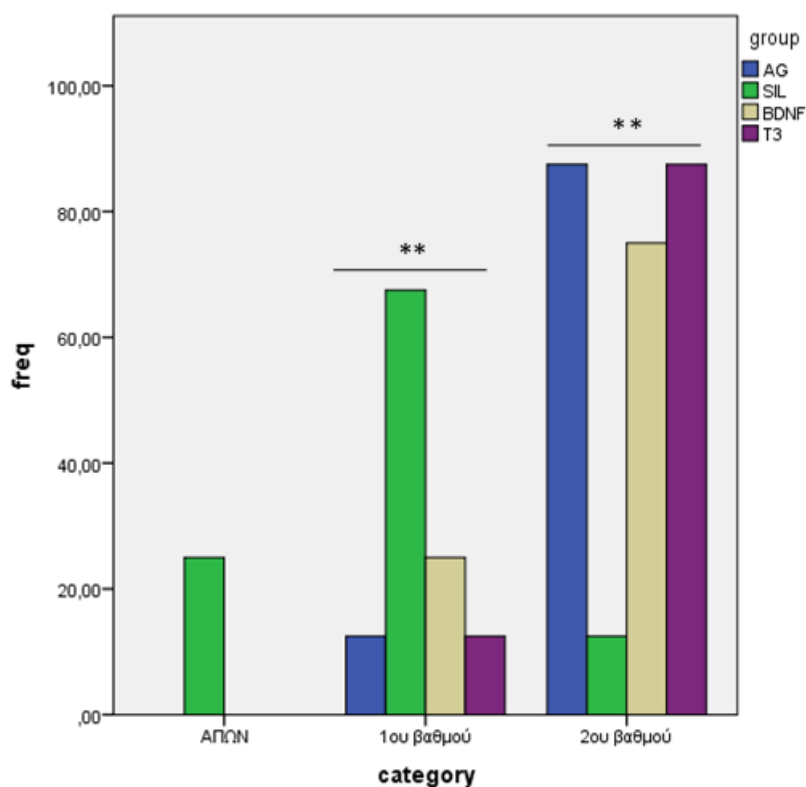
Το 37,65 % της ομάδας SIL δεν εμφανίζει αντανακλαστικό απόσυρσης και κανένας αρουραίος της ομάδας αυτής δεν εμφανίζει αντανακλαστικό απόσυρσης δευτέρου βαθμού. Αντίθετα η ομάδα T3 εμφανίζει τα καλύτερα αποτελέσματα και είναι η μόνη που στην πλειοψηφία τους τα ζώα έχουν ανάκτηση αισθητικής λειτουργίας 2ου βαθμού (62,4%). (Εικόνα 40)



Εικόνα 40 Γραφική απεικόνιση αποτελεσμάτων αντανακλαστικού απόσυρσης στις 12 εβδομάδες

## 16 εβδομάδες

Στις δοκιμασίες των 16 εβδομάδων διαπιστώθηκε ότι όλες οι ομάδες με εξαίρεση αυτής της SIL παρουσιάζουν παρόμοια εικόνα και συγκεκριμένα η πλειοψηφία των αρουραίων αυτών των ομάδων εμφανίζουν αντανακλαστικό απόσυρσης δευτέρου βαθμού. Αντίθετα η ομάδα SIL παρουσιάζει κατά 64,2% αντανακλαστικό απόσυρσης πρώτου βαθμού ενώ το 23,6% των αρουραίων αυτής της ομάδας δεν εμφανίζει αντανακλαστικό απόσυρσης γεγονός που υποδηλώνει απουσία ανανεύρωσης. (Εικόνα 41)



Εικόνα 41 Γραφική απεικόνιση αποτελεσμάτων αντανακλαστικού απόσυρσης στις 16 εβδομάδες

### **7.5.1 Ισχιακός λειτουργικός δείκτης (SFI)**

#### **4 εβδομάδες**

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι 4 ομάδες διαφέρουν μεταξύ τους σε στατιστικά σημαντικό βαθμό ( $p < 0,01$ ). Τα επιμέρους tests ανέδειξαν ότι πρακτικά στατιστικά σημαντικές διαφορές παρουσιάζουν μεταξύ τους όλες οι ομάδες - Η μικρότερη διαφορά αλλά οριακά στατιστικά σημαντική, σημειώθηκε μεταξύ της AG και BDNF. Γενικά, η ομάδα T3 εμφανίζει στατιστικά πολύ καλύτερα αποτελέσματα ( $p < 0,01$ ) από όλες τις υπόλοιπες ομάδες. (Παράρτημα)

#### **8 εβδομάδες**

Το AG φαίνεται να υπερέχει έναντι της ομάδας SIL αλλά η διαφορά με την ομάδα BDNF δεν αποδεικνύεται στατιστικά σημαντική. Η ομάδα SIL εμφανίζει χαμηλότερα αποτελέσματα από τις άλλες ομάδες στις επιμέρους συγκρίσεις σε επίπεδο σημαντικότητας  $p < 0,01$ .

#### **12 εβδομάδες**

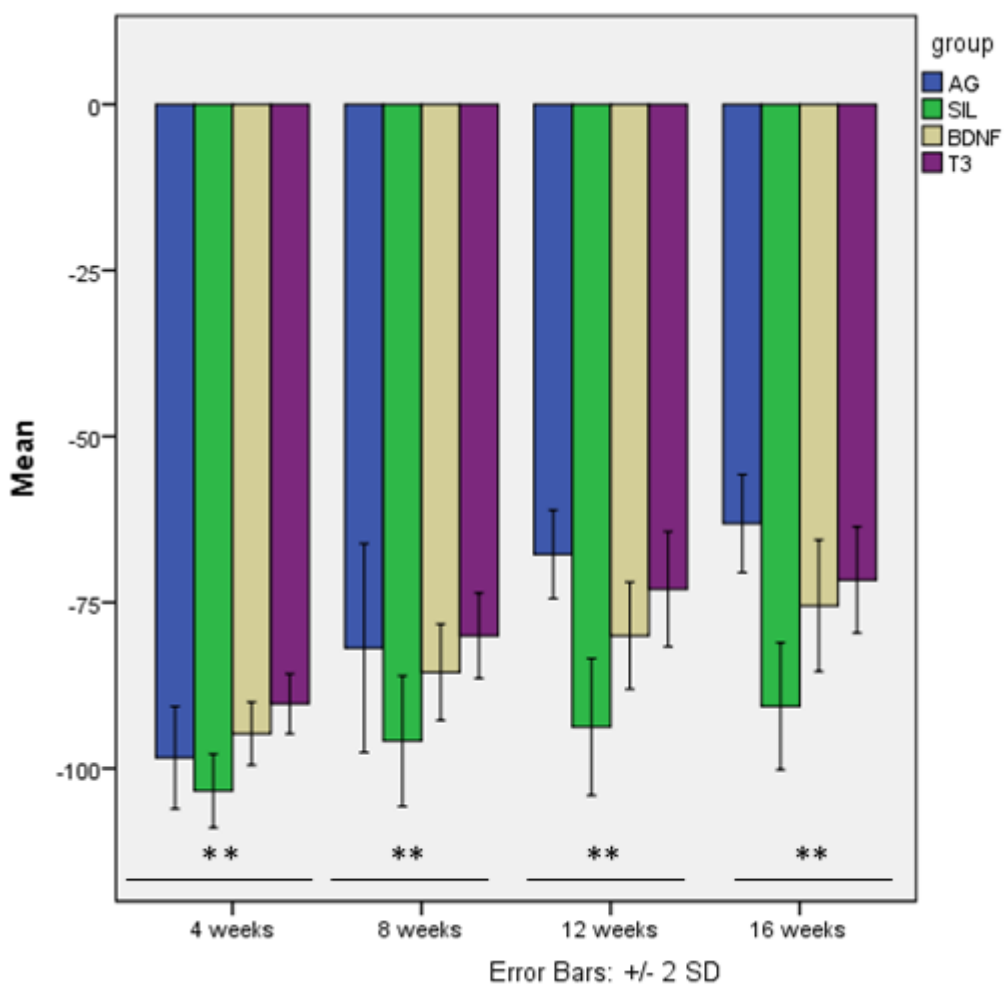
Στα αποτελέσματα των 12 εβδομάδων, η ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) έδειξε ότι το AG παρουσιάζει καλύτερα αποτελέσματα σε στατιστικά σημαντικό βαθμό συγκριτικά με τις ομάδες SIL και BDNF, αλλά όχι από την T3. Αντίστοιχα, η ομάδα T3 εμφανίζει στατιστικά σημαντικά καλύτερα αποτελέσματα τόσο από την ομάδα SIL όσο και από την BDNF.

#### **16 εβδομάδες**

Στα αποτελέσματα των 16 εβδομάδων, η ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) έδειξε ότι υπάρχουν διαφορές στατιστικά σημαντικές και μάλιστα σε επίπεδο  $p < 0,01$  μεταξύ σχεδόν όλων των ομάδων. Η μοναδική περίπτωση κατά την οποία δεν εντοπίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ήταν μεταξύ των ομάδων

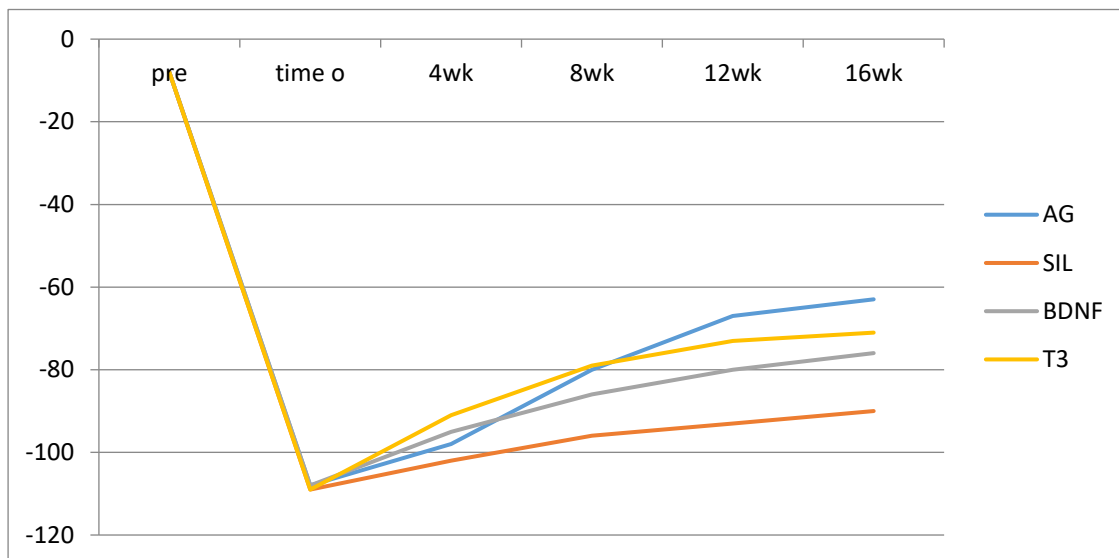
BDNF και T3. Συνολικά η ομάδα AG εμφανίζει πολύ καλύτερα αποτελέσματα από όλες τις υπόλοιπες ομάδες.

Τα παραπάνω αποτελέσματα και οι στατιστικές διαφορές φαίνονται στο παρακάτω γράφημα. (Εικόνα 42)



Εικόνα 42 Γραφική απεικόνιση αποτελεσμάτων του ισχιακού δείκτη στις διάφορες στιγμές παρατήρησης

Η πορεία όλων των ομάδων στη διάρκεια των 16 εβδομάδων αποτυπώνεται στο παρακάτω γράφημα. (Εικόνα 43)



Εικόνα 43 Η εξέλιξη του ισχιακού δείκτη όλων των ομάδων στη διάρκεια των 16 εβδομάδων

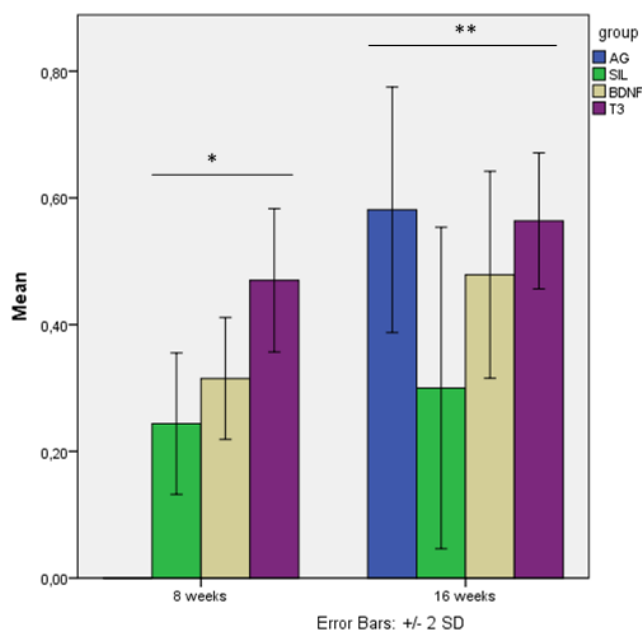
## 7.5.2 Βάρος νωπού μυ (Wet Muscle)

### 8 εβδομάδες (wk)

Στα αποτελέσματα των 8 εβδομάδων για τη μεταβλητή Wet Muscle, η ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) έδειξε ότι υπάρχουν διαφορές στατιστικά σημαντικές μεταξύ όλων των ομάδων. Ειδικότερα, η ομάδα SIL παρουσιάζει οριακά χειρότερα αποτελέσματα από την ομάδα BDNF (επίπεδο σημαντικότητας  $p < 0.05$ ), αλλά η διαφορά αυτή είναι αρκετά μεγαλύτερη με την ομάδα T3 και μάλιστα σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας  $p < 0.01$ . Επιπλέον, η ομάδα T3 παρουσιάζει καλύτερα αποτελέσματα από τα αντίστοιχα της BDNF ( $p < 0.01$ ).

### 16 εβδομάδες

Τα αποτελέσματα των επιμέρους αναλύσεων έδειξαν ότι η ομάδα AG δεν παρουσιάζει πια στατιστικά σημαντικές διαφορές από την T3, ενώ η διαφορά της τελευταίας από την BDNF αν και μικρότερη παρέμεινε στατιστικά σημαντική. Η ομάδα SIL εξακολουθεί να συγκεντρώνει τις χειρότερες επιδόσεις συγκριτικά με τις υπόλοιπες ομάδες και μάλιστα σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας  $p < 0.001$ . (Εικόνα 44)



Εικόνα 44. Γραφική απεικόνιση των αποτελεσμάτων για το βάρος του μυ στις 8 και 16 εβδομάδες.



### 7.5.3 ΗΛΕΚΤΡΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

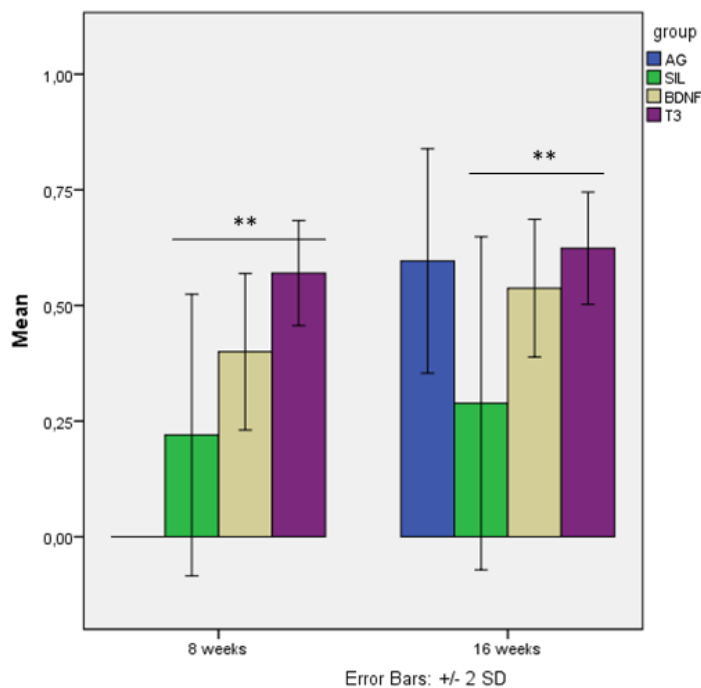
#### 1) Ταχύτητα αγωγιμότητας (CV Ratio)

##### 8 εβδομάδες

Στα αποτελέσματα των 8 εβδομάδων για τη μεταβλητή CV Ratio αναδεικνύεται ξεκάθαρα η υπεροχή της ομάδας T3 έναντι τόσο της SIL όσο και της BDNF επίπεδο  $p < 0.001$  και  $p < 0.05$  αντίστοιχα. Επιπλέον, η BDNF υπερέχει της SIL σε επίπεδο σημαντικότητας  $p < 0.01$ .

##### 16 εβδομάδες

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στις 16 εβδομάδες η ομάδα SIL παρουσιάζει τα χαμηλότερα αποτελέσματα συγκριτικά με τις άλλες ομάδες σε βαθμό στατιστικής σημαντικότητας  $p < 0.001$ . Αντίθετα δεν προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ της ομάδας AG και των ομάδων BDNF και T3 αντίστοιχα. Τα περιγραφικά στατιστικά δείχνουν ότι η ομάδα T3 έστω και οριακά συνεχίζει να διατηρεί την υψηλότερη απόδοση. Σχηματικά φαίνονται οι διαφορές στο παρακάτω διάγραμμα. **(Εικόνα 45)**



Εικόνα 45. Γραφική απεικόνιση των αποτελεσμάτων της ταχύτητας αγωγιμότητας στις 8 και 16 εβδομάδες.

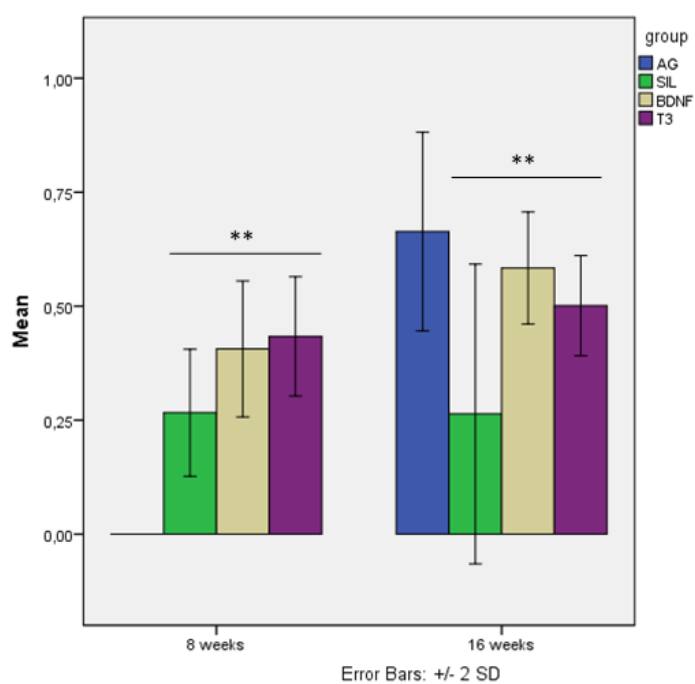
## 2) Κινητικό δυναμικό ενεργείας (CMAP Ratio)

### 8 εβδομάδες

Στα αποτελέσματα των 8 εβδομάδων για τη μεταβλητή CMAP Ratio αναδεικνύεται η υπεροχή της ομάδας T3, αν και μόνο με την ομάδα SIL αυτή η διαφορά αποδεικνύεται στατιστικά σημαντική. Το ίδιο ισχύει και για την ομάδα BDNF και τη SIL, με την τελευταία να αποδεικνύεται η ομάδα με τα χειρότερα αποτελέσματα σε επίπεδο σημαντικότητας  $p < 0.01$ . Μεταξύ των ομάδων BDNF και T3 δεν αποδείχθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές

## 16 εβδομάδες

Τα αποτελέσματα για τις 16 εβδομάδες ανέδειξαν για πρώτη φορά την AG ως την ομάδα με τα υψηλότερα αποτελέσματα. Σε σύγκριση με τη SIL και την T3, η διαφορά τους είναι στατιστικά σημαντική ( $p < 0.01$ ), κάτι που δε συμβαίνει όμως και με την BDNF. Επιπλέον, η ομάδα BDNF υπερिशύει τόσο απέναντι στην ομάδα SIL όσο και στην T3. (Εικόνα 46)

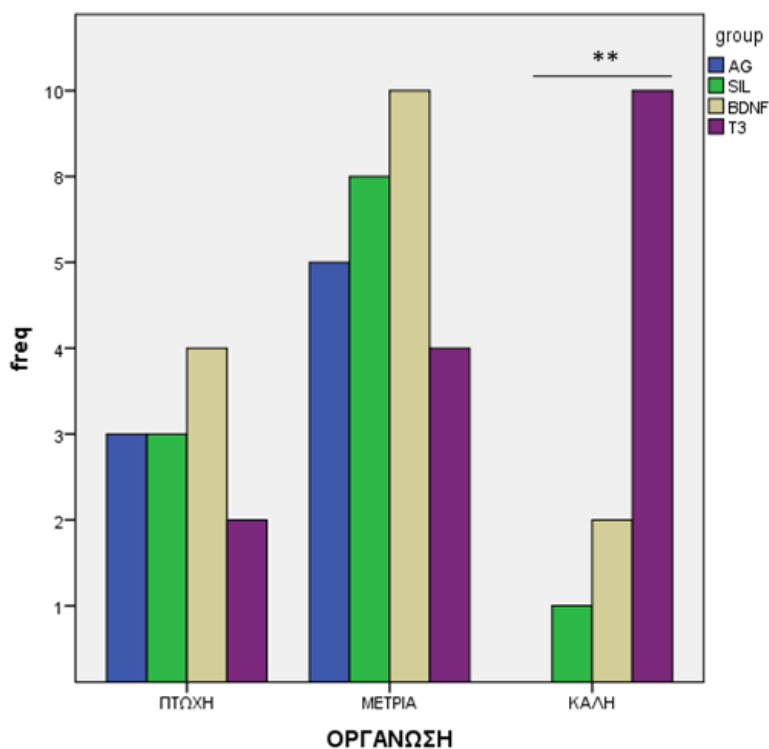


Εικόνα 46. Γραφική απεικόνιση των αποτελεσμάτων του δυναμικού ενέργειας στις 8 και 16 εβδομάδες.

## 7.5.4 ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΑ

### Προσανατολισμός και οργάνωση αναγεννημένων νευρικών ινών.

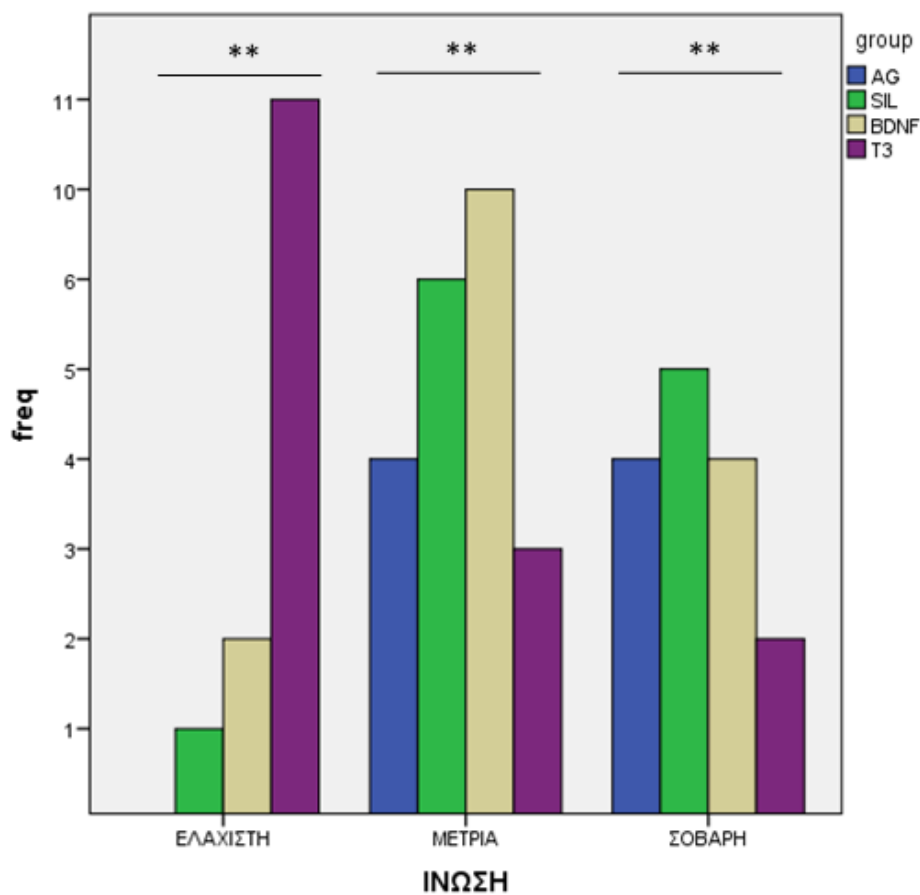
Αναφορικά με τον προσανατολισμό και την οργάνωση, παρατηρούμε ότι οι ομάδες AG, SIL και BDNF παρουσιάζουν σχετικά όμοια συμπεριφορά, καθώς η πλειοψηφία των μετρήσεων ανέδειξε μέτρια οργάνωση. Αντίθετα στην ομάδα T3 στις περισσότερες περιπτώσεις είχαμε καλή οργάνωση, όπου από αυτή την ομάδα προκύπτει άλλωστε και το στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα. (Εικόνα 47)



Εικόνα 47. Γραφική απεικόνιση των αποτελεσμάτων για την οργάνωση των αναγεννημένων νευρικών ινών.

## Ίνωση

Αναφορικά με την ίνωση, οι μετρήσεις απέδωσαν στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα, καθώς η ομάδα T3 παρουσίασε ελάχιστη, η ομάδα BDNF αντίστοιχα μέτρια, ενώ για τις ομάδες AG και SIL οι μετρήσεις ήταν μοιρασμένες μεταξύ μέτριας και σοβαρής. (Εικόνα 48)

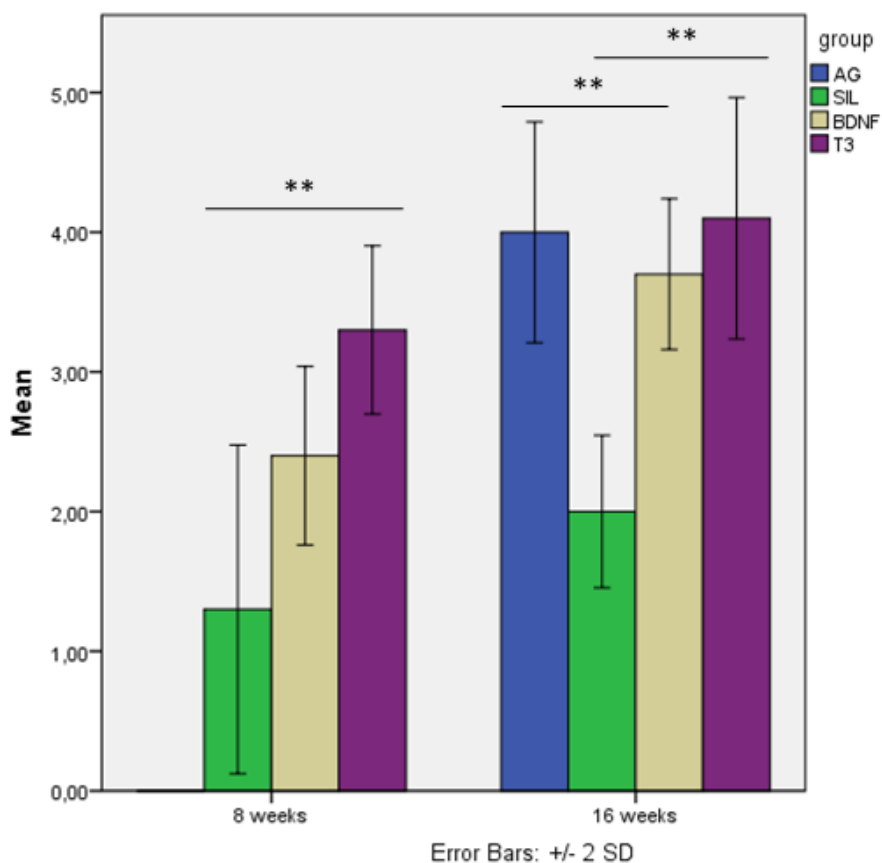


Εικόνα 48. Γραφική απεικόνιση των αποτελεσμάτων για την ίνωση των αναγεννημένων νευρικών ινών.

### Διάμετρος νευρικών ινών περιφερικά της νευρικής βλάβης

Η ομάδα T3 παρουσιάζει σαφώς καλύτερα αποτελέσματα στις 8 εβδομάδες από το BDNF σε στατιστικά σημαντικό βαθμό. Η SIL παραμένει η ομάδα με τη χαμηλότερη απόδοση και μάλιστα σε επίπεδο  $p < 0.01$ .

Τα αποτελέσματα για τις 16 εβδομάδες έδειξαν ότι η ομάδα SIL εμφανίζει τη χαμηλότερη επίδοση σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας  $p < 0.01$  σε σχέση με όλες τις υπόλοιπες ομάδες. Αντίθετα δεν προέκυψε διαφορά μεταξύ της AG και της BDNF με την T3. (Εικόνα 49)

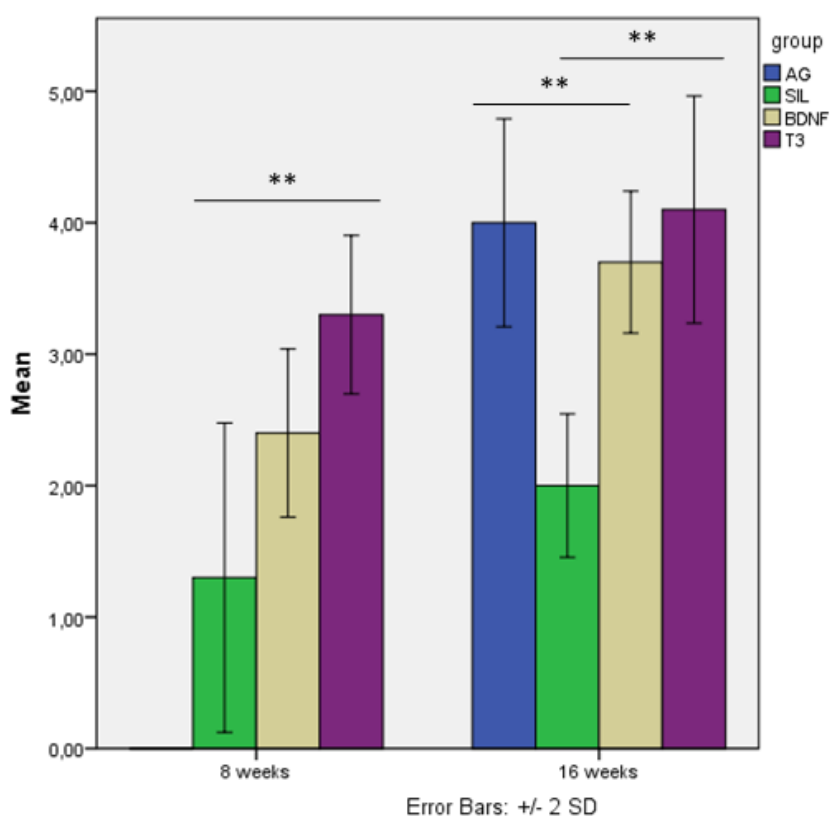


Εικόνα 49 Γραφική απεικόνιση των αποτελεσμάτων της διαμέτρου των νευρικών ινών στις 8 και 16 εβδομάδες.

### Αριθμός αναγεννημένων νευρικών ινών περιφερικά της νευρικής βλάβης

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στις 8 εβδομάδες η ανάπτυξη νέων νευρικών ινών λειτουργεί καλύτερα στην ομάδα BDNF, η οποία ακολουθείται από την ομάδα T3. Τη χαμηλότερη επίδοση παρουσιάζει η ομάδα SIL και μάλιστα σε στατιστικά σημαντικό βαθμό ( $p < 0.01$ ). Αντίθετα, η διαφορά των δύο υπόλοιπων ομάδων δεν επιβεβαιώθηκε στατιστικά. (Παράρτημα)

Τα αποτελέσματα για τις 16 εβδομάδες έδειξαν ότι όλες οι ομάδες διαφέρουν μεταξύ τους σε στατιστικά σημαντικό βαθμό. Το BDNF φαίνεται πως λειτουργεί καλύτερα από το T3 όσον αφορά την ανάπτυξη (αριθμός) νέων νευρικών ινών. Η διαφορά μεταξύ τους αυξάνεται με τον χρόνο κυρίως εξαιτίας του γεγονότος ότι δεν αυξάνεται πολύ ο αριθμός των νευρικών ινών στην ομάδα T3 στις 16 εβδομάδες. (Εικόνα 50)

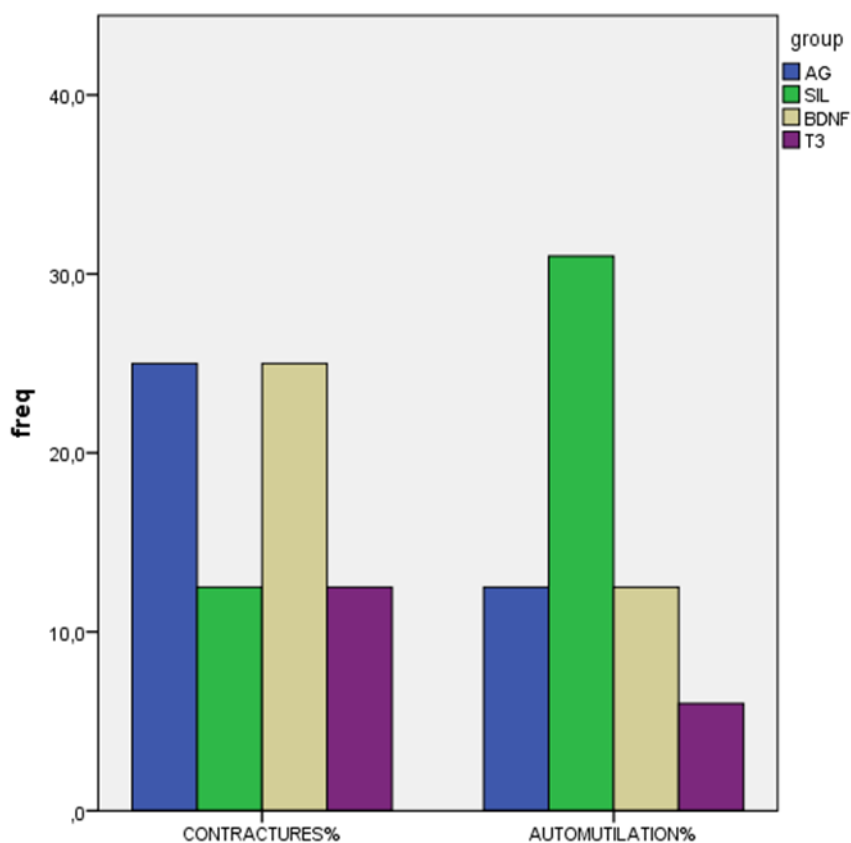


Εικόνα 50 Γραφική απεικόνιση των αποτελεσμάτων του αριθμού των νευρικών ινών στις 8 και 16 εβδομάδες.

### 7.5.5 ΣΥΓΚΑΜΨΕΙΣ – ΑΥΤΟΝΟΜΙΑ

Οι ομάδες AG και BDNF παρουσιάζουν παρόμοια ποσοστά αυτονομίας (12,5%). Η ομάδα T3 παρουσιάζει το μικρότερο ποσοστό αυτονομίας (6,2%) επιβεβαιώνοντας την γρηγορότερη ανάκτηση αίσθησης αυτής της ομάδας . Το μεγαλύτερο ποσοστό αυτονομίας εμφανίστηκε στην ομάδα SIL (31%).

Όσον αφορά τις συγκάμψεις η ομάδα T3 και SIL εμφανίζει το μικρότερο ποσοστό (13%) ενώ οι υπόλοιπες δυο ομάδες παρουσίασαν συγκάμψεις σε ποσοστό περίπου 25%. (Εικόνα 51)



Εικόνα 51. Γραφική απεικόνιση του ποσοστού αυτονομίας και συγκάμψεων ανά ομάδα.



## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η βελτίωση του λειτουργικού αποτελέσματος αποτελεί τον σκοπό πολλών ερευνών που ασχολούνται με τις διάφορες τεχνικές γεφύρωσης των νευρικών ελλειμμάτων. Έχει αποδειχθεί ότι ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες για την επίτευξη ενός καλού λειτουργικού αποτελέσματος είναι η γεφύρωση του ελλείμματος χωρίς τάση. Όταν η συρραφή χωρίς τάση δεν είναι δυνατή, τότε το έλλειμμα νευρικού ιστού γεφυρώνεται με ένα μόσχευμα που λειτουργεί σαν αγωγός για την αναγέννηση των νευρικών αξόνων προσφέροντας παράλληλα τα απαραίτητα συστατικά για την διαδικασία της νευρικής αναγέννησης.(18,32,142)

Στην κλινική πράξη, η μεταμόσχευση αυτόλογων νευρικών μοσχευμάτων θεωρείται η κύρια μέθοδος για την γεφύρωση νευρικών ελλειμμάτων. Σ' αυτήν τη μέθοδο λαμβάνουμε ένα αισθητικό κατά κύριο λόγο νεύρο από μία περιοχή του σώματος και το χρησιμοποιούμε για την γεφύρωση της νευρικής βλάβης. Με αυτόν τον τρόπο οι αναγεννημένες νευρικές ίνες περνούν από το κεντρικό τμήμα της βλάβης στο περιφερικό κολόβωμα διαμέσου του νευρικού μοσχεύματος. Η μέθοδος του νευρικού αυτομοσχεύματος παρουσιάζει ορισμένα μειονεκτήματα με κυριότερα την νοσηρότητα της δότριας περιοχής και την ανάγκη περισσότερων της μίας επέμβασης. Προκειμένου να ξεπεραστούν τα παραπάνω προβλήματα που δημιουργεί η χρήση των αυτόλογων μοσχευμάτων, δοκιμάστηκε η γεφύρωση των νευρικών ελλειμμάτων με νευρικά αλλομοσχεύματα. Η χρήση τους όμως έχει το μειονέκτημα της χρόνιας απόρριψης των μοσχευμάτων περιορίζοντας το λειτουργικό αποτέλεσμα εξαιτίας της ίνωσης που αυτή προκαλεί.(12,143,144)

Με την βοήθεια της βιολογικής μηχανικής αναπτύχθηκαν και εξελίχθηκαν οι νευραγωγοί σαν εναλλακτική μέθοδο για την γεφύρωση των νευρικών ελλειμμάτων. Έτσι με την τεχνική της ενσωληνοποίησης τα νευρικά κολοβώματα συρράπτονται στις δύο άκρες των νευροαγωγών μέσα από τους οποίους γίνεται η νευρική αναγέννηση. Πολλοί βιολογικοί και τεχνητοί νευροαγωγοί έχουν χρησιμοποιηθεί σε πειραματικά μοντέλα αλλά και σε ασθενείς. Οι κυριότεροι βιολογικοί αγωγοί που έχουν χρησιμοποιηθεί είναι αρτηριακά και φλεβικά

μοσχεύματα η χρήση των οποίων δεν στερείται προβλημάτων. Οι τεχνητοί νευραγωγοί διαχωρίζονται κατά κύριο λόγο σε απορροφήσιμους όπως είναι αυτοί που παρασκευάζονται από κολλαγόνο τύπου 1, πολυγλακτίνη, πολυγαλακτικό οξύ και πολυγλυκολικό οξύ και σε μη απορροφήσιμους όπως είναι κυρίως οι νευραγωγοί σιλικόνης. Ο ιδανικός για χρήση νευραγωγός στην κλινική πράξη πρέπει να είναι διαφανής, απορροφήσιμος, εύκαμπτος, βιοσυμβατός, μη τοξικός και εκλεκτικά διαπερατός. Παρόλο τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα από την χρήση των νευρικών αγωγών στην κλινική πράξη, έχει φανεί πως λειτουργούν για νευρικά ελλείμματα έως 4 cm και γενικότερα η γεφύρωση ελλειμμάτων μεγαλύτερων των 3 cm με την χρήση αυτών είναι συχνά προβληματική. (64-70,145)

Με δεδομένο ότι για να υπάρξει αναγέννηση των διατμηθέντων νευρικών ινών είναι απαραίτητη η παρουσία διαφόρων κυττάρων και ουσιών, η τεχνική της ενσωληνοποίησης έδωσε την ευκαιρία να μελετήσουμε τον ρόλο αυτών των ουσιών στην νευρική αναγέννηση αλλά και να τροποποιήσουμε το τοπικό περιβάλλον στην περιοχή μέσα από την οποία προσδοκούμε να περάσουν οι αναγεννημένες νευρικές ίνες. Πράγματι αρκετές έρευνες υποστηρίζουν ότι τα κύτταρα Schwann, ουσίες του εξωκυτταρικού στρώματος, πολυπεπτίδια καλούμενα ως νευροτροφικοί παράγοντες καθώς και ορμόνες διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην αναγέννηση των περιφερικών νευρών.(12,17,91,96)

Οι νευραγωγοί σιλικόνης πλεονεκτούν στην μελέτη ουσιών που επηρεάζουν την νευρική αναγέννηση καθώς είναι μη διαπερατοί. Κατά αυτόν τον τρόπο δημιουργούν ένα κλειστό σύστημα μεταξύ των νευρικών κολοβωμάτων εμποδίζοντας την διάχυση των προς εξέταση ουσιών που χορηγούμε μεταξύ των κολοβωμάτων. Το όριο όσον αφορά την δυνατότητα αναγέννησης του ισχιακού νεύρου του αρουραίου εντός των αγωγών σιλικόνης χωρίς να τροποποιήσουμε το τοπικό περιβάλλον εντός αυτού, είναι 10 mm. Προκειμένου να ξεπεραστεί αυτό το όριο έχουν δοκιμαστεί πολλές ουσίες.(71,72)

Μερικοί από τους νευροτροφικούς παράγοντες που έχουν μελετηθεί και υπάρχουν ενδείξεις ότι ευοδώνουν την νευρική αναγέννηση είναι ο NGF, ο BDNF, η νευριτροφίνη 3 (NT3) , ο CNTF καθώς και ο GDNF. (112)

Ένας από τους νευροτροφικούς παράγοντες που σύμφωνα με τα αποτελέσματα ερευνών του αποδίδονται ευεργετικές ιδιότητες στην διαδικασία της αναγέννησης των περιφερικών νεύρων είναι ο BDNF. Ο παράγοντας αυτός δρα κυρίως εμποδίζοντας τον κυτταρικό θάνατο των νευρώνων που ο νευράξονας τους έχει υποστεί βλάβη. Επίσης επηρεάζει τον μεταβολισμό των νευρώνων και έχει ρόλο στον πολλαπλασιασμό των κύτταρων Schwann από τα οποία παράγεται.(113-119)

Όσον αφορά τις ορμόνες υπάρχουν κάποιες έρευνες που μελετούν την επίδραση αυτών στην νευρική αναγέννηση. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει ο ρόλος της θυρεοειδικής ορμόνης T3 αφού είναι δεδομένο πως έχει βασικό ρόλο στην ωρίμανση του κεντρικού νευρικού συστήματος αλλά υπάρχουν και ενδείξεις από διάφορες μελέτες ότι έχει θετική επίδραση στην αναγέννηση των περιφερικών νεύρων μέσω διαφόρων μηχανισμών. Συγκεκριμένα θεωρείται ότι η T3 λειτουργεί ευεργετικά με πολλούς διαφορετικούς τρόπους (130-132):

- Μεταφέρεται στα κυτταρικά σώματα των νευρώνων που ο άξονας τους έχει υποστεί βλάβη και κατά αυτόν τον τρόπο αποφεύγεται ο θάνατος τους
- Αυξάνει την σύνθεση των νευροτροφικών παραγόντων από τα κύτταρα Schwann στο σημείο της βλάβης που αυτοί με την σειρά τους ευοδώνουν την νευρική αναγέννηση.
- Αυξάνει την έκφραση γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την παραγωγή μυελίνης στα κύτταρα Schwann βοηθώντας έτσι την ωρίμανση των αναγεννημένων νευρικών ινών.

- Πιθανολογείται ότι έχει ρόλο στην ρύθμιση των μακροφάγων και των ινοβλαστών μετά από νευρική βλάβη καθώς έχει φανεί πως τα κύτταρα αυτά διαθέτουν υποδοχείς για την T3.

Στο συγκεκριμένο πειραματικό πρωτόκολλο μελετήθηκε η πιθανή δράση της θυροειδικής ορμόνης (T3) και του νευροτροφικού παράγοντα BDNF σε σχέση με την μη τροποποίηση του τοπικού περιβάλλοντος εντός του νευραγωγού αλλά και σε σχέση με την πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδο γεφύρωσης των νευρικών ελλειμμάτων δηλαδή με την χρήση αυτομοσχεύματος. Με βάση την διεθνή βιβλιογραφία δεν υπάρχει κάποια άλλη μελέτη που να συγκρίνει ένα νευροτροφικό παράγοντα με μία ορμόνη και την κλασσική μέθοδο του αυτομοσχεύματος.

Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης επιβεβαίωσαν παλαιότερες μελέτες στο ότι η τροποποίηση του τοπικού περιβάλλοντος εντός του νευρικού αγωγού σιλκόνης είναι καθοριστικής σημασίας τουλάχιστον για ελλείμματα ίσα ή μεγαλύτερα των 10 mm. Πράγματι σε όλες τις μετρήσεις φαίνεται ότι όλες οι ομάδες εμφάνισαν στατιστικώς καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με την ομάδα SIL. Επίσης κατά την δειγματοληψία των ισχιακών νεύρων για την ιστολογική ανάλυση φάνηκε ότι στο 25% των αρουραίων της ομάδας SIL δεν παρατηρήθηκε αναγέννηση εντός του νευρικού αγωγού. Αντίθετα σε όλους τους αρουραίους των υπολοίπων ομάδων υπήρξε κάποιου βαθμού νευρική αναγέννηση. Στο ίδιο συμπέρασμα οδηγεί και το μεγάλο ποσοστό αυτονομίας που παρατηρήθηκε στην ομάδα αυτή (31%).

Επίσης φάνηκε ότι τουλάχιστον σε λειτουργικό επίπεδο η ομάδα AG παρουσίασε καλύτερα λειτουργικά αποτελέσματα στο τέλος της μελέτης (16 εβδομάδες). Ο ισχιακός λειτουργικός δείκτης ήταν στατιστικά πολύ καλύτερος από τον αντίστοιχο δείκτη των υπολοίπων ομάδων.

Ο BDNF έχει αποδειχθεί ότι ευοδώνει την νευρική αναγέννηση. Το 1996 ο Utley με τους συνεργάτες του, πραγματοποίησαν μία μελέτη χρησιμοποιώντας σαν νευρικό μοντέλο το ισχιακό νεύρο των αρουραίων. Σε αυτή συγκρίνανε τα

αποτελέσματα της νευρικής αποκατάστασης του νευρικού ελλείμματος με πρωτογενή επινευρική συρραφή, με την γεφύρωση με την βοήθεια ενός νευρικού αγωγού κολλαγόνου, καθώς και με την χρήση των νευραγωγών και την χορήγηση του BDNF μέσω αντλίας ή μέσω της ομοιοπολικής ένωσης του με τον νευρικό αγωγό. Από αυτή την μελέτη η ομάδα που αντιμετωπίστηκε με τη χρήση των νευραγωγών κολλαγόνου στους οποίους ήταν συνδεδεμένος ο BDNF, παρουσίασε τα καλύτερα λειτουργικά αποτελέσματα (walking track analysis). Ακολουθεί η ομάδα στην οποία έγινε χορήγηση του νευροτροφικού παράγοντα με την χρήση αντλίας. Τα πτωχότερα αποτελέσματα επετευχθησάν με την πρωτογενή επινευρική συρραφή. Από τα παραπάνω αποδεικνύεται η θετική επίδρασή του BDNF στην νευρική αναγέννηση. (115)

Στην ίδια κατεύθυνση κινούνται και τα αποτελέσματα μίας άλλης έρευνας στην οποία σαν μοντέλο περιφερικού νεύρου χρησιμοποιήθηκε το προσωπικό νεύρο κουνελιού. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της , η γεφύρωση ενός νευρικού ελλείμματος της τάξης των 15 mm με την χρήση νευρικών αγωγών κολλαγόνου που περιέχει γέλη κολλαγόνου και BDNF , δίνει τα ίδια λειτουργικά αποτελέσματα με την γεφύρωση του νευρικού ελλείμματος με την χρήση αυτομοσχεύματος.(117)

Στην μελέτη αυτή επιβεβαιώθηκε ότι η χρήση αυτού του νευροτροφικού παράγοντα ευοδώνει την νευρική αναγέννηση καθώς σε όλες τις μετρήσεις υπερείχε στατιστικά σε σχέση με την ομάδα SIL. Αντίθετα όμως δεν επιβεβαιώνεται ότι μπορεί να υποκαταστήσει επάζια την τεχνική του αυτομοσχεύματος. Πράγματι η ομάδα BDNF εμφανίζει πτωχότερα αποτελέσματα σε σχέση με την ομάδα AG τόσο στις λειτουργικές δοκιμασίες όσο και στα αποτελέσματα της ιστολογικής ανάλυσης ιδιαίτερα μετά τις 8 εβδομάδες. Αυτό πιθανόν να οφείλεται εν μέρη στον διαφορετικό τρόπο χορήγησης του νευροτροφικού παράγοντα καθώς και στην χρήση διαφορετικού τύπου νευραγωγού σε σχέση με τις προαναφερθείσες μελέτες.

Η θυροειδική ορμόνη T3 φαίνεται να ευοδώνει την νευρική λειτουργία. Voinesco F et al. πραγματοποίησαν ένα πειραματικό πρωτόκολλο που μελετήθηκε η δράση της T3 όταν χορηγείται τοπικά μονοδοσικά κατά την χειρουργική αποκατάσταση ενός νευρικού ελλείμματος ισχιακού νεύρου αρουραίων με την χρήση νευρικών αγωγών σιλκόνης. Τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με τα αντίστοιχα της ομάδας όπου δεν χρησιμοποιήθηκε η θυροειδική ορμόνη. Σύμφωνα με την παθολογοανατομική ανάλυση, στις τέσσερις εβδομάδες μετά την χειρουργική επέμβαση, η χρήση της T3 έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη περισσότερων εμύελων νευρικών ινών σε όλο το μήκος του νευρικού αγωγού, μεγαλύτερης διαμέτρου και με παχύτερο μυελινικό περίβλημα. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώθηκαν από αντίστοιχη ανάλυση μετά από οχτώ εβδομάδες από την αποκατάσταση του νευρικού ελλείμματος. Αντίστοιχα αποτελέσματα δημοσίευσαν ο Panaite et al οι οποίοι χορήγησαν T3 εντός βιοαπορροφήσιμων νευρικών αγωγών. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής δείχνουν ότι η ομάδα T3 εμφανίζει στατιστικώς καλύτερα αποτελέσματα από την ομάδα SIL σε όλες τις μετρήσεις επιβεβαιώνοντας την έως τώρα βιβλιογραφία.(136,37)

Η σύγκριση της ομάδας T3 με αυτή της BDNF είναι πιο πολύπλοκη. Πρακτικά φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστική διαφορά στον ισχιακό δείκτη στις 16 εβδομάδες. Από την άλλη πλευρά φαίνεται ότι σχεδόν σε όλες τις μετρήσεις οι οποίες έγιναν μέχρι τις 8 εβδομάδες η ομάδα T3 υπερείχε στατιστικά σε σημαντικό βαθμό σε σχέση με αυτή της BDNF. Πιο συγκεκριμένα η ομάδα T3 εμφάνισε στατιστικά καλύτερα αποτελέσματα τόσο στην ανάκτηση της αισθητικότητας όσο και στο αντανεκλαστικό απόσυρσης και στον ισχιακό δείκτη καθώς και στην ταχύτητα αγωγιμότητας και στην διάμετρο των νευρικών ινών. Οι παραπάνω μετρήσεις υποδηλώνουν γρηγορότερη ανανέωση σε σχέση με την αντίστοιχη ομάδα BDNF. Οι παραπάνω διαφορές μειώνονται με τον χρόνο ώστε στις 16 εβδομάδες να μην υπάρχει στατιστική διαφορά στον ισχιακό δείκτη μεταξύ των δύο ομάδων.

Ενδιαφέροντα στοιχεία προέκυψαν από την σύγκριση της ομάδας T3 με αυτή της AG. Από τα αποτελέσματα των λειτουργικών δοκιμασιών φαίνεται ότι η

ανάκτηση της αισθητικής λειτουργίας και του αντανακλαστικού απόσυρσης γίνεται γρηγορότερα στην ομάδα T3. Επίσης ο λειτουργικός ισχιακός δείκτης στις 8 εβδομάδες μεταξύ των δύο αυτών ομάδων δεν έχει στατιστική διαφορά. Αντίθετα μετά τις 8 εβδομάδες και ιδιαίτερα στις 16 εβδομάδες φαίνεται ότι η ομάδα AG υπερέχει στατιστικά στον ισχιακό λειτουργικό δείκτη.

Η μείωση του ρυθμού ανάκτησης της λειτουργικότητας μετά τις 8 εβδομάδες παρατηρείται και στις τρεις ομάδες στις οποίες έγινε γεφύρωση του νευρικού ελλείμματος με την τεχνική της ενσωληνοποίησης. Πιθανόν λοιπόν να οφείλεται σε πιεστικά φαινόμενα ή σε κάποια αντίδραση γενικότερα στον νευραγωγό που χρησιμοποιήθηκε.

Σε ιστολογικό επίπεδο φαίνεται πως η ομάδα T3 έχει καλύτερη οργάνωση των αναγεννημένων νευρικών ινών και λιγότερη ενδονευρική ίνωση από όλες τις υπόλοιπες ομάδες. Επίσης σύμφωνα με τις μετρήσεις η διάμετρος των νευρικών ινών είναι συγκρίσιμη με αυτή του αυτομοσχέματος και στατιστικά καλύτερη από τις υπόλοιπες ομάδες.

Με βάση αυτές τις παρατηρήσεις που προέκυψαν από την σύγκριση της ομάδας T3 με την ομάδα BDNF και AG φαίνεται ότι η νευρική αναγέννηση γίνεται ταχύτερα στην ομάδα στην οποία γίνεται χρήση της θυροειδικής ορμόνης σε σχέση με την ομάδα του αυτομοσχέματος αλλά και με τις υπόλοιπες ομάδες

Στο γεγονός ότι με την θυροειδική ορμόνη γίνεται πιο γρήγορα η νευρική αναγέννηση συνηγορεί το ότι δεν φαίνεται να υπάρχει στατιστική διαφορά στο βάρος του μυ σε σχέση με την ομάδα του αυτομοσχέματος. Αυτό πιθανόν να συμβαίνει γιατί ο μύς επανανευρώνεται πιο γρήγορα.

Όσον αφορά την καλύτερη οργάνωση των αναγεννημένων νευρικών ινών και την λιγότερη ενδονευρική ίνωση που παρατηρείται στην ομάδα T3 , πιθανόν να οφείλεται στην πιο γρήγορη νευρική αναγέννηση αυτή της ομάδας ή σε κάποιο ρυθμιστικό παράγοντα της ορμόνης στην φλεγμονώδη αντίδραση μέσω της δράσης της στα κινούμενα μακροφάγα και στους ινοβλάστες.

Πράγματι υπάρχουν ενδείξεις από άλλες έρευνες ότι η θυροειδική ορμόνη έχει ρυθμιστικό ρόλο στην φλεγμονώδη αντίδραση σε διάφορους ιστούς. Επίσης άλλες έρευνες δείχνουν ότι ουσίες με αντιφλεγμονώδη δράση ευοδώνουν την νευρική αναγέννηση.(146,147)

Σε γενικές γραμμές η δράση της θυροειδικής ορμόνης στην νευρική αναγέννηση δεν έχει πλήρως διαλευκανθεί αλλά με βάση τα παραπάνω επιβεβαιώνεται ότι την ευοδώνει κυρίως όσον αφορά την ταχύτητα της. Παράλληλα υπάρχουν ενδείξεις ότι έχει ένα ρυθμιστικό ρόλο στην φλεγμονώδη αντίδραση γεγονός το οποίο πρέπει να διερευνηθεί περαιτέρω.

Τα αποτελέσματα παρουσιάζουν κλινικό ενδιαφέρον καθότι φαίνεται πως η τροποποίηση του τοπικού περιβάλλοντος εντός του νευρικού αγωγού θα μπορούσε να αυξήσει το όριο του νευρικού ελλείμματος που μπορεί να γεφυρωθεί με την τεχνική της ενσωληνοποίησης. Επίσης η καλύτερη οργάνωση η λιγότερη ίνωση και η αυξημένη ταχύτητα της νευρικής αναγέννησης που παρατηρήθηκε με την χρήση της T3 σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες αποτελούν ενδείξεις ότι η χρήση της συγκεκριμένης ορμόνης στην κλινική πράξη θα μπορούσε να βελτιώσει περαιτέρω τα λειτουργικά αποτελέσματα της νευρικής αναγέννησης.

Μια αδυναμία της ερευνάς είναι ότι επιλέξαμε την μονοδοσική τοπική χρήση των παραγόντων και δεν εξετάστηκε η δράση αυτών με συνεχή χορήγηση. Επιλέξαμε όμως την μονοδοσική χορήγηση γιατί αυτή είναι πιο ρεαλιστική στην κλινική πράξη.

Δεύτερον επιλέχθηκε ως νευρικό έλλειμμα αυτό των δέκα χιλιοστών και όχι μεγαλύτερο. Αυτό έγινε προκειμένου να δούμε τις τυχόν διαφορές στο πιο κοινά χρησιμοποιούμενο νευρικό έλλειμμα σε τέτοιου είδους έρευνες. Εξάλλου αν χρησιμοποιούσαμε μεγαλύτερο έλλειμμα πιθανόν να μην υπήρχε αναγέννηση στην ομάδα SIL.

Τρίτος περιορισμός είναι ότι δεν επιλέξαμε μεγαλύτερο χρονικό διάστημα παρατήρησης. Επιλέξαμε τις 16 εβδομάδες ως διάστημα παρατήρησης διότι ήταν



καθοριστικό να δούμε αρχικά αν πράγματι οι ουσίες που χρησιμοποιήσαμε ευοδώνουν την νευρική αναγέννηση. Χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

Τέλος η σύγκριση του αυτομοσχεύματος με τις υπόλοιπες ομάδες όπου χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της ενσωληνοποίησης αποτελεί έναν παραπάνω περιορισμό. Και αυτό γιατί στην συγκεκριμένη σύγκριση αλλάζουν δύο μεταβλητές. Η μία της χορηγούμενης ουσίας αλλά και της τεχνικής. Παρόλα αυτά προχωρήσαμε σε αυτήν την σύγκριση καθότι η τεχνική του αυτομοσχεύματος έχει χαρακτηριστεί ως χρυσός κανόνας στην γεφύρωση των νευρικών ελλειμμάτων.

## **BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

1. Daniel R, ed. *Reconstructive microsurgery*. Boston: Little, Brown, 1977:9-41, 351-355
2. McManamny D. Comparison of microscope and loupe magnification: Assistance for the repair of median and ulnar nerves. *Br J Plast Surg* 1983;36:367-371
3. American Academy of Orthopaedic Surgeons. *Microsurgical Skills Development Laboratory Manual*. Chicago: AAOS, 1985:1-35
4. Lawrence TM, Davis TRC. A biomechanical analysis of suture materials and their influence on a four-strand flexor tendon repair. *J Hand Surg Am*. 2005;30: 836–841
5. Tang JB, Zhang Y, Cao Y, Xie RG. Core suture purchase affects strength of tendon repairs. *J Hand Surg Am*. 2005;30: 1262–1266.
6. Osei DA, Stepan JG, Calfee RP, Thomopoulos S, Boyer MI, Potter R, et al. The Effect of Suture Caliber and Number of Core Suture Strands on Zone II Flexor Tendon Repair: A Study in Human Cadavers. *J Hand Surg Am*. 2014;39: 262–268.
7. Nelson GN, Potter R, Ntouvali E, Silva MJ, Boyer MI, Gelberman RH, et al. Intrasynovial flexor tendon repair: a biomechanical study of variations in suture application in human cadavera. *J Orthop Res*. 2012;30: 1652–1659
8. Kormpakis I, Linderman SW, Thomopoulos S, Gelberman RH. Enhanced Zone II Flexor Tendon Repair through a New Half Hitch Loop Suture Configuration. *PLoS One*. 2016 Apr 21;11(4):e0153822
9. Winters SC, Gelberman RH, Woo SL, Chan SS, Grewal R, Seiler JG III. The Effects of Multiple-Strand Suture Methods on the Strength and Excursion of Repaired Intrasynovial Flexor Tendons : A Biomechanical Study in Dogs. *J Hand Surg Am*. 1998;23: 97–104.

10. Linderman SW, Kormpakis I, Gelberman RH, Birman V, Wegst UGK, Genin GM, et al. Shear lag sutures: Improved suture repair through the use of adhesives. *Acta Biomater.* 2015;23: 229–39
11. Mackinnon SD, Dellon AL. *Surgery of the peripheral nerve.* New York. Thieme, 1988
12. Mackinnon S. *Nerve Surgery.* New York. Thieme, 2015
13. Kim HM, Nelson G, Thomopoulos S, Silva MJ, Das R, Gelberman RH. Technical and biological modifications for enhanced flexor tendon repair. *J Hand Surg Am.* 2010;35: 1031–1037
14. Shah SA, Kormpakis I, Havlioglu N, Ominsky MS, Galatz LM, Thomopoulos S. Sclerostin Antibody Treatment Enhances Rotator Cuff Tendon-to-Bone Healing in an Animal Model, *J Bone Joint Surg Am.* 2017 May 17;99(10):855-864.
15. Gelberman RH, Shen H, Kormpakis I, Rothrauff B, Yang G, Tuan RS, Xia Y, Sakiyama-Elbert S, Silva MJ, Thomopoulos S. Effect of adipose-derived stromal cells and BMP12 on intrasynovial tendon repair: A biomechanical, biochemical, and proteomics study. *J Orthop Res.* 2016 Apr;34(4):630-40.
16. Gelberman RH, Shen H, Kormpakis I, Rothrauff B, Yang G, Tuan RS, Xia Y, Sakiyama-Elbert S, Silva MJ, Thomopoulos S. Effect of adipose-derived stromal cells and BMP12 on intrasynovial tendon repair: A biomechanical, biochemical, and proteomics study. *J Orthop Res.* 2016 Apr;34(4):630-40.
17. Elizabeth O. Johnson a, Antonia Charchanti , Panayotis N. Soucacos. Nerve repair: Experimental and clinical evaluation of neurotrophic factors in peripheral nerve regeneration. *Injury, Int. J. Care Injured* (2008) 39S, S37—S4
18. Richard Gelberman. *Operative nerve repair and reconstruction.* JB Lippincott company 1991
19. Archer DR. *Axonal transport to nerve injury.* Doctoral Thesis, University of Liverpool, 1987

20. Thomas PK, Ochoa J. Microscopic anatomy of peripheral nerve fibres. In: Dyck PJ, Thomas PK, Lambert EH, Bunge MB, eds. *Peripheral neuropathy*. Philadelphia: WB Saunders, 1984:39-96
21. Hollenbeck PJ. The transport and assembly of the axonal cytoskeleton. *J Cell Biol* 1989; 108:223-227
22. Erlanger J, Gasser H. *Electrical signs of nervous activity*. Philadelphia: University of Pennsylvania Press, 1937
23. Grafstein B, Forman DS. Intracellular transport in neurons. *Phys Rev* 1980; 60:1167-1283
24. Gainer H, Fink DJ. Evidence for slow retrograde transport of serum albumin in rat sciatic nerve. *Brain Res* 1982; 233:404-408
25. Lundborg G. *Nerve injury and repair*. Edinburgh: Churchill-Livingstone, 1988
26. Oldfors A, Johansson BR. Barrier and transport properties of the perineurium. An ultrastructural study with I-labelled albumin and horseradish peroxidase in normal and protein-deprived rats. *Acta Neuropathol (Berl)* 1979; 47:139-143
27. Lundborg G. The intrinsic vascularization of human peripheral nerves: Structural and functional aspects. *J Hand Surg* 1979; 4:34-41
28. Lundborg G, Rydevik B. Effects of stretching the tibial nerve of the rabbit: A preliminary study of the intraneural circulation and the barrier function of the perineurium. *J Bone Joint Surg [Br]* 1973; 55:390-401
29. Myers RR, Powell HC. Endoneurial fluid pressure in peripheral neuropathies. In: Hargens A, ed. *Tissue fluid pressure and composition*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1981:193-207
30. Seddon H. Three types of nerve injury. *Brain* 1943; 66:237-288
31. Sunderland S. A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. *Brain* 1951; 74:491-516
32. Johnson EO, Zoubos AB, Soucacos PN. Regeneration and repair of peripheral nerves. *Injury* 2005 Nov; 36 suppl 4 :S24-29 Review

33. Hendry IA. The response of adrenergic neurons to axotomy and nerve growth factor. *Brain Res* 1975; 94:87-98
34. Sunderland S. *Nerves and nerve injuries*, ed 2. Edinburgh: Churchill-Livingstone, 1978: 133-141
35. Omer GE. Reconstructive procedures for extremities with peripheral nerve defects. *Clin Orthop Related Res* 1982; 163:80-91
36. Brown RA, Pedowitz RA, Kwan MK, et al. The effects of stretching upon conduction properties in the rabbit tibial nerve. *Trans of the 35th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society*, 1989
37. Bora FW, Richardson S, Black J. The biomechanical responses to tension in a peripheral nerve. *J Hand Surg* 1980; 5:21-25
38. Forrester-Brown M. The possibilities of suture after extensive nerve injury. *J Orthop Surg* 1921; 19:277
39. Albert E. Einige Operationen am Nerven. *Wien Med Presse* 1885; 26:1285
40. Bunnell S. *Surgery of nerves of the hand*. *Surg Gynecol Obstet* 1927; 44:145
41. Ballance C, Duell AB. Operative treatment of facial palsy by the introduction of nerve grafts into the fallopian canal and by other intratemporal methods. *Arch Otolaryngol* 1932; 15:1
42. Strange FG St. C. An operation for nerve pedicle grafting: Preliminary communication. *Brit J Surg* 1947; 34:423
43. Brushart TM, Seler WA. Selective reinnervation of distal motor stumps by peripheral motor axons. *Exp Neurol* 1987; 97:289
44. Sunderland S, The intraneural topography of the radial, median and ulnar nerve. *Brain* 1945; 68:243
45. Sunderland S, Ray JL. The intraneural topography of the sciatic nerve and its popliteal divisions in man. *Brain* 1948; 71:242
46. Sunderland S, Marshall RD, Swaney WE. The intraneural topography of the circumflex, musculocutaneous and obturator nerve. *Brain* 1959; 82:116

47. Jabaley ME, Wallace WH, Heckler FR. Internal topography of major nerves of the forearm and hand: A current review. *J Hand Surg* 1980; 5:1-18
48. Narakas A. The use of fibrin glue in repair of peripheral nerves. *Orthop Clin North Am* 1988; 19: 187-199
49. Brooks D. The place of nerve grafting in orthopaedic surgery. *J Bone Jt Surg [Am]* 1955; 37:299
50. Bunnell S, Boyes JH. Nerve grafts. *Am J Surg* 1939-44:64
51. Taylor IG, Ham FJ. The free vascularized nerve graft. *Plast Reconstr Surg* 1976; 57:143
52. Daly PJ, Wood MB. Endoneural and epineurial blood flow evaluation with free vascularized and conventional nerve grafts in the canine. *J Reconstr Microsurg* 1985; 2:45
53. Lind R, Wood MB. Comparison of the pattern of early revascularization of conventional vs vascularized nerve grafts in the canine. *J Reconstr Microsurg* 1986; 2:229
54. Koshima I, Harii K. Experimental study of vascularized nerve grafts: Morphometric study of axonal regeneration of nerves transplanted into silicone tubes. *Ann Plast Surg* 1985; 14:235-243
55. Koshima I, Harii K. Experimental study of vascularized nerve grafts: Multifactorial analysis of axonal regeneration of nerves transplanted into an acute burn wound. *J Hand Surg [Am]* 1985; 10:64-72
56. Kanaya F, Breidenbach WC, Tsai TM, Firrell J. Functional results of vascularized vs nonvascularized nerve grafting. Presented to the American Society for Reconstructive Microsurgery, Seattle, 1989
57. Shibata M, Tsai T-M, Firrell J, Breidenbach WC. Experimental comparison of vascularized and non-vascularized nerve grafting. *J Hand Surg [Am]* 1988; 13:358-365
58. Breidenbach WC, Terzis JK. The blood supply of vascularized nerve grafts. *J Reconstr Microsurg* 1986; 3:43

59. Doi K, Kuwata N, Kawakami F, Tamaru K, Kawai S. The free vascularized sural nerve graft. *Microsurg* 1984; 5:175
60. Kleinert JM, Fleming S, Abel C, Firrell J. Radial and ulnar artery dominance in normal digits. *J Hand Sure [Am]* 1989; 14:504
61. Arakaki A, Tsai TM, Firrell J, Breidenbach WC. Vascular perfusion of experimental arterialized venous nerve grafts. Presented to the American Society for Reconstructive Microsurgery, Seattle, 1989
62. Gu YD, Wu MM, Zheng YL, Li HR, Xu YN. Arterialized venous free sural nerve grafting. *Ann Plast Surg* 1985; 15:332-339
63. Fachinelli A, Masquelet A, Restrepo J, Gilbert A. The vascularized sural nerve. *Int J Microsurg* 1981; 3:57.
64. Belkas JS, Shoichet MS, Midha R. Peripheral nerve regeneration through guidance tubes. *Neurol Res* 2004;26:151–160.
65. Fields RD, Le Beau JM, Longo FM, Ellisman MH. Nerve regeneration through artificial tubular implants. *Prog Neurobiol.* 1989;33(2):87-134.
66. Chamberlain LJ, Yannas IV, Arrizabalaga A, Hsu HP, Norregaard TV, Spector M. Early peripheral nerve healing in collagen and silicone tube implants: myofibroblasts and the cellular response. *Biomaterials* 1998;19:1393–1403
67. Elizabeth O. Johnson a, Panayotis N. Soucacos. Nerve repair: Experimental and clinical evaluation of biodegradable artificial nerve guides. *Injury, Int. J. Care Injured* (2008) 39S, S30—S36
68. Merle M, Dellon AL, Campbell JN, Chang PS. Complications from silicon-polymer intubulation of nerves. *Microsurgery.* 1989;10(2):130-3.
69. Lundborg G, Rosen B, Dahlin L, Holmberg J, Rosen I. Tubular repair of the median or ulnar nerve in the human forearm: a 5-year follow-up. *J Hand Surg* 2004;29B:100–107.
70. Evans GR, Brandt K, Widmer MS, Lu L, Meszlenyi RK, Gupta PK, et al. In vivo evaluation of poly(L-lactic acid) porous conduits for peripheral nerve regeneration. *Biomaterials* 1999;20:1109 –1115.

71. Francel PC, Francel TJ, Mackinnon SE, Hertl C. Enhancing nerve regeneration across a silicone tube conduit by using interposed short-segment nerve grafts. *J Neurosurg* 1997;87:887–892.
72. Lundborg G, Dahlin LB, Danielsen N, Gelberman RH, Longo FM, Powell HC, Varon S. Nerve regeneration in silicone chambers: influence of gap length and of distal stump components. *Exp Neurol* 1982;76:361–375.
73. Mackinnon SE, Dellon AL. Clinical nerve reconstruction with a bioabsorbable polyglycolic acid tube. *Plast Reconstr Surg* 1990;85:419–424.
74. Kiyotani T, Teramachi M, Takimoto Y, Nakamura T, Shimizu Y, Endo K. Nerve regeneration across a 25-mm gap bridged by a polyglycolic acid-collagen tube: a histological and electrophysiological evaluation of regenerated nerves. *Brain Res* 1996;740:66–74.
75. Matsumoto K, Ohnishi K, Kiyotani T, Sekine T, Ueda H, Nakamura T, et al. Peripheral nerve regeneration across an 80-mm gap bridged by a polyglycolic acid (PGA)-collagen tube filled with laminin-coated collagen fibers: a histological and electrophysiological evaluation of regenerated nerves. *Brain Res* 2000;868:315–328.
76. Weber RA, Breidenbach WC, Brown RE, Jabaley ME, Mass DP. A randomized prospective study of polyglycolic acid conduits for digital nerve reconstruction in humans. *Plast Reconstr Surg* 2000;106:1036–1045; discussion 1046-1048.
77. Archibald SJ, Krarup C, Shefner J, Li ST, Madison RD. A collagen-based nerve guide conduit for peripheral nerve repair: an electrophysiological study of nerve regeneration in rodents and nonhuman primates. *J Comp Neurol* 1991;306:685–696.
78. Archibald SJ, Shefner J, Krarup C, Madison RD. Monkey median nerve repaired by nerve graft or collagen nerve guide tube. *J Neurosci* 1995;15:4109–4123.



79. Li ST, Archibald SJ, Krarup C, Madison RD. Peripheral nerve repair with collagen conduits. *Clin Mater* 1992;9:195–200.
80. Clavijo-Alvarez JA, Nguyen VT, Santiago LY, Doctor JS, Andrew Lee WP, Marra KG. Comparison of biodegradable conduits within aged rat sciatic nerve defects. *Plast Reconstr Surg* 2007;119:1839 –1851.
81. Deal, Griffin, Hogan. Nerve conduits for nerve repair or reconstruction. *J Am acad orthop surgery* 2012 ,20, 63-68
82. Williams LR, Danielsen N, Müller H, Varon S. Exogenous matrix precursors promote functional nerve regeneration across a 15-mm gap within a silicone chamber in the rat. *J Comp Neurol.* 1987 Oct 8;264(2):284-90.
83. Nakayama K, Takakuda K, Koyama Y, Itoh S, Wang W, Mukai T, Shirahama N Enhancement of peripheral nerve regeneration using bioabsorbable polymer tubes packed with fibrin gel. *Artif Organs.* 2007 Jul;31(7):500-8.
84. Seckel BR, Jones D, Hekimian KJ, Wang KK, Chakalis DP, Costas PD. Hyaluronic acid through a new injectable nerve guide delivery system enhances peripheral nerve regeneration in the rat. *J Neurosci Res.* 1995 Feb 15;40(3):318-24.
85. Madison RD, da Silva C, Dikkes P, Sidman RL, Chiu TH. Peripheral nerve regeneration with entubulation repair: comparison of biodegradable nerve guides versus polyethylene tubes and the effects of a laminin-containing gel. *Exp Neurol.* 1987 Feb;95(2):378-90.
86. Labrador RO1, Butí M, Navarro X. Influence of collagen and laminin gels concentration on nerve regeneration after resection and tube repair. *Exp Neurol.* 1998 Jan;149(1):243-52.
87. Rosen JM, Padilla JA, Nguyen KD, Padilla MA, Sabelman EE, Pham HN. Artificial nerve graft using collagen as an extracellular matrix for nerve repair compared with sutured autograft in a rat model. *Ann Plast Surg.* 1990 Nov;25(5):375-87.

88. Yan H1, Zhang F, Chen MB, Lineaweaver WC. Chapter 10: Conduit luminal additives for peripheral nerve repair. *Int Rev Neurobiol.* 2009;87:199-225.
89. Pfister LA1, Papaloizos M, Merkle HP, Gander B. Nerve conduits and growth factor delivery in peripheral nerve repair. *J Peripher Nerv Syst.* 2007 Jun;12(2):65-82.
90. Jiang X, Lim SH, Mao HQ, Chew SY. Current applications and future perspectives of artificial nerve conduits. *Exp Neurol.* 2010 May;223(1):86-101.
91. Hadlock TA, Sundback CA, Hunter DA, Vacanti JP, Cheney ML. A new artificial nerve graft containing rolled Schwann cell monolayers. *Microsurgery.* 2001;21(3):96-101.
92. Hadlock T, Sundback C, Hunter D, Cheney M, Vacanti JP. A polymer foam conduit seeded with Schwann cells promotes guided peripheral nerve regeneration. *Tissue Eng.* 2000 Apr;6(2):119-27.
93. Udina E, Rodríguez FJ, Verdú E, Espejo M, Gold BG, Navarro X. FK506 enhances regeneration of axons across long peripheral nerve gaps repaired with collagen guides seeded with allogeneic Schwann cells. *Glia.* 2004 Aug 1;47(2):120-9.
94. Zhang P, He X, Zhao F, Zhang D, Fu Z, Jiang B. Bridging small-gap peripheral nerve defects using biodegradable chitin conduits with cultured schwann and bone marrow stromal cells in rats. *J Reconstr Microsurg.* 2005 Nov;21(8):565-71.
95. Li J, Yan JG, Ai X, Hu S, Gu YD, Matloub HS, Sanger JR. Ultrastructural analysis of peripheral-nerve regeneration within a nerve conduit. *J Reconstr Microsurg.* 2004 Oct;20(7):565-9.
96. Barbitsioti A., Konofaos P, Ignatiadis I, Papalois A, Zoubos AB, Soucacos PN. Nerve growth factor combined with an epineural conduit for bridging a short nerve gap (10mm). A study in rabbits. *Microsurgery* 2011 Oct 31(7):545-550.

97. Rich KM, Alexander TD, Pryor JC, Hollowell JP. Nerve growth factor enhances regeneration through silicone chambers. *Exp Neurol.* 1989 Aug;105(2):162-70.
98. Whitworth IH, Brown RA, Doré CJ, Anand P, Green CJ, Terenghi G. Nerve growth factor enhances nerve regeneration through fibronectin grafts. *J Hand Surg Br.* 1996 Aug;21(4):514-22
99. Timmer M1, Robben S, Müller-Ostermeyer F, Nikkhah G, Grothe C. Axonal regeneration across long gaps in silicone chambers filled with Schwann cells overexpressing high molecular weight FGF-2. *Cell Transplant.* 2003;12(3):265-77.
100. Ball RA, Lipton SA, Dreyer EB, Richie JP, Vickers MA. Entubulization repair of severed cavernous nerves in the rat resulting in return of erectile function. *J Urol.* 1992 Jul;148(1):211-5.
101. Walter MA, Kurouglu R, Caulfield JB, Vasconez LO, Thompson JA. Enhanced peripheral nerve regeneration by acidic fibroblast growth factor. *Lymphokine Cytokine Res.* 1993 Jun;12(3):135-41. Erratum in: *Lymphokine Cytokine Res* 1993 Aug;12(4):264.
102. Ide C1, Tohyama K, Tajima K, Endoh K, Sano K, Tamura M, Mizoguchi A, Kitada M, Morihara T, Shirasu M. Long acellular nerve transplants for allogeneic grafting and the effects of basic fibroblast growth factor on the growth of regenerating axons in dogs: a preliminary report. *Exp Neurol.* 1998 Nov;154(1):99-112.
103. Midha R, Munro CA, Dalton PD, Tator CH, Shoichet MS. Growth factor enhancement of peripheral nerve regeneration through a novel synthetic hydrogel tube. *J Neurosurg.* 2003 Sep;99(3):555-65.
104. Barras FM, Pasche P, Bouche N, Aebischer P, Zurn AD. Glial cell line-derived neurotrophic factor released by synthetic guidance channels promotes facial nerve regeneration in the rat. *J Neurosci Res.* 2002 Dec 15;70(6):746-55
105. Wood MD, Moore AM, Hunter DA, Tuffaha S, Borschel GH, Mackinnon SE, Sakiyama-Elbert SE. Affinity-based release of glial-

- derived neurotrophic factor from fibrin matrices enhances sciatic nerve regeneration. *Acta Biomater.* 2009 May;5(4):959-68
106. Mohanna PN, Terenghi G, Wiberg M. Composite PHB-GGF conduit for long nerve gap repair: a long-term evaluation. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* 2005;39(3):129-37.
  107. Sterne GD, Brown RA, Green CJ, Terenghi G. Neurotrophin-3 delivered locally via fibronectin mats enhances peripheral nerve regeneration. *Eur J Neurosci.* 1997 Jul;9(7):1388-96
  108. Midha R, Munro CA, Dalton PD, Tator CH, Shoichet MS. Growth factor enhancement of peripheral nerve regeneration through a novel synthetic hydrogel tube. *J Neurosurg.* 2003 Sep;99(3):555-65.
  109. Zhang J, Lineaweaver WC, Oswald T, Chen Z, Chen Z, Zhang F. Ciliary neurotrophic factor for acceleration of peripheral nerve regeneration: an experimental study. *J Reconstr Microsurg.* 2004 May;20(4):323-7.
  110. Jones DM, Tucker BA, Rahimtula M, Mearow KM. The synergistic effects of NGF and IGF-1 on neurite growth in adult sensory neurons: convergence on the PI 3-kinase signaling pathway. *J Neurochem.* 2003 Sep;86(5):1116-28.
  111. McTigue DM, Horner PJ, Stokes BT, Gage FH. Neurotrophin-3 and brain-derived neurotrophic factor induce oligodendrocyte proliferation and myelination of regenerating axons in the contused adult rat spinal cord. *J Neurosci.* 1998 Jul 15;18(14):5354-65.
  112. Namiki j, kojima A. effect of BDNF, NGF and NT3 on functional recovery and regeneration after spinal cord injury in adult rats. *journal of neurotrauma* vol 17, n 12 2000
  113. Shumsky JS, Tobias CA, Tumolo M, Long WD, Giszter SF, Murray M. Delayed transplantation of fibroblasts genetically modified to secrete BDNF and NT-3 into a spinal cord injury site is associated with limited recovery of function. *Exp Neurol.* 2003 Nov;184(1):114-30.

114. Kim DH, Jahng TA. Continuous brain-derived neurotrophic factor (BDNF) infusion after methylprednisolone treatment in severe spinal cord injury. *J Korean Med Sci.* 2004 Feb;19(1):113-22.
115. Utley, Sheryl, Lewin. BDNF and collagen tubulization enhance functional recovery after peripheral nerve transection and repair. *Arch Otolaryngol head neck surg* 1996 , 122 , 407-413
116. Pei-Ran , Coan, Cheng .Repair with collagen tubes linked with BDNF and ciliary neurotrophic factor in a rat sciatic nerve injury model. *Arch Otolaryngol head neck surgery.*1998, 124, 761-767
117. Terris DJ, Toft KM, Moir M, Lum J, Wang M. Brain derived neurotrophic factor-enriched collagen tubule as a substitute for autologous nerve grafts. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2001;127:294 –298.
118. Hontanilla, Auba, Gorria. Nerve regeneration through nerve autografts after local administration of BDNF with osmotic pumps. *Neurosurgery* 2007 61(6):1268-74
119. Geremia, Petterson, Hanmatali. Endogenous BDNF regulates induction of intrinsic neuronal growth programs in injured sensory neurons. *Exp Neurol.* 2010;223(1):128-142
120. Zhang L, Lv X, Tong X, Jia H, Li Z. Study on molecular mechanism for improving neural regeneration after repair of sciatic nerve defect in rat by acellular nerve allograft. *Synapse.* 2012 Jan;66(1):52-60. doi: 10.1002/syn.20985. Epub 2011 Nov 3
121. Fu KY, Dai LG, Chiu IM, Chen JR, Hsu SH. Sciatic nerve regeneration by microporous nerve conduits seeded with glial cell line-derived neurotrophic factor or brain-derived neurotrophic factor gene transfected neural stem cells. *Artif Organs.* 2011 Apr;35(4):363-72.
122. Alrashdan MS, Sung MA, Kwon YK, Chung HJ, Kim SJ, Lee JH. Effects of combining electrical stimulation with BDNF gene transfer on the regeneration of crushed rat sciatic nerve. *Acta Neurochir (Wien).* 2011 Oct;153(10):2021-9.

123. Phyllis M. Wise, Dena B. Dubal, Melinda E. Wilson, Shane W. Rau, Martina Böttner  
Minireview: Neuroprotective Effects of Estrogen—  
New Insights into Mechanisms of Action . *Endocrinology* March 1, 2001  
vol. 142 no. 3 969-973
124. Nobakhti-Afshar A, Najafpour A, Mohammadi R, Zarei L  
Assessment of Neuroprotective Effects of Local Administration of 17- Beta- Estradiol  
on Peripheral Nerve Regeneration in Ovariectomized Female Rats. *Bull  
Emerg Trauma*. 2016 Jul;4(3):141-9.
125. Jones KJ, Brown TJ, Damaser M.  
Neuroprotective effects of gonadal  
steroids on regenerating peripheral motoneurons. *Brain Res Brain Res  
Rev*. 2001 Nov;37(1-3):372-82.
126. Grave, G. D. 1977. *Thyroid Hormones and Brain Development*. Raven  
Press, New York.
127. Legrand, J. 1982. Hormones thyroïdiennes et maturation du système  
nerveux. *J. Physiol. (Paris)* 78: 603–653.
128. Clos, J., and J. Legrand. 1970. Influence de la déficience thyroïdienne et  
de la sous-alimentation sur la croissance et la myélinisation des fibres  
nerveuses du nerf sciatique chez le jeune rat blanc. *Etude en microscopie  
electronique. Brain Res*. 22: 285–297.
129. Cockett, S. A., and J. A. Kiernan. 1973. Acceleration of peripheral  
nervous regeneration in rat by exogenous triiodothyronine. *Exp. Neurol*.  
39: 389–394.
130. Gilles Mercier, N. Turque et al .  
Rapid Effects of Triiodothyronine on  
Immediate-Early Gene Expression in Schwann Cells. *GLIA* 35:81–89  
(2001)
131. Barakat-Walter I.  
Role of thyroid hormones and their receptors in  
peripheral nerve regeneration. *J Neurobiol*. 1999 Sep 15;40(4):541-59.
132. Barakat-Walter, Duc, Sarlieve.  
The expression of T3 receptors is induced  
in Schwann cells by nerve transection. *Experimental neurology* 116, 189-  
197 , 1992

133. Schwann cell proliferation in the sciatic nerve of hypothyroid chick embryos studied by autoradiography and image analysis. Usson Y, Saxod R.
134. Changes in nuclear 3,5,3'-triiodothyronine receptor expression in rat dorsal root ganglia and sciatic nerve during development: comparison with regeneration. Barakat-Walter I, Duc C, Puymirat J. *Eur J Neurosci.* 1993 Apr 1;5(4):319-26.
135. *J Neurocytol.* 1988 Oct;17(5):639-48. Michel Schenker , Beat Michel Riederer , Thierry Kuntzer , Ibtissam Barakat-Walter Thyroid hormones stimulate expression and modification of cytoskeletal protein during rat sciatic nerve regeneration .*Brain Research* 957 (2002) 259–270
136. Voinesco F, Glauser L, Kraftsik R, Barakat-Walter xp *Neurol.* 1998 Mar; 150(1):69-81. Local administration of thyroid hormones in silicone chamber increases regeneration of rat transected sciatic nerve.
137. Panaite PA, Barakat-Walter I Thyroid hormone enhances transected axonal regeneration and muscle reinnervation following rat sciatic nerve injury. *J Neurosci Res.* 2010 Jun;88(8):1751-63.
138. Uros Kovacic, Janez Sketelj, and Fajko F. Bajrovic. Effect of Aging on Recovery of Cutaneous Nociception After End-to-Side Nerve Repair in the Rat. *Annals of Plastic Surgery* • Volume 62, Number 4, April 2009
139. M. DEVOR, D. SCHONFELD, SELTZER AND P. D. WALL. Two Modes of Cutaneous Reinnervation following Peripheral Nerve Injury. *J. COMP. NEUR.* (1979) 185: 211.220. 140) .
140. Bain JR, Mackinnon SE, Hunter DA. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconstr Surg.* 1989;83:129–138
141. Richard H. Shin, BS, Patricia F. Friedrich , Brian A. Crum, Allen T. Bishop and Alexander Y. Shin, MD. Treatment of a Segmental Nerve Defect in the Rat with Use of Bioabsorbable Synthetic Nerve Conduits: A Comparison of Commercially Available Conduits. *J Bone Joint Surg Am.* 2009;91:2194-204

142. Millesi H. Nerve grafting. *Clin Plast Surg* 1984;11:105–113.
143. Evans PJ. The peripheral nerve allograft: a decade of advancement. *Atlas Hand Clin* 2005;10:187–197
144. Mackinnon SE, Doolabh VB, Novak CB, Trulock EP. Clinical outcome following nerve allograft transplantation. *Plast Reconstr Surg* 2001;107:1419–1429.
145. Agnew SP1, Dumanian Technical use of synthetic conduits for nerve repair. *GA.J Hand Surg Am.* 2010 May;35(5):838-41
146. Gábor Wittmann, John W. Harney, Praful S. Singru, Shira S. Nouriel,P. Reed Larsen, and Ronald M. Lechan. Inflammation-Inducible Type 2 Deiodinase Expression in the Leptomeninges, Choroid Plexus, and at Brain Blood Vessels in Male Rodents .*Endocrinology* 155: 2009–2019, 2014
147. Yousef Al-Abeda,1, Christine N. Metz and al. Thyroxine is a potential endogenous antagonist of macrophage migration inhibitory factor (MIF) activity. 8224–8227 | *PNAS* | May 17, 2011 | vol. 108 | no. 20



## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

### 1. Δοκιμασία ανάκτησης αισθητικότητας Sensory test

		group * time_days Crosstabulation					
		time_days				Total	
		25	30	35	40		
group	<b>AG</b>	Count	0	1	5	2	8
		% within group	0,0%	12,5%	62,5%	25,0%	100,0%
	<b>SIL</b>	Count	0	3	6	1	10
		% within group	0,0%	30,0%	60,0%	10,0%	100,0%
	<b>BDNF</b>	Count	1	4	7	4	16
		% within group	6,3%	25,0%	43,8%	25,0%	100,0%
	<b>T3</b>	Count	2	9	5	0	16
		% within group	12,5%	56,3%	31,3%	0,0%	100,0%
Total		Count	3	17	23	7	50
		% within group	6,0%	34,0%	46,0%	14,0%	100,0%

### 2. Αντανακλαστικό απόσυρσης (Withdrawal reflex-WR)

8 weeks

		group * category Crosstabulation				
		category			Total	
		ΑΠΩΝ	1ου βαθμού	2ου βαθμού		
group	<b>AG</b>	Count	0	75	25	100
		% within group	0,0%	75,0%	25,0%	100,0%
	<b>SIL</b>	Count	43	57	0	100
		% within group	43,0%	57,0%	0,0%	100,0%
	<b>BDNF</b>	Count	0	75	25	100
		% within group	0,0%	75,0%	25,0%	100,0%
	<b>T3</b>	Count	0	56	44	100
		% within group	0,0%	56,0%	44,0%	100,0%
Total		Count	43	263	94	400
		% within group	10,8%	65,8%	23,5%	100,0%

12 weeks

		group * category Crosstabulation				
		category			Total	
		ΑΠΩΝ	1ου βαθμού	2ου βαθμού		
group	AG	Count	0	57	43	100
		% within group	0,0%	57,0%	43,0%	100,0%
	SIL	Count	38	63	0	101
		% within group	37,6%	62,4%	0,0%	100,0%
	BDNF	Count	0	75	25	100
		% within group	0,0%	75,0%	25,0%	100,0%
	T3	Count	0	38	63	101
		% within group	0,0%	37,6%	62,4%	100,0%
Total	Count	38	233	131	402	
	% within group	9,5%	58,0%	32,6%	100,0%	

16 weeks

		group * category Crosstabulation				
		category			Total	
		ΑΠΩΝ	1ου βαθμού	2ου βαθμού		
group	AG	Count	0	13	88	101
		% within group	0,0%	12,9%	87,1%	100,0%
	SIL	Count	25	68	13	106
		% within group	23,6%	64,2%	12,3%	100,0%
	BDNF	Count	0	25	75	100
		% within group	0,0%	25,0%	75,0%	100,0%
	T3	Count	0	13	88	101
		% within group	0,0%	12,9%	87,1%	100,0%
Total	Count	25	119	264	408	
	% within group	6,1%	29,2%	64,7%	100,0%	

### 3. Ισχιακός λειτουργικός δείκτης (SFI)

4 weeks

group		N	Mean	Std. Deviation
AG	SFI_4w	8	<b>-98,38</b>	<b>3,852</b>
SIL	SFI_4w	16	<b>-103,13</b>	<b>3,481</b>
BDNF	SFI_4w	16	<b>-95,25</b>	<b>2,955</b>
T3	SFI_4w	16	<b>-90,88</b>	<b>2,187</b>

Pairwise comparisons	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
<b>AG vs SIL</b>	22,000	<b>,010</b>
<b>AG vs BDNF</b>	31,500	<b>,045</b>
<b>AG vs T3</b>	5,500	<b>,000</b>
<b>SIL vs BDNF</b>	13,500	<b>,000</b>
<b>SIL vs T3</b>	137,000	<b>,000</b>
<b>BDNF vs T3</b>	28,500	<b>,000</b>

*8 weeks*

Descriptive Statistics				
group		N	Mean	Std. Deviation
AG	SFI_8w	8	<b>-81,88</b>	<b>7,864</b>
SIL	SFI_8w	16	<b>-95,69</b>	<b>5,510</b>
BDNF	SFI_8w	16	<b>-86,25</b>	<b>3,376</b>
T3	SFI_8w	16	<b>-79,44</b>	<b>3,346</b>

ANOVA					
SFI_8w					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2319,875	3	773,292	32,765	<b>,000</b>
Within Groups	1227,250	52	23,601		
Total	3547,125	55			

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: **SFI\_8w**

	(I) group	(J) group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
<b>Hochberg</b>	<b>AG</b>	<b>SIL</b>	13,813*	2,104	<b>,000</b>	8,07	19,55
		<b>BDNF</b>	4,375	2,104	,224	-1,37	10,12
		<b>T3</b>	-2,438	2,104	,815	-8,18	3,30
	<b>SIL</b>	<b>AG</b>	-13,813*	2,104	<b>,000</b>	-19,55	-8,07
		<b>BDNF</b>	-9,438*	1,718	<b>,000</b>	-14,13	-4,75
		<b>T3</b>	-16,250*	1,718	<b>,000</b>	-20,94	-11,56
	<b>BDNF</b>	<b>AG</b>	-4,375	2,104	,224	-10,12	1,37
		<b>SIL</b>	9,438*	1,718	<b>,000</b>	4,75	14,13
		<b>T3</b>	-6,813*	1,718	<b>,001</b>	-11,50	-2,12
	<b>T3</b>	<b>AG</b>	2,438	2,104	,815	-3,30	8,18
		<b>SIL</b>	16,250*	1,718	<b>,000</b>	11,56	20,94
		<b>BDNF</b>	6,813*	1,718	<b>,001</b>	2,12	11,50

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

*12 weeks*

**Descriptive Statistics**

group	N	Mean	Std. Deviation
AG SFI_12w	8	-67,75	3,327
SIL SFI_12w	8	-93,75	5,148
BDNF SFI_12w	8	-80,00	4,036
T3 SFI_12w	8	-73,00	4,342

**ANOVA**

SFI_12w	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3044,500	3	1014,833	55,826	<b>,000</b>
Within Groups	509,000	28	18,179		
Total	3553,500	31			

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: **SFI\_12w**

	(I) group	(J) group	Mean Difference			95% Confidence Interval	
			(I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
<b>Hochberg</b>	<b>AG</b>	<b>SIL</b>	26,000*	2,132	<b>,000</b>	19,99	32,01
		<b>BDNF</b>	12,250*	2,132	<b>,000</b>	6,24	18,26
		<b>T3</b>	5,250	2,132	,111	-,76	11,26
	<b>SIL</b>	<b>AG</b>	-26,000*	2,132	<b>,000</b>	-32,01	-19,99
		<b>BDNF</b>	-13,750*	2,132	<b>,000</b>	-19,76	-7,74
		<b>T3</b>	-20,750*	2,132	<b>,000</b>	-26,76	-14,74
	<b>BDNF</b>	<b>AG</b>	-12,250*	2,132	<b>,000</b>	-18,26	-6,24
		<b>SIL</b>	13,750*	2,132	<b>,000</b>	7,74	19,76
		<b>T3</b>	-7,000*	2,132	,016	-13,01	-,99
	<b>T3</b>	<b>AG</b>	-5,250	2,132	,111	-11,26	,76
		<b>SIL</b>	20,750*	2,132	<b>,000</b>	14,74	26,76
		<b>BDNF</b>	7,000*	2,132	<b>,016</b>	,99	13,01

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

*16 weeks*

**Descriptive Statistics**

group		N	Mean	Std. Deviation
AG	SFI_16w	8	-63,13	3,682
SIL	SFI_16w	8	-90,63	4,779
BDNF	SFI_16w	8	-75,50	4,957
T3	SFI_16w	8	-71,63	3,998

**ANOVA**

SFI_16w					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3172,844	3	1057,615	54,979	<b>,000</b>
Within Groups	538,625	28	19,237		
Total	3711,469	31			

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: **SFI\_16w**

	(I) group	(J) group	Mean Difference (I-J)			95% Confidence Interval	
			J	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
<b>Hochberg</b>	<b>AG</b>	<b>SIL</b>	27,500*	2,193	<b>,000</b>	21,32	33,68
		<b>BDNF</b>	12,375*	2,193	<b>,000</b>	6,20	18,55
		<b>T3</b>	8,500*	2,193	<b>,003</b>	2,32	14,68
	<b>SIL</b>	<b>AG</b>	-27,500*	2,193	<b>,000</b>	-33,68	-21,32
		<b>BDNF</b>	-15,125*	2,193	<b>,000</b>	-21,30	-8,95
		<b>T3</b>	-19,000*	2,193	<b>,000</b>	-25,18	-12,82
	<b>BDNF</b>	<b>AG</b>	-12,375*	2,193	<b>,000</b>	-18,55	-6,20
		<b>SIL</b>	15,125*	2,193	<b>,000</b>	8,95	21,30
		<b>T3</b>	-3,875	2,193	<b>,407</b>	-10,05	2,30
	<b>T3</b>	<b>AG</b>	-8,500*	2,193	<b>,003</b>	-14,68	-2,32
		<b>SIL</b>	19,000*	2,193	<b>,000</b>	12,82	25,18
		<b>BDNF</b>	3,875	2,193	<b>,407</b>	-2,30	10,05

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

#### 4. Βάρος νεπού μυ (Wet Muscle)

8 weeks

Descriptive Statistics <sup>a</sup>				
group		N	Mean	Std. Deviation
SIL	wet_muscle_8w	8	,2438	,05579
	Valid N (listwise)	8		
BDNF	wet_muscle_8w	8	,3150	,04811
	Valid N (listwise)	8		
T3	wet_muscle_8w	8	,4700	,05657
	Valid N (listwise)	8		

a. No statistics are computed for one or more split files because there are no valid cases.

ANOVA					
wet_muscle_8w					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,214	2	,107	37,229	<b>,000</b>
Within Groups	,060	21	,003		
Total	,274	23			

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: **wet\_muscle\_8w**

	(I) group	(J) group	Mean Difference			95% Confidence Interval	
			(I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
Hochberg	<b>SIL</b>	<b>BDNF</b>	-,07125*	,02681	<b>,043</b>	-,1405	-,0020
		<b>T3</b>	-,22625*	,02681	<b>,000</b>	-,2955	-,1570
	<b>BDNF</b>	<b>SIL</b>	,07125*	,02681	<b>,043</b>	,0020	,1405
		<b>T3</b>	-,15500*	,02681	<b>,000</b>	-,2243	-,0857
	<b>T3</b>	<b>SIL</b>	,22625*	,02681	<b>,000</b>	,1570	,2955
		<b>BDNF</b>	,15500*	,02681	<b>,000</b>	,0857	,2243

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

*16 weeks*

**Descriptive Statistics**

group		N	Mean	Std. Deviation
AG	wet_muscle_16w	8	<b>,5813</b>	<b>,09687</b>
SIL	wet_muscle_16w	8	<b>,3000</b>	<b>,12683</b>
BDNF	wet_muscle_16w	8	<b>,4788</b>	<b>,08167</b>
T3	wet_muscle_16w	8	<b>,5638</b>	<b>,05370</b>

Pairwise comparisons	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
<b>AG vs SIL</b>	1,000	<b>,000</b>
<b>AG vs BDNF</b>	10,500	<b>,021</b>
<b>AG vs T3</b>	28,000	<b>,721</b>
<b>SIL vs BDNF</b>	7,000	<b>,007</b>
<b>SIL vs T3</b>	,500	<b>,000</b>
<b>BDNF vs T3</b>	8,500	<b>,013</b>

## 5. Ταχύτητα αγωγιμότητας (CV Ratio)

8 weeks

group		N	Mean	Std. Deviation
<b>SIL</b>	cv_ratio_8w	8	<b>,2200</b>	<b>,15222</b>
	Valid N (listwise)	8		
<b>BDNF</b>	cv_ratio_8w	8	<b>,4000</b>	<b>,08468</b>
	Valid N (listwise)	8		
<b>T3</b>	cv_ratio_8w	8	<b>,5700</b>	<b>,05682</b>
	Valid N (listwise)	8		

a. No statistics are computed for one or more split files because there are no valid cases.

cv_ratio_8w					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,490	2	,245	21,900	<b>,000</b>
Within Groups	,235	21	,011		
Total	,725	23			

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: **cv\_ratio\_8w**

			Mean Difference		Sig.	95% Confidence Interval	
	(I) group	(J) group	(I-J)	Std. Error		Lower Bound	Upper Bound
Hochberg	<b>SIL</b>	<b>BDNF</b>	-,18000*	,05289	<b>,008</b>	-,3167	-,0433
		<b>T3</b>	-,35000*	,05289	<b>,000</b>	-,4867	-,2133
	<b>BDNF</b>	<b>SIL</b>	,18000*	,05289	<b>,008</b>	,0433	,3167
		<b>T3</b>	-,17000*	,05289	<b>,012</b>	-,3067	-,0333
	<b>T3</b>	<b>SIL</b>	,35000*	,05289	<b>,000</b>	,2133	,4867
		<b>BDNF</b>	,17000*	,05289	<b>,012</b>	,0333	,3067

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



16 weeks

Descriptive Statistics				
group		N	Mean	Std. Deviation
AG	cv_ratio_16w	8	,5963	,12118
SIL	cv_ratio_16w	8	,2888	,18003
BDNF	cv_ratio_16w	8	,5375	,07440
T3	cv_ratio_16w	8	,6238	,06070

Pairwise comparisons	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
<b>AG vs SIL</b>	1,500	,001
<b>AG vs BDNF</b>	20,500	,234
<b>AG vs T3</b>	28,000	,721
<b>SIL vs BDNF</b>	1,000	,001
<b>SIL vs T3</b>	,000	,001
<b>BDNF vs T3</b>	12,500	,040

## 6. CMAP Ratio

8 weeks

Descriptive Statistics <sup>a</sup>				
group		N	Mean	Std. Deviation
SIL	cmap_ratio_8w	8	,2663	,06968
BDNF	cmap_ratio_8w	8	,4063	,07463
T3	cmap_ratio_8w	8	,4338	,06545

a. No statistics are computed for one or more split files because there are no valid cases.

**ANOVA**

cmap\_ratio\_8w

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,129	2	,065	13,165	,000
Within Groups	,103	21	,005		
Total	,232	23			

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: **cmap\_ratio\_8w**

	(I) group	(J) group	Mean Difference (I-J)			95% Confidence Interval	
			Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
Hochberg	<b>SIL</b>	<b>BDNF</b>	-,14000*	,03501	,002	-,2305	-,0495
		<b>T3</b>	-,16750*	,03501	,000	-,2580	-,0770
	<b>BDNF</b>	<b>SIL</b>	,14000*	,03501	,002	,0495	,2305
		<b>T3</b>	-,02750	,03501	,817	-,1180	,0630
	<b>T3</b>	<b>SIL</b>	,16750*	,03501	,000	,0770	,2580
		<b>BDNF</b>	,02750	,03501	,817	-,0630	,1180

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

*16 weeks*

**Descriptive Statistics**

group	N	Mean	Std. Deviation
AG	cmap_ratio_16w	,6638	,10901
	Valid N (listwise)	8	
SIL	cmap_ratio_16w	,2638	,16431
	Valid N (listwise)	8	
BDNF	cmap_ratio_16w	,5838	,06140
	Valid N (listwise)	8	
T3	cmap_ratio_16w	,5013	,05489
	Valid N (listwise)	8	

Pairwise comparisons	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
<b>AG vs SIL</b>	,000	,001
<b>AG vs BDNF</b>	15,000	,073
<b>AG vs T3</b>	7,000	,009
<b>SIL vs BDNF</b>	,000	,001
<b>SIL vs T3</b>	1,000	,001
<b>BDNF vs T3</b>	8,500	,013

## 7. Διάμετρος νευρικών ινών περιφερικά της νευρικής βλάβης

8 weeks

group		N	Mean	Std. Deviation
SIL	hist_diam_8w	8	1,3000	,58858
	Valid N (listwise)	8		
BDNF	hist_diam_8w	8	2,4000	,31960
	Valid N (listwise)	8		
T3	hist_diam_8w	8	3,3000	,30119
	Valid N (listwise)	8		

a. No statistics are computed for one or more split files because there are no valid cases.

### ANOVA

hist_diam_8w					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16,053	2	8,027	44,652	,000
Within Groups	3,775	21	,180		
Total	19,828	23			

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: hist\_diam\_8w

	(I) group	(J) group	Mean Difference			95% Confidence Interval	
			(I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
Hochberg	SIL	BDNF	-1,10000*	,21199	,000	-1,6477	-,5523
		T3	-2,00000*	,21199	,000	-2,5477	-1,4523
	BDNF	SIL	1,10000*	,21199	,000	,5523	1,6477
		T3	-,90000*	,21199	,001	-1,4477	-,3523
	T3	SIL	2,00000*	,21199	,000	1,4523	2,5477
		BDNF	,90000*	,21199	,001	,3523	1,4477

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

16 weeks

Descriptive Statistics				
group		N	Mean	Std. Deviation
AG	hist_diam_16w	8	4,0000	,39551
SIL	hist_diam_16w	8	2,0000	,27255
BDNF	hist_diam_16w	8	3,7000	,26992
T3	hist_diam_16w	8	4,1000	,43260

Pairwise comparisons	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)
<b>AG vs SIL</b>	,000	,000
<b>AG vs BDNF</b>	,000	,000
<b>AG vs T3</b>	28,500	,721
<b>SIL vs BDNF</b>	,000	,000
<b>SIL vs T3</b>	,000	,000
<b>BDNF vs T3</b>	16,000	,105