

Από την Α' Ορθοπαιδική Χειρουργική Κλινική  
και το Ορθοπαιδικό Κέντρο Έρευνας και Εκπαίδευσης «Παναγιώτης Ν. Σουκάκος»,  
Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών,  
Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «ΑΤΤΙΚΟΝ»  
Διευθυντής: Καθηγητής Παναγιώτης Ι. Παπαγγελόπουλος



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
Εθνικόν και Καποδιστριακόν  
Πανεπιστήμιον Αθηνών

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**Αναγέννηση περιφερικών νεύρων με τη χρήση FK506  
(tacrolimus) σε ικρίωμα κόλλας ινικής. Πειραματική μελέτη  
σε επίμυες.**

ΤΟΥ

**Γεώργιου Ν. Παναγόπουλου**

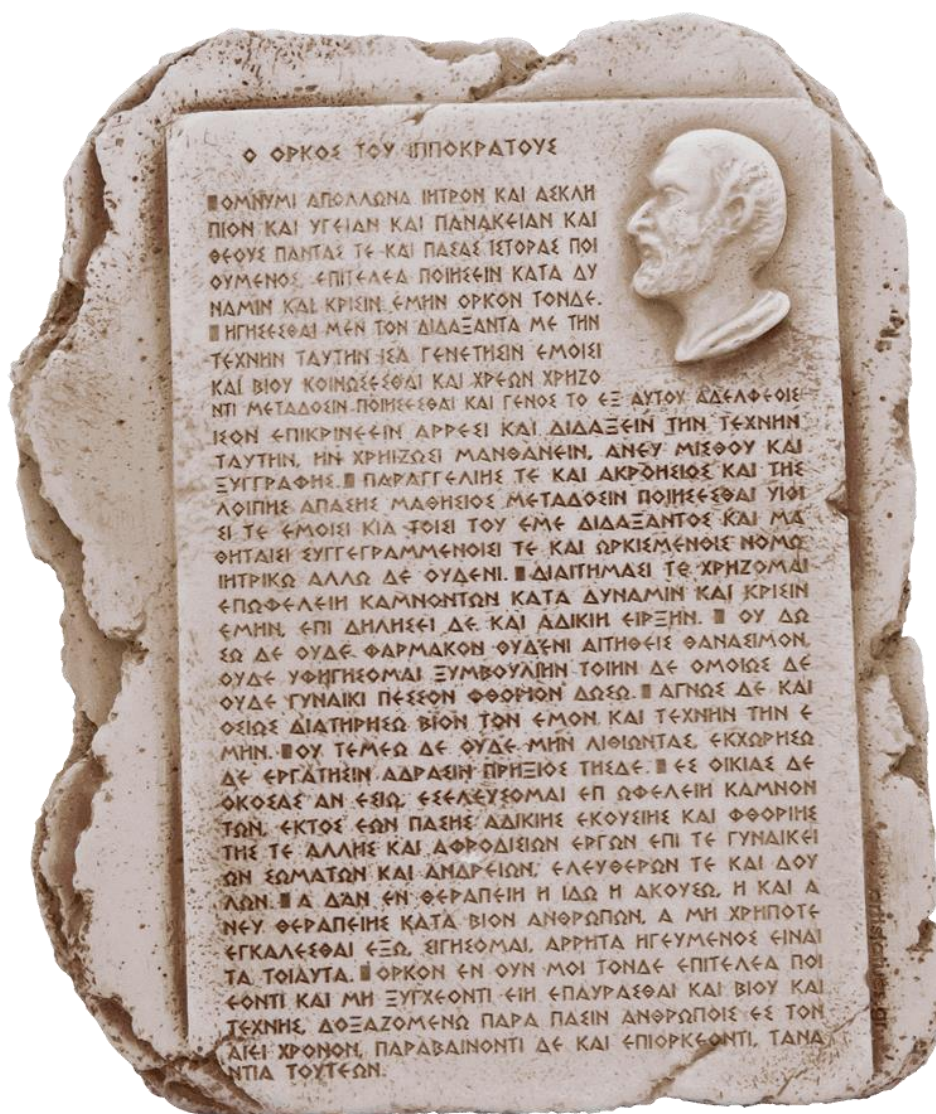
Ορθοπαιδικού Χειρουργού

**Αθήνα, Νοέμβριος 2023**

---

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή  
του Πανεπιστημίου Αθηνών δεν υποδηλώνει την αποδοχή των γνώμων  
του συγγραφέα (N. 5343/32, άρθρο 202, παρ. 2).

---



## Ημερομηνίες Υποβολής

Ημερομηνία αίτησης: Σεπτέμβριος 2015

Ημερομηνία ορισμού τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: Δεκέμβριος 2015

Ημερομηνία ορισμού θέματος διδακτορικής διατριβής: Φεβρουάριος 2016

Ημερομηνία κατάθεσης Α΄ έκθεσης προόδου: Φεβρουάριος 2017

Ημερομηνία κατάθεσης Β΄ έκθεσης προόδου: Φεβρουάριος 2018

Ημερομηνία κατάθεσης Γ΄ έκθεσης προόδου: Δεκέμβριος 2022

Ημερομηνία κατάθεσης Διδακτορικής Διατριβής: Ιούνιος 2023

Ημερομηνία ορισμού επταμελούς Επιτροπής: Ιούλιος 2023

### Επταμελής Επιτροπή

**Ανδρέας Φ. Μαυρογένης**

Καθηγητής Ορθοπαιδικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

**Elizabeth Johnson**

Καθηγήτρια Ανατομικής, Ιατρική Σχολή, European University Cyprus

**Παναγιώτης Π. Παπαγγελόπουλος**

Καθηγητής Ορθοπαιδικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

**Ευστάθιος Χρονόπουλος**

Καθηγητής Ορθοπαιδικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

**Γεώργιος Αγρογιάννης**

Αναπληρωτής Καθηγητής Ιστοπαθολογίας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

**Βασίλειος Κοντογεωργάκος**

Αναπληρωτής Καθηγητής Ορθοπαιδικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

**Δημήτριος Κούλαλης**

Επίκουρος Καθηγητής Ορθοπαιδικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ημερομηνία υποστήριξης Διδακτορικής Διατριβής: Νοέμβριος 2023

Βαθμός: ΑΡΙΣΤΑ

## Σύντομο Βιογραφικό Σημείωμα

ΤΟΥ

**Γεώργιου Ν. Παναγόπουλου**  
Ορθοπαιδικού Χειρουργού

Όνοματεπώνυμο: **Γεώργιος Ν. Παναγόπουλος**

Πτυχίο Ιατρικής: 18/10/2005, Magna cum Laude,  
Univerisità degli Studi di Roma,  
La Sapienza, Ρώμη, Ιταλία

Άδεια Άσκησης Ιατρικού Επαγγέλματος στην Ελλάδα: Αρ. Πρωτ.: 3835/18-04-06

Μέλος Ιατρικού Συλλόγου Αθηνών: 20/10/2005, ΑΜ: 067725

Ειδικότητα: Ορθοπαιδικός Χειρουργός,  
Περιφέρεια Αττικής, Αρ. Πρωτ.:  
18675/28-09-16

Ξένες Γλώσσες: Αγγλικά, Ιταλικά, Γερμανικά

## Εκπαίδευση

- Ιατρική Σχολή - Università degli Studi di Roma, La Sapienza, Οκτώβριος 2005
- Ειδικότητα Ορθοπαιδικής, Οκτώβριος 2016, Περιφέρεια Αττικής
- Hand & Upper Extremity Fellowship - University of Pittsburgh, USA
- Shoulder & Elbow Fellowship - Reading Shoulder Unit, Royal Berkshire Hospital, Reading
- Shoulder & Elbow Fellowship, Royal National Orthopaedic Hospital, Stanmore, UK
- Upper Limb Trauma Fellowship - Royal London Hospital, UK

## Συμμετοχή σε Ιατρικές Επιστημονικές Εταιρείες, Συνέδρια & Εργασίες

- Ιατρικός Σύλλογος Αθηνών, 2006 – σήμερα.
- Ιατρικός Σύλλογος Κυκλάδων, 11/2006 – 08/2007.
- Ιατρικός Σύλλογος Λέσβου, 11/2007 – 08/2008.
- ECFMG certificate, Ιούνιος 2011.
- Pennsylvania Board of Medicine (Unrestricted Medical License), 2016-2018.
- British Elbow & Shoulder Society (BESS), 2018 – σήμερα.
- European Shoulder & Elbow Society (SECEC), 2022 – σήμερα.
- Έχω συμμετάσχει σε 10 εργασίες που έχουν δημοσιευθεί σε Ελληνικά περιοδικά.
- Έχω συμμετάσχει σε 71 εργασίες οι οποίες έχουν ανακοινωθεί σε συνέδρια στην Ελλάδα.
- Έχω συμμετάσχει σε 91 εργασίες οι οποίες έχουν ανακοινωθεί σε διεθνή συνέδρια στο εξωτερικό.
- Έχω συμμετάσχει στη συγγραφή περισσότερων από 40 εργασιών σε ξενόγλωσσα διεθνή περιοδικά.

## Δημοσιεύσεις & Παρουσιάσεις

### 1. The Present and Future for Peripheral Nerve Regeneration.

Panagopoulos GN, Megaloikonomos PD, Mavrogenis AF.

*Orthopedics* 2016 Oct 25:1-16. doi: 10.3928/01477447-20161019-01.

### 2. Harvesting, Isolation and Differentiation of Rat Adipose-Derived Stem Cells.

Megaloikonomos PD, Panagopoulos GN, Bami M, Igoumenou VG, Dimopoulos L, Milonaki A, Kyriakidou M, Mitsiokapa E, Anastassopoulou J, Mavrogenis AF.

*Curr Pharm Biotechnol.* 2018 Apr 17. doi: 10.2174/1389201019666180418101323.

**3. Adipose-Derived Stem Cells and Tacrolimus improve nerve regeneration in a rat sciatic nerve defect model.** Georgios N. Panagopoulos\*, Panayiotis D. Megaloikonomos\*, Evanthia A. Mitsiokapa, Myrto Bami, Georgios Agrogiannis, Elizabeth O. Johnson, Panayotis N. Soucacos, Panayiotis J. Papagelopoulos, Andreas F. Mavrogenis. *Orthopedics* 2022

### 4. The Impact of Adipose-Derived Stem Cells and FK506 in Peripheral Nerve Regeneration. A Pilot Study in a Rat Model.

*Megaloikonomos PD; Panagopoulos GN; Mavrogenis AF; Bami M; Mylonaki M; Agrogiannis GD; Mitsiokapa EA; Johnson EO; Papagelopoulos PJ; Soukakos PN.*

2017 ASPN Annual Meeting, January 13-15, 2017, Waikoloa, Hawaii.

### 5. Adipose derived stem cells vs FK506 enhanced peripheral nerve regeneration. Experimental study in a rat model.

Megaloikonomos PD, Panagopoulos GN, Bami M, Milonaki M, Agrogiannis G, Mitsiokapa E, Mavrogenis AF. 38<sup>th</sup> Société Internationale de Chirurgie Orthopédique et de Traumatologie (SICOT) World Congress, Cape Town, South Africa, 30 November-2 December 2017.

### 6. Harvesting sites of adipose tissue for stem cell culture and tissue engineering in rats.

Megaloikonomos PD, Panagopoulos GN, Bami M, Milonaki M, Mitsiokapa E, Mavrogenis AF. 38<sup>th</sup> Société Internationale de Chirurgie Orthopédique et de Traumatologie (SICOT) World Congress, Cape Town, South Africa, 30 November-2 December 2017.

### 7. Adipose-derived stem cells vs FK506 enhanced peripheral nerve regeneration. Experimental study in a rat model.

Megaloikonomos PD, Panagopoulos GN, Mavrogenis AF.

AAOS 2018 Annual Meeting, 6 - 10 March, New Orleans, Louisiana.

### 8. FK506 Versus Adipose-Derived Stem Cells In Peripheral Nerve Regeneration. Experimental Study In A Rat Model.

Panagopoulos G, Megaloikonomos P, Mitsiokapa E, Bami M, Mylonaki M, Agrogiannis G, Mavrogenis A, Papagelopoulos P. 20<sup>th</sup> EFORT Lisbon Congress, 05 June - 07 June 2019.

**9. Ο ρόλος των βλαστοκυττάρων από λιπώδη ιστό και του FK506 στην περιφερική νευρική αναγέννηση. Πιλοτική μελέτη σε πειραματικό μοντέλο νευρικού ελλείμματος σε επίμυες.** Π.Δ. Μεγαλοικονόμος, Γ.Ν. Παναγόπουλος, Α.Φ. Μαυρογένης, Μ. Μπάμη, Μ. Μυλωνάκη, Γ. Αγρογιάννης, Ε. Μητσιοκάπα, Ε.Ο. Johnson, Π.Ι. Παπαγγελόπουλος, Π.Ν. Σουκάκος. 72ο Συνέδριο Ορθοπαιδικής Χειρουργικής & Τραυματολογίας, 12-15 Οκτωβρίου 2016, Αθήνα.

**10. The Impact of Adipose-Derived Stem Cells and FK506 in Peripheral Nerve Regeneration. Experimental Study in a Rat Model.**

Megaloiconomos PD, Panagopoulos GN, Mavrogenis AF, Mitsiokapa EA, Bami M, Mylonaki M, Agrogiannis GD, Johnson EO, Paragelopoulos PJ, Soucacos PN. 74ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ορθοπαιδικής Χειρουργικής & Τραυματολογίας, Αθήνα 10-13 Οκτωβρίου 2018 (Special English Session).

**11. Η επίδραση των βλαστοκυττάρων από λιπώδη ιστό και του FK506 στην περιφερική νευρική αναγέννηση σε πειραματικό μοντέλο νευρικού ελλείμματος σε επίμυες.**

Π. Μεγαλοικονόμος, Γ. Παναγόπουλος, Α. Μαυρογένης, Μ. Μπάμη, Μ. Μυλωνάκη, Γ. Αγρογιάννης, Ε. Μητσιοκάπα, Β. Κοντογεωργάκος, Ε. Johnson, Π. Παπαγγελόπουλος, Π. Ν. Σουκάκος. 23ο Κοινό Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Χεριού και Άνω Άκρου & της Ελληνικής Εταιρείας Επανορθωτικής Μικροχειρουργικής, 2-4 Νοεμβρίου 2017, Αθήνα.

**12. Ανατομικές περιοχές συλλογής λιπώδους ιστού για καλλιέργεια βλαστοκυττάρων σε επίμυες.** Π.Δ. Μεγαλοικονόμος, Γ.Ν. Παναγόπουλος, Α.Φ. Μαυρογένης, Μ. Μπάμη, Μ. Μυλωνάκη, Ε. Μητσιοκάπα, Π.Ι. Παπαγγελόπουλος. 72ο Συνέδριο Ορθοπαιδικής Χειρουργικής & Τραυματολογίας, 12-15 Οκτωβρίου 2016, Αθήνα.

**13. Current Trends and Future Perspectives for Peripheral Nerve Regeneration.**

Georgios N. Panagopoulos, Panayiotis D. Megaloiconomos, Andreas F. Mavrogenis. In: Duscher D., Shiffman M. (eds) Regenerative Medicine and Plastic Surgery. Springer, Cham 2019



## Δεοντολογικά Προβλήματα

Η παρούσα πειραματική μελέτη σε υγιείς επίμυες ήταν αναγκαία πριν εφαρμοστεί η μέθοδος στον άνθρωπο. Οι επίμυες δεν βασανίσθηκαν κατά τη διεξαγωγή του πειράματος. Τα ζώα χειρουργήθηκαν χωρίς πόνο υπό γενική ενδομυϊκή αναισθησία. Η χρησιμοποιούμενη χειρουργική προσπέλαση δεν προκάλεσε βλάβες σε σπλαχνικές ανατομικές δομές ούτε ακρωτηρίασε τα ζώα, ενώ το επισυμβαίνον χειρουργικό τραύμα ήταν μικρό. Οι επεμβάσεις ήταν άσηπτες, έτσι ώστε μετεγχειρητικά δεν χρειάστηκε αντιμικροβιακή αγωγή. Τα ζώα είχαν καθημερινή φροντίδα και επίβλεψη από το έμπειρο προσωπικό του Εργαστηρίου Πειραματικής Χειρουργικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου ΑΤΤΙΚΟΝ. Με τον τρόπο αυτό, τα ζώα υπέστησαν την ελάχιστη δυνατή επιβάρυνση, ενώ αντίθετα τα οφέλη από την εργασία μπορεί να είναι πολύ σημαντικά. Στο τέλος της εργασίας, όλα τα ζώα θανατώθηκαν με ανώδυνο τρόπο, σύμφωνα με τις σχετικές οδηγίες. Συνεπώς, η παραπάνω μελέτη δεν ήταν δυνατό να υποκατασταθεί από ανάλογη *in vitro* μελέτη. Οι προαναφερθείσες συνθήκες και προϋποθέσεις βρίσκονται εντός του πνεύματος του υφιστάμενου νομικού πλαισίου που αφορά τον πειραματισμό σε ζώα (Κωστομητσόπουλος, 1993). Η μελέτη αυτή είναι σύμφωνη με τα κριτήρια του Π.Δ. 56/2013 που διέπει τη “χρήση ζώων για πειραματικούς ή άλλους επιστημονικούς σκοπούς” και έχει λάβει έγκριση από την αρμόδια Διεύθυνση Κτηνιατρικής της Περιφέρειας Αττικής.

### Πειραματόζωα

Τα πειραματόζωα προμηθεύτηκαν από το Τμήμα Ζωϊκών Προτύπων Βιοϊατρικής Έρευνας του Ελληνικού Ινστιτούτου Παστέρ. Οι χειρουργικές επεμβάσεις έλαβαν χώρα στο Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής, και η στέγασή τους στον Οίκο Πειραματοζώων του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου ΑΤΤΙΚΟΝ. Η μελέτη της ιστοπαθολογίας των δειγμάτων διεξήχθη στο Α' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

### Κανόνες Πειραματισμού Σε Ζώα

Η άδεια πειραματισμού, φροντίδας και χειρισμών σε ζώα, και η διενέργεια της μελέτης εγκρίθηκαν από την Επιτροπή Αξιολόγησης Πρωτοκόλλων της Διεύθυνσης Αγροτικής & Κτηνιατρικής Πολιτικής, της Περιφέρειας Αττικής (ΑΠ: 4961, Αθήνα 20/10/2015, Παράρτημα).



## Ευχαριστίες

Στους γονείς μου και τον αδερφό μου για την αέναη συμπαράσταση.

Στην Ελίνα και τις κόρες μου που με εμπνέουν να γίνω καλύτερος.

Σε όλους τους συνεργάτες που κατέστησαν δυνατή την πραγματοποίηση της μελέτης.

## **Τριμελής Επιτροπή**

**Ανδρέας Φ. Μαυρογένης**

Καθηγητής Ορθοπαιδικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

**Elizabeth Johnson**

Καθηγήτρια Ανατομικής, Ιατρική Σχολή, European University Cyprus

**Παναγιώτης Π. Παπαγγελόπουλος**

Καθηγητής Ορθοπαιδικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

## **Κύριος ερευνητής**

**Γεώργιος Ν. Παναγόπουλος**

Ορθοπαιδικός Χειρουργός

## **Επιβλέπων**

**Ανδρέας Φ. Μαυρογένης**

Καθηγητής Ορθοπαιδικής, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

## **Συνεργάτες**

**Παναγιώτης Δ. Μεγαλοικονόμος**

Ορθοπαιδικός Χειρουργός

## **Τεχνικό Και Επιστημονικό Προσωπικό**

**Ευανθία Α. Μητσιοκάπα**

Ιατρός Φυσικής Ιατρικής και Αποκατάστασης, Πανεπιστημιακή Υπότροφος  
Α' Ορθοπαιδική Πανεπιστημιακή Κλινική - Τμήμα Ηλεκτροφυσιολογικού Ελέγχου  
Ορθοπαιδικό Κέντρο Έρευνας & Εκπαίδευσης «Παναγιώτης Ν. Σουκάκος»

**Μυρτώ Μπάμη**

Μοριακή Βιολόγος, Ορθοπαιδικό Κέντρο Έρευνας & Εκπαίδευσης «Π. Σουκάκος»  
ΑΤΤΙΚΟΝ Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο

**Μάντυ Μυλωνάκη**

Μοριακή Βιολόγος, Ορθοπαιδικό Κέντρο Έρευνας & Εκπαίδευσης «Π. Ν. Σουκάκος»  
ΑΤΤΙΚΟΝ Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο

**Διονυσία-Ειρήνη Δρογγίτη**

Νοσηλεύτρια Χειρουργείου - Βοηθός Πειραματικού Χειρουργείου  
Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Οίκος Πειραματοζώων  
ΑΤΤΙΚΟΝ Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο

## **Συνεργαζόμενα Εργαστήρια**

**Ορθοπαιδικό Κέντρο Έρευνας & Εκπαίδευσης «Παναγιώτης Ν. Σουκάκος»,**

ΑΤΤΙΚΟΝ Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο

**Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Οίκος Πειραματοζώων,**

ΑΤΤΙΚΟΝ Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο

**Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής,**

Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

# Περιεχόμενα

<b>Ημερομηνίες Υποβολής</b> .....	<b>iii</b>
<b>Σύντομο Βιογραφικό Σημείωμα</b> .....	<b>iv</b>
<b>Δημοσιεύσεις &amp; Παρουσιάσεις</b> .....	<b>vi</b>
<b>Δεοντολογικά Προβλήματα</b> .....	<b>viii</b>
<b>Ευχαριστίες</b> .....	<b>ix</b>
<b>Τριμελής Επιτροπή</b> .....	<b>x</b>
<b>Ευρετήριο Εικόνων</b> .....	<b>xiii</b>
<b>Ευρετήριο Πινάκων</b> .....	<b>xv</b>
<b>Συνομογραφίες</b> .....	<b>xvi</b>
<b>Γενικό Μέρος</b> .....	<b>19</b>
<b>1.1 Ανατομία των περιφερικών νεύρων</b> .....	<b>19</b>
<b>1.2 Εσωτερική τοπογραφία του περιφερικού νεύρου</b> .....	<b>23</b>
<b>1.3 Κακώσεις περιφερικών νεύρων</b> .....	<b>27</b>
1.3.1 Μηχανισμός κακώσεων περιφερικών νεύρων .....	27
1.3.2 Ταξινόμηση κακώσεων περιφερικών νεύρων .....	30
1.3.3 Φυσιολογία της εκφύλισης και αναγέννησης του νεύρου .....	35
<b>2.1 Νευρική Αποκατάσταση</b> .....	<b>39</b>
<b>2.2 Επινευρική &amp; δεσμιδική τελικο-τελική συρραφή</b> .....	<b>44</b>
<b>2.3 Νευρικά μοσχεύματα</b> .....	<b>49</b>
2.3.1 Αυτομοσχεύματα .....	49
2.3.2 Αλλομοσχεύματα .....	53
<b>2.4 Νευρικοί αγωγοί - ικριώματα</b> .....	<b>56</b>
<b>2.5 Φαρμακολογικοί παράγοντες</b> .....	<b>62</b>
<b>2.6 Νευρομεταφορές</b> .....	<b>71</b>
<b>3.1 FK506 &amp; νευρική αναγέννηση</b> .....	<b>85</b>
3.1.1 Μοριακός μηχανισμός δράσης του FK506 .....	88
3.1.2 Νευροτοξικότητα .....	92
3.1.3 Χρόνος χορήγησης του FK506 .....	93
3.1.4 Οδός χορήγησης του FK506 .....	94
3.1.5 Δοσολογία του FK506 .....	96
3.1.6 Πειραματικά μοντέλα .....	98
<b>Ειδικό Μέρος</b> .....	<b>103</b>
<b>4.1 Εισαγωγή</b> .....	<b>103</b>
<b>4.2 Σκοπός</b> .....	<b>107</b>
<b>4.3 Υλικό &amp; Μέθοδος</b> .....	<b>109</b>
4.3.1 Μεθοδολογία - Πειραματόζωα .....	109
4.3.2 Ανάλυση Ισχύος (Power analysis) .....	113
4.3.3 Χειρουργική Τεχνική .....	114
4.3.3 Ανάλυση Βάδισης .....	121

4.3.4 Ηλεκτροφυσιολογικός έλεγχος .....	128
4.3.5 Νευροϊστομορφομετρία .....	130
4.3.6 Στατιστική Ανάλυση .....	136
<b>4.4 Αποτελέσματα .....</b>	<b>138</b>
4.4.1 Ανάλυση Βάδισης.....	138
4.4.2 Ηλεκτροφυσιολογικός έλεγχος .....	143
4.4.3 Νευροϊστομορφομετρία .....	147
Μακροσκοπικές παρατηρήσεις.....	147
Ιστολογικές παρατηρήσεις .....	148
Περιφερικές τομές .....	149
<b>4.5 Συζήτηση.....</b>	<b>154</b>
<b>4.6 Συμπεράσματα .....</b>	<b>157</b>
<b>4.7 Περίληψη.....</b>	<b>158</b>
<b>4.8 Summary .....</b>	<b>161</b>
<b><i>Παράρτημα .....</i></b>	<b><i>163</i></b>
5.1 Κάρτα παρακολούθησης πειραματοζώων .....	163
5.2 Κτηνιατρική Υπηρεσία.....	164
<b><i>Βιβλιογραφία.....</i></b>	<b><i>165</i></b>

## Ευρετήριο Εικόνων

Εικόνα 1: Μορφολογία περιφερικού νεύρου .....	20
Εικόνα 2: Νευράξονες περιφερικών νεύρων .....	21
Εικόνα 3: Ανατομική διαρρύθμιση περιφερικού νευράξονα.....	22
Εικόνα 4: Εσωτερική τοπογραφική ανατομία του ωλενίου νεύρου .....	24
Εικόνα 5: Εσωτερική τοπογραφική ανατομία του μέσου νεύρου .....	25
Εικόνα 6: Κακώσεις από αμβλύ ή διατιτραίνον τραύμα .....	28
Εικόνα 7: Δομή περιφερικών νεύρων και ταξινόμηση νευρικών κακώσεων .....	32
Εικόνα 8: Σχηματική απεικόνιση ταξινόμησης κακώσεων περιφερικών νεύρων .....	34
Εικόνα 9: Βαλεριανή εκφύλιση & νευρική αναγέννηση .....	35
Εικόνα 10: Περιφερική νευρική αναγέννηση.....	36
Εικόνα 11: Σχηματική απεικόνιση Βαλεριανής εκφύλισης .....	37
Εικόνα 12: Αλγόριθμος χειρουργικής αποκατάστασης περιφερικών νεύρων .....	39
Εικόνα 13: Νευρική βλάβη - χειρουργικές εναλλακτικές.....	41
Εικόνα 14: Διαμόρφωση μικροχειρουργείου .....	42
Εικόνα 15: Εξοπλισμός μικροχειρουργικής .....	42
Εικόνα 16: Θεραπευτικές επιλογές με βάση το μήκος του νευρικού ελλείμματος.....	43
Εικόνα 17: Επινευρική (α) και δεσμιδική (b) νευρική συρραφή .....	44
Εικόνα 18: Η ζώνη βλάβης εντός του νεύρου. ....	46
Εικόνα 19: Τεχνική bread-loafing για τον καθορισμό της ζώνης βλάβης .....	47
Εικόνα 20: Νευρική συρραφή χωρίς τάση .....	48
Εικόνα 21: Χρήση αυτομοσχεύματος .....	50
Εικόνα 22: Αυτομόσχευμα γαστροκνήμιου νεύρου (sural nerve graft).....	51
Εικόνα 23: Νευρικά αλλομοσχεύματα .....	54
Εικόνα 24: Αποκατάσταση διατομής δακτυλικού νεύρου με αλλομόσχευμα Avance® .....	55
Εικόνα 25: Νευρικά ικρίωματα.....	57
Εικόνα 26: Νευρικό ικρίωμα από κολλαγόνο.....	59
Εικόνα 27: Μοριακές οδοί PI3K-Akt και Ras-ERK .....	64
Εικόνα 28: Μοριακές οδοί cAMP-PKA και Rho-ROK .....	65
Εικόνα 29: Εναλλακτικές μέθοδοι συρραφής στις νευρομεταφορές .....	71
Εικόνα 30: Αναγεννητική και παράπλευρη εκβλάστηση .....	73
Εικόνα 31: Νευρομεταφορές για αποκατάστασης της λειτουργίας του ώμου .....	75
Εικόνα 32: Διπλή δεσμιδική νευρομεταφορά για αποκατάσταση της κάμψης του αγκώνα .	76
Εικόνα 33: Νευρομεταφορές για βλάβη του μέσου νεύρου .....	77
Εικόνα 34: Νευρομεταφορά για κάκωση του ωλενίου νεύρου .....	78
Εικόνα 35: Νευρομεταφορές για κάκωση του κερκιδικού νεύρου .....	78
Εικόνα 36: Νευρομεταφορές για αποκατάσταση αισθητικών ελλειμμάτων .....	79
Εικόνα 37: Σύντομη ιστορία του FK506/tacrolimus .....	85
Εικόνα 38: Μοριακή δομή του FK506 (Tacrolimus) .....	86
Εικόνα 39: Οδός καλσινευρίνης/NFAT και μηχανισμός δράσης FK506.....	89
Εικόνα 40: Βαλεριανή εκφύλιση κατόπιν περιφερικής νευρικής κάκωσης.....	91
Εικόνα 41: Συστηματική και τοπική χορήγηση FK506.....	94
Εικόνα 42: Επίμυες για χρήση σε πειραματικά μοντέλα .....	109
Εικόνα 43: Σχηματική απεικόνιση πειραματικής μεθοδολογίας .....	112
Εικόνα 44: Στατιστική ανάλυση ισχύος (power analysis).....	113
Εικόνα 45: Πειραματικό χειρουργείο .....	114

Εικόνα 46: Προσπέλαση & παρασκευή ισχιακού νεύρου.....	115
Εικόνα 47: Διατομή ισχιακού νεύρου & ανάστροφο αυτομόσχευμα (reversed autograft) .	116
Εικόνα 48: Γεφύρωση ελλείμματος 10mm με ικρίωμα από κόλλα ινικής (fibrin glue).....	117
Εικόνα 49: Μεθοδολογία διαμόρφωσης νευρικού αγωγού .....	117
Εικόνα 50: Διαδικασία παρασκευής νευρικών αγωγών από κόλλα ινικής.....	118
Εικόνα 51: Νευρικοί αγωγοί έτοιμοι για χρήση .....	118
Εικόνα 52: Νευρικοί αγωγοί εμποτισμένοι με FK506 .....	119
Εικόνα 53: Κατασκευή διαδρόμου ανάλυσης βάδισης.....	122
Εικόνα 54: Ανάλυση βάδισης - λήψη αποτυπωμάτων.....	123
Εικόνα 55: Υπολογισμός ισχιακού λειτουργικού δείκτη (sciatic functional index, SFI) .....	124
Εικόνα 56: Παράμετροι ανάλυσης βάδισης .....	125
Εικόνα 57: Επιπλοκές που δυσχέραναν την ανάλυση βάδισης .....	126
Εικόνα 58: Ηλεκτροφυσιολογικός έλεγχος.....	128
Εικόνα 59: Καταγραφή αποτελεσμάτων ηλεκτρομυογραφήματος .....	129
Εικόνα 60: Σχηματική απεικόνιση λήψης ιστολογικών δειγμάτων.....	130
Εικόνα 61: Λήψη παρασκευάσματος και ψηφιακή ανάλυση .....	131
Εικόνα 62: Λογισμικό επεξεργασίας εικόνας AxonJ.....	132
Εικόνα 63: Μορφομετρική ανάλυση με λογισμικό AxonSeg .....	133
Εικόνα 64: Επεξεργασία εικόνας - AxonSeg .....	134
Εικόνα 65: Επισκόπηση μεθοδολογίας - λειτουργικών δοκιμασιών .....	135
Εικόνα 66: Σχηματική απεικόνιση αποτελεσμάτων ανάλυσης βάδισης.....	142
Εικόνα 67: Σχηματική απεικόνιση ηλεκτροφυσιολογικού ελέγχου 12 εβδομάδες μετεγχειρητικά.....	146
Εικόνα 68: Νευροϊστομορφομετρία - επεξεργασία εικόνας.....	149
Εικόνα 69: Ιστολογική εκτίμηση δειγμάτων ισχιακού νεύρου επίμυων.....	150
Εικόνα 70: Μορφομετρική ανάλυση - περιφερικές τομές.....	152
Εικόνα 71: Απόφαση χορήγησης άδειας πρωτοκόλλου διαδικασιών σε ζώα.....	164

## Ευρετήριο Πινάκων

Πίνακας 1: Ταξινόμηση κακώσεων περιφερικών νεύρων .....	30
Πίνακας 2: Θεραπευτικές επιλογές σε περίπτωση μη δυνατής τελικο-τελικής συρραφής ...	40
Πίνακας 3: Συχνότερα νεύρα-δότες για τη χρήση αυτομοσχεύματος.....	52
Πίνακας 4: Σύσταση και δομή εμπορικά διαθέσιμων νευρικών ικριωμάτων .....	60
Πίνακας 5: Προσθετικές ουσίες (luminal additives) σε νευρικά ικριώματα για την ενίσχυση της νευρικής αναγέννησης .....	61
Πίνακας 6: Φαρμακολογικοί παράγοντες που επιταχύνουν την νευρική αναγέννηση .....	70
Πίνακας 7: Δημοφιλείς νευρομεταφορές για αποκατάσταση κακώσεων περιφερικών νεύρων .....	84
Πίνακας 8: Tacrolimus σε in vivo πειραματικές μελέτες για την επιτάχυνση της νευρικής αναγέννησης.....	100
Πίνακας 9: Πειραματική μεθοδολογία .....	112
Πίνακας 10: Ισχιακός λειτουργικός δείκτης σε όλες τις πειραματικές ομάδες 4, 8 & 12 εβδομάδες μετεγχειρητικά.....	141
Πίνακας 11: Ηλεκτροφυσιολογικός έλεγχος σε όλες τις πειραματικές ομάδες .....	145
Πίνακας 12: Μορφομετρική ανάλυση 12 εβδομάδες μετεγχειρητικά (περιφερικές τομές)	151



## Συντομογραφίες

- aFGF** - Fibroblast growth factor acidic
- AIN** - Anterior interosseous nerve/Πρόσθιο μεσόστιο νεύρο
- ALCAR** - Acetyl-L-carnitine
- ANA** - Acellular nerve allograft
- AVNC** - Autogenous venous nerve conduit
- Bax** - Bcl-2 associated X protein
- Bcl-2** - B-cell lymphoma 2
- BDNF** - Brain-derived neurotrophic factor
- bFGF** -  $\beta$ -fibroblast growth factor
- BMSC** - Bone marrow derived mesenchymal stem cell
- cAMP** - Cyclic adenosine monophosphate
- CGRP** - Calcitonin gene-related peptide
- CMAP** - Compound muscle action potential
- CNTF** - Ciliary neurotrophic factor
- CRF** - Chronic renal failure
- DCU** - Dorsal cutaneous branch of the ulnar nerve
- dMSCs** - Differentiated mesenchymal stem cells
- DRG** - Dorsal root ganglia
- ECRB** - Extensor carpi radialis brevis/Βραχύς κερκιδικός εκτείνων τον καρπό
- EMG** - Electromyography
- EMSCs** - Ectomesenchymal stem cells
- EPO** - Erythropoietin
- ERK** - Extracellular signal-regulated kinase
- FCR** - Flexor carpi radialis/κερκιδικός καμπτήρας τον καρπό
- FCU** - Flexor carpi ulnaris/ωλένιος εκτείνων τον καρπό
- FDA** - Food & Drug Administration
- FDS** - Flexor digitorum superficialis/επιπολής καμπτήρας των δακτύλων
- FKBP-52** - FK506 binding protein 52
- G-CSF** - Granulocyte colony stimulating factor
- GAP-43** - Growth-associated protein 43
- GDNF** - Glial cell derived neurotrophic factor
- GFAP** - Glial fibrillary acidic protein

**hDPSC** - Human dental pulp stem cell  
**HFSC** - Human fetal derived stem cell  
**HSP** - Heat shock protein  
**Hsp-90** - Heat shock protein 90  
**IGF-1** - Insulin-like growth factor 1  
**JAK/STAT** - Janus kinase/signal transducer and activator or transcription  
**LABC** - Lateral antebrachial cutaneous nerve  
**MABC** - Medial antebrachial cutaneous nerve  
**MSCs** - Mesenchymal stem cells  
**MUAPs** - Motor unit action potentials  
**N/A** - Not applicable  
**NAC** - N-acetyl-cysteine  
**NCS** - Nerve conduction studies  
**NFκB** - Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells  
**NGF** - Nerve growth factor  
**NMJ** - Neuromuscular junction  
**NSAID** - Non-steroidal anti-inflammatory drug  
**NSCs** - Neural stem cells  
**NT-3** - Neurotrophin-3  
**OT** - Occupational therapy  
**PBS** - Phosphate buffered saline  
**PCL** - Poly-ε-caprolactone  
**PDE-5** - Phosphodiesterase-5  
**PDGF** - Platelet-derived growth factor  
**PDMS** - Polydimethylsiloxane  
**PGA** - Polyglycolic acid  
**PHB** - Poly-3-hydroxybutyrate  
**PHEMA-MMA** - Poly(2-hydroxyethyl methacrylate-co-methyl methacrylate)  
**PI3K** - Phosphatidylinositol-3 kinase  
**PIN** - Posterior interosseous nerve/Οπίσθιο μεσόστιο νεύρο  
**PL** - Palmaris longus/μακρός παλαμικός  
**PLA** - Poly-L-lactide  
**PLCL** - Poly (ε-caprolactone-co-lactide)  
**PLGA** - Poly (lactic-co-glycolic acid)

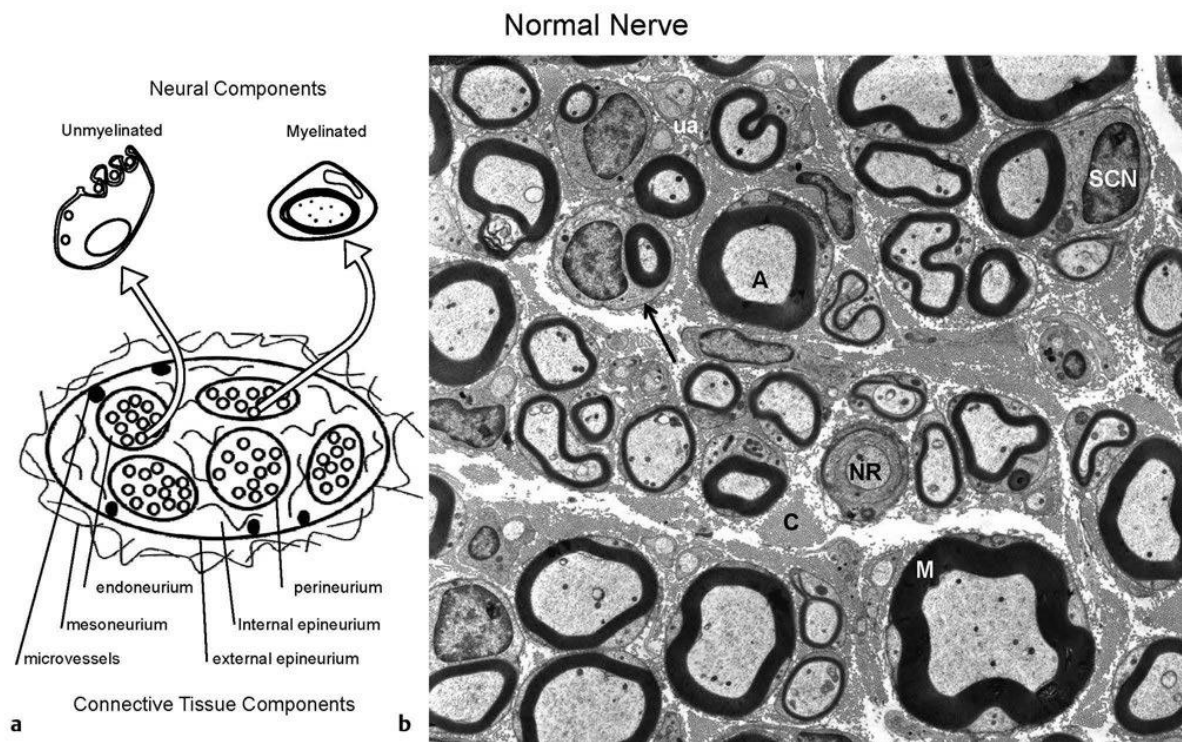
**PLLA** - poly (L-lactic acid)  
**PPE** - Poly(phosphoester)  
**PQ** - Pronator quadratus/στρογγύλος πρηνιστής  
**PVA** - Polyvinyl alcohol  
**RAGs** - Regeneration-associated genes  
**Ras-ERK** - Rat sarcoma-extracellular signal-regulated kinase  
**SAH** - Subarachnoid hemorrhage  
**SC** - Schwann cells  
**SDSC** - Skin derived stem cell  
**SFI** - Sciatic functional index  
**SKP** - Skin derived precursor  
**SOD** - Superoxide dismutase  
**SRN** - Superficial radial nerve  
**TGF-β1** - Transforming growth factor-β1  
**TKA** - Tyrosine kinase A  
**TTR** - Transthyretin  
**VEGF** - Vascular endothelial growth factor

# Γενικό Μέρος

## 1.1 Ανατομία των περιφερικών νεύρων

Τα περιφερικά νεύρα παρέχουν τις συνδέσεις μεταξύ του κεντρικού νευρικού συστήματος και των κινητικών και αισθητικών τελικών οργάνων. Τα περιφερικά νεύρα είναι διαμήκεις δομές αποτελούμενες από τις νευρικές ίνες, στοιχεία συνδετικού ιστού, λεμφικό σύστημα και αιμοφόρα αγγεία. Σε κάθε νεύρο υπάρχει ένα δίκτυο μικρών αγγείων που πορεύονται παράλληλα με το νεύρο και καταλήγουν εντός του ενδονευρίου. Η ομοιοστάση του ενδονευρίου διασφαλίζεται από τον αιματονευρικό φραγμό (ενδοθήλιο και βασική μεμβράνη των ενδοδεσμιδικών τριχοειδών) και το περινεύριο. Μια νευρική ίνα (nerve fiber) αποτελείται από τον άξονα (axon) και τα κύτταρα Schwann (Schwann cells) που τον περικλείουν. Ο άξονας είναι μία επέκταση του νευρώνα (νευρικού κυττάρου). Το σώμα ενός κινητικού και ενός αυτόνομου νευρώνα βρίσκονται στο πρόσθιο κέρασ του νωτιαίου μυελού, ενός αισθητικού νευρώνα στο νωτιαίο γάγγλιο. Ο άξονας έχει μήκος μερικών mm-1m και διάμετρο 50nm-20μm. Γύρω από τους άξονες υπάρχουν πάντα κύτταρα Schwann. Οι νευρικές ίνες διατάσσονται σε ομάδες που ονομάζονται νευρικές δεσμίδες (nerve fascicles). Οι νευρικές ίνες (κινητικές, αισθητικές και συμπαθητικές) διακρίνονται σε εμμέλες και αμύελες, αναλόγως της παρουσίας ή όχι ελύτρου μυελίνης. Οι κινητικές νευρικές ίνες, είναι όλες εμμέλες και η διάμετρός τους κυμαίνεται μεταξύ 2- 30μm. Οι αισθητικές νευρικές ίνες έχουν παρόμοια διάμετρο και περιλαμβάνουν επίσης εμμέλες και αμύελες νευρικές ίνες, με τις τελευταίες να υπερτερούν σε αριθμό. Οι συμπαθητικές νευρικές ίνες είναι όλες αμύελες (Εικόνα 1). Στις εμμέλες ίνες (διάμετρος άξονα συνήθως >2μm) ένα κύτταρο Schwann περικλείει ένα τμήμα ενός άξονα μήκους περίπου 1mm. Κάθε κύτταρο Schwann κάνει με τη μεμβράνη του ένα πολλαπλό περιτύλιγμα (10-120 φορές, ευθέως ανάλογα με τη

διάμετρο του άξονα), χωρίς ενδιάμεσο υγρό γύρω από τον άξονα, σχηματίζοντας έτσι το έλυτρο της μυελίνης (myelin sheath). Στις αμύελες ίνες (διάμετρος άξονα συνήθως <math><2 \mu\text{m}</math>) ένα κύτταρο Schwann περικλείει τμήματα ενός ως 15 αξόνων ταυτόχρονα. Στην περίπτωση αυτή, το περιτύλιγμα αποτελείται από μία προέκταση της διπλής βασικής μεμβράνης ενός κυττάρου Schwann (Εικόνα 2).

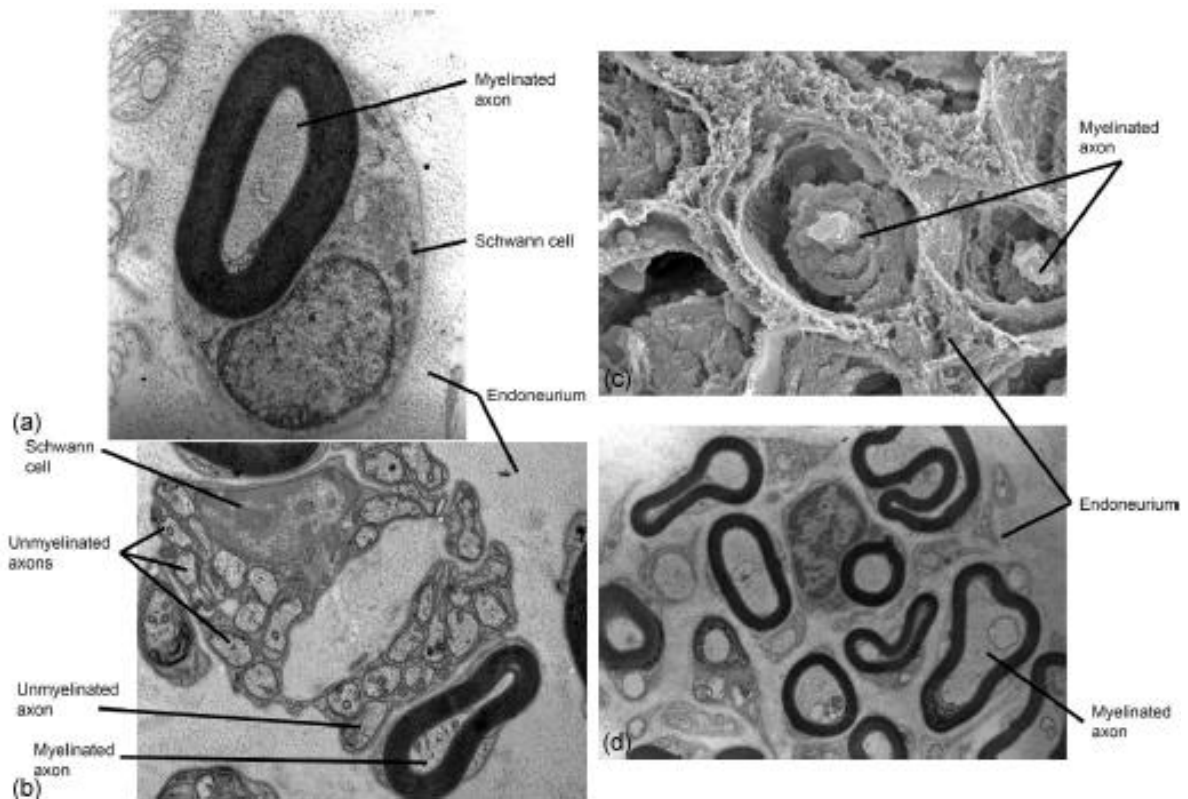


**Εικόνα 1: Μορφολογία περιφερικού νεύρου**

(a) Το φυσιολογικό περιφερικό νεύρο αποτελείται από νευρικό και συνδετικό ιστό. Οι νευρικές ίνες διακρίνονται σε εμμύελες και αμύελες. (b) Εμμύελες και αμύελες νευρικές ίνες. Το βέλος δείχνει τη βασική μεμβράνη ενός κυττάρου Schwann. A, νευράξονας; C, ενδονεύριο; M, μυελίνη; NR, κόμβος Ranvier; SCN, πυρήνας κυττάρου Schwann; ua, αμύελος νευράξονας (uranyl acetate, 4750x).

Το περίβλημα των νεύρων αποτελείται από έξω προς τα έσω από το επινεύριο, το περινεύριο και το ενδονεύριο (Εικόνα 3). Το επινεύριο είναι το εξωτερικό περίβλημα του νεύρου, το οποίο το απομονώνει από τους περιβάλλοντες ιστούς. Αποτελεί επίσης τον ενδιάμεσο συνδετικό ιστό μεταξύ των νευρικών δεσμίδων, ο οποίος τις κρατά χαλαρά συνδεδεμένες μεταξύ τους. Σε εγκάρσια διατομή, το ποσοστό του επινεύριου ενός νεύρου κυμαίνεται από 20% έως 90%, ανάλογα με το νεύρο. Για παράδειγμα, το ωλένιο νεύρο στον

αγκώνα έχει λιγότερο (22%), ενώ το ισχιακό νεύρο στο γλουτό έχει σημαντικά μεγαλύτερο ποσοστό επινεύριου (88%). Το περινεύριο είναι το περίβλημα της κάθε νευρικής δεσμίδας, και σχετίζεται με την προστασία, την αντοχή στην επιμήκη διάταση και στη διατήρηση της ενδοδεσμδικής πίεσης, η οποία είναι απαραίτητη για την αξονοπλασματική ροή. Το ενδονεύριο είναι ο στηρικτικός συνδετικός ιστός στο εσωτερικό κάθε νευρικής δεσμίδας. Τέλος, το μεσονεύριο αποτελώντας το αντίστοιχο του μεσεντερίου επεκτείνεται από το επινεύριο προς τους γύρω ιστούς. Δια του μεσονευρίου εισέρχεται στο νεύρο τμηματική αιματική παροχή. Το μεσονεύριο επιτρέπει στο νεύρο να ολισθαίνει πάνω στο ιστικό του υπόστρωμα (Millesi, 1986).

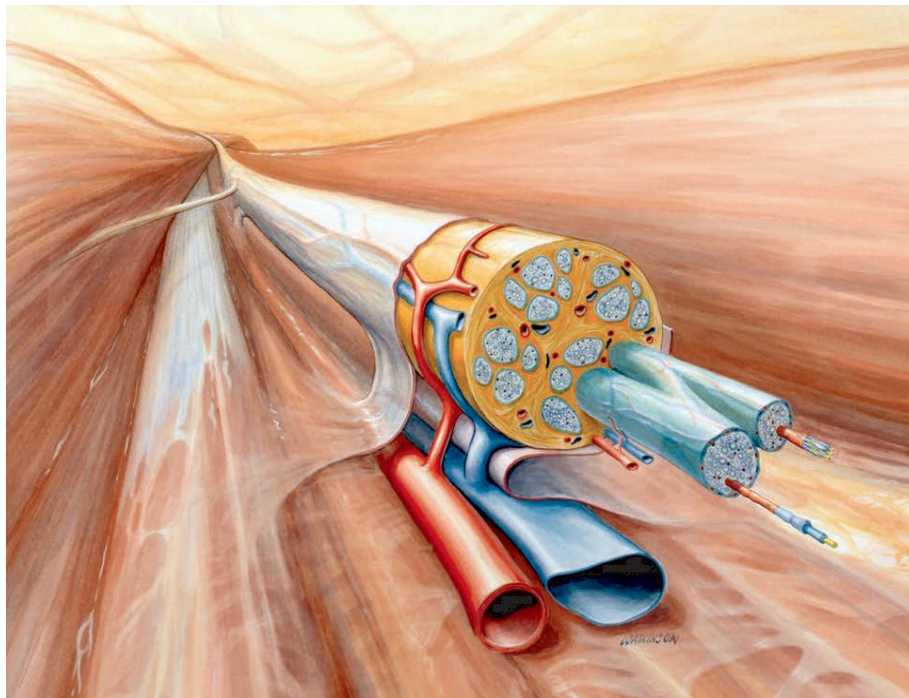


**Εικόνα 2: Νευράξονες περιφερικών νεύρων**

(a) Εμμέλος νευράξονας, (b) Ομάδα αμύελων νευραξόνων, (c) Εμμέλος νευράξονας, (d) Εμμέλοι & αμύελοι νευράξονες στην ίδια δεσμίδα. Μεγέθυνση με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (a) 12,000x, (b) 20,000x, (d) 7000x; (c) 3300x .



Η μυελίνη σχηματίζει περισφίξεις κατά διαστήματα, αφήνοντας κάποια τμήματα του νευράξονα ακάλυπτα. Τα διαστήματα αυτά λέγονται κόμβοι Ranvier. Η παρουσία της μυελίνης μονώνει τον άξονα, αφού εμποδίζει τα ιόντα να διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη του νευράξονα στον περιβάλλοντα χώρο. Έτσι, δεν παρατηρείται απώλεια ενέργειας και το νευρικό σήμα μεταδίδεται από κόμβο σε κόμβο με άλματα (saltatory conduction). Για αυτόν το λόγο, η ταχύτητα αγωγής της νευρικής ώσης του νευράξονα που περιβάλλεται από μυελώδες έλυτρο, είναι κατά πολύ μεγαλύτερη σε σχέση με τις αμύελες νευρικές ίνες, οι οποίες ανήκουν στο αυτόνομο νευρικό σύστημα.



**Εικόνα 3: Ανατομική διαρρύθμιση περιφερικού νευράξονα**

Οι νευράξονες (μικρές κίτρινες ίνες) είναι είτε εμμύελοι ή αμύελοι. Οι μεμονωμένοι άξονες περιβάλλονται από ένα λεπτό στρώμα συνδετικού ιστού, το ενδονεύριο, και σχηματίζουν νευρικές δεσμίδες, οι οποίες περαιτέρω περιβάλλονται από το περινεύριο (πράσινο). Μεταξύ των δεσμίδων παρεμβάλλεται το έσω επινεύριο (σκούρο κίτρινο), ενώ το έξω επινεύριο περικλείει όλες τις δεσμίδες, σχηματίζοντας το νεύρο (Mackinnon SE, Dellon AL, eds. Surgery of the Peripheral Nerve. New York, NY: Thieme; 1988:21)

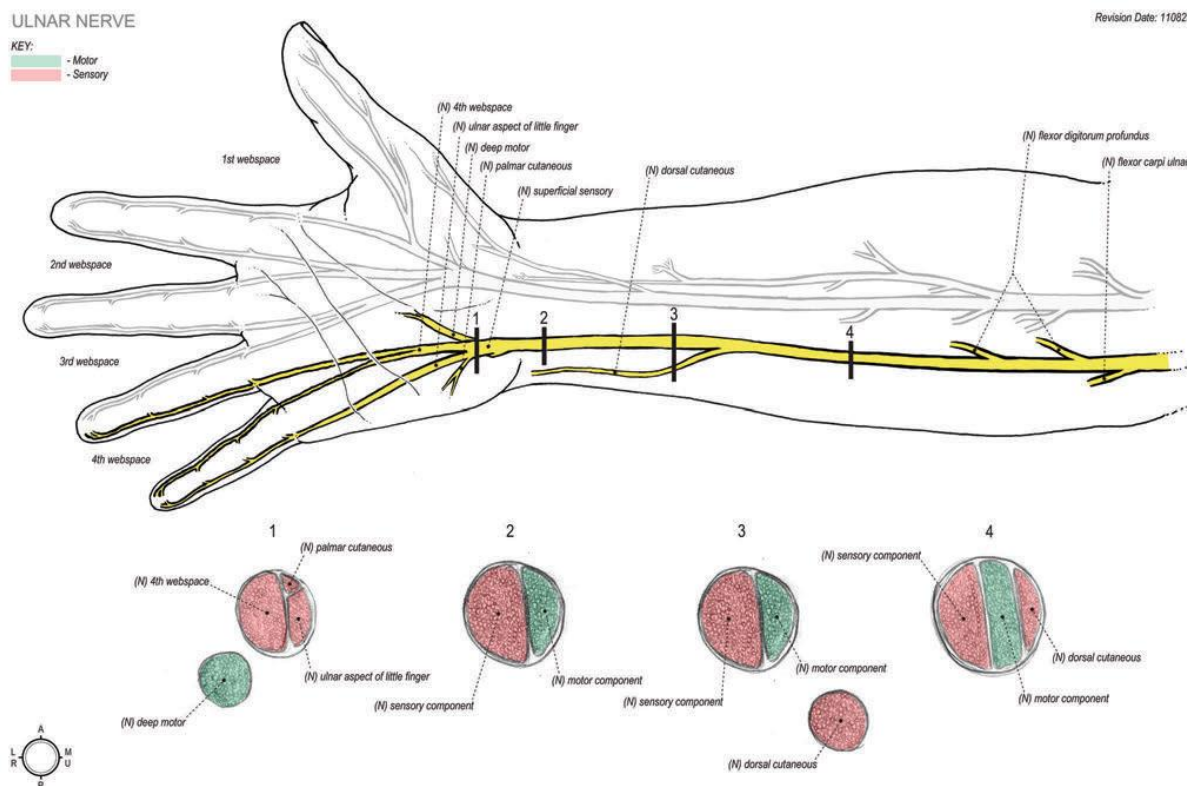


## 1.2 Εσωτερική τοπογραφία του περιφερικού νεύρου

Ο Sunderland περιέγραψε την τοπογραφική ανατομία των περιφερικών νεύρων. Η μελέτη του απέδειξε ότι η διαρρύθμιση νευρικών δεσμίδων σε διαφορετικά υποκείμενα είναι η ίδια για κάθε εξεταζόμενο νεύρο και στο ίδιο δεδομένο επίπεδο (S. Sunderland, 1945; S. Sunderland & Bradley, 1949; S. Sunderland, Marshall, & Swaney, 1959; S. Sunderland & Ray, 1948). Στη συνέχεια χαρτογράφησε τον αριθμό, το μέγεθος και τη σχετική θέση των νευρικών δεσμίδων σε διαφορετικές τοποθεσίες κατά μήκος της πορείας των υπό εξέταση νεύρων. Κατά την απαρχή της πορείας του στο εγγύς άκρο, τα νεύρα είναι μονοδεσμιδικά. Ωστόσο, ακόμα και σ' αυτό το επίπεδο, οι κινητικές και αισθητικές νευρικές ίνες διατηρούν μια σημαντική τοπογραφική ομαδοποίηση. Οι δεσμίδες διαπλέκονται μεταξύ τους σε μεγαλύτερο βαθμό κεντρικά και λιγότερο στην περιφέρεια. Περιφερικότερα, τα νεύρα γίνονται εμφανώς πολυδεσμιδικά, αν και σ' αυτά η διαφοροποίηση σε κινητικές και αισθητικές μοίρες είναι εφυκτή και κεντρικότερα. Η γνώση της εσωτερικής τοπογραφίας των νεύρων οφείλεται κατά κύριο λόγο στην διεγχειρητική διέγερση (intraoperative stimulation) των μεμονωμένων δεσμίδων. Με αυτού του είδους την τεχνική, είναι δυνατόν να εκκληθεί μία πολύ συγκεκριμένη κνητική απόκριση διεγείροντας μία μεμονωμένη νευρική δεσμίδα (Thomas M. Brushart, 2011; Dvali & Mackinnon, 2003).

Η γνώση της εσωτερικής τοπογραφίας των περιφερικών νεύρων επιτρέπει την ορθή ευθυγράμμιση των νευρικών δεσμίδων κατά τη διάρκεια της χειρουργικής αποκατάστασης των νεύρων, βελτιστοποιώντας την λειτουργική αντιστοίχιση της των αναγεννηθέντων ινών. Για παράδειγμα, οι νευρικές δεσμίδες του ωλενίου νεύρου στο μέσο και περιφερικό τριτημόριο του αντιβραχίου διακρίνονται πάντα σε μία ραχιαία αισθητική ομάδα (dorsal sensory group), μία παλαμιαία αισθητική ομάδα (volar sensory group) και σε μία κινητική ομάδα (Εικόνα 4). Στο μέσο τριτημόριο του αντιβραχίου, η κινητική ομάδα βρίσκεται

ενδιαμέσως μεταξύ της ραχιαίας και παλαμιαίας αισθητικής ομάδας. Η ραχιαία αισθητική ομάδα διαχωρίζεται ευκρινώς από το κυρίως ωλένιο νεύρο περίπου 8cm από τον καρπό. Η κινητική ομάδα παραμένει ωλενίως της παλαμιαίας αισθητικής ομάδας μέχρι το κανάλι του Guyon, οπότε και μετατίθεται ραχιαία και κερκιδικά για να αποτελέσει τον εν τω βάθει κινητικό κλάδο των αυτοχθόνων μυών της άκρας χείρας. Σε αυτό το σημείο, η αντιστοιχία σε μέγεθος της κινητικής προς την αισθητική ομάδα είναι περίπου 2:3.

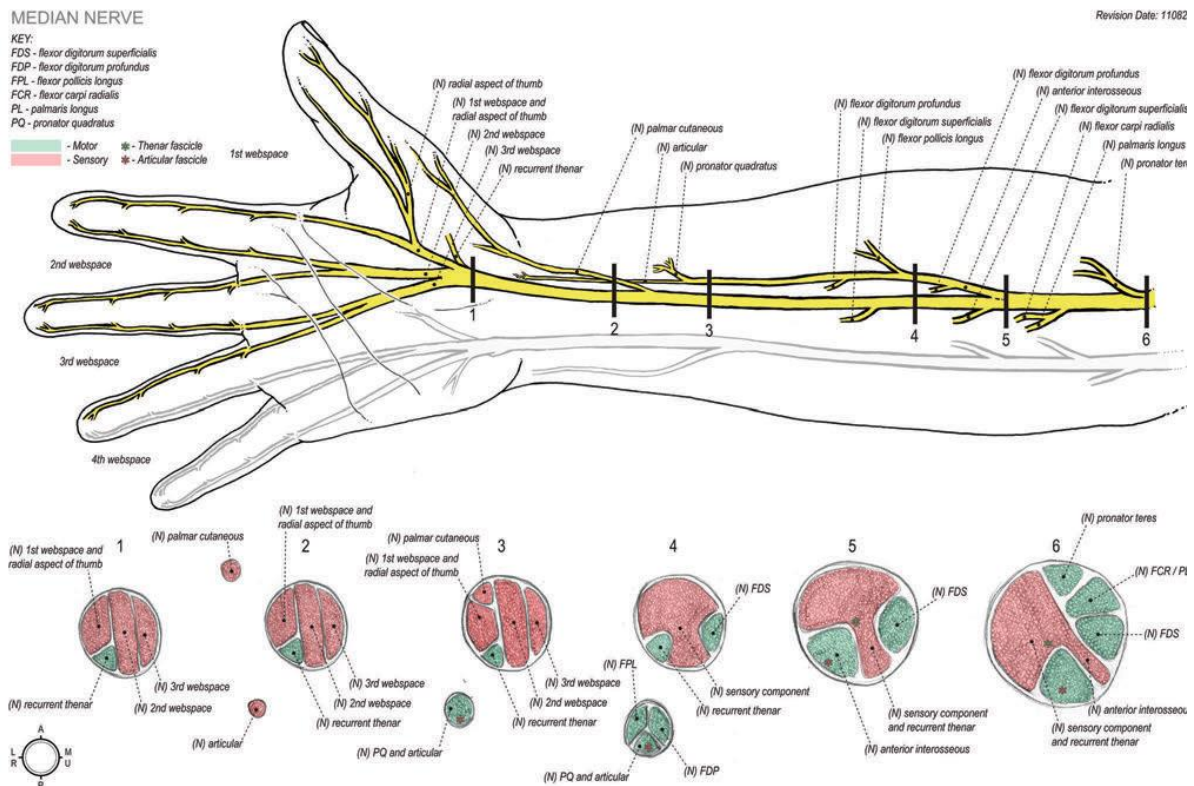


#### Εικόνα 4: Εσωτερική τοπογραφική ανατομία του ωλενίου νεύρου

Το ωλένιο νεύρο παρουσιάζει συγκεκριμένη δεσμιδική διάταξη κατά τη διάρκεια της πορείας του από το αντιβράχιο προς το χέρι. Η κινητική μοίρα βρίσκεται ενσφηνωμένη μεταξύ της κύριας αισθητικής μοίρας και των ραχιαίων δερματικών δεσμίδων (4). Περιφερικά της διακλάδωσης του ραχιαίου δερματικού κλάδου, η κινητική μοίρα παραμένει επί τα έσω του ωλενίου νεύρου. Στη συνέχεια εκφύεται επί τα έσω και ωλενίως ως εν τω βάθει κινητικός κλάδος και κατόπιν φέρεται ραχιαία και κερκιδικά καταδύομενη κέτω από την περιτονία των μυών του υποθέναρος και γύρω από το άγκιστρο του αγκιστρωτού οστού, παρέχοντας νεύρωση στους αυτόχθονες μύς (Αναπαραγωγή από: *Nerve Surgery; Susan E. Mackinnon, ed.; New York; Thieme Medical Publishers Inc., 2016*).

Το μέσο νεύρο παρουσιάζει ελαφρώς πολυπλοκότερη δομή, καθώς περιέχει περισσότερες δεσμίδες (Εικόνα 5). Στο αντιβράχιο, το πρόσθιο μεσόστιο νεύρο βρίσκεται

κερκιδικά ή οπισθίως του μέσου νεύρου ως μεμονωμένη ομάδα. Η περιφερική τοπογραφία του μέσου νεύρου αντιστοιχεί σε μεγάλο βαθμό στην περιφερική ανατομία. Οι κινητικές δεσμίδες για τους μύες του θέναρος βρίσκονται κερκιδικά, ενώ οι αισθητικές ίνες για το 3<sup>ο</sup> μεσοδακτύλιο διάστημα βρίσκονται ωλενίως.



**Εικόνα 5: Εσωτερική τοπογραφική ανατομία του μέσου νεύρου**

Στο εγγύς αντιβράχιο, οι δεσμίδες του στρογγύλου πρηνιστή (PQ) αποτελούν την πιο πρόσθια δομή, ακολουθούμενες επί τα εσω και από πρόσθια προς οπίσθια από τις δεσμίδες του κερκιδικού καμπτήρα (FCR), μακρού παλαμιάιου (PL) και επί πολλής καμπτήρα των δακτύλων (FDS). Η δεσμίδα του πρόσθιου μεσόστιου νεύρου βρίσκεται σε οπίσθια θέση (Αναπαράγωγή από: *Nerve Surgery; Susan E. Mackinnon, ed.; New York; Thieme Medical Publishers Inc., 2016*).

Κατόπιν της μελέτης του Sunderland, θεωρήθηκε για μακρό χρονικό διάστημα ότι οι κινητικές και αισθητικές ίνες κεντρικότερα παρέμεναν διεσπαρμένες διάχυτα, ακολουθώντας μια δαιδαλώδη πορεία και σχηματίζοντας πλέγματα, μέχρι να οργανωθούν σαφέστερα σε αμιγώς κινητικές και αισθητικές ομάδες περιφερικότερα (Sydney Sunderland, 1978). Μεταγενέστερες μελέτες απέδειξαν ότι αυτός ο ισχυρισμός είναι αναληθής. Ο Brushart μελέτησε την τοπογραφία του μέσου νεύρου σε διατομές 1cm από τα κερκιδικά

δακτυλικά νεύρα του αντίχειρα, δείκτη και μέσου μέχρι το περιφερικό βραχιόνιο πλέγμα, καταλήγοντας ότι οι άξονες των δακτυλικών νεύρων διατηρούν μία σαφή τοπογραφική διαρρύθμιση ακόμα και κεντρικότερα στο άνω άκρο (T. M. Brushart, 1991). Είναι πλέον σαφές ότι αυτή η εσωτερική τοπογραφία είναι πιο σταθερή και σαφής από ότι πίστευαν οι ερευνητές στο παρελθόν. Η κατανόηση αυτής της ανατομικής τοπογραφίας είναι εξαιρετικά σημαντική για τον χειρουργό προκειμένου να επιτευχθεί η καλύτερη δυνατή λειτουργική αποκατάσταση κατόπιν νευρικής βλάβης.

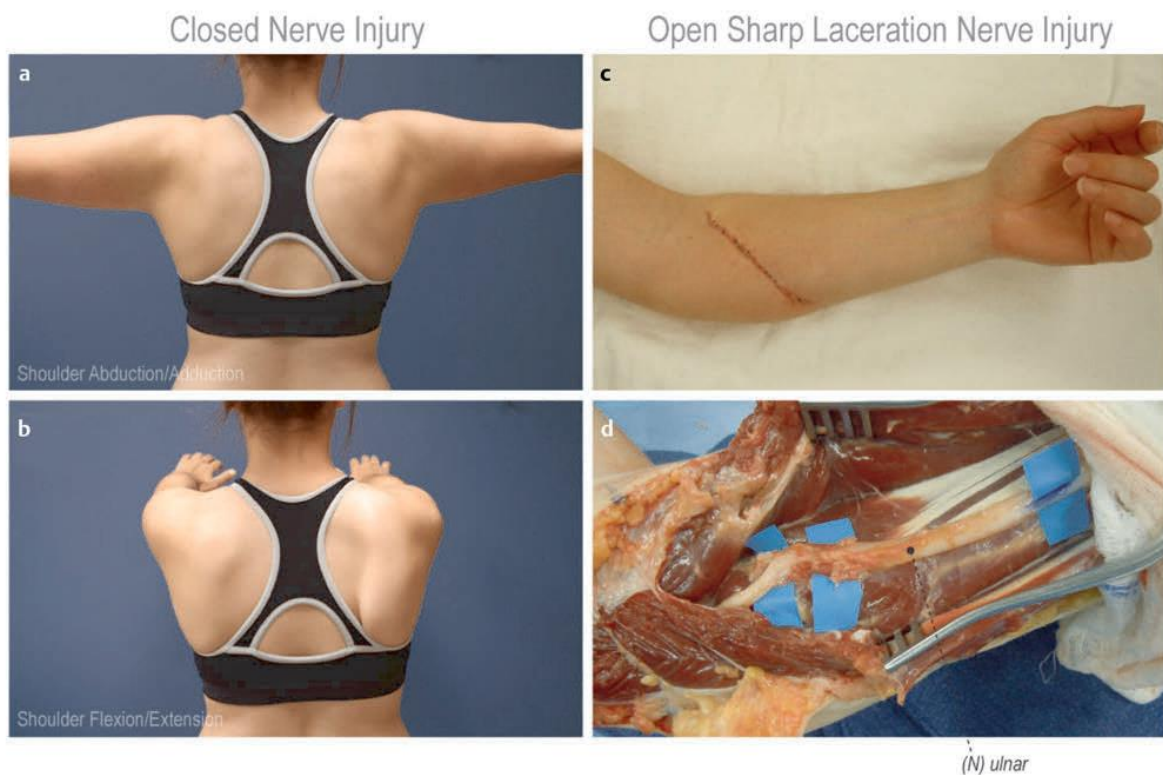
### 1.3 Κακώσεις περιφερικών νεύρων

Γύρω στους 100.000 ασθενείς σε Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής και Ευρώπη υποβάλλονται σε χειρουργικές επεμβάσεις των περιφερικών νεύρων ετησίως. Υπολογίζεται ότι ο τραυματισμός ενός μέσου ή ενός ωλενίου νεύρου κοστίζουν περίπου \$70.000 και \$45.000 αντίστοιχα, με το 87% αυτού του κόστους να αντιστοιχεί στη χαμένη παραγωγική εργασία (Kelsey, 1997). Κακώσεις εξελκυσμού κατόπιν τροχαίων ατυχημάτων και διατιτραίνοντα τραύματα από νήσον ή τέμνον όργανο, ή κατάγματα των μακρών οστών αποτελούν τη συνήθη αιτιολογία νευρικής κάκωσης στον κοινό πληθυσμό (Kouyoumdjian, 2006; Noble, Munro, Prasad, & Midha, 1998; Siemionow & Brzezicki, 2009). Αντιστοίχως, τραυματισμοί από πυροβόλα όπλα ή εκρηκτικές ύλες αποτελούν τη συνηθέστερη αιτία νευρικής βλάβης στο στρατιωτικό προσωπικό (Birch et al., 2012; Maricevic & Erceg, 1997; Razaq, Yasmeen, Butt, Akhtar, & Mansoor, 2015).

#### 1.3.1 Μηχανισμός κακώσεων περιφερικών νεύρων

Πιο εμπεριστατωμένα, οι κακώσεις των περιφερικών νεύρων μπορεί να είναι αποτέλεσμα μηχανικών, θερμικών, ισχαιμικών και χημικών παραγόντων. Οι μηχανικοί παράγοντες είναι η συμπίεση, η διατομή και η διάταση. Η μικρότερη βλάβη προκαλείται από τοπικούς πιεστικούς παράγοντες, οι οποίοι επιδρούν στην ενδονευρική μικροκυκλοφορία και προκαλούν ενδονευρικό οίδημα, αναστολή της αγωγής, ισχαιμία και ίνωση του νεύρου. Η αναστολή αυτή είναι συνήθως παροδική και ταχέως αναστρέψιμη μετά την άρση της πίεσης. Ωστόσο, όταν ο πιεστικός παράγοντας δρα επί μακρό χρόνο, επηρεάζεται και η κινητική αγωγιμότητα και εκδηλώνονται δομικές μεταβολές στις νευρικές ίνες και το συνδετικό υπόστρωμα του νεύρου.

Ο μηχανισμός κάκωσης των περιφερικών νεύρων είναι εξαιρετικά σημαντικός, καθώς μπορεί να καθοδηγήσει αποφασιστικά στην πρώιμη αντιμετώπιση των κακώσεων, αλλά και να καθορίσει την πρόγνυσή τους (Ray & Mackinnon, 2010). Ίσως η σημαντικότερη διάκριση στον καθορισμό του μηχανισμού των κακώσεων των περιφερικών νεύρων είναι μεταξύ διατιτραινόντων ή ανοικτών και αμβλέων ή κλειστών τραυμάτων (Εικόνα 6). Τα διατιτραίνοντα τραύματα μπορεί να οφείλονται σε τραυματισμό από τέμνον ή νήσον όργανο ή από πυροβόλο όπλο. Θλαστικά τραύματα από γυαλί ή με μαχαίρι χρήζουν άμεσης χειρουργικής αντιμετώπισης σε περίπτωση εστιακού νευρολογικού ελλείμματος, καθώς η πιθανότητα μερικής ή πλήρους διατομής είναι μεγάλη.



**Εικόνα 6: Κακώσεις από αμβλύ ή διατιτραίνον τραύμα**

Η αντιμετώπιση των κακώσεων των περιφερικών νεύρων σχετίζεται άμεσα με τον μηχανισμό κάκωσης. (a) Κλειστή νευρική κάκωση από διάταση του μακρού θωρακικού νεύρου κατά την διάρκεια αθλητικής δραστηριότητας με επακόλουθο πτερυγισμό της ωμοπλάτης. (b) Θλαστικό τραύμα του αντιβραχίου με πλήρη διατομή του ωλενίου νεύρου (Αναπαραγωγή από: *Nerve Surgery; Susan E. Mackinnon, ed.; New York; Thieme Medical Publishers Inc., 2016*).

Σε αντίθεση με τους τραυματισμούς από τέμνον ή νήσον όργανο, οι κακώσεις από πυροβόλο όπλο δεν χρήζουν συνήθως άμεσης χειρουργικής αντιμετώπισης, εκτός από τη περίπτωση σύστοιχου αγγειακού τραύματος. Η πλειοψηφία των κακώσεων αυτών δεν συνοδεύεται από διατομή του νεύρου. Σε περίπτωση τραυμάτων με συνοδό αγγειακή βλάβη που πρέπει να αποκατασταθεί άμεσα, τα νευρικά κολοβώματα μπορεί να βρεθούν και η βλάβη να αποκατασταθεί. Ωστόσο, σε αυτές τις περιπτώσεις, το εύρος της βλάβης δεν είναι εύκολα αντιληπτό και η εκτομή της βλάβης μπορεί να μη γίνει σε υγιή όρια. Γι'αυτο, πολλές φορές μία αναμονή 2-3 εβδομάδων είναι ιδανική καθότι επιτρέπει στον ουλώδη ιστό να οριοθετηθεί με σαφήνεια καθιστώντας αποτελεσματικότερη την χειρουργική αποκατάσταση. Σε περίπτωση συντηρητικής αντιμετώπισης, οι κακώσεις των περιφερικών νεύρων από πυροβόλο όπλο αποκαθίστανται στην συντηρητική τους πλειοψηφία σε διάστημα 3 ως 6 μηνών (Brien, Kushner, Brien, & Wiss, 1995). Διαδοχικές κλινικές εξετάσεις και ηλεκτροφυσιολογικές μελέτες μπορούν να συνεισφέρουν στο να παρθεί μια κλινική απόφαση σε σχέση με το αν προκύπτει ένδειξη για χειρουργική αντιμετώπιση.

Η νευρική κάκωση από αμβλύ τραυματισμό μπορεί να διαχωριστεί περαιτέρω σε τραυματισμό από συμπίεση, εξελκυσμό ή διάταση. Οι κακώσεις από συμπίεση αποτελούν τη συνηθέστερη αιτία νευρικής βλάβης, οδηγώντας σε παροδική νευραπραξία. Η αντιμετώπιση είναι συνήθως συντηρητική. Κακώσεις δια εξελκυσμού, όπως αυτή του βραχιονίου πλέγματος, συχνά προκύπτουν ως αποτέλεσμα μηχανισμού υψηλής ενέργειας, όπως τροχαία ατυχήματα. Αυτές οι κακώσεις είναι δύσκολο να αντιμετωπιστούν και έχουν συχνά κακή πρόγνωση.



### 1.3.2 Ταξινόμηση κακώσεων περιφερικών νεύρων

Η ταξινόμηση των κακώσεων των περιφερικών νεύρων είναι κριτικής σημασίας, αφού όχι μόνο καθοδηγεί την θεραπεία αλλά και παρέχει πληροφορίες σχετικά με την πρόγνωση αυτών των κακώσεων (Πίνακας 1). Το 1943, ο Herbert Seddon περιέγραψε πρώτος 3 ιστολογικές κατηγορίες βασισμένες στο βαθμό της νευρικής βλάβης (Seddon, 1943): νευραπραξία, αξονότμηση και νευρότμηση. Το 1951, ο Sunderland εισήγαγε μία περαιτέρω ταξινόμηση της νευρικής βλάβης σε 5 βαθμούς (I-V) (S. Sunderland, 1951).

**Πίνακας 1: Ταξινόμηση κακώσεων περιφερικών νεύρων**

Degree of Nerve Injury		Recovery Classification	Recovery	Nerve Conduction Studies	
<b>Seddon*</b>	<b>Sunderland***</b>			<b>Fibrillations</b>	<b>MUAPS</b>
Neuroapraxia	I	Favorable	Spontaneous, fast, complete	None	Normal
Axonotmesis	II	Favorable	Spontaneous, slow, complete	Present	Present
	III	Favorable	Spontaneous, slow, incomplete	Present	Present
	IV	Unfavorable	No recovery	Present	Absent
Neurotmesis	V	Unfavorable	No recovery	Present	Absent
	VI (mixed)***	Mixed	Variable	Present	

Abbreviation: MUAPs, motor unit action potentials.

\* Seddon HJ. Three types of nerve injury. Brain 1943;66(4):237–288.

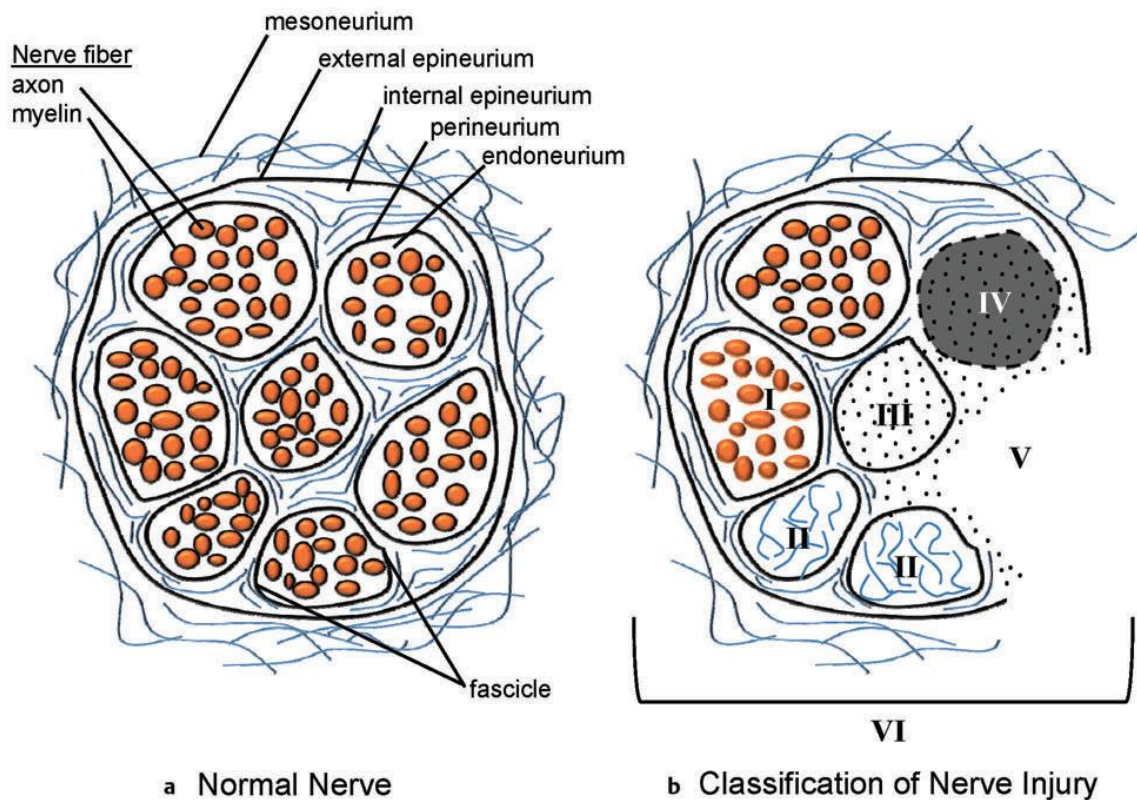
\*\* Sunderland S. A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. Brain 1951;74(4):491–516.

\*\*\* Mackinnon SE, Dellon AL, eds. Surgery of the Peripheral Nerve. Thieme, 1988.

Παρά το γεγονός ότι η ταξινόμηση Seddon είναι αυτή που χρησιμοποιείται περισσότερο, η ταξινόμηση Sunderland παρέχει καλύτερη περιγραφή της παθοφυσιολογίας της νευρικής βλάβης. Η νευραπραξία κατά Seddon, αντιστοιχεί στην πρώτου βαθμού κάκωση κατά Sunderland, και χαρακτηρίζεται από τοπική καταστροφή του ελύτρου της μυελίνης χωρίς βλάβη στους υποκείμενους νευρικούς ιστούς. Δεδομένου ότι οι μεγάλες κινητικές νευρικές ίνες είναι γενικά πιο ευάλωτες στην πίεση συγκριτικά με τις λεπτές αισθητικές νευρικές ίνες, ο μηχανισμός αυτός της κάκωσης συνήθως καταλήγει σε παράλυση (έκπτωση της κινητικής αγωγιμότητας) και δεν επηρεάζει την αισθητική αγωγιμότητα του νεύρου. Ένα παράδειγμα αποτελεί το «σύνδρομο του Σαββατόβραδου ή σύνδρομο των

ερωτευμένων», το οποίο χαρακτηρίζεται από παράλυση των εκτεινόντων μυών λόγω πίεσης του κερκιδικού νεύρου στο βραχίονα. Δεδομένου ότι η βλάβη της μυελίνης περιορίζεται στη θέση της πίεσης, ο ηλεκτρικός ερεθισμός του νεύρου σε επίπεδο περιφερικότερο της κάκωσης συνήθως αναδεικνύει πλήρη, φυσιολογική λειτουργία του πάσχοντος νευράξονα. Η αξονότμηση κατά Seddon, αντιστοιχεί στη δεύτερου βαθμού κάκωση κατά Sunderland και χαρακτηρίζεται από διαταραχή του νευράξονα με ακέραιους τους ενδονευρικούς σωλήνες. Στις κακώσεις αυτές, επακολουθεί η Βαλεριανή εκφύλιση (εκφύλιση Waller) η οποία χαρακτηρίζεται από κατακερματισμό του ελύτρου της μυελίνης και αποδόμηση των κυττάρων Schwann. Λόγω του ότι οι ενδονευρικοί σωλήνες δεν προσβάλλονται αναμένεται αποκατάσταση της φυσιολογικής λειτουργίας του νεύρου με την αναγέννηση του νευράξονα. Ο χρόνος αποκατάστασης εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως η ηλικία του ασθενούς και το επίπεδο της κάκωσης. Η νευραπραξία συνήθως αποκαθίσταται σε μερικές εβδομάδες, ενώ η αξονότμηση συνήθως απαιτεί μερικούς μήνες. Χειρουργική θεραπεία σπανίως είναι απαραίτητη στις κακώσεις αυτές. Η νευρότμηση είναι η λύση της συνέχειας, όχι μόνο του νευράξονα, αλλά όλων των δομών του νεύρου (ενδονευρικοί σωλήνες, ενδονεύριο, περινεύριο και επινεύριο). Ο Seddon, με τον όρο αυτό, περιγράφει τις κακώσεις εκείνες στις οποίες το νεύρο είναι πλήρως κατεστραμμένο ή πολύ σοβαρά αποδιοργανωμένο από ουλώδη ιστό, ώστε η αυτόματη αναγέννηση είναι αδύνατη. Οι περισσότερες από τις κακώσεις αυτές είναι αποτέλεσμα πλήρους ή μερικής διατομής του νεύρου. Ο Sunderland, διέκρινε τη νευρότμηση σε τρίτου, τετάρτου και πέμπτου βαθμού ανάλογα με τη λύση ή όχι της συνέχειας του ενδονεύριου, του περινεύριου ή/και του επινεύριου. Στην τρίτου βαθμού κάκωση κατά Sunderland, οι ενδονευρικοί σωλήνες υφίστανται βλάβη, αλλά το περινεύριο και το επινεύριο παραμένουν ακέραια, και αναπτύσσεται ουλώδης ιστός εντός των νευρικών δεσμίδων, ο οποίος παρεμποδίζει την

αναγέννηση του νευράξονα. Ενώ ορισμένοι νευράξονες συνεχίζουν δια του τραυματισμένου τμήματος του νεύρου χωρίς πλήρη βλάβη, ο ρυθμός αναγέννησής τους είναι βραδύς και συχνά εκτρέπονται από τη φυσιολογική τους πορεία κατά μήκος των ενδονευρικών τους σωλήνων.



**Εικόνα 7: Δομή περιφερικών νεύρων και ταξινόμηση νευρικών κακώσεων**

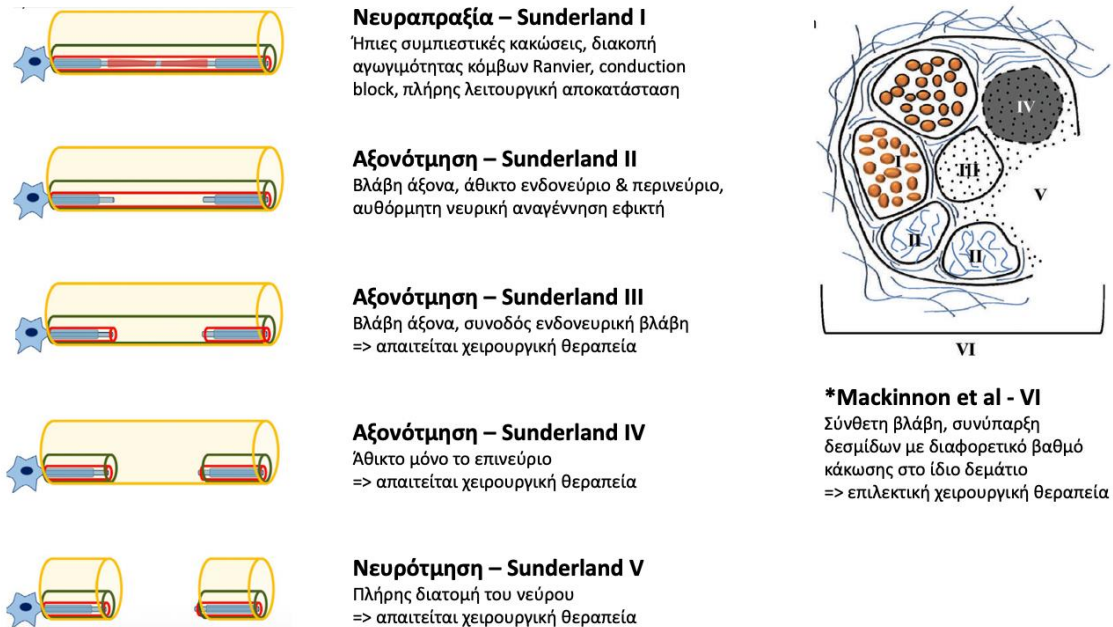
(a) Σχηματική απεικόνιση διατομής φυσιολογικού περιφερικού νεύρου. (b) Διατομή περιφερικού νεύρου με μικτή βλάβη βαθμού VI. Η δεσμίδα άνω και αριστερά είναι φυσιολογική. Με φορά αντίστροφη των δεικτών του ρολογιού, η δεσμίδα II παρουσιάζει βλάβη 1ου βαθμού (νευραπραξία) με τμηματική απομυελίνωση. Η δεσμίδα II παρουσιάζει βλάβη 2ου βαθμού (αξονότμηση) με βλάβη τόσο του άξονα όσο και της μυελίνης, με το ενδονεύριο να παραμένει άθικτο. Η δεσμίδα III παρουσιάζει βλάβη 3ου βαθμού, δηλαδή βλάβη άξονα, μυελίνης και ενδονευρίου, με το περινεύριο να παραμένει άθικτο. Η δεσμίδα IV έχει υποστεί βλάβη 4ου βαθμού, με μόνο το επινεύριο να παραμένει άθικτο. Η δεσμίδα V έχει υποστεί βλάβη 5ου βαθμού, με πλήρη διατομή του νεύρου. Ο χειρουργός θα πρέπει να διαχωρίσει τις δεσμίδες με βλάβη IV και V που χρειάζονται χειρουργική αποκατάσταση, από τις υπόλοιπες, για τις οποίες αρκεί μια απλή νευρόλυση (Αναπαραγωγή από: *Nerve Surgery; Susan E. Mackinnon, ed.; New York; Thieme Medical Publishers Inc., 2016*).

Το τελικό αποτέλεσμα είναι η ανώμαλη και άναρχη επανανεύρωση η οποία εκτός του ότι διαφέρει ανατομικά από την αρχική έχει και διαφορετική ποιότητα. Η ενδονευρική ουλή στο σημείο της αναγέννησης του νευράξονα, χωρίς λύση της συνεχείας του νεύρου,

ονομάζεται νεύρωμα-σε-συνέχεια. Θεραπευτικά, το νεύρωμα αυτό αντιμετωπίζεται με μικροχειρουργική ενδονευρική παρασκευή και αφαίρεση του ουλώδους ιστού. απαιτείται χειρουργική εκτομή ολόκληρου του κατεστραμμένου τμήματος του νεύρου και τελικοτελική αποκατάσταση με νευρικό μόσχευμα. Στην τετάρτου βαθμού κάκωση κατά Sunderland, το περινεύριο και το ενδονεύριο καταστρέφονται με αποτέλεσμα την πλήρη αποδιοργάνωση των νευρικών δεσμίδων. Μόνο το επινεύριο παραμένει ακέραιο. Η νευρική βλάβη που προκύπτει περιγράφεται επίσης ως νεύρωμα-σε-συνέχεια, αλλά είναι πολύ βαρύτερη της προηγούμενης, δεδομένου ότι όλα τα σημαντικά δομικά στοιχεία του νεύρου έχουν καταστραφεί. Θεραπευτικά, το νεύρωμα αυτό αντιμετωπίζεται με χειρουργική εκτομή ολόκληρου του κατεστραμμένου τμήματος του νεύρου και τελικοτελική αποκατάσταση με νευρικό μόσχευμα. Η θεραπεία είναι παρόμοια σε κακώσεις πέμπτου βαθμού, οι οποίες χαρακτηρίζονται από πλήρη λύση της συνεχείας με κάκωση όλων των περιβλημάτων του νεύρου. Η Mackinnon πρόσθεσε στη ταξινόμηση του Sunderland μία έκτη κατηγορία (VI) που περιλαμβάνει κακώσεις μικτού τύπου, με πρόγνωση που ποικίλει ανάλογα με την επί μέρους βλάβη των μεμονωμένων δεσμίδων (Εικόνα 7).

Η διάκριση των βαθμών της νευρικής κάκωσης κατά την πρώιμη περίοδο που ακολουθεί την Βαλεριανή εκφύλιση και πριν από την έναρξη της νευρικής αναγέννησης μπορεί να επιτευχθεί μέσω της ηλεκτροφυσιολογικής μελέτης. Η παρουσία ινιδισμών (fibrillations) μπορεί να διακρίνει τις κακώσεις 1ου βαθμού (νευραπραξία) από την πιο σύνθετη βλάβη στις κακώσεις 2ου ως 5ου βαθμού. Η παρουσία MUAPs (motor unit action potentials) καταδεικνύει την παρουσία παράπλευρων νευρικών εκβλαστήσεων, που παρατηρείται σε βλάβες 2ου και 3ου βαθμού από τις 12 εβδομάδες και μετά, αλλά όχι σε βλάβες 4ου και 5ου βαθμού. Σχετικά με την πρόγνωση, οι κακώσεις 1ου-3ου βαθμού έχουν καλή πρόγνωση με συντηρητική θεραπεία, εκτός αν παρεμβάλεται σημαντική συμπίεση του

νεύρου είτε στο σημείο της κάκωσης είτε περιφερικότερα, οπότε μπορεί να ενδείκνυται χειρουργική αποσυμπίεση. Σε ότι αφορά τις κακώσεις 4ου και 5ου βαθμού, η χειρουργική θεραπεία κρίνεται σε κάθε περίπτωση απαραίτητη.

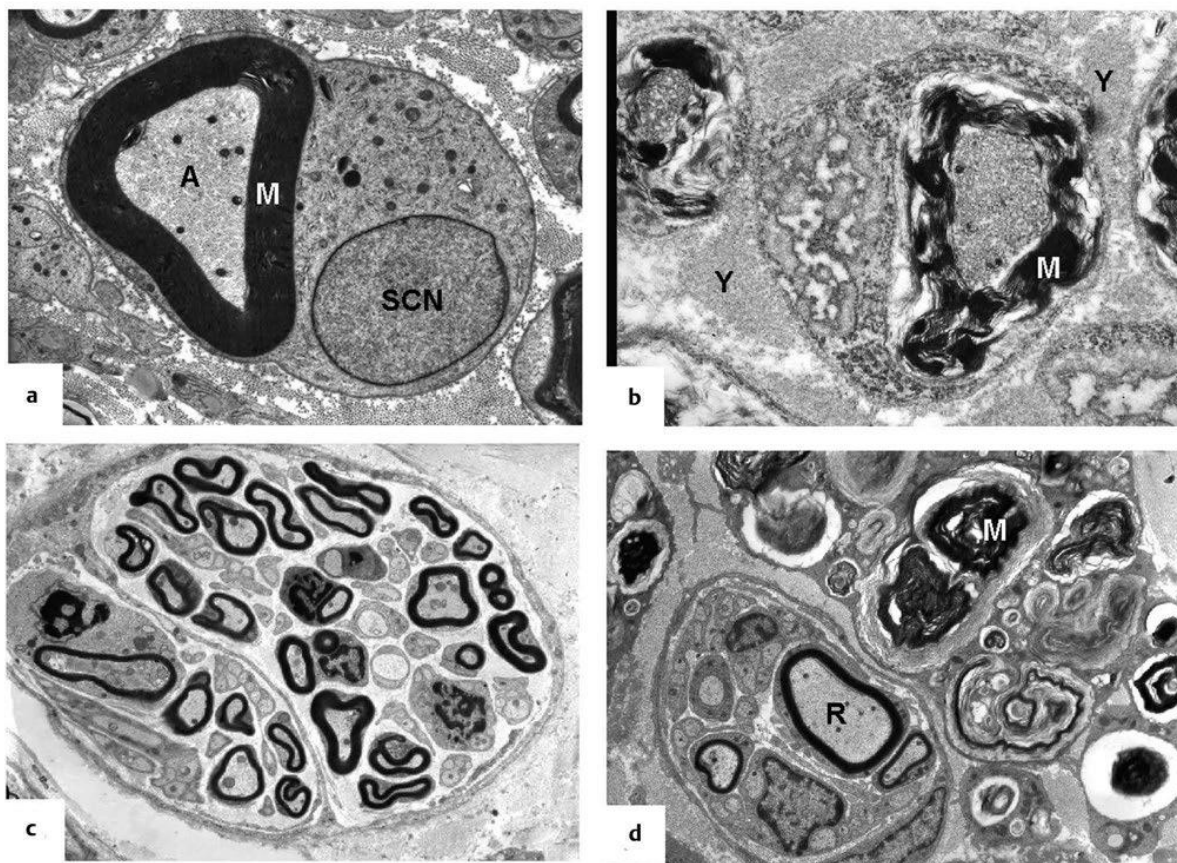


Εικόνα 8: Σχηματική απεικόνιση ταξινόμησης κακώσεων περιφερικών νεύρων



### 1.3.3 Φυσιολογία της εκφύλισης και αναγέννησης του νεύρου

Αποτέλεσμα της περιφερικής νευρικής βλάβης αποτελεί μια οργανωμένη και συγκεκριμένη αλληλουχία ιστοπαθολογικών γεγονότων η οποία στοχεύει στη λειτουργική επανασύνδεση του νευρικού κυττάρου με το περιφερικό όργανο στόχο. Η νευρική αναγέννηση προϋποθέτει τη διατήρηση του νευρικού σώματος, την επανασύνδεση του νευράξονα με τα σωστά κύτταρα-στόχους καθώς και την επανασύνθεση των ελύτρων της μυελίνης, λαμβάνει χώρα δε σε δυο στάδια.



**Εικόνα 9: Βαλλεριανή εκφύλιση & νευρική αναγέννηση**

(a) Φυσιολογική εμμύελη νευρική ίνα. (b) Μετά από νευρική κάκωση, λαμβάνει χώρα βαλλεριανή εκφύλιση. Τα κύτταρα Schwann πολλαπλασιάζονται και μετατρέπονται σε φαγοκύτταρα. Διακρίνονται περιοχές μυελικής και αξονικής εκφύλισης. (c) Κλασική αναγεννητική μονάδα, με εμμύελες και αμύελες ίνες. (d) Αναγεννητική μονάδα στα αριστερά και βαλλεριανή εκφύλιση στα δεξιά, με κατάλοιπα μυελίνης.

Το πρώτο στάδιο περιλαμβάνει την απομάκρυνση του κατεστραμμένου νευρικού ιστού και των ελύτρων της μυελίνης, διαδικασία γνωστή ως Βαλλεριανή εκφύλιση (Εικόνα

9). Το 1850, ο August Waller περιέγραψε την αποδόμηση του υπογλώσσιου και του γλωσσοφαρυγγικού νεύρου του βατράχου μετά από διατομή τους (Waller, 1851). Αργότερα, ο Cajal επιβεβαίωσε τις αρχικές παρατηρήσεις του Waller, ενώ ταυτόχρονα περιέγραψε με λεπτομερή τρόπο την αξονική εκφύλιση (Ramón y Cajal, 1959).



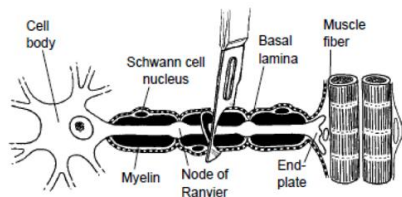
**Εικόνα 10: Περιφερική νευρική αναγέννηση.**

Σε αντίθεση με το κεντρικό νευρικό σύστημα, τα περιφερικά νεύρα έχουν την ικανότητα να αναγεννούν αξονες που έχουν υποστεί βλάβη. (a) Άθικτος εμμύελος άξονας. (b) Κατόπιν τραύματος. Ο άξονας οπισθοχωρεί στο ύψος ενός κομβίου του Ranvier. Τα κύτταρα Schwann μετατρέπονται σε φαγοκύτταρα και μαζί με τα μακροφάγα προετοιμάζουν το περιφερικό κολόβωμα για τη λήψη αναγεννηθέντων αξόνων από το κεντρικό κολόβωμα. (c) Οι νέοι άξονες δημιουργούν εκβλαστήσεις προς την περιφέρεια. (d) Τα κύτταρα Schwann ξεκινούν τη εκ νέου μυελίνωση τους αναγεννηθέντος άξονα (Αναπαράγωγή από: *Nerve Surgery*; Susan E. Mackinnon, ed.; New York; Thieme Medical Publishers Inc., 2016).

Με βάση τις παρατηρήσεις του Waller και του Cajal και σύμφωνα με νεότερες δομικές και μοριακές μελέτες ο όρος Βαλλεριανή εκφύλιση αναφέρεται σε μια αλληλουχία γεγονότων, η οποία λαμβάνει χώρα στο περιφερικό νευρικό κολόβωμα και η οποία

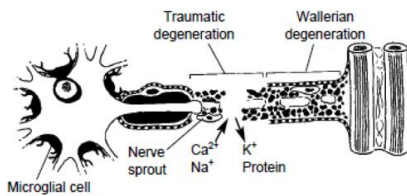


περιλαμβάνει την εκφύλιση του αξονοπλάσματος και του αξονολύμματος εντός 24 ωρών στις μικρότερες και 48 ωρών στις μεγαλύτερες νευρικές ίνες (Stoll, Griffin, Li, & Trapp, 1989). Προσπάθεια εκτίμησης της ταχύτητας της Βαλλεριανής εκφύλισης έγινε για πρώτη φορά από την Lubinska το 1977, σύμφωνα με την οποία ανέρχεται ανάλογα με το πάχος της νευρικής ίνας σε 45,6 mm/24h για τις παχύτερες ίνες μέχρι 252 mm/24h για τις λεπτότερες (Lubinska, 1977).



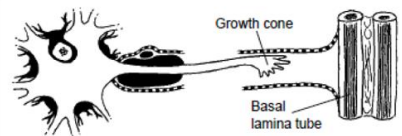
### Διατομή άξονα

Τραυματική εκφύλιση στη ζώνη βλάβης



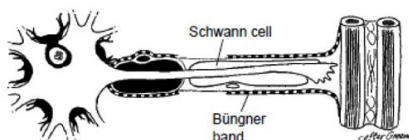
### Βαλλεριανή εκφύλιση

Κατόπιν αξονικής βλάβης  
Ξεκινά 24-96 μετά τη βλάβη  
Κύτταρα Schwann & μακροφάγα  
Ολοκληρώνεται σε 6-8 εβδομάδες



### Αυξητικός κώνος

Καθοδήγηση από τη βασική μεμβράνη  
Αναγέννηση 1mm/day – 1inch/month



### Κύτταρα Schwann

Ευθυγράμμιση κατά μήκος βασικής μεμβράνης  
Σχηματισμός δεσμίδων Büngner

### Εικόνα 11: Σχηματική απεικόνιση Βαλλεριανής εκφύλισης

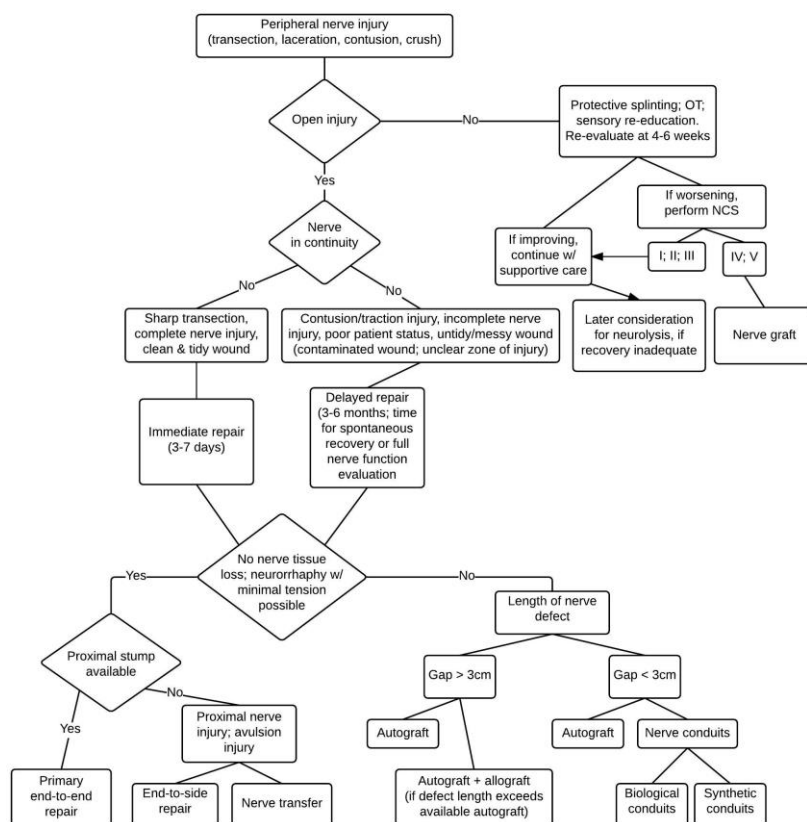
Προσαρμογή από: Seckel BR. *Enhancement of peripheral nerve regeneration. Muscle Nerve.* 1990 Sep;13(9):785-800.

Στην αξονική κατάρρευση συμβάλλει η αθρόα ενδοκυττάρια εισροή ιόντων ασβεστίου και η ενεργοποίηση αξονικών πρωτεασών, καθώς και ένα πλήθος κυττάρων στα οποία συμπεριλαμβάνονται μακροφάγα, κύτταρα Schwann και νευρογλοιακά κύτταρα του περιφερικού νευρικού συστήματος (Schlaepfer & Bunge, 1973).

Προϋπόθεση του δεύτερου σταδίου αποτελεί η δημιουργία ενός περιβάλλοντος που θα προάγει την ανάπτυξη των νευραξόνων. Για το λόγο αυτό τα κύτταρα Schwann μεταπίπτουν σε ένα στάδιο χαμηλότερης διαφοροποίησης, πολλαπλασιάζονται και ευθυγραμμίζονται κατά μήκος των σωλήνων της βασικής μεμβράνης (δέσμες του Büngner) καθοδηγώντας έτσι τους αναπτυσσόμενους νευράξονες (Εικόνα 11). Τελικά οι νευράξονες θα αποκτήσουν έλυτρο μυελίνης από τα διαφοροποιημένα πλέον κύτταρα Schwann (Stoll & Muller, 1999). Ενώ ακόμη υπάρχουν υπολείμματα μυελίνης, τα κύτταρα Schwann ξεκινούν τη διαδικασία της μυελίνωσης μόλις έλθουν σε επαφή με τους αναγεννούμενους νευράξονες (Satinsky, Pepe, & Liu, 1964) (Εικόνα 10).

## 2.1 Νευρική Αποκατάσταση

Οι εξελίξεις της μικροχειρουργικής τεχνικής, η εφαρμογή καθορισμένων κλινικών πρωτοκόλλων, η καλύτερη γνώση της παθοφυσιολογίας των νευρικών κακώσεων και η βαθύτερη επίγνωση της εσωτερικής τοπογραφίας των περιφερικών νεύρων έχουν συμβάλει καθοριστικά στην αλματώδη πρόοδο της χειρουργικής των περιφερικών νεύρων κατά τις τελευταίες δεκαετίες (Ray & Mackinnon, 2010; Siemionow & Brzezicki, 2009). Η χειρουργική τακτική εξαρτάται από τον τύπο, τον βαθμό και το επίπεδο της νευρικής κάκωσης (Εικόνα 12).



**Εικόνα 12: Αλγόριθμος χειρουργικής αποκατάστασης περιφερικών νεύρων**  
I-IV: Βαθμός νευρικής βλάβης κατά Sunderland, NCS: nerve conduction studies, OT: occupational therapy. Αναπαράγωγή από: Panagopoulos et al (2017). *The Present and Future for Peripheral Nerve Regeneration. Orthopedics, 40(1), e141-e156.*

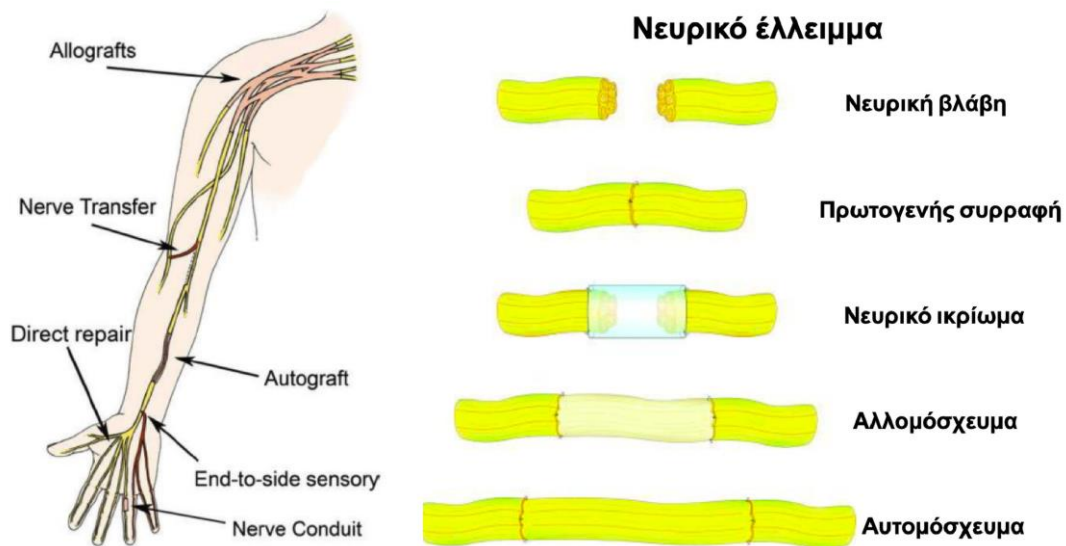
Η απευθείας επινευρική τελικο-τελική μικροχειρουργική συρραφή χωρίς τάση των νευρικών κολοβωμάτων αποτελεί τη θεραπεία εκλογής στη χειρουργική των περιφερικών νεύρων. Ωστόσο, αυτό είναι συνήθως δυνατό σε περίπτωση διατομής από νήσοντα ή τέμνοντα όργανα, με μικρό νευρικό έλλειμμα και χωρίς ιδιαίτερη καταστροφή των νευρικών ιστών. Όταν η τελικο-τελική συρραφή χωρίς τάση δεν είναι δυνατή, πρέπει να αναζητηθεί κάποια εναλλακτική προσφορότερη μέθοδος, όπως η χρήση νευρικών αυτομοσχευμάτων ή αλλομοσχευμάτων, βιολογικών ή συνθετικών νευρικών αγωγών, ή η χρήση νευρομεταφορών (Griffin, Hogan, Chhabra, & Deal, 2013; Kline, 2000) (Πίνακας 2). Η [Εικόνα 13](#) συνοψίζει τις υπάρχουσες θεραπευτικές εναλλακτικές σε περίπτωση νευρικής βλάβης.

**Πίνακας 2: Θεραπευτικές επιλογές σε περίπτωση μη δυνατής τελικο-τελικής συρραφής**

Option	Indications	Pros	Cons
Nerve autografts	The gold standard for bridging irreducible nerve gaps	Bridge nerve gap, nonimmunogenic, variety of donor nerves available	Sensory loss, scarring, neuroma formation, second incision, limited supply, inferior to tension-free primary repair
Nerve allografts	Reserved for devastating or segmental injury	Readily accessible, unlimited supply, bridge nerve gap, avoid donor site morbidity	Potential side effects of host immunosuppression
Nerve transfers	Proximal upper limb injury Brachial plexus reconstruction Segmental nerve injury	Avoid donor site morbidity, potential earlier reinnervation due to proximity of donor nerves to target motor endplates	Possible loss of function from donor nerve site, donor muscle no longer an acceptable donor for muscle transfer
Nerve conduits	Short nerve defects (up to 3 cm)	Readily available, avoids donor site morbidity, bridges a nerve gap, barrier to scar tissue infiltration, local neurotrophic factor accumulation	Variable outcomes, lack of laminin scaffold and Schwann cells, use limited to short nerve gaps

Προσαρμογή από: Panagopoulos et al (2017). *The Present and Future for Peripheral Nerve Regeneration. Orthopedics, 40(1), e141-e156.*

Καθοριστικής σημασίας είναι, επίσης, η σωστή χρήση και διατήρηση σε άριστη κατάσταση του κατάλληλου χειρουργικού εξοπλισμού. Προσοφθάλμιοι μεγενθυντικοί φακοί (surgical loupes) ή χειρουργικό μικροσκόπιο, λαβίδες σύλληψης ιστών και ραμμάτων, λαβίδες χρυσοχόων (jeweller's forceps), μικροβελονοκάτοχοι με αμβλύ ή κυρτό άκρο και με ή χωρίς ασφάλιση (Castroviejo needle holders), μικροψαλίδια με ευθύ ή κυρτό άκρο, μικροδιαστολείς αυλού, διπολική διαθερμία, μικροαγγειολαβίδες, χρωματιστά χειρουργικά πεδία και τα κατάλληλα μικρορράματα αποτελούν μέρος του στοιχειώδους εξοπλισμού που πρέπει να διαθέτει ο μικροχειρουργός (Εικόνα 14 & εικόνα 15).



**Εικόνα 13: Νευρική βλάβη - χειρουργικές εναλλακτικές**

Αριστερά - Αναπαραγωγή από: Ray & Mackinnon. *Management of nerve gaps: autografts, allografts, nerve transfers, and end-to-side neuroorrhaphy. Exp Neurol. 2010;223:77-85.*



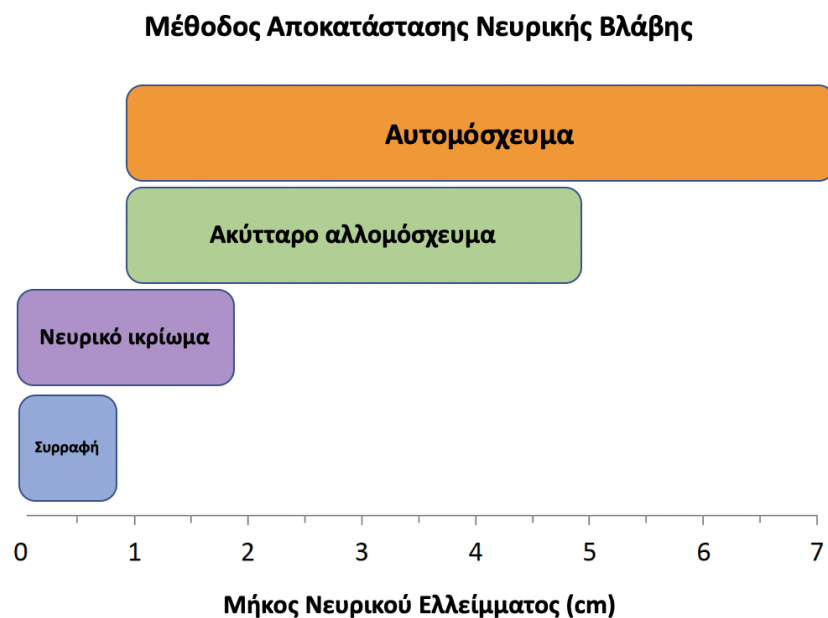
Εικόνα 14: Διαμόρφωση μικροχειρουργείου



Εικόνα 15: Εξοπλισμός μικροχειρουργικής

Εξίσου σημαντική είναι και η προσήλωση στις βασικές αρχές της μικροχειρουργικής τεχνικής. Η άνετη θέση του μικροχειρουργού, η άριστη τεχνική κατάρτηση, ο κατάλληλος φωτισμός, η επαρκής ανάπαυση και η ψυχική ηρεμία, αποτελούν τους παράγοντες που θα επιτρέψουν μία επιτυχή χειρουργική επέμβαση.

Στην παρακάτω εικόνα, ακολουθεί σχηματική απεικόνιση των μεθόδων νευρικής αποκατάστασης, με βάση το μήκος του νευρικού ελλείμματος που πρέπει να αποκατασταθεί, όπως προκύπτει από τα υπάρχοντα δεδομένα και τις υφιστάμενες θεραπευτικές επιλογές (Εικόνα 16).



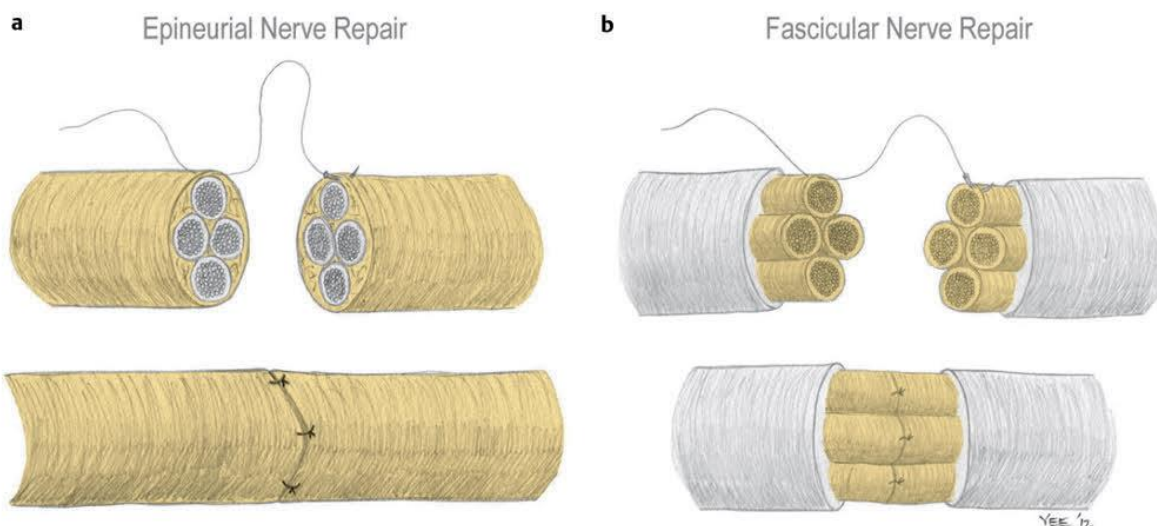
**Εικόνα 16: Θεραπευτικές επιλογές με βάση το μήκος του νευρικού ελλείμματος**

Η πρωτογενής τελικο-τελική συρραφή χωρίς τάση είναι πάντα η προτιμότερη επιλογή. Για σημαντικά νευρικά ελλείμματα, το αυτομόσχευμα είναι το gold standard, αφού καμία άλλη επιλογή δεν έχει παρουσιάσει προς το παρόν ανώτερα αποτελέσματα στην κλινική πράξη. Για πολύ μεγάλα ελλείμματα, ελλείπει διαθέσιμου αυτομοσχεύματος, δύναται να χρησιμοποιηθούν κλασικά αλλομοσχεύματα με συνοδό ανοσοκαταστολή. Τα ακύτταρα αλλομοσχεύματα χρησιμοποιούνται για ελλείμματα 1-5cm, με προτίμηση για αισθητικά ελλείμματα <3cm. Τα ικρίωματα είναι ιδανικά για αισθητικά ελλείμματα <1.5cm, ή ως προστατευτική δομή επί προηγηθείσας τελικο-τελικής συρραφής.



## 2.2 Επινευρική & δεσμιδική τελικο-τελική συρραφή

Οι δύο κυριότερες μορφές νευρικής συρραφής είναι η επινευρική τελικο-τελική συρραφή και η δεσμιδική συρραφή (Εικόνα 17).



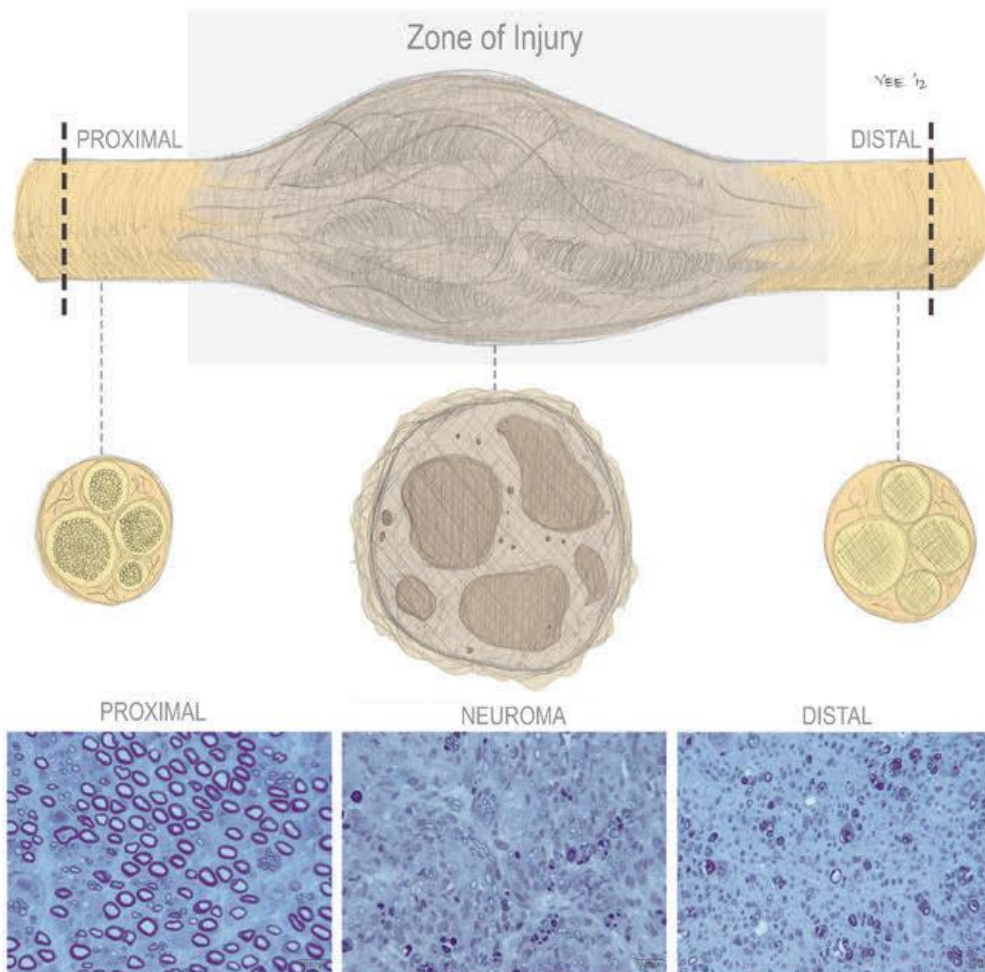
**Εικόνα 17: Επινευρική (a) και δεσμιδική (b) νευρική συρραφή**

Αναπαραγωγή από: *Nerve Surgery*; Susan E. Mackinnon, ed.; New York; Thieme Medical Publishers Inc., 2016.

Κατά καιρούς έχουν γίνει διάφορες μελέτες έτσι ώστε να καθοριστεί η υπεροχή της επινευρικής ή της δεσμιδικής συρραφής. Σύμφωνα με αυτές, παρόλο που η ανατομική διευθέτηση των αναγεννούμενων νευραξόνων είναι καλύτερη στη δεσμιδική από ότι στην επινευρική συρραφή, δεν παρατηρούνται μεταξύ τους σημαντικές διαφορές όσον αφορά το τελικό λειτουργικό αποτέλεσμα. Η επινευρική συρραφή είναι ευκολότερη, ταχύτερη και απαιτεί λιγότερους χειρισμούς στις ενδονευρικές δομές, στις οποίες συμπεριλαμβάνεται και η αγγειακή παροχή. Με τον τρόπο αυτό προστατεύεται τόσο η αρχιτεκτονική του νεύρου, όσο και η αιματική ροή. Από την άλλη μεριά, η δεσμιδική συρραφή προϋποθέτει περισσότερους χειρουργικούς χειρισμούς με αποτέλεσμα τον σχηματισμό ουλώδους ιστού, την αύξηση του χειρουργικού χρόνου, την πιθανή διαταραχή της αιματικής παροχής, καθώς και την πιθανή βλάβη των ενδοδεσμιδικών νευρικών ινών (Cabaud, Rodkey, McCarroll, Mutz,



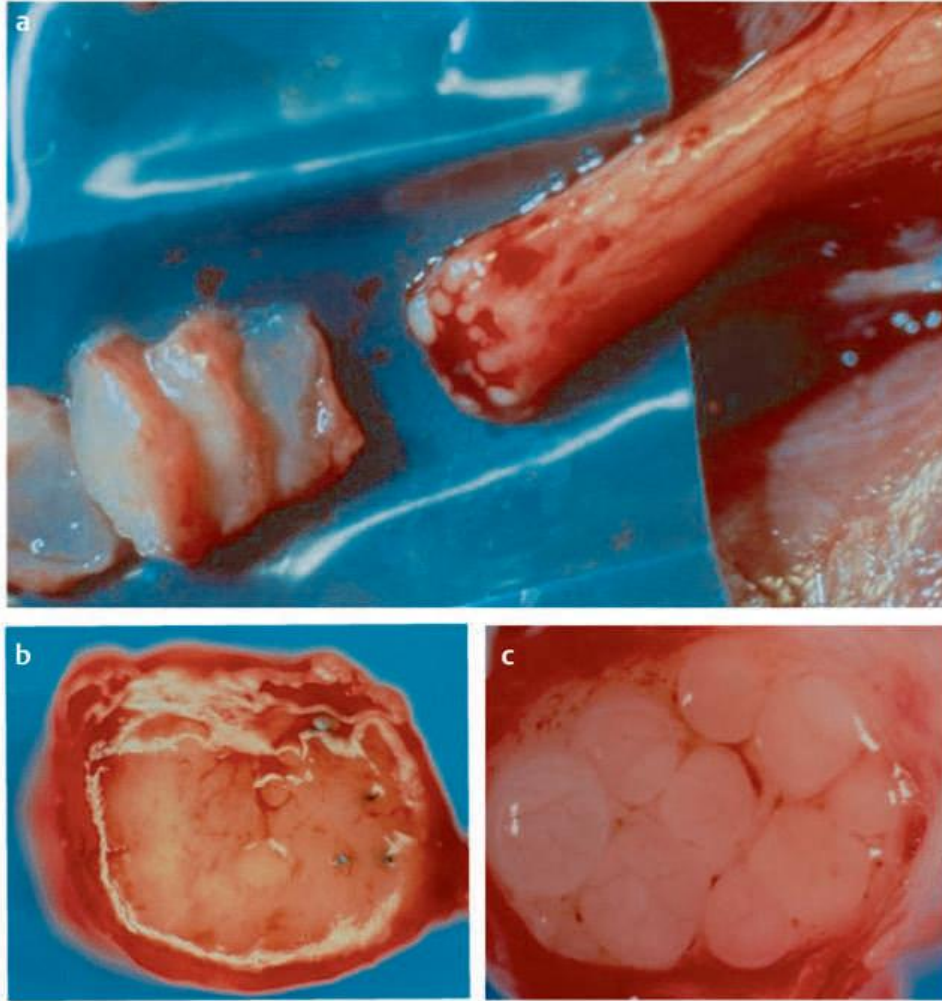
& Niebauer, 1976; Zhao, Dahlin, Kanje, & Lundborg, 1992). Για τους λόγους αυτούς, έχει επικρατήσει η άποψη ότι η διάκριση μεταξύ επινευρικής και δεσμιδικής συρραφής είναι λιγότερο σημαντική. Πλέον εκτιμάται ότι η προσεκτική επινευρική συρραφή είναι επαρκής, καθώς ο τοπικός νευροτροφισμός και νευροτροπισμός θα οδηγήσουν στη σωστή νευρική αναγέννηση ακόμα και των μη σωστά ευθυγραμμισμένων νευρικών ινών (P. J. Evans, Bain, Mackinnon, Makino, & Hunter, 1991).



**Εικόνα 18: Η ζώνη βλάβης εντός του νεύρου.**

Η ζώνη βλάβης εξαρτάται από τον μηχανισμό βλάβης. Μία διατομή από τέμονη ή νήσον όργανο συνεπάγεται μικρή ζώνη βλάβης. Αντίθετα, κακώσεις από διάταση, συμπίεση ή από πυροβόλο όπλο θα προκαλέσει μια εκτεταμένη ζώνη βλάβης. Προκειμένου να αναγεννηθούν οι εγγύς νευρικές ίνες ελεύθερα χωρίς παρεμπόδιση από ουλώδη ιστό, είναι επιβεβλημένη η χειρουργική εκτομή του νεύρου εκατέρωθεν της ζώνης βλάβης (διακεκομμένες γραμμές). Διακρίνονται ιστολογικές τομές εγγύς τις βλάβης (φυσιολογικές νευρικές ίνες), από τη περιοχή του νευρινώματος (αποδιοργανωμένες ίνες εντός πυκνού στρώματος ουλώδους ιστού) και από τη περιοχή περιφερικά της βλάβης (εκφυλισμένες νευρικές ίνες). Μεγέθυνση: 400x. Κυανού της τολουιδίνης (Αναπαραγωγή από: *Nerve Surgery*; Susan E. Mackinnon, ed.; New York; Thieme Medical Publishers Inc., 2016).

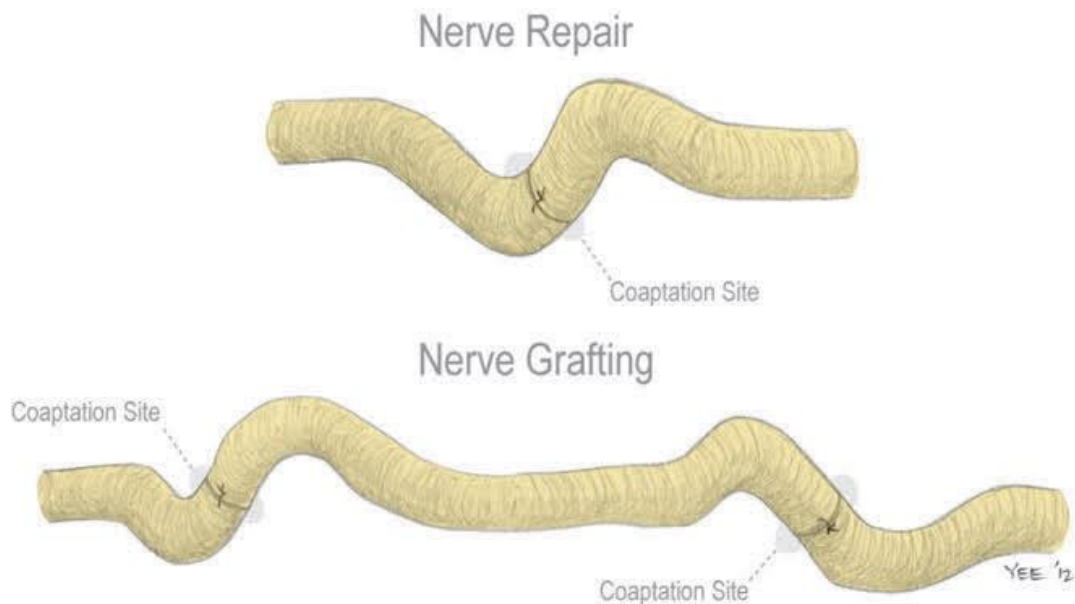
Αντιθέτως, οι παράγοντες κλειδί για μια αποτελεσματική συρραφή είναι ο επαρκής καθορισμός της έκτασης της ζώνης βλάβης (Εικόνα 18) και ο επαρκής χειρουργικός καθαρισμός αυτής (Εικόνα 19), καθώς και η συρραφή των νευρικών κολοβωμάτων χωρίς τάση (Εικόνα 20), είτε πρόκειται για πρωτοπαθή τελικο-τελική συρραφή, είτε στην περίπτωση χρήσης νευρικών μοσχευμάτων.



**Εικόνα 19: Τεχνική bread-loafing για τον καθορισμό της ζώνης βλάβης**

Η τεχνική bread-loafing εφαρμόζεται κεντρικά και περιφερικά της κάκωσης μέχρι την απεικόνιση υγιών δεσμίδων (a). Διατομή νευρινώματος (b). Διατομή υγιών δεσμίδων (c). Αναπαραγωγή από: Ray & Mackinnon. *Management of nerve gaps: autografts, allografts, nerve transfers, and end-to-side neurorrhaphy*. *Exp Neurol*. 2010;223:77–85.

Γενικά, η τελικο-τελική επινευρική συρραφή με οδηγό στροφικού προσανατολισμού τα επινεύρια αγγεία ή τη δεσμιδική διαρρύθμιση, χωρίς τάση και με τον ελάχιστο δυνατό αριθμό ραμμάτων, προτιμάται στη περίπτωση νεύρων μικρής διαμέτρου, όπως τα δακτυλικά νεύρα. Αντιθέτως, η δεσμιδική συρραφή είναι θεμιτή στην περίπτωση νεύρων μεγάλης διαμέτρου, ειδικά εφόσον η εσωτερική κινητική/αισθητική τοπογραφία είναι γνωστές, όπως στην περίπτωση του ωλενίου νεύρου στο αντιβράχιο και στην άκρα χείρα.



#### **Εικόνα 20: Νευρική συρραφή χωρίς τάση**

Η συρραφή υπό τάση πρέπει να αποφευχθεί, καθώς θα οδηγήσει σε σημαντική υποβάθμιση των λειτουργικών αποτελεσμάτων. Η τάση μπορεί να ελεγχθεί με δοκιμασία του εύρους κίνησης του άκρου (Αναπαραγωγή από: *Nerve Surgery*; Susan E. Mackinnon, ed.; New York; Thieme Medical Publishers Inc., 2016).

Τέλος, εξαιρετικά σημαντική είναι η αποφυγή της συρραφής υπό τάση, καθώς αυτή οδηγεί στη δημιουργία περισσότερου ουλώδους ιστού. Σε μελέτες, η διάταση υγιούς νεύρου της τάξεως του 15% οδηγεί σε μείωση της μικροαιματικής ροής του νεύρου κατά 2/3, που διατηρείται για περίπου μία ώρα μετά την αφαίρεση του ερεθίσματος (Driscoll, Glasby, & Lawson, 2002).

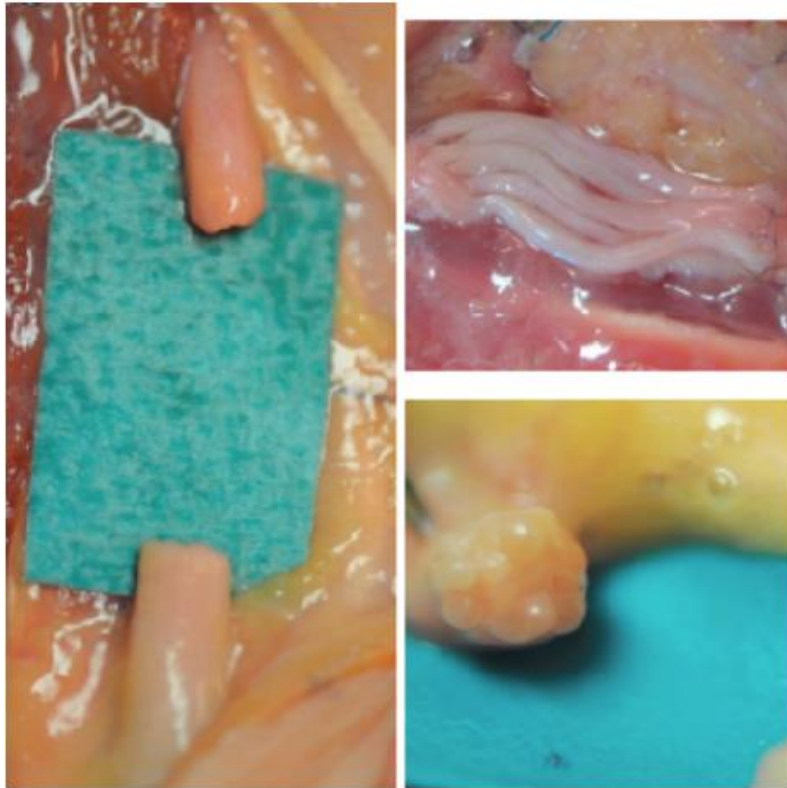
## 2.3 Νευρικά μοσχεύματα

Η παρουσία σημαντικού ελλείμματος (>2-3cm) μεταξύ κεντρικού και περιφερικού κολοβώματος συχνά καθιστά την πρωτοπαθή επινευρική ή δεσμιδική συρραφή ανέφικτη. Τέτοια ελλείμματα είναι συνήθη σε τραυματισμούς υψηλής ενέργειας από πυροβόλα όπλα που προκαλούν τις περισσότερες φορές νευρότμηση, ή σε σοβαρές αξονοτμητικές κακώσεις διάτασης (Tsao, Boulis, Bethoux, & Murray, 2012). Όταν η άμεση τελικο-τελική συρραφή δεν μπορεί να επιτευχθεί ή μπορεί να επιτευχθεί μόνο υπό τάση, τότε η χρήση νευρικού μοσχεύματος κρίνεται απαραίτητη, καθώς η παρουσία ακόμα και ενός ελάχιστου βαθμού τάσης μπορεί να υποβαθμίσει σημαντικά το λειτουργικό αποτέλεσμα.

### 2.3.1 Αυτομοσχεύματα

Η χρήση νευρικού μοσχεύματος προϋποθέτει την συγκομιδή ενός τμήματος υγιούς νεύρου από μία δότρια περιοχή και τη συρραφή του ανάμεσα στο κεντρικό και περιφερικό κολόβωμα εκατέρωθεν του ελλείμματος. Απαραίτητος είναι ο επιμελής χειρουργικός καθαρισμός των κολοβωμάτων, με εξαίρεση του δημιουργηθέντος ουλώδους ιστού. Στη συνέχεια, γίνεται επιμελής αφαίρεση λεπτών τμημάτων (bread-loafing) κάθετα στον επιμήκη άξονα του νευρικού στελέχους, μέχρι τη συνάντηση υγιούς δοκιδώδους απεικόνισης των νευρικών δεσμίδων. Η ελαφρά προεξοχή των νευρικών δεσμίδων με συνοδό υποχώρηση του επινευρίου ορίζεται ως mushrooming (Εικόνα 21) και σηματοδοτεί το γεγονός ότι έχει επιτευχθεί επαρκής χειρουργικός καθαρισμός σε υγιή όρια και ότι τα νευρικά άκρα είναι έτοιμα για συρραφή (Farnebo, Thorfinn, & Dahlin, 2013). Ουσιώδες είναι, επίσης, να αναγνωριστούν, να καθοριστούν και να αντιστοιχηθούν κατά το δυνατόν οι κινητικές και αισθητικές νευρικές δεσμίδες (Ray & Mackinnon, 2010). Στοιχειώδες είναι η συρραφή του μοσχεύματος να μη δημιουργεί τάσεις έλξης στα κολοβώματα. Είναι δύσκολο να καθοριστεί

έναν συγκεκριμένο κανόνα για τον επιτρεπόμενο βαθμό τάσης στις συρραφές του μοςχεύματος.



**Εικόνα 21: Χρήση αυτομοσχεύματος**

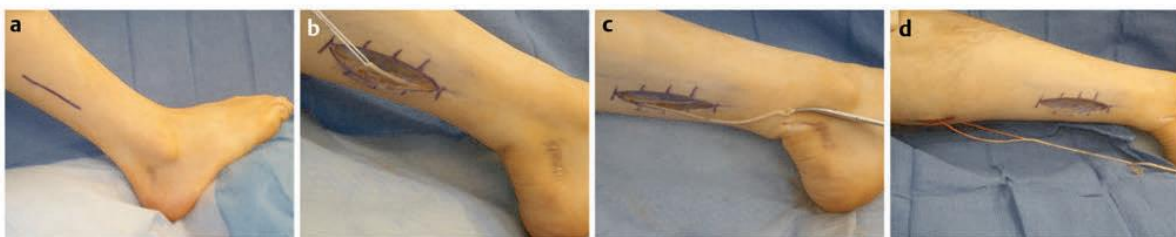
(a) Παρουσία νευρικού ελλείμματος που δεν δύναται να γεφυρωθεί με πρωτοπαθή συρραφή χωρίς την αποφυγή υπερβολικής τάσης. (b) Χρήση πολλαπλών δεσμίδων αυτομοσχεύματος. (c) Το mushrooming σηματοδοτεί τον επαρκή χειρουργικό καθαρισμό των κολοβωμάτων (Αναπαράγωγή από: Farnebo et al. *Peripheral nerve injuries of the upper extremity*. In: Neligan PC, ed. *Plastic Surgery: Hand and Upper Extremity*. Vol 6. 3rd ed. Philadelphia, PA: Elsevier; 2013:694-718).

Σε γενικές γραμμές, αν απαιτείται κάμψη της άρθρωσης για να επιτευχθεί η συρραφή, τότε υπάρχει κίνδυνος αποσύνθεσης αυτής, και καθίσταται απαραίτητος είτε η περαιτέρω ανατομική παρασκευή και κινητοποίηση των κολοβωμάτων, είτε η συγκομιδή μοςχεύματος μεγαλύτερου μήκους. Επιπλέον, πρέπει να ληφθεί υπόψιν ότι το μόσχευμα μπορεί σταδιακά να συρρικνωθεί χάνοντας μήκος. Γι'αυτό πρέπει να λαμβάνεται μόσχευμα επιμηκέστερο του ελλείμματος κατά 15% (Panagoroulos, Megaloikonomos, & Mavrogenis, 2017).



Τα αυτομοσχεύματα θεωρούνται ιδανικά για τη γεφύρωση κρίσιμων (>3cm) νευρικών ελλειμμάτων που δεν επιδέχονται άμεση τελικο-τελική συρραφή. Κι αυτό γιατί έχουν την δυνατότητα να εφοδιάζουν την περιοχή της γεφύρωσης με νευροτροφικούς παράγοντες και βιώσιμα κύτταρα Schwann, και τα δύο στοιχεία απαραίτητα για την νευρική αναγέννηση. Τα αυτομοσχεύματα μπορεί να χρησιμοποιηθούν ως μονήρη στελέχη, ως ομάδα δεσμιδικών δακτύλων (fascicular fingers), ή ως αγγειούμενα στελέχη (Colen, Choi, & Chiu, 2009; Millesi, Meissl, & Berger, 1972; Terzis & Kostopoulos, 2010). Όπως προαναφέρθηκε, η τοπογραφική αντιστοίχιση, η έλλειψη τάσης και η χρήση όσο το δυνατόν λιγότερων ραμμάτων είναι εξαιρετικής σημασίας. Επιτυχής επιλογή φαίνεται να είναι και η χρήση ινώδους συγκολλητικής ουσίας (fibrin glue) όπου αυτό είναι εφικτό, η οποία μειώνει τον συνολικό αριθμό ραμμάτων καθώς και τον σχηματισμό ουλώδους ιστού.

Τα νεύρα-δότες (donor nerve autografts) είναι συνήθως αναλώσιμα αισθητικά νεύρα που μπορεί να ληφθούν από ποικίλες περιοχές του σώματος. Το γαστροκνήμιο νεύρο (sural nerve) αποτελεί το πιο κοινό νεύρο-δότη, αποδίδοντας 30-40cm μοσχεύματος (Εικόνα 22).



**Εικόνα 22: Αυτομόσχευμα γαστροκνήμιου νεύρου (sural nerve graft)**

Το γαστροκνήμιο νεύρο αποτελεί το πιο κοινό νεύρο-δότη για αυτομόσχευμα λόγω του διαθέσιμου για συγκομιδή μήκους. Κατόπιν επιμήκους τομής στο έξω και οπίσθιο τμήμα της γαστροκνημίας, το νεύρο παρασκευάζεται προσεκτικά και τέμνεται όσο το δυνατόν πιο περιφερικά. Μια τομή μπορεί να γίνει και πιο κεντρικά, προκειμένου να επιτευχθεί μεγαλύτερο μήκος μοσχεύματος.

Άλλα κοινά νεύρα-δότες είναι το έσω και έξω δερματικό νεύρο του αντιβραχίου (medial and lateral antebrachial cutaneous nerve, ή MABC και LABC αντίστοιχα), ο οπίσθιος

δερματικός κλάδος του ωλενίου νεύρου (dorsal cutaneous branch of the ulnar nerve, ή DCU), τα επιπολής και εν τω βάθει περονιαία νεύρα, τα μεσοπλεύρια νεύρα, και το οπίσθιο ή έξω δερματικό νεύρο του μηρού (Πίνακας 3)(Susan E. Mackinnon & Dellon, 1988; Norkus, Norkus, & Ramanauskas, 2005). Μετά τη συγκομιδή, το νεύρο-δότης υποβάλλεται σε Βαλεριανή εκφύλιση, αλλά διατηρεί μια στηρικτική δομή για τους αναγεννηθέντες νευράξονες, παρέχοντας μηχανική καθοδήγηση (Millesi, 1990). Ωστόσο, σημαντικό μειονέκτημα της χρήσης αυτομοσχευμάτων αποτελεί το γεγονός ότι κατά κανόνα θυσιάζεται ένα λειτουργικό νεύρο (συνήθως αισθητικό), προκειμένου να αποκατασταθεί η λειτουργία ενός πιο σημαντικού νεύρου που έχει υποστεί κάκωση (συνήθως κινητικού). Άλλο σημαντικό μειονέκτημα είναι ο κίνδυνος δημιουργίας επώδυνου νευρινώματος στο κεντρικό κολόβωμα του νεύρου-δότη, ο σχηματισμός ουλώδους ιστού και η απώλεια αισθητικότητας στην περιοχή δότη, η συχνή ασυμβατότητα μεγέθους ή η μη σωστή ευθυγράμμιση των δεσμίδων (Moore, Ray, Chenard, Tung, & Mackinnon, 2009).

**Πίνακας 3: Συχνότερα νεύρα-δότες για τη χρήση αυτομοσχεύματος**

Donor nerve	Length (cm)	Sensory defect
Sural nerve	30-40cm	Dorsal aspect of lower leg & lateral foot
Medial antebrachial cutaneous nerve	10-12cm* 8-10cm#	Medial forearm
Lateral antebrachial cutaneous nerve	10-12cm	Lateral forearm
Superficial sensory branch of the radial nerve	25 cm	Radial dorsal hand
Dorsal cutaneous branch of ulnar nerve	4-6 cm	Dorsal/ulnar hand
Posterior interosseous nerve	6 cm	No apparent deficit
Anterior interosseous nerve	6 cm	No apparent deficit
Lateral femoral cutaneous nerve	10-20 cm	Anterolateral thigh
Saphenous nerve	40 cm	Medial lower leg & foot, prepatellar skin
Posterior cutaneous nerve of the forearm	2-5 cm	Posterolateral forearm

\*above elbow; # below elbow

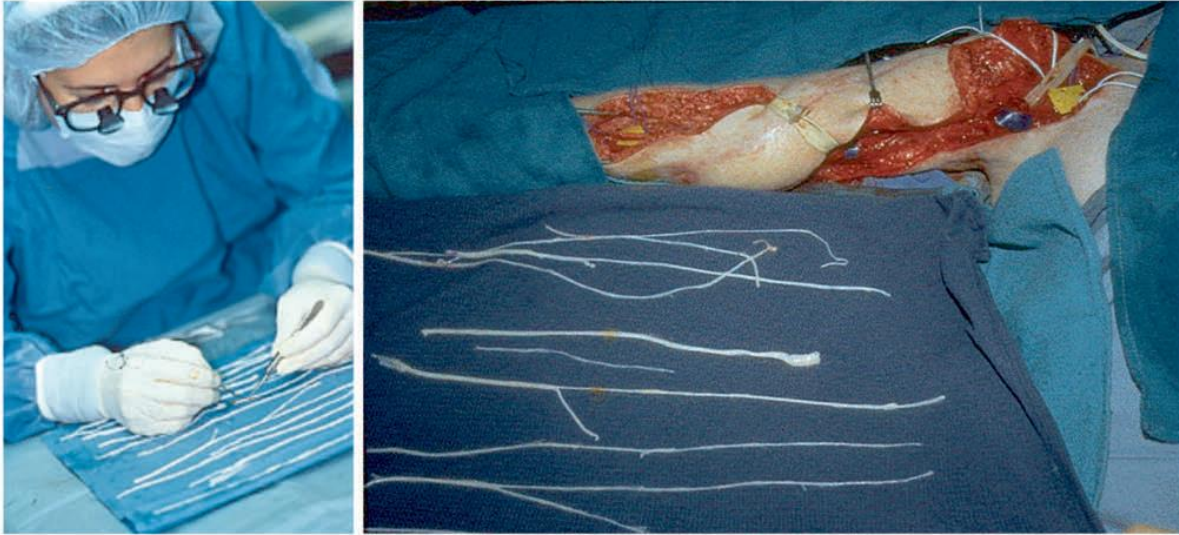
\*\*Προσαρμογή από: Panagopoulos et al (2017). *The Present and Future for Peripheral Nerve Regeneration. Orthopedics, 40(1), e141-e156.*



### 2.3.2 Αλλομοσχεύματα

Δεδομένης της περιορισμένης διαθεσιμότητας νεύρων-δοτών για νευρικά αυτομοσχεύματα, τα νευρικά αλλομοσχεύματα (nerve allografts) αποτελούν μια δελεαστική εναλλακτική λύση για τη γεφύρωση νευρικών ελλειμμάτων χωρίς τάση (Εικόνα 23). Τα αλλομοσχεύματα λειτουργούν ως ένα προσωρινό ικρίωμα, παρέχοντας το υπόστρωμα που θα καταστήσει δυνατή τη νευρική αναγέννηση (Krarup, Archibald, & Madison, 2002). Με την παράλληλη χρήση συστηματικής ανοσοκαταστολής, η νευρική αναγέννηση κατά μήκος φρέσκων πτωματικών αλλομοσχευμάτων είναι παρόμοια με αυτή που επιτυγχάνεται με αυτομοσχεύματα. Τα αλλομοσχεύματα είναι άμεσα διαθέσιμα σε απεριόριστη ποσότητα και ουσιαστικά εκμηδενίζουν τη νοσηρότητα της περιοχής-δότη που σχετίζεται με τη συγκομιδή αυτόλογων μοσχευμάτων. Ωστόσο, λόγω αντιγονικότητας, η χρήση τους απαιτεί προσωρινή συστηματική ανοσοκαταστολή, η οποία καθιστά τον εκάστοτε λήπτη ευάλωτο είτε σε ευκαιριακές λοιμώξεις είτε σε νεοπλασματικές διεργασίες (S. E. Mackinnon, Doolabh, Novak, & Trulock, 2001). Η ανοσοκαταστολή πρέπει να διατηρείται για τουλάχιστον 6 μήνες αφότου ο αναγεννηθείς νευράξονας διασχίσει το περιφερικό άκρο του αλλομοσχεύματος. Η συγκομιδή γίνεται από πτωματικούς δότες με συμβατή ομάδα αίματος και το αλλομόσχευμα διατηρείται σε διάλυμα University of Wisconsin με προσθήκη αντιβιοτικών στους 4°C για τουλάχιστον 7 μέρες πριν τη χρήση. Οι λήπτες λαμβάνουν FK506 για 3 μέρες προεγχειρητικά και κατόπιν συνήθη συστηματική ανοσοκαταστολή. Η κυριότερη επιπλοκή σχετίζεται με την απόρριψη των αλλομοσχευμάτων, η οποία επιπροσθέτως είναι δύσκολο να εκτιμηθεί κλινικά, καθότι δεν συνάδει με κάποια εμφανή λειτουργική δυσλειτουργία ή άλλο κλινικό εύρημα. Αξίζει να σημειωθεί ότι το FK506 (Tacrolimus®), πέρα από τις ανοσοκατασταλτικές

του ιδιότητες, έχει βρεθεί να επιταχύνει τη νευρική αναγέννηση με ανεξάρτητο μηχανισμό κατά 10-20% (Doolabh & Mackinnon, 1999).

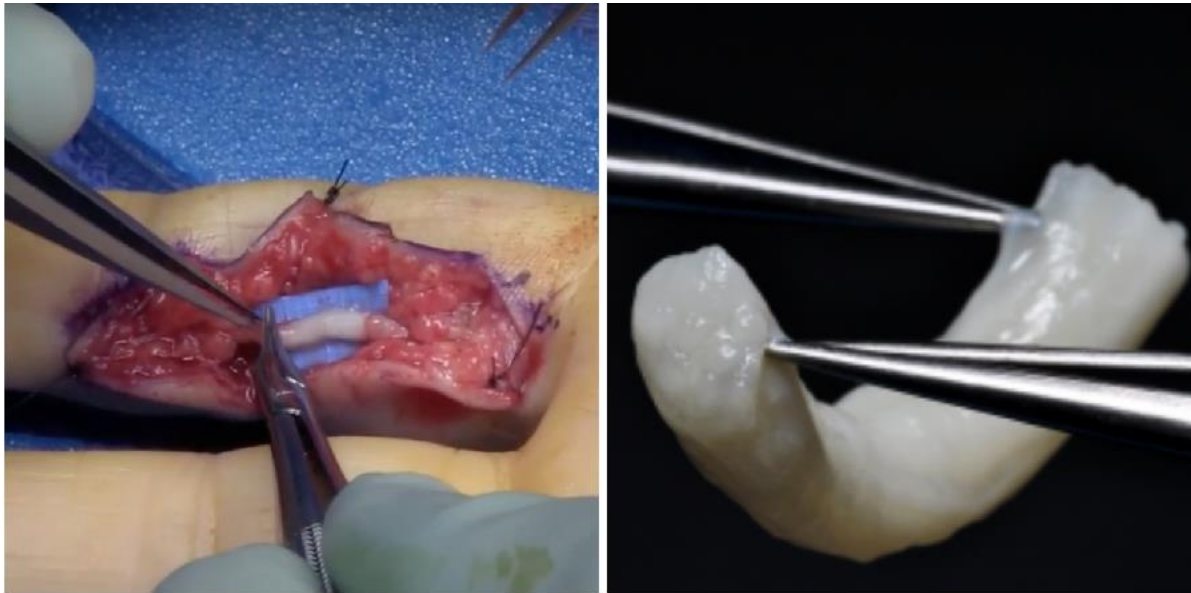


**Εικόνα 23: Νευρικά αλλομοσχεύματα**

Η χρήση αλλομοσχευμάτων εφαρμόζεται στη περίπτωση σοβαρών και εκτεταμένων βλαβών που δεν μπορούν να αποκατασταθούν με άλλο τρόπο. Απαιτούν την χορήγηση ανοσοκαταστολής. Πειραματικές μελέτες έχουν δείξει ότι τα λειτουργικά αποτελέσματα είναι παρόμοια με αυτά των αυτομοσχευμάτων (Αναπαραγωγή από: *Nerve Surgery; Susan E. Mackinnon, ed.; New York; Thieme Medical Publishers Inc., 2016*).

Διάφορες τεχνικές έχουν κατά καιρούς εφαρμοστεί προκειμένου να μειωθεί η αντιγονικότητα των αλλομοσχευμάτων, όπως ψυχρή συντήρηση, η ακτινοβολία και η λυοφιλοποίηση (P. J. Evans et al., 1995). Πιο πρόσφατα, έγινε εφικτή η αποκυτταρωποίηση των αλλομοσχευμάτων χημικό καθαρισμό, ενζυματική επεξεργασία και ακτινοβολία. Έτσι προκύπτει ένα ακυτταρικό νευρικό ικρίωμα με άθικτη εσωτερική αρχιτεκτονική, που δεν χρήζει ανοσοκαταστολής, ενώ παράλληλα διατηρεί μια δομή ιδανική για την νευρική αναγέννηση (Grinsell & Keating, 2014). Επί του παρόντος, κυκλοφορεί μόνο ένα διαθέσιμο εμφυτεύσιμο σκεύασμα αυτού του είδους (Avance® Nerve Graft, Axogen, Inc., Alachua, FL). Αν και σύμφωνα με την υπάρχουσα βιβλιογραφία η χρήση τους πρέπει να περιορίζεται σε μικρού μήκους ελλείματα (<3cm) και σε νεύρα μικρής διαμέτρου (1-2mm), πολλοί πιστεύουν

ότι τα σκευάσματα αυτά είναι ιδανικά και για μεγαλύτερα νευρικά ελλείμματα (Sachanandani, Pothula, & Tung, 2014) (Εικόνα 24).



**Εικόνα 24: Αποκατάσταση διατομής δακτυλικού νεύρου με αλλομόσχευμα Avance®**

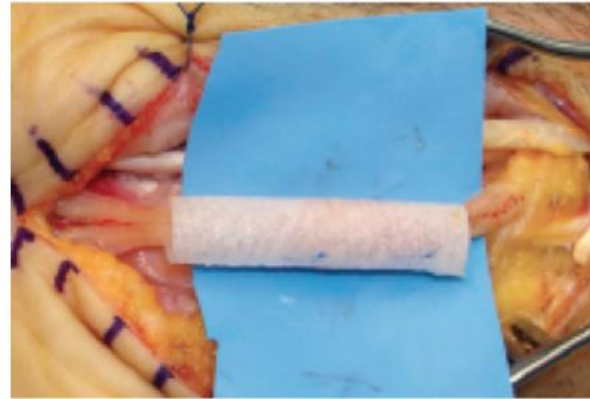
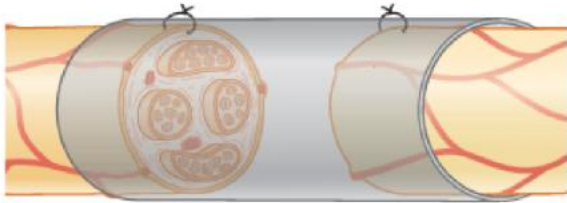
Αναπαραγωγή από: <https://www.axogeninc.com/avance-nerve-graft/>. Brooks DN, et al. *Processed nerve allografts for peripheral nerve reconstruction: A multicenter study of utilization and outcomes in sensory, mixed and motor nerve reconstructions.* *Microsurg.* 2012;32:1-85.

## 2.4 Νευρικοί αγωγοί - ικρίωματα

Η δυσχερής προμήθεια αυτόλογων μοσχευμάτων, η νοσηρότητα της περιοχής-δότη, η πιθανότητα ανάπτυξης επώδυνου νευρινώματος, καθώς και η πολλές φορές μη προσδοκούμενη λειτουργική έκβαση, οδήγησαν τις τελευταίες δεκαετίες στην αναζήτηση εναλλακτικών θεραπευτικών επιλογών (Konofaos & Ver Halen, 2013). Μια τέτοια επιλογή είναι η χρήση νευρικών αγωγών ή ικριωμάτων. Η κατασκευή ικριωμάτων περιγράφεται για πρώτη φορά από τον Gluck το 1880, ο οποίος κατασκεύασε ένα νευρικό αγωγό από απασβεστοποιημένο οστό προκειμένου να αποκαταστήσει ένα διατετμημένο νεύρο. Βασισμένος στη μελέτη του Gluck, ο Vanlair, το 1892, χρησιμοποίησε έναν παρόμοιο σωληνίσκο από απασβεστοποιημένο οστό προκειμένου να γεφυρώσει ένα έλλειμμα 3cm σε ισχιακό νεύρο κυνός (Safa et al., 2019). Ο Bugner, το 1891, χρησιμοποίησε αγωγούς από αρτηρία για να αποκαταστήσει νευρικά ελλείμματα κυνός. Το 1909, ο Wrede εισήγαγε τη χρήση φλεβικών ικριωμάτων (Konofaos & Ver Halen, 2013). Οι Mackinnon και Dellon μελέτησαν την νευρική αναγέννηση σε πιθήκους, συγκρίνοντας τα ηλεκτροφυσιολογικά αποτελέσματα των αυτομοσχευμάτων με αυτά νευρικών αγωγών από πολυγλυκολικό οξύ (A. L. Dellon & Mackinnon, 1988; S. E. Mackinnon & Dellon, 1990). Το 2001, οι Dahlin και Lundborg περιέγραψαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα με νευρικούς αγωγούς από σιλικόνη (Dahlin & Lundborg, 2001).

Το νευρικό ικρίωμα είναι ένας συραγγώδης αγωγός σχεδιασμένος έτσι ώστε να γεφυρώνει το νευρικό έλλειμμα μεταξύ νευρικών κολοβωμάτων που δεν επιδέχονται τελικο-τελικής συρραφής, να προστατεύει από τη παρεμβολή γειτονικών ιστών ή ουλώδους ιστού και να καθοδηγεί τους αναγεννόμενους νευράξονες προκειμένου να συναντήσουν το περιφερικό νευρικό κολόβωμα (Εικόνα 25). Τα ικρίωματα δεν προσφέρουν μόνο μηχανική, αλλά και χημική καθοδήγηση, αφού οδηγούν στη συσσώρευση νευροτροπικών και

νευροτροφικών παραγόντων, δημιουργώντας ιδανικό μικροπεριβάλλον για τη νευρική αναγέννηση (Konofaos & Ver Halen, 2013).



#### Εικόνα 25: Νευρικά ικρίωματα

Σχηματική απεικόνιση εφαρμογής νευρικού ικρίωματος (αριστερά). Διεγχειρητική φωτογραφία χρήσης προστατευτικού νευρικού ικρίωματος κατόπιν τελικο-τελικής συρραφής διατομής μέσου νεύρου στο ύψος του καρπού

Διάφοροι τύποι ικριωμάτων κυκλοφορούν αυτή τη στιγμή στο εμπόριο για τη γεφύρωση μικρών ελλειμμάτων (<3cm) ή για την προστατευτική κάλυψη της νευρικής συρραφής (Πίνακας 4), με διαθέσιμες διαμέτρους που ποικίλλουν από 1.5-10mm (Kehoe, Zhang, & Boyd, 2012). Τα βιολογικά αυτόχθονα ικρίωματα που έχουν κατά καιρούς χρησιμοποιηθεί περιλαμβάνουν αρτηρίες, φλέβες, μυϊκό ιστό, τένοντες και επινεύριο. Τα βιολογικά ετερόχθονα ικρίωματα αποτελούνται συνήθως από κολαγόνο τύπου I (NeuraGen®, NeuroFlex™), ζελατίνη, ή πολυσακχαρίτες (chitosan, alginate, agarose hydrogel). Τα συνθετικά ικρίωματα διακρίνονται σε απορροφήσιμα (PGA, PLCL, PLLA, PCL, PVA) και μη απορροφήσιμα (ePTFE, Gore-Tex®) (Konofaos & Ver Halen, 2013).

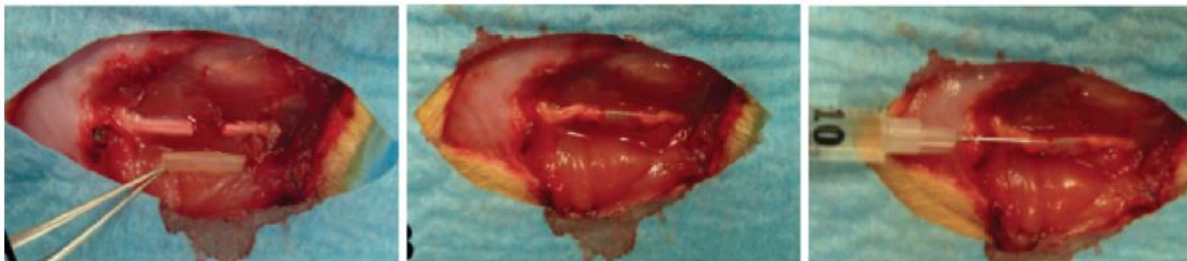
Αν και τα υλικά κατασκευής ποικίλλουν, η τεχνική τοποθέτησης των ικριωμάτων είναι σε γενικές γραμμές πάντα η ίδια (Εικόνα 26). Το ικρίωμα που επιλέγεται πρέπει να είναι ελαφρώς μεγαλύτερο από το νεύρο που πρέπει να αποκατασταθεί. Πριν τη χρήση, το ικρίωμα ενυδατώνεται για μερικά λεπτά σε φυσιολογικό ορό ή ηπαρινισμένο διάλυμα. Στη

συνέχεια, το ικρίωμα αρχικά σταθεροποιείται με 2-3 μεμονωμένα ράμματα, ώστε να διευκολυνθεί αμφοτερόπλευρα η εισαγωγή των κολοβωμάτων του τραυματισμένου νεύρου. Τα δύο φύλλα του ικριώματος ράβονται μεταξύ τους με 1-2 απλά ράμματα. Δημιουργείται έτσι ένας συνεχόμενος συραγγώδης αυλός που γεφυρώνει το υφιστάμενο νευρικό έλλειμμα. Ακολουθεί η εισαγωγή των κολοβωμάτων αμφοτερόπλευρα στον αυλό του ικριώματος για 2mm περίπου και η συγκράτησή τους με επινευρική συρραφή με 2-3 ράμματα nylon 8-0 ή 9-0. Τέλος, εγχύεται μέσα στον αυλό φυσιολογικός ορός, προκειμένου να αποτραπεί ο σχηματισμός θρόμβου που ενδέχεται να αποφράξει τον αυλό (Konofaos & Ver Halen, 2013).

Τελευταία, έχει ευρύτατα μελετηθεί η ιδέα της εισαγωγής στα νευρικά ικρίωματα προσθετικών ουσιών (Πίνακας 5), προκειμένου να ενισχυθεί η αποτελεσματικότητά τους (H. Yan, Zhang, Chen, & Lineaweaver, 2009). Τα προσθετικά αυτά συστατικά περιλαμβάνουν κύτταρα (κύτταρα Schwann, bone stromal cells, ινοβλάστες), δομικά συστατικά (ινοδογόνο, λαμινίνη, κολλαγόνο), καθώς και νευροτροφικούς παράγοντες (FGF, NGF, GGF, CNTF, VEGF, GDNF, NT-3) (Allmeling et al., 2008; Bunting, Di Silvio, Deb, & Hall, 2005; X. Chen et al., 2006; G. R. Evans et al., 2002; Fansa, Schneider, Wolf, & Keilhoff, 2002; Hobson, Green, & Terenghi, 2000; Kalbermatten et al., 2008; Keilhoff, Goihl, Stang, Wolf, & Fansa, 2006; Matsumoto et al., 2000; Mosahebi, Wiberg, & Terenghi, 2003; Nakayama et al., 2007; Nilsson, Dahlin, Lundborg, & Kanje, 2005; Ohta et al., 2004; Raimondo et al., 2005; Wood et al., 2009; Xu et al., 2003; J. Zhang et al., 2004). Πρόσφατα, κυκλοφόρησε στο εμπόριο ένα ικρίωμα (nerve wrap) που αποτελείται από κυτταρική μεμβράνη ανθρώπινου ομφάλιου λώρου που έχει υποστεί ελάχιστη επεξεργασία (Avive™ Soft Tissue Membrane, Axogen, Inc., Alachua, FL). Το προϊόν αυτό έχει ως σκοπό την προστατευτική επικάλυψη των νευροσυρραφών προκειμένου να μειωθεί ο βαθμός μετεγχειρητικής ουλής και συμφύσεων. Αναμένεται η δημοσίευση των πρώτων κλινικών αποτελεσμάτων αυτής της τεχνικής.



Τα κλινικά αποτελέσματα των νευρικών ικρίωμάτων είναι αρκετά ενθαρρυντικά. Το NeuraGen (Integra Lifesciences, Princeton, NJ), ικρίωμα από κολλαγόνο, εμπορικά διαθέσιμο από το 2001, έχει μελετηθεί εκτενώς στη περίπτωση ελλειμμάτων δακτυλικών νεύρων, με τα καλύτερα λειτουργικά αποτελέσματα σε ελλείμματα <15mm (Lohmeyer, Sommer, Siemers, & Mailander, 2009; Taras, Jacoby, & Lincoski, 2011). Ικρίωματα από πολυκαπρολακτόνη (PCL), όπως το NeuroLac (Polyganics, Netherlands), είναι διάφανο σε υφή και υφίσταται υδρόλυση σε μια περίοδο 3-24 μηνών μέχρι να απορροφηθεί πλήρως. Ο Bertleff μελέτησε το ικρίωμα αυτό σε ελλείμματα δακτυλικών νεύρων, με καλά αποτελέσματα για ελλείμματα <20mm (Bertleff, Meek, & Nicolai, 2005). Ο Chiriac, σε μία μελέτη σχετικών 28 περιπτώσεων, παρουσίασε σημαντικά χειρότερα αποτελέσματα, με μεγάλο αριθμό επιπλοκών (Chiriac, Facca, Diaconu, Gouzou, & Liverneaux, 2012).



**Εικόνα 26: Νευρικό ικρίωμα από κολλαγόνο**

Διεχειρητικές φωτογραφίες σε επίμυες που απεικονίζουν την πλήρη διατομή αριστερού ισχιακού νεύρου (αριστερά), την αποκατάσταση με ικρίωμα από κολλαγόνο (μέση) και την έγχυση εντός του ικρίωματος FK506 για την επιτάχυνση της νευρικής αναγέννησης.

**Πίνακας 4: Σύσταση και δομή εμπορικά διαθέσιμων νευρικών ικρωμάτων**

Product name/ Key reference	Material	Structure	Manufacturer	FDA clearance	Length	Nerve repair
NeuraGen®	Collagen Type I	Semipermeable, fibrillar collagen structure	Integra LifeSciences Co <a href="http://www.integra-ls.com">http://www.integra-ls.com</a>	June 22, 2001	2–3 cm	Digital nerves Lingual and inferior alveolar nerves Brachial plexus birth palsy Median, ulnar, radial, PIN, common digital, SRN
NeuroFlex™	Collagen Type I	Flexible, semipermeable tubular collagen matrix	Collagen Matrix, Inc. <a href="http://www.collagenmatrix.com">http://www.collagenmatrix.com</a>	September 21, 2001	2.5 cm	
NeuroMatrix™	Collagen Type I	Semipermeable tubular collagen matrix	Collagen Matrix Inc.	September 21, 2001	2.5 cm	
NeuraWrap™	Collagen Type I	Longitudinal slit in a tubular wall structure	Integra LifeSciences Co	July 16, 2004	2–4 cm	
NeuroMend™	Collagen Type I	Semipermeable collagen wrap that unrolls & self curls	Collagen Matrix Inc.	July 14, 2006	2.5–5 cm	
Neurotube®	PGA	Absorbable woven PGA mesh tube	Synovis Micro Companies <a href="http://www.synovismicro.com">http://www.synovismicro.com</a>	March 22, 1999/1995	2–4 cm	Spinal accessory nerve, median, ulnar nerves, facial nerves, digital nerves
Neurolac™	PLCL	PLCL tubular structure	Polyganics, BV <a href="http://www.polyganics.com">http://www.polyganics.com</a>	October 10, 2003/2005	3 cm	Digital nerves
Salutunnel™	PVA	PVA tubular structure	Salumedica LCC <a href="http://www.salumedica.com">http://www.salumedica.com</a>	August 5, 2010	6.35 cm	

\*Προσαρμογή από: Panagopoulos et al (2017). *The Present and Future for Peripheral Nerve Regeneration. Orthopedics, 40(1), e141-e156.*

FDA: Food & Drug Administration; PGA: polyglycolic acid; PVA: polyvinyl alcohol; PLCL: poly ( $\epsilon$ -caprolactone-co-lactide); PIN: posterior interosseous nerve; SRN: superficial radial nerve.



**Πίνακας 5: Προσθετικές ουσίες (luminal additives) σε νευρικά ικρίωματα για την ενίσχυση της νευρικής αναγέννησης**

Category/ Key reference	Additives	Conduits	Animal model	Gap length	
Cellular	SC (syngeneic)	PLGA	Rat sciatic	20mm	
	SC	AVNC	Rabbit tibial	40mm	
	SC (autologous)	Silicone	Rat sciatic	10mm	
	SC (allogeneic)	PLLA	Rat sciatic	12mm	
	SC (lacZ transduced)	PHB	Rat sciatic	10mm	
	SC (syngeneic)	Collagen	Rat sciatic	20mm	
	EMSCs	Autologous muscle	Rat sciatic	20mm	
	Fibroblast-like MSCs	Silicone	Rat sciatic	15mm	
Structural	NSCs	Chitosan-coated PDMS	Rat sciatic	10mm	
	Fibrin gel	Bioabsorbable polymer	Rat sciatic	10mm	
	Laminin	PGA	Canine peroneal	80mm	
	Laminin	Polysulfone	Rat sciatic	10mm	
	Collagen	Silicone	Rat sciatic	5mm	
	Fibronectin	PHB	Rat sciatic	10mm	
	Spider silk fibers	Vein	Rat sciatic	20mm	
	Bioglass 45S5	Silastic	Rat sciatic	5mm	
Neurothrophic	NGF	Silicone or PPE	Rat sciatic	10mm	
	NT-3	PHEMA-MMA hydrogel	Rat sciatic	10mm	
	GDNF	Silicone	Rat sciatic	13mm	
	aFGF	PHEMA-MMA hydrogel	Rat sciatic	10mm	
	bFGF	Heparin/alginate hydrogel	Rat sciatic	10mm	
	CNTF	Silicone	Rat sciatic	10mm	
	VEGF	Silicone	Rat sciatic	10mm	
	IGF-1	Autologous nerve grafts or acellular ECM	Rat sciatic	20mm	
	Combined	PDGF	Silicone	Rat sciatic	8mm
		Laminin & NGF	Polysulfone	Rat sciatic	10mm
Laminin & NGF		Polysulfone	Rat sciatic	20mm	
Fibrin, SC & dMSCs		PHB	Rat sciatic	10mm	

*SC: Schwann cells; PLGA: poly (lactic-co-glycolic acid); AVNC: autogenous venous nerve conduit; PLLA: poly (L-lactic acid); PHB: poly-3-hydroxybutyrate; EMSCs: ectomesenchymal stem cells; MSCs: mesenchymal stem cells; NSCs: neural stem cells; PDMS: polydimethylsiloxane; PGA: polyglycolic acid; NGF: nerve growth factor; NT-3: neurotrophin-3; GDNF: glial cell-line derived neurotrophic factor; aFGF: fibroblast growth factor acidic; bFGF: fibroblast growth factor basic; CNTF: ciliary neurotrophic factor; VEGF: vascular endothelial growth factor; IGF-1: insulin-like growth factor 1; PDGF: platelet-derived growth factor; PPE: poly (phosphoester); PHEMA-MMA: poly(2-hydroxyethyl methacrylate-co-methyl methacrylate); dMSCs: differentiated mesenchymal stem cells.*

\*Προσαρμογή από: Panagopoulos et al (2017). *The Present and Future for Peripheral Nerve Regeneration. Orthopedics, 40(1), e141-e156.*

## 2.5 Φαρμακολογικοί παράγοντες

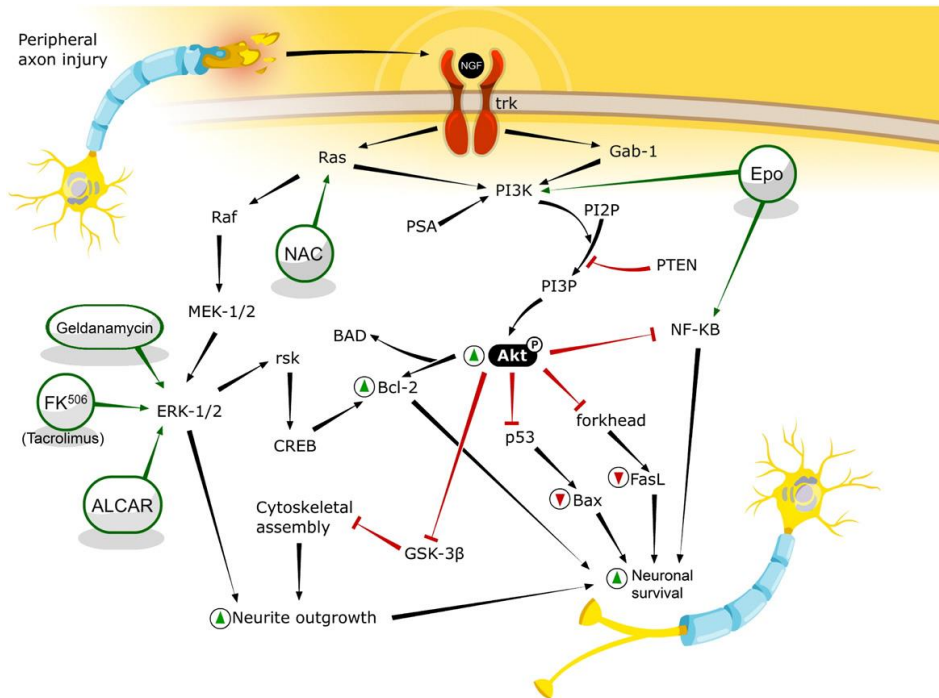
Επί του παρόντος, δεν διατίθεται για κλινική χρήση καμία φαρμακολογική μέθοδος επιτάχυνσης της νευρικής αναγέννησης. Ωστόσο, κατά καιρούς ένας μεγάλος αριθμός μικρομοριακών πεπτιδίων, ορμονών και αυξητικών παραγόντων έχουν μελετηθεί και προταθεί ως δυνητικοί υποψήφιοι για την υποβοήθηση της νευρικής αναγέννησης, παρεμποδίζοντας τον κυτταρικό θάνατο και προάγοντας την αυξητική ικανότητα των νευραξόνων. Πρόσφατες εξελίξεις στον χώρο της μοριακής βιολογίας υποδεικνύουν ότι η στόχευση συγκεκριμένων βημάτων των εμπλεκόμενων μοριακών μηχανισμών μπορεί να επιτρέψει μία εσκεμμένη φαρμακολογική παρέμβαση, οδηγώντας δυνητικά στη βελτίωση της λειτουργικής αποκατάστασης μετά από νευρική κάκωση (Chan, Gordon, Zochodne, & Power, 2014).

Πειραματικές μελέτες έχουν δείξει ότι οι βασικοί μοριακοί μηχανισμοί που εμπλέκονται στην επιβίωση και αυξητική ικανότητα των νευραξόνων είναι οι εξής (Chan et al., 2014):

- PI3K (phosphatidylinositol-3 kinase)/Akt (protein kinase B) signaling cascade
- Ras-ERK (rat sarcoma-extracellular signal-regulated kinase) pathway
- Cyclic adenosine monophosphate (cAMP)/ protein kinase A (PKA)
- Rho–ROK signaling

Το μονοπάτι **PI3K/Akt** (Εικόνα 27) υποστηρίζει τροφικά τους νευρώνες, ελέγχει την απόπτωση, την ανάπτυξη και διαφοροποίηση, καθώς και την κατεύθυνση της πορείας τους (Boyd & Gordon, 2003; Dudek et al., 1997; Kaplan & Miller, 2000). Ο νευρικός αυξητικός παράγοντας (NGF) συνδέεται με τον υποδοχέα TrK, οδηγώντας στην ενεργοποίηση του PI3K μέσω των πρωτεϊνών προσαρμογής Gab-1 και Ras, οι οποίες στη συνέχεια επιτρέπουν στο PI3K να φωσφορυλιώσει και να ενεργοποιήσει τα Akt και ERK-1/2 (Kaplan & Miller, 2000). Το

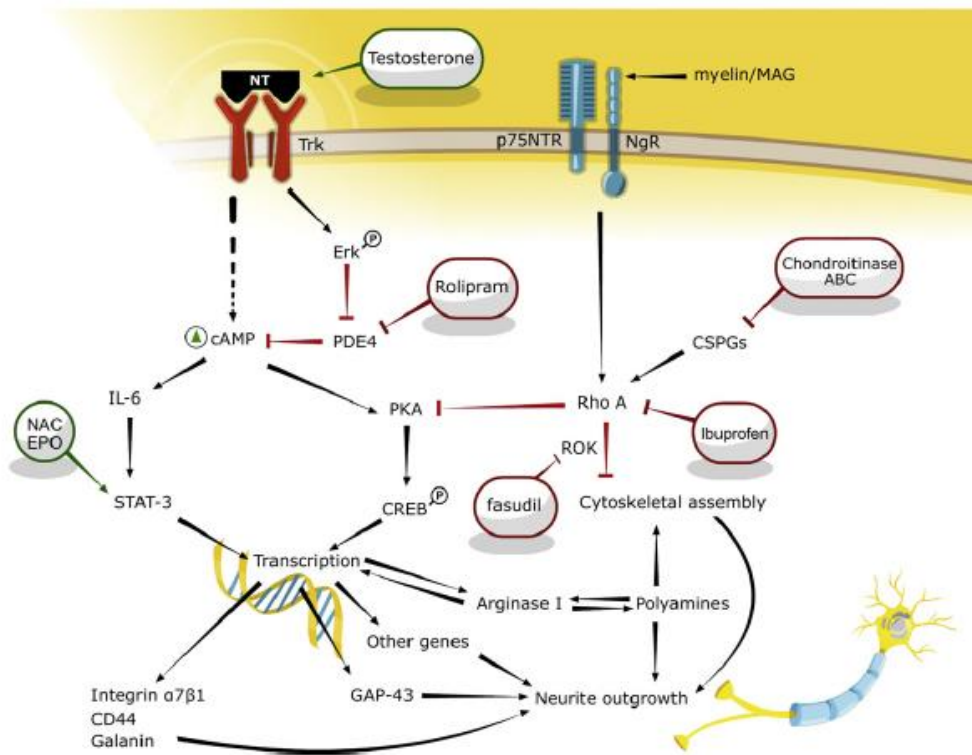
Akt συμμετέχει, με τη σειρά του, σε πληθώρα βιοχημικών μηχανισμών, όπως τον περιορισμό της έκφρασης του Fas ligand (FasL) διαμέσου της παρεμπόδισης των προ-αποπτωτικών παραγόντων Forkhead και Bad (παρεμποδιστής της αποπτωτικής πρωτεΐνης Bcl-2) (Vanhaesebroeck & Alessi, 2000). Το Akt επίσης φωσφορυλιώνει και απενεργοποιεί το GSK-3β (κινάση 3β της γλυκογονοσυνθετάσης), που βρίσκεται στα αυξητικά κόνια, επιτρέποντας μέσω απο-απενεργοποίησης (disinhibition) την επανασύσταση του κυτταρικού σκελετού και την περαιτέρω ανάπτυξη των νευραξόνων (Read & Gorman, 2009). Έχουν εντοπιστεί και άλλοι υποψήφιοι στόχοι του Akt, όπως οι mTOR και S6K. Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι οι περιφερικοί νευρώνες εκφράζουν μία φωσφατάση, την PTEN, η οποία παρεμποδίζει το μονοπάτι PI3k-Akt, βάζοντας φρένο στην νευρική αναγέννηση. Η παρεμπόδιση της PTEN, είτε φαρμακολογικά είτε σε επίμυες local siRNA knock-down, φαίνεται να αυξάνει την νευρική αναγέννηση (Christie, Webber, Martinez, Singh, & Zochodne, 2010).



**Εικόνα 27: Μοριακές οδοί PI3K-Akt και Ras-ERK**

Τα μονοπάτια αυτά παίζουν καθοριστικό ρόλο στη νευρική αναγέννηση. Τα μαύρα βέλη συμβολίζουν την θετική ρύθμιση του παραπάνω μηχανισμού, τα κόκκινα βέλη την παρεμπόδιση. Πιθανές φαρμακευτικές παρεμβάσεις βρίσκονται μέσα στους πράσινους κύκλους (Αναπαραγωγή από: Chan et al. *Improving peripheral nerve regeneration: From molecular mechanisms to potential therapeutic targets. Experimental Neurology* 261 (2014) 826–835).

Η νευροτροφίνη που συνδέεται με τον υποδοχέα Trk ενεργοποιεί επιπρόσθετα και τον μηχανισμό της **ERK** κίνησης (extracellular signal-regulated kinase), μέλους της οικογένειας MAPK (mitogen associated protein kinase), που αποτελεί μηχανισμό κλειδί για την νευρική ανάπτυξη (Boyd & Gordon, 2003; Kaplan & Miller, 2000). Σε αυτόν τον μηχανισμό, η ενεργοποίηση της πρωτεΐνης **Ras** θέτει σε λειτουργία μια αλυσιδωτή αντίδραση γεγονότων που εμπλέκουν την σερίνη-θρεονίνη κινάση Raf, την τυροσίνη-θρεονίνη κινάση MAP/ERK (MEK) και την σερίνη-θρεονίνη κινάση ERK (Klesse, Meyers, Marshall, & Parada, 1999). Επιπλέον, η ERK συμβάλει και στην επιβίωση των νευραξόνων, μέσω ενεργοποίησης της αντι-αποπτωτικής πρωτεΐνης Bcl-2, διαμέσου του παράγοντα μεταγραφής CREB (cAMP response element binding) (Kaplan & Miller, 2000).



**Εικόνα 28: Μοριακές οδοί cAMP-PKA και Rho-ROK**

Τα μαύρα βέλη συμβολίζουν την θετική ρύθμιση του παραπάνω μηχανισμού, τα κόκκινα βέλη την παρεμπόδιση. Πιθανές φαρμακευτικές παρεμβάσεις βρίσκονται μέσα στους πράσινους κύκλους (Αναπαραγωγή από: Chan et al. *Improving peripheral nerve regeneration: From molecular mechanisms to potential therapeutic targets. Experimental Neurology* 261 (2014) 826–835).

Το **cAMP** επίσης εμπλέκεται σε σειρά νευρικών διεργασιών, μεταξύ των οποίων η καθοδήγηση, διαφοροποίηση, ανάπτυξη και επιβίωση των νευραξόνων, τόσο σε καλλιέργειες κυττάρων όσο και *in vivo* (Aglah, Gordon, & Posse de Chaves, 2008; Fujioka, Fujioka, & Duman, 2004). Οι εμπλεκόμενοι μηχανισμοί είναι και εδώ πολλαπλοί. Το cAMP προωθεί το σχηματισμό της πρωτεΐν-κινάσης A (PKA), η οποία επιτρέπει τη νευρική ανάπτυξη αναστέλλοντας την ανασταλτική επίδραση των MAGs μέσω της παρεμπόδισης της Rho GTPase (Εικόνα 28) (Neumann, Bradke, Tessier-Lavigne, & Basbaum, 2002). Δευτερευόντως, cAMP και PKA αυξάνουν την έκφραση της αργινάσης I μέσω φωσφορυλίωσης του CREB, αυξάνοντας έτσι τη σύνθεση πολυαμινών, που με τη σειρά τους περιορίζουν την ανασταλτική δράση των MAGs και της μυελίνης, με τελικό αποτέλεσμα την

αύξηση της σύνθεσης πρωτεϊνών του κυτταρικού σκελετού (Hannila & Filbin, 2008). Τέλος, στη σηματοδοτική οδό **Rho-ROK**, οι Rho-GTPάσες, σε συνεργασία με την κινάση ROK (Rho-associated kinase), συνεισφέρουν στην αναστολή της νευρικής ανάπτυξης, δημιουργώντας ένα μοριακό οδόφραγμα στη νευρική αναγέννηση (Cheng et al., 2008).

Με βάση τα παραπάνω, έχουν κατά καιρούς μελετηθεί για τη δυνητική τους επίδραση στη νευρική αναγέννηση ουσίες που συνήθως χρησιμοποιούνται σε τελείως διαφορετικές κλινικές περιστάσεις (Πίνακας 6). Μεταξύ αυτών, χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν η ερυθροποιητίνη (EPO) (Elfar, Jacobson, Puzas, Rosier, & Zuscik, 2008), το tacrolimus (FK506) (Y. Yan, Sun, Hunter, Mackinnon, & Johnson, 2012), η ακετυλ-L- καρνιτίνη (ALCAR) (Kostopoulos, Davis, & Terzis, 2009), η N-ακετυλ-κουστεΐνη (NAC) (Reid, Shawcross, Hamilton, Wiberg, & Terenghi, 2009), η μπουπροφένη (Mohammadi, Hirsae, & Amini, 2013), η μελατονίνη (Odaci & Kaplan, 2009) και η τρανσθυρετίνη (Fleming, Saraiva, & Sousa, 2007).

Η ερυθροποιητίνη (EPO) είναι μία αιματοποιητική κυτοκίνη που ρυθμίζει τη παραγωγή ερυθρών κυττάρων και χρησιμοποιείται κλινικά για την αντιμετώπιση της αναιμίας που σχετίζεται με τη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια. Στο περιφερικό νευρικό σύστημα, η EPO φαίνεται να παράγεται από τα κύτταρα Schwann και να προάγει την επιβίωση και ανάπτυξη των νευρώνων, μέσω της αυξημένης έκφρασης CGRP, καθώς και της ενεργοποίησης των οδών PI3K/Akt, JAK/STAT-3 και NFκB (Hoke et al., 2006). Μελέτες σε πειραματόζωα είχαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα (Elfar et al., 2008; Lykissas et al., 2007).

Το Tacrolimus (FK506) είναι ένας ανοσοκατασταλτικός παράγοντας που απομονώθηκε το 1984 στην Ιαπωνία. Η κύρια κλινική του ένδειξη έγκειται στην αποτροπή της απόρριψης μοσχευμάτων μετά από μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων. Ανήκει στην οικογένεια των ανοσοφυλλινών και δρα μέσω αναχαίτησης της καλσινευρίνης. Ο

μηχανισμός δράσης του FK506 στη νευρική αναγέννηση είναι ασαφής, αλλά πιθανόν σχετίζεται με τις πρωτεΐνες FKBP-52, HSP-90 και την ενεργοποίηση της οδού ERK (Gold & Zhong, 2004). Βραχυπρόθεσμη χορήγηση FK506 σε μελέτες νευρικής διατομής σε επίμυες οδήγησε σε επιτάχυνση της κινητικής λειτουργικής αποκατάστασης (Y. Yan et al., 2012). Δεδομένων των ανεπιθύμητων ενεργειών που σχετίζονται με τη συστηματική ανασοκαταστολή, η χρήση του FK506 είναι δύσκολο να δικαιολογηθεί, εκτός αν το φάρμακο χορηγηθεί τοπικά.

Η ALCAR είναι ένα φυσιολογικό πεπτίδιο με αντιοξειδωτική δράση. Η ουσία αυτή έχει βρεθεί να έχει νευροπροστατευτική δράση και να επιταχύνει τη νευρική αναγέννηση. Σε επίμυες, η ALCAR είχε ενθαρρυντικά αποτελέσματα (Kokkalis, Soucacos, & Terzis, 2009; Kostoroulos et al., 2009). Σε κλινικές μελέτες, οδήγησε σε βελτίωση του πόνου σε ασθενείς με HIV πολυνευροπάθεια (Youle, Osio, & Group, 2007). Τα αποτελέσματα ήταν λιγότερο ενθαρρυντικά σε ασθενείς με διαβητική νευροπάθεια (Hershman et al., 2013).

Η NAC έχει κλινική ένδειξη ως βλεννολυτικό σε παθήσεις του αναπνευστικού συστήματος, ως αντίδοτο στη τοξικότητα από παρακεταμόλη, καθώς και στην πρόληψη της τοξικότητας από σκιαγραφικό (Marenzi et al., 2006). Η NAC ενεργοποιεί την οδό Ras-ERK, αυξάνει την έκφραση της αντιαποπτωτικής πρωτεΐνης Bcl-2, ενώ παράλληλα μειώνει της προαποπτωτικές bax και κασπάση-3 (Reid et al., 2009). Η συστηματική χρήση NAC σε επίμυες μετά από διατομή του ισχιακού νεύρου βρέθηκε να αυξάνει κατά πολύ την επιβίωση των νευρώνων (Hart, Terenghi, Kellerth, & Wiberg, 2004).

Η γελνταναμυκίνη είναι ένα αντιβιοτικό με νευροπροστατευτική και αναγεννητική δράση, η αποτελεσματικότητά του οποίου έχει μελετηθεί σε πειραματικά μοντέλα. Η χρήση σε ανθρώπους έχει αποτραπεί από τη δυνητική ηπατοτοξικότητά της (Neckers & Workman, 2012).



Το rolipram παρεμποδίζει τους υποδοχείς της φωσφοδιεστεράσης τύπου 4, οδηγώντας σε αύξηση του cAMP. Χορήγηση rolipram μετά από τραύμα νωτιαίου μυελού σε επίμυες οδήγησε σε καλύτερα λειτουργικά αποτελέσματα (Pearse et al., 2004). Η χορήγηση rolipram μετά από διατομή και συρραφή περονιαίου νεύρου σε επίμυες είχε επίσης θετικά αποτελέσματα (Udina et al., 2010). Ένα εμπόδιο στη χρήση του είναι η σημαντική ναυτία που προκαλεί η συστηματική χορήγηση.

Η τεστοστερόνη έχει επίσης νευροτροφικές ιδιότητες, μέσω καταστολής των Hsp και GFAP, και αυξημένης έκφρασης των BDNF και RAGs (Jones, Kinderman, & Oblinger, 1997; Tetzlaff, Tanzer, & Jones, 2007). Συστηματική χορήγηση τεστοστερόνης σε hamster που έχουν υποστεί γοναδεκτομή, οδήγησε σε γρηγορότερη αποκατάσταση βλάβης του προσωπικού νεύρου (Kujawa, Kinderman, & Jones, 1989).

Το Fasudil είναι ένας παρεμποδιστής της ROK, που επιταχύνει τη νευρική αναγέννηση αποτρέποντας την αποσύνθεση των αυξητικών κόνων και την μετανάστευση ουδετερόφιλων, προστατεύοντας το νεύρο από τη φλεγμονώδη αντίδραση. Μελέτες έδειξαν γρήγορη λειτουργική αποκατάσταση μετά από συρραφή τόσο περονιαίου όσο και ισχιακού νεύρου σε επίμυες (Hiraga et al., 2006; Madura et al., 2007). Το Fasudil κυκλοφορεί προς το παρόν μόνο στην Ιαπωνία, όπου έχει ένδειξη για τη θεραπεία της υπαραχνοειδούς αιμορραγίας (Suzuki, Shibuya, Satoh, Sugimoto, & Takakura, 2007).

Η ιμπουπροφένη είναι ένα μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες ευρέως διαδεδομένο ως παρεμποδιστής της κυκλοξυγενάσης. Πρόσφατα, ερευνητές διαπίστωσαν ότι είναι και ισχυρός παρεμποδιστής της RhoA (Fu, Hue, & Li, 2007). Πολλαπλές μελέτες έδειξαν ότι η ιμπουπροφένη και η ινδομεθακίνη ευνοούν την νευρική αποκατάσταση κατόπιν κακώσεων του νωτιαίου μυελού (Xing et al., 2011). Γρηγορότερη αποκατάσταση με χορήγηση

ιμπουπροφένης διαπιστώθηκε και σε επίμυες μετά από διατομή του ισχιακού νεύρου (Madura, Tomita, & Terenghi, 2011).

Η χονδροϊτινάση ABC είναι ένα ένζυμο που εμπλέκεται στην αποσύνθεση των πρωτεογλυκανών θεϊκής χονδροϊτίνης, οι οποίες δρουν ως αναστολείς της μυελίνης, τόσο στο κεντρικό όσο και στο περιφερικό νευρικό σύστημα. Η θετική ρύθμισή τους πιστεύεται ότι επιβραδύνει τη νευρική αναγέννηση μέσω της ενεργοποίησης της RhoA (Cheng et al., 2008). Η χονδροϊτινάση ABC φαίνεται να επιταχύνει τη νευρική αναγέννηση κατόπιν συρραφής διατομής του περονιαίου νεύρου σε επίμυες (Zuo et al., 2002).

Αν και πολλοί φαρμακολογικοί παράγοντες έχουν δοκιμαστεί πειραματικά, είτε σε κυτταρικές καλλιέργειες είτε σε ζωικά μοντέλα, το πεδίο αυτό βρίσκεται ακόμα σε πρώιμο στάδιο. Μόνο μερικοί από τους παραπάνω παράγοντες έχουν δοκιμαστεί για την επίδραση τους στη νευρική αναγέννηση σε ανθρώπους, όπως η ALCAR και η NAC, με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Άλλα ουσίες, όπως η ιμπουπροφένη, το Fasudil και η ερυθροποιητίνη που έχουν αποδείξει τη κλινική τους ασφάλεια σε άλλες κλινικές ενδείξεις, θα ήταν σχετικά εύκολο να χρησιμοποιηθούν στο μέλλον για την επιτάχυνση της νευρικής αναγέννησης. Ωστόσο, η συστηματική χορήγηση άλλων ουσιών, όπως η τεστοστερόνη, το Rolipram ή το Tacrolimus αποτελεί μεγαλύτερη πρόκληση. Σε αυτή την περίπτωση, ίσως να ήταν πιο ρεαλιστική η τοπική χορήγηση, στα πλαίσια ενός νευρικού κριώματος. Όσο βελτιώνεται η κατανόηση που έχουν οι επιστήμονες για τους μοριακούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στην νευρική αναγέννηση, τόσο θα προκύπτουν νέοι θεραπευτικοί στόχοι και κατά συνέπεια νέες θεραπευτικές επιλογές για τους ασθενείς με βαριές νευρικές κακώσεις.

**Πίνακας 6: Φαρμακολογικοί παράγοντες που επιταχύνουν την νευρική αναγέννηση**

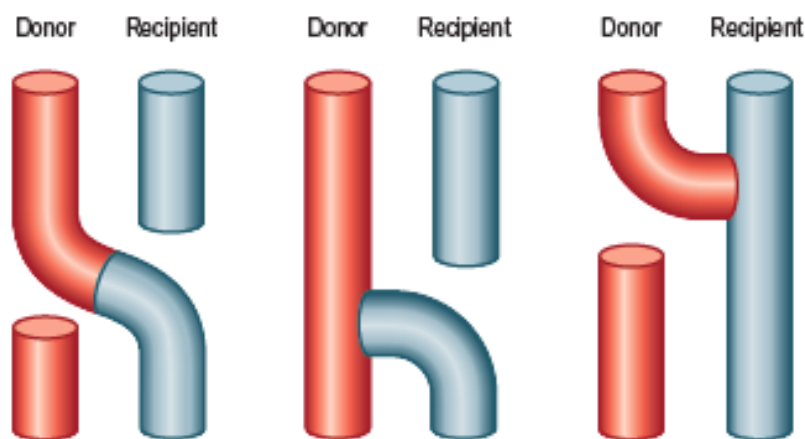
Agent/Key reference	Clinical use/properties	Mechanism of action	Observed effects
Erythropoietin (EPO)	Anemia in CRF	<b>Increases</b> CGRP; activation of PI3K/Akt, JAK/STAT and NFκB signaling pathways	<b>Increases</b> sensory axonal density and caliber; improved motor axonal outgrowth; down-regulation of injury markers in central perikarya
Tacrolimus (FK506)	Prevention of organ rejection after transplant	Activation of ERK via FKBP52 & Hsp-90 binding; calcineurin inhibition; activation of GAP-43 & TGF-β1; induces SC proliferation & myelin debris removal	<b>Increases</b> number of myelinated axons, myelin thickness & axon sprouting; neuroprotection
Geldanamycin	Originally developed as a chemotherapeutic agent	Binds Hsp-90, activating ERK & GAP-43	<b>Increases</b> rate of axon regeneration
Acetyl-L-carnitine (ALCAR)	Natural antioxidant	<b>Increases</b> neurotrophins, TKA & ERK 1/2; <b>Decreases</b> apoptotic proteins (e.g. caspase-3)	Rate of axon regeneration
N-acetyl-cysteine (NAC)	Mucolytic, acetaminophen antidote, prevents contrast toxicity	Activates Ras-ERK & JAK-STAT; up-regulates Bcl-2 mRNA; down-regulates Bax and caspase-3 mRNA	Quicker functional recovery
Rolipram	N/A	PDE-5 inhibition	Enhanced survival, <b>increased</b> myelin thickness, axon number & diameter
Testosterone	Hormone	<b>Reduces</b> GFAP & HSP, <b>increases</b> BDNF expression; up-regulates RAGs (βII-tubulin & GAP-43)	<b>Decreases</b> neuronal death; promoted sensory nerve regeneration
Fasudil	SAH treatment in Japan	Prevents collapse of growth cones	Prevents cAMP <b>decrease</b> , <b>increases</b> myelination & neuron number across repair site
Chondroitinase ABC	Enzyme that degrades proteoglycans	Degrades chondroitin sulfate proteoglycans, inactivates RhoA	<b>Increases</b> axon regeneration rate
Ibuprofen	NSAID	Inhibits RhoA cascade	<b>Increases</b> nerve fiber number, density & width
Melatonin	Hormone; regulates circadian rhythm	<b>Decreases</b> TGF-β1 & bFGF, <b>increases</b> SOD	<b>Increases</b> number of large myelinated axons
Transthyretin (TTR)	Serum carrier of thyroxine & retinol; called prealbumin	Unknown	Improved sensory neurite outgrowth

*Bax: Bcl-2 associated X protein ; Bcl-2: B-cell lymphoma 2; BDNF: Brain-derived neurotrophic factor; bFGF: β-fibroblast growth factor; cAMP: cyclic adenosine monophosphate; CGRP: calcitonin gene-related peptide; CRF: chronic renal failure; ERK: extracellular signal-regulated kinase; FKBP-52: FK506 binding protein 52; GAP-43: growth-associated protein 43; GFAP: glial fibrillary acidic protein; HSP: heat shock protein; Hsp-90: heat shock protein 90; JAK/STAT: Janus kinase/signal transducer and activator or transcription; N/A: not applicable; NFκB: nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; NSAID: non-steroidal anti-inflammatory drug; ; PDE-5: phosphodiesterase-5; PI3K: phosphatidylinositol-3 kinase; RAGs: regeneration-associated genes; Ras-ERK: Rat sarcoma-extracellular signal-regulated kinase; SAH: subarachnoid hemorrhage; SC: Schwann cells; SOD: superoxide dismutase; TGF-β1: transforming growth factor-β1; TKA: tyrosine kinase A. \*Προσαρμογή από: Panagopoulos et al (2017). The Present and Future for Peripheral Nerve Regeneration. Orthopedics, 40(1), e141-e156.*

## 2.6 Νευρομεταφορές

Η έννοια της νευρομεταφοράς για την αποκατάσταση ενός τραυματισμένου νεύρου, αν και όχι νέα, έχει πρόσφατα επανέλθει δυναμικά, αποτελώντας πλέον μια συναρπαστική νέα προσθήκη στις χειρουργικές επιλογές για την αποκατάσταση των νευρικών κακώσεων. Η νευρομεταφορά στην ουσία περιλαμβάνει τη χειρουργική μετάθεση ενός υγιούς νεύρου για την αποκάσταση ενός ανενεργού απονευρωμένου νευρικού στελέχους, αποσκοπώντας στην επανάκτηση μιας απαραίτητης περιφερικής λειτουργίας σε βάρος άλλης δευτερεύουσας (S. K. Lee & Wolfe, 2012). Το νεύρο δότης μετατίθεται περιφερικότερα, καθώς συρράπτεται στο περιφερικό στέλεχος του νοσούντος νεύρου, ουσιαστικά μετατρέποντας έτσι μια κεντρική βλάβη σε περιφερική (Wong, Pianta, & Mastella, 2012).

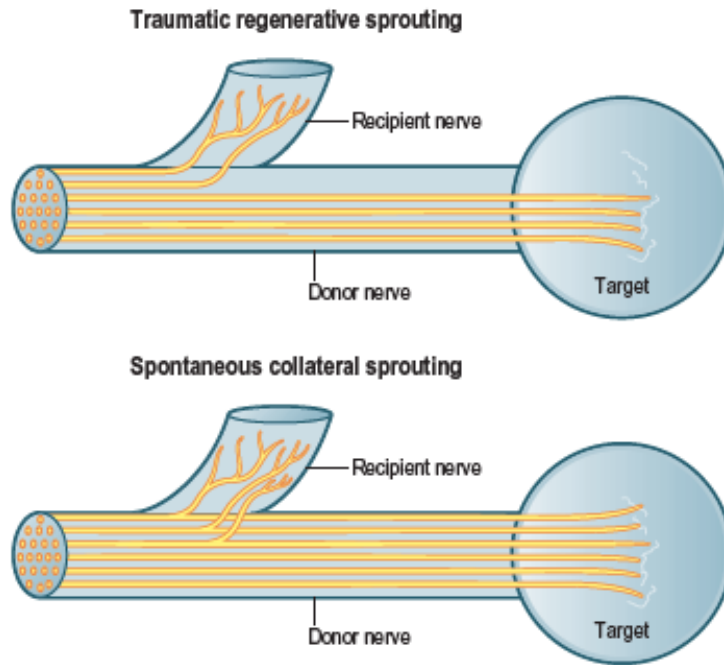
Ένα από τα σημαντικότερα γεγονότα που κατέστησε τις νευρομεταφορές πιο δημοφιλείς αποτελεί η εξέλιξη της γνώσης μας γύρω από την τελικο-πλάγια συρραφή (Εικόνα 29).



**Εικόνα 29: Εναλλακτικές μέθοδοι συρραφής στις νευρομεταφορές**

(a) Τελικο-τελική συρραφή μεταξύ νεύρου-δότη (κόκκινο) και νεύρου-λήπτη (μπλε). (b) Τελικο-πλάγια συρραφή, όπου το περιφερικό τμήμα του νεύρου λήπτη μεταφέρεται στη πλάγια επιφάνεια του άθικτου νεύρου-δότη. (c) Ανάστροφη τελικο-πλάγια συρραφή, όπου το νεύρο-δότης τέμνεται και το κεντρικό του τμήμα μετατίθεται στη πλάγια επιφάνεια του νεύρου λήπτη (Αναπαραγωγή από: Boyd et al. *Nerve transfers*. In: Neligan PC, ed. *Plastic Surgery: Hand and Upper Extremity*. Vol 6. 3rd ed. Philadelphia, PA: Elsevier; 2013:694-718).

Η τελικο-πλάγια συρραφή στην ουσία περιλαμβάνει τη συννένωση του περιφερικού κολοβώματος ενός τραυματισμένου νεύρου στη πλάγια επιφάνεια ενός άθικτου νεύρου, το οποίο πλέον χρήζει ως πηγή νευραξόνων. Αν και η τεχνική αυτή είχε περιγραφεί ήδη από του 19ου αιώνα, εγκαταλείφθηκε στη συνέχεια για το μεγαλύτερο μέρος του 20ου αιώνα, για να επανεμφανιστεί στις αρχές της δεκαετίας του '90 (Lundborg, Zhao, Kanje, Danielsen, & Kerns, 1994). Ωστόσο, η επιτυχία της μεθόδου παρέμεινε αρχικά αμφιλεγόμενη, με καλύτερα αποτελέσματα σε ό,τι αφορά την αποκατάσταση της αισθητικής λειτουργίας και δευτερευόντος της κινητικής (Viterbo, Trindade, Hoshino, & Mazzoni Neto, 1992, 1994). Στη συνέχεια αποδείχτηκε ότι ενώ τα αισθητικά νεύρα υφίστανται παράπλευρη εκβλάστηση αυθόρμητα (spontaneous collateral sprouting), στα κινητικά νεύρα πρέπει να προηγηθεί αξονοτομητική βλάβη, προκειμένου αυτό να καταστεί δυνατόν (traumatic regenerative sprouting) (Hayashi et al., 2008).



**Εικόνα 30: Αναγεννητική και παράπλευρη εκβλάστηση**

Τα κινητικά νεύρα υφίσταται τραυματική αναγεννητική εκβλάστηση κατόπιν νευρικής κάκωσης, ενώ τα αισθητικά νεύρα υφίστανται αυθόρμητη παράπλευρη εκβλάστηση (Αναπαραγωγή από: *Boyd et al. Nerve transfers. In: Neligan PC, ed. Plastic Surgery: Hand and Upper Extremity. Vol 6. 3rd ed. Philadelphia, PA: Elsevier; 2013:694-718*).

Απαιτείται επινευροτομή του νεύρου-λήπτη, ενώ μερική αξονότμηση θα οδηγήσει σε εντονότερη αναγεννητική εκβλάστηση (Hayashi et al., 2008). Η ανάστροφη τελικο-πλάγια συρραφή περιλαμβάνει πλήρη διατομή του νεύρου-δότη, το οποίο στη συνέχεια συρράπτεται πλαγίως στο νεύρο-λήπτη. Έτσι μεγιστοποιείται ο διαθέσιμος αριθμός κινητικών νευρώνων από το νεύρο-δότη, ενώ το νεύρο-λήπτης παραμένει σε συνέχεια. Η μέθοδος αυτή είναι γνωστή και ως *supercharging* (Kale et al., 2011). Ειδικά σε περιπτώσεις κεντρικής νευρικής βλάβης όπου η απόσταση που πρέπει να διανυθεί από τους αναγεννηθέντες άξονες είναι πολύ μεγάλη, η τεχνική αυτή δύναται να αποτρέψει τη μη αναστρέψιμη ατροφία και ίνωση των απονευρωμένων μυών (Tung & Mackinnon, 2010).

Οι ενδείξεις για νευρομεταφορά περιλαμβάνουν τις κακώσεις του βραχιονίου πλέγματος και ειδικότερα αυτές που σχετίζονται με εξελκυσμό, τις πολύ κεντρικές νευρικές

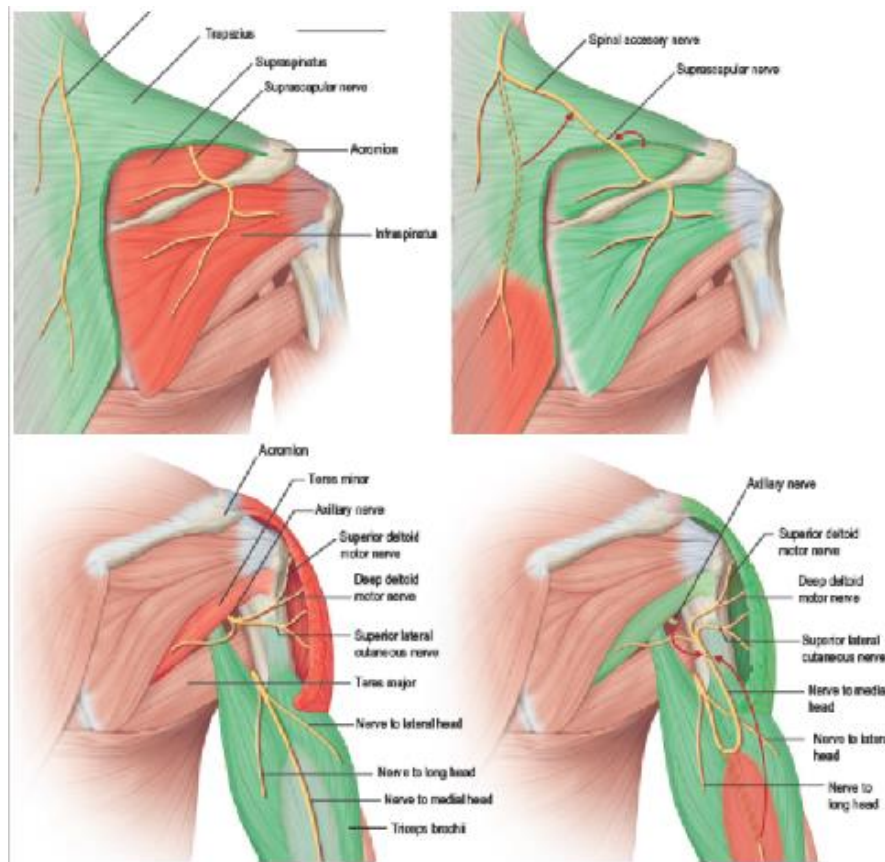
κακώσεις στις οποίες οι απόσταση που πρέπει να διανυθεί από τους αναγεννηθέντες νευρώνες μέχρι τα όργανα στόχο είναι πολύ μεγάλη, την παρουσία εκτεταμένων τραυματικών περιοχών με συνοδό ύπαρξη σκληρυντικών ουλών, τις όψιμες βλάβες, τις αισθητικές βλάβες σε κρίσιμη λειτουργικά περιοχή (Tung & Mackinnon, 2010).

Η δημοφιλία των νευρομεταφορών έχει αυξηθεί σημαντικά τα τελευταία χρόνια για έναν αριθμό από λόγους, μεταξύ των οποίων ο σημαντικότερος είναι ότι "ο χρόνος είναι μυϊκή μάζα" (time is muscle). Καθώς η χρονική στιγμή της νευρικής κάκωσης απομακρύνεται από τον ορίζοντα, η δυνατότητα για αποκατάσταση καλής κινητικής λειτουργίας γίνεται όλο και πιο δύσκολη. Η καθολική διακοπή της επικοινωνίας μεταξύ των νεύρων και των μυϊκών ομάδων είναι αδύνατον να αποκατασταθεί μόλις η απονεύρωση και η ίνωση εδραιωθούν περιφερικά, κάτι το οποίο μπορεί να συμβεί ακόμα και μέσα σε ένα έτος. Η νευρομεταφορά γεφυρώνει το νευρικό χάσμα τοποθετώντας τους αναγεννηθέντες νευράξονες πιο κοντά στα τελικά κινητικά όργανα στόχο, μετατρέποντας έτσι μια κεντρική βλάβη σε περιφερική. Ένα ακόμα πλεονέκτημα της μεθόδου είναι ότι η χειρουργική αποκατάσταση λαμβάνει χώρα εκτός της ζώνης βλάβης, αποφεύγοντας έτσι τεχνικά δύσκολες παρασκευές ή τραυματισμό των ευαίσθητων παράπλευρων νευραγγειακών δομών (Tung & Mackinnon, 2010). Σε αντίθεση με τις τενοντομεταφορές, οι νευρομεταφορές δεν χρήζουν μεγάλης μετεγχειρητικής ακινητοποίησης, κάτι ιδιαίτερα σημαντικό σε ασθενείς που συχνά έχουν συγκάμψεις. Επιπλέον, οι βιομηχανικές ιδιότητες των μυϊκών ομάδων παραμένουν αναλλοίωτες. Αντένδειξη για νευρομεταφορά αποτελεί η εξαιρετικά όψιμη βλάβη των τελικών οργάνων, τα οποία δεν πρόκειται πλέον να αποκρυθούν στην επανανεύρωση.

Οι πιο δημοφιλείς στόχοι επανανεύρωσης με χρήση νευρομεταφοράς περιλαμβάνουν την κάμψη του αγκώνα, την απαγωγή του ώμου, τη σταθεροποίηση της



ωμοπλάτης, την έκταση του αγκώνα, καθώς και πλειάδα περιφερικών κινητικών και αισθητικών περιφερικών στόχων (Πίνακας 7) (S. K. Lee & Wolfe, 2012).

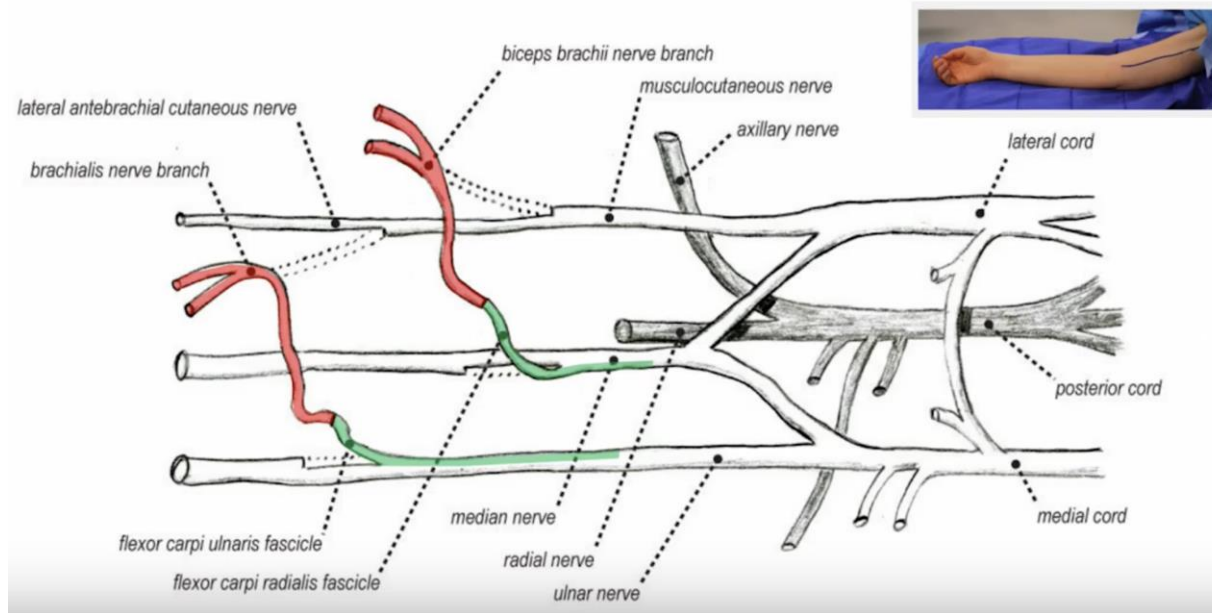


**Εικόνα 31: Νευρομεταφορές για αποκατάσταση της λειτουργίας του ώμου**

Οι κλασικές νευρομεταφορές για την αποκατάσταση της λειτουργίας του ώμου είναι η μεταφορά του παραπληρωματικού στο υπερπλάτιο νεύρο (πάνω) και η μεταφορά του έσω κλάδου του τρικεφάλου στο μασχαλιαίο νεύρο (Αναπαραγωγή από: Neligan PC, ed. *Plastic Surgery: Hand and Upper Extremity*. Vol 6. 3rd ed. Philadelphia, PA: Elsevier; 2013:694-718).

Η αποκατάσταση της λειτουργίας του ώμου μπορεί να επιτευχθεί με τη νευρομεταφορά του παραπληρωματικού νεύρου (spinal accessory nerve) στο υπερπλάτιο νεύρο (suprascapular nerve), είτε με οπίσθια είτε με πρόσθια προσπέλαση (Colbert & Mackinnon, 2006). Για περαιτέρω αύξηση της απαγωγής του ώμου, είναι χρήσιμη η νευρομεταφορά του νευρικού κλάδου στην έσω κεφαλή του τρικεφάλου στο μασχαλιαίο νεύρο (Εικόνα 31). Για την αποκατάσταση της κάμψης του αγκώνα επιτυγχάνεται με διπλή δεσμιδική νευρομεταφορά δεσμίδων του μέσου και του ωλενίου στο μυοδερματικό νεύρο.

Έτσι αποκαθίσταται η νεύρωση του δικεφάλου βραχιονίου και του βραχιονίου μυός (Εικόνα 32). Τα νεύρα παρασκευάζονται μέσω τομής κατά μήκος της δικεφαλικής εντομής. Η επανανεύρωση επιτυγχάνεται 5-6 μήνες μετεγχειρητικά (S. E. Mackinnon, Novak, Mykatzyn, & Tung, 2005).

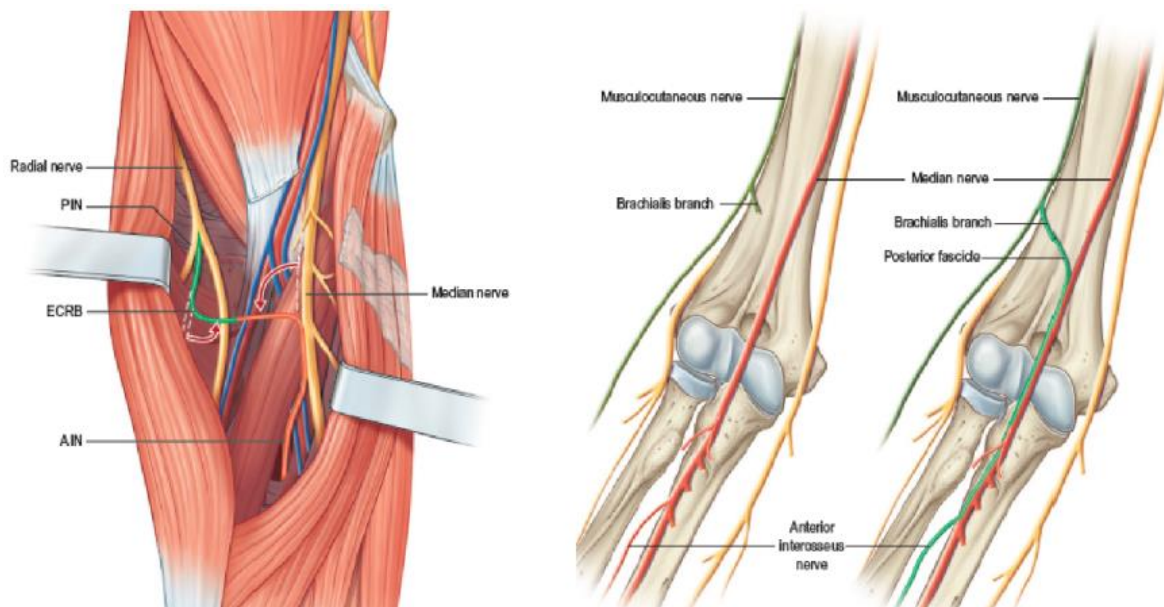


**Εικόνα 32: Διπλή δεσμιδική νευρομεταφορά για αποκατάσταση της κάμψης του αγκώνα**

Για την αποκατάσταση της κάμψης του αγκώνα επιλέγεται συνήθως νευρομεταφορά αναλώσιμων κλάδων του μέσου και του ωλενίου νεύρου (κλάδοι προς FCU, FCR, FDS ή PL) στο μυοδερματικό νεύρο (Αναπαράγωγή από: *Nerve Surgery*; Susan E. Mackinnon, ed.; New York; Thieme Medical Publishers Inc., 2016).

Η σταθεροποίηση της ωμοπλάτης επιχειρείται με τη μετάθεση του θωρακοραχιαίου νεύρου (thoracodorsal nerve) στο μακρό θωρακικό νεύρο (long thoracic nerve), με σκοπό την επαναλειτουργία που οδοντωτού μυός. Σε περίπτωση βλάβης του μέσου νεύρου, οι θεραπευτικές προτεραιότητες περιλαμβάνουν την αποκατάσταση της λειτουργίας του πρόσθιου μεσόστιου νεύρου (AIN), της αντίθεσης του αντίχειρα, της κάμψης του δείκτη και μέσου, καθώς και της αισθητικότητας στο πρώτο μεσοδακτύλιο διάστημα. Ο κλάδος του βραχέος κερκιδικού εκτείνοντα τον καρπό (ECRB) από το κερκιδικό νεύρο χρησιμοποιείται για

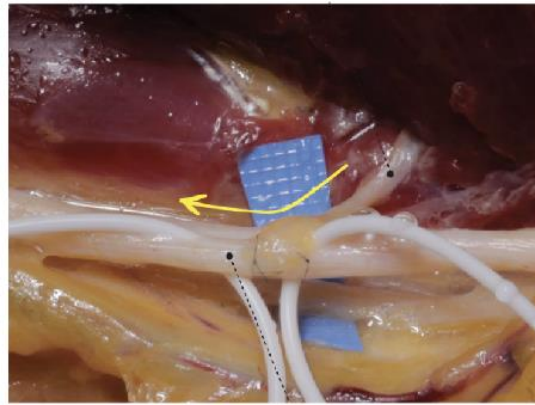
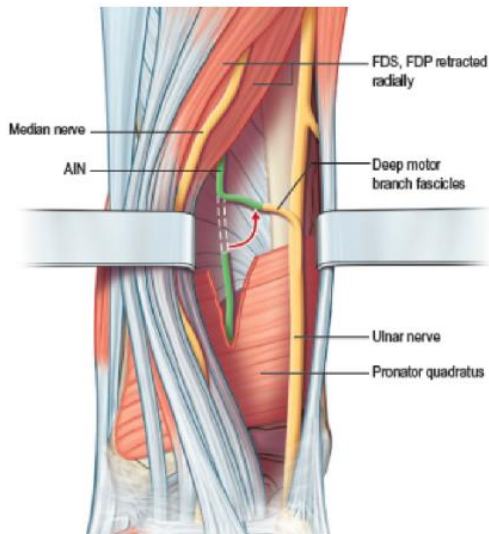
την επανανεύρωση του στρογγύλου πρηνιστή (PT), ενώ ο κλάδος του βραχιονίου μυός μετατίθεται στο AIN (Εικόνα 33) (Zheng, Hou, Gu, Shi, & Guan, 2008).



**Εικόνα 33: Νευρομεταφορές για βλάβη του μέσου νεύρου**

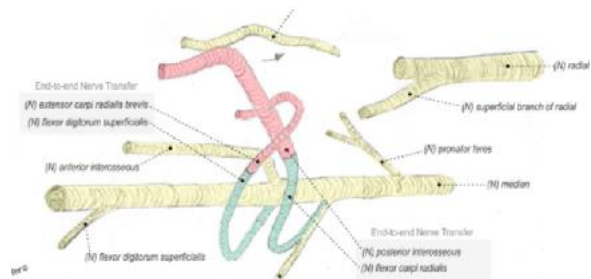
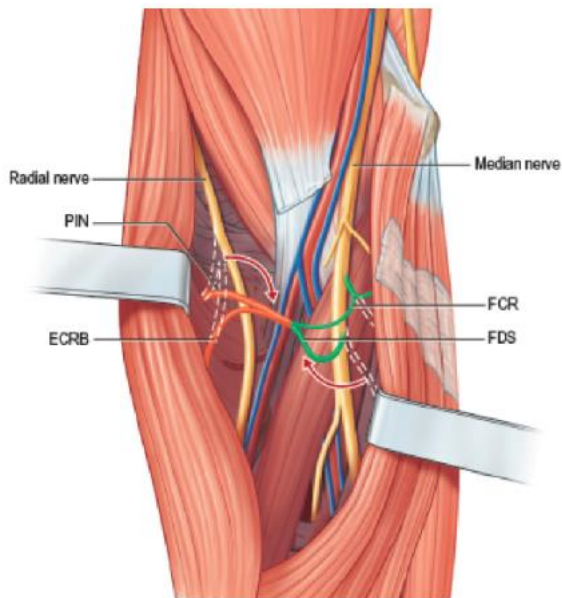
Συνηθέστερες θεραπευτικές επιλογές σε περίπτωση κάκωσης του μέσου νεύρου είναι η μεταφορά του κλάδου του ECRB (αριστερά) και η μεταφορά του κλάδου του βραχιονίου μυός στο AIN (Αναπαραγωγή από: Neligan PC, ed. *Plastic Surgery: Hand and Upper Extremity*. Vol 6. 3rd ed. Philadelphia, PA: Elsevier; 2013:694-718).

Σε περίπτωση βλάβης του ωλένιου νεύρου, σημαντικότερη προτεραιότητα είναι η επαναλειτουργία των ενδογενών μυών της άκρας χειρός. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιείται η μεταφορά του AIN που πρόρχεται από το μέσο νεύρο και η τελικο-τελική ή τελικο-πλάγια (supercharge) συρραφή του με τον εν τω βάθει κινητικό κλάδο του ωλένιου νεύρου (Εικόνα 34) (Brown, Yee, & Mackinnon, 2009). Στις βλάβες του κερκιδικού νεύρου, προτεραιότητες είναι η αποκατάσταση της έκτασης του καρπού και των δακτύλων, καθώς και η έκταση του αντίχειρα. Οι πιο συχνές νευρομεταφορές στη προκειμένη περίπτωση περιλαμβάνουν τη χρήση αναλώσιμων κλάδων του επιπολής καμπτήρα των δακτύλων (FDS) και του κερκιδικού καμπτήρα τον καρπό (FCR) και την επανανεύρωση του οπίσθιου μεσόστιου νεύρου (PIN) και του ECRB (Εικόνα 35) (Ray & Mackinnon, 2011).



**Εικόνα 34: Νευρομεταφορά για κάκωση του ωλενίου νεύρου**

Σχηματική και διεγχειρητική απεικόνιση μεταφοράς του AIN στον εν τω βάθει κινητικό κλάδο του ωλενίου νεύρου (Αναπαραγωγή από: Neligan PC, ed. *Plastic Surgery: Hand and Upper Extremity*. Vol 6. 3rd ed. Philadelphia, PA: Elsevier; 2013:694-718).

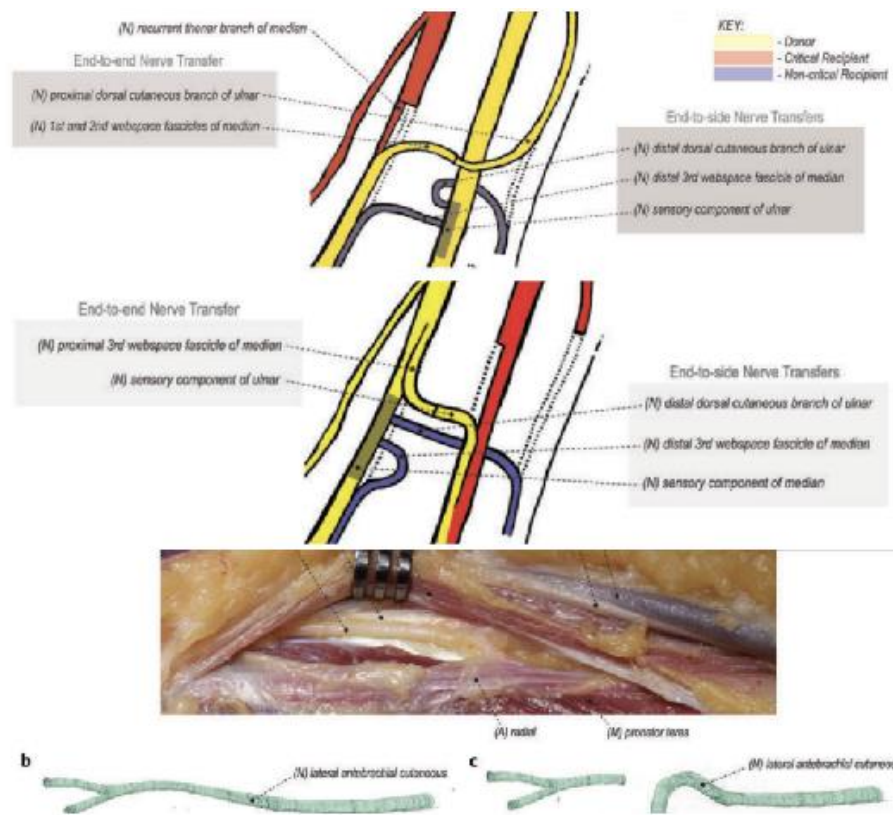


**Εικόνα 35: Νευρομεταφορές για κάκωση του κερκιδικού νεύρου**

Οι συχνότερες νευρομεταφορές για κάκωση του κερκιδικού νεύρου είναι αυτές των κλάδων του FDS και FCR από το μέσο νεύρο στο PIN και στον κλάδο του ECRB (Αναπαραγωγή από: Neligan PC, ed. *Plastic Surgery: Hand and Upper Extremity*. Vol 6. 3rd ed. Philadelphia, PA: Elsevier; 2013:694-718).



Σε περίπτωση αισθητικού ελλείμματος του μέσου νεύρου, μια κοινή στρατηγική είναι η χρήση τριπλής νευρομεταφοράς που περιλαμβάνει τελικο-τελική συρραφή του ραχιαίου δερματικού κλάδου του ωλενίου νεύρου (DCU) με τη κερκιδική επιφάνεια του μέσου νεύρου για την αποκατάσταση της αισθητικότητας του 1ου μεσοδακτύλιου διαστήματος, τη τελικο-πλάγια συρραφή του νεύρου του 3ου μεσοδακτύλιου διαστήματος με τον αισθητικό κλάδο του ωλενίου νεύρου, καθώς και την τελικο-πλάγια συρραφή του περιφερικού κολοβώματος του DCU με την αισθητική μοίρα του ωλενίου νεύρου για την αποκατάσταση του ελλείματος του νεύρου-δότη (Brown et al., 2009).



**Εικόνα 36: Νευρομεταφορές για αποκατάσταση αισθητικών ελλειμμάτων**

Τριπλή νευρομεταφορά για αποκατάσταση αισθητικών ελλειμμάτων σε κάκωση του μέσου νεύρου (πάνω) και του ωλενίου νεύρου (μέση). Νευρομεταφορά του LABC στο επιπολής κερκιδικό νεύρο (κάτω) (Αναπαράγωγή από: *Nerve Surgery*; Susan E. Mackinnon, ed.; New York; Thieme Medical Publishers Inc., 2016).

Παρόμοια στρατηγική εφαρμόζεται και για αποκατάσταση της αισθητικότητας σε βλάβες του ωλενίου νεύρου. Ο κλάδος του 3ου μεσοδακτύλιου διαστήματος από το μέσο

νεύρου υφίσταται τελικο-τελική συρραφή με την αισθητική μοίρα του ωλενίου νεύρου, ενώ ο DCU από το ωλένιο νεύρο, καθώς και το περιφερικό κολόβωμα του κλάδου του 3ου μεσοδακτύλιου διαστήματος συρράπτονται τελικο-πλάγια με το μέσο νεύρο. Τέλος, σε περίπτωση αισθητικής βλάβης του κερκιδικού νεύρου, επιχειρείται νευρομεταφορά του έξω δερματικού κλάδου του αντιβραχίου (Εικόνα 36).

Στη βιβλιογραφία, τα αποτελέσματα των νευρομεταφορών είναι αρκετά θετικά. Πολύ ενθαρρυντικά αποτελέσματα έχουν παρατηρηθεί για τη διπλή νευρομεταφορά του μέσου και του ωλενίου νεύρου στους κλάδους για τον δικέφαλο βραχιόνιο και τον βραχιόνιο του μμοδερματικού νεύρου. Οι Mackinnon et al., δημοσίευσαν το 2005 τα πρώτα τους αποτελέσματα σε μια ομάδα 6 ασθενών με μέση παρακολούθηση (follow up) 20.5 μηνών (S. E. Mackinnon et al., 2005). Σε αυτή την ομάδα η μυϊκή επανανεύρωση έλαβε χώρα κατά μέσον όρο 5.5 μήνες μετεγχειρητικά. Τέσσερις ασθενείς ανέκτησαν κάμψη αγκώνα βαθμού 4+/5 στην κλίμακα Medical Research Council (MRC), ενώ 2 ανέκτησαν μυϊκή ισχύ βαθμού 4/5. Το 2006, οι Liverneaux et al παρουσίασαν 10 ασθενείς που ανέκτησαν κάμψη αγκώνα βαθμού 4/5 (Liverneaux, Diaz, Beaulieu, Durand, & Oberlin, 2006). Το 2011, το group της Mackinnon επικαιροποίησε τα αποτελέσματα της διπλής νευρομεταφοράς, αυτή τη φορά σε 29 ασθενείς (Ray, Pet, Yee, & Mackinnon, 2011). Όλοι οι ασθενείς εκτός από έναν (97%) ανέκτησαν κάμψη αγκώνα σε μεγάλο βαθμό. Το 2004, το group του Oberlin περιέγραψε τη μεταφορά μεμονωμένης δεσμίδας του ωλενίου νεύρου στον κλάδο του δικεφάλου σε 32 ασθενείς, από τους οποίους οι 20 ανέκτησαν καλή κάμψη του αγκώνα (Teboul, Kakkar, Ameer, Beaulieu, & Oberlin, 2004). Σχετικά καλά αποτελέσματα είχαν και οι εναλλακτικές νευρομεταφορές του θωρακοραχιαίου και των έσω θωρακικών κλάδων για την αποκατάσταση της λειτουργίας του μμοδερματικού νεύρου (Novak, Mackinnon, & Tung, 2002).

Η αποκατάσταση της λειτουργίας του ώμου είναι συνήθως καλύτερη κατόπιν νευρομεταφοράς παρά αρθρόδεσης, αν και η κάμψη του αγκώνα επιδεινώνεται. Τα καλύτερα αποτελέσματα επιτυγχάνονται με τη διπλή νευρομεταφορά τόσο του υπερπλάτιου όσο και του μασχαλιαίου νεύρου, όπως επιβεβαιώνεται από τη μετα-ανάλυση σε 1088 περιπτώσεις των Merrell et al. το 2001. Το 2003, οι Leechavengvongs et al περιέγραψαν την μεταφορά του κλάδου της μακράς κεφαλής του τρικεφάλου στο μασχαλιαίο νεύρο, παράλληλα με την μεταφορά του παραπληρωματικού στο υπερπλάτιο νεύρο σε 7 ασθενείς, με ανάκτηση ικανοποιητικής απαγωγής και έξω στροφής του ώμου σε όλους τους ασθενείς και μέση απαγωγή του ώμου 124° (Leechavengvongs, Witoonchart, Uerpairojkit, & Thuvasethakul, 2003; Witoonchart, Leechavengvongs, Uerpairojkit, Thuvasethakul, & Wongnopsuwan, 2003).

Σε περίπτωση διαθεσιμότητας μόνο ενός νεύρου-δότη αντί για δύο, φαίνεται ότι λειτουργεί καλύτερα η μετάθεση του υπερπλάτιου νεύρου. Το 2005, οι Songcharoen et al., σε μία σειρά 557 νευρομεταφορών του παραπληρωματικού νεύρου είτε στο υπερπλάτιο είτε στο μασχαλιαίο νεύρο, κατέληξαν ότι τα καλύτερα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν στην ομάδα του υπερπλάτιου νεύρου (Songcharoen, Wongtrakul, & Spinner, 2005). Το 2006, οι Terzis και Kostas περιέγραψαν μια σειρά νευρομεταφορών σε 118 ασθενείς με επανεύρωση του υπερπλάτιου με τη χρήση του παραπληρωματικού ή άλλων δοτών, με ή χωρίς ενδιάμεση χρήση αυτομοσχεύματος. Καλύτερα αποτελέσματα είχαν οι ασθενείς στους οποίους χρησιμοποιήθηκε ως δότης το παραπληρωματικό νεύρο χωρίς ενδιάμεση χρήση μοσχεύματος (Terzis & Kostas, 2006).

Για την πάρεση του κερκιδικού νεύρου, πιο διαδεδομένη είναι η νευρομεταφορά των κλάδων του FDS και FCR από το μέσο νεύρο στους κλάδους του PIN και ECRB του κερκιδικού νεύρου. Οι Ray και Mackinnon, το 2011, περιέγραψαν τα αποτελέσματά τους σε 19 ασθενείς με μέσο follow-up 20 μηνών. Οι περισσότεροι ασθενείς ανέκτησαν εξαιρετική έκταση καρπού



και δακτύλων. Σε 9 ασθενείς πραγματοποιήθηκε συνοδός τενοντομεταφορά PT σε ECRB για ταχύτερη αποκατάσταση (Ray & Mackinnon, 2011). Για την πάρεση του μέσου νεύρου, συνήθως επιστρατεύονται οι κλάδοι των υπτιαστή και ECRB του κερκιδικού, με τελικό στόχο το AIN και τον κλάδο του PT. Οι Hsiao et al. περιέγραψαν μια τέτοια κλινική περίπτωση το 2009. Οι Tung και Mackinnon περιέγραψαν το 2001 μετάθεση εγγύς κλάδου του FDS σε περιφερικότερο κλάδο του PT σε 2 ασθενείς (Tung & Mackinnon, 2001). Οι Ray et al., το 2012, περιέγραψαν 4 περιπτώσεις μεταφοράς του κλάδου του βραχιονίου από το μυοδερματικό με λήπτη το AIN (Ray, Yarbrough, Yee, & Mackinnon, 2012).

Σε υψηλές κακώσεις του ωλενίου νεύρου, η λειτουργικότητα των ενδογενών μυών της άκρας χειρός σπάνια αποκαθίσταται, ακόμα και μετά από άμεση χειρουργική συρραφή, διότι η απόσταση που πρέπει να διανύσουν οι αναγεννηθέντες νευράξονες είναι πολύ μεγάλη. Σε αυτές τις περιπτώσεις, η μετάθεση του τελικού κλάδου του AIN στην περιφερική κινητική μοίρα του ωλενίου νεύρου μπορεί να οδηγήσει σε πλήρη λειτουργική αποκατάσταση. Το 1999, οι Battiston και Lanzetta περιέγραψαν 7 τέτοια περιστατικά (Battiston & Lanzetta, 1999), ενώ το 2002, οι Novak και Mackinnon εφήρμοσαν την τεχνική σε άλλους 8 ασθενείς (Novak & Mackinnon, 2002).

Τέλος, νευρομεταφορές έχουν χρησιμοποιηθεί για την αποκατάσταση της μαιευτικής παράλυσης. Το 1994, οι Kawabata et al., υπήρξαν από τους πρώτους που περιέγραψαν μεταφορά του παραπληρωματικού νεύρου για αποκατάσταση της λειτουργίας του ώμου σε 13 ασθενείς (Kawabata, Kawai, Masatomi, & Yasui, 1994). Το 2005, οι Pondaag et al. συνέκριναν την επιτυχία της επανεύρωσης του υπερπλάτιου νεύρου με νευρικά μοσχεύματα σε 65 ασθενείς, σε αντιδιαστολή με 21 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε νευρομεταφορά του παραπληρωματικού νεύρου, με παραπλήσια αποτελέσματα στις 2 ομάδες (Pondaag, de Boer, van Wijlen-Hempel, Hofstede-Buithuis, & Malessy, 2005). Σε ότι αφορά την κάμψη του

αγκώνα, αναφέρεται βιβλιογραφικά η μετάθεση δέσμης του ωλενίου νεύρου στον κλάδο του δικεφάλου σε 7 παιδιά μέσης ηλικίας 16 μηνών, με μεικτά αποτελέσματα (Noaman, Shiha, & Bahm, 2004).

**Πίνακας 7: Δημοφιλείς νευρομεταφορές για αποκατάσταση κακώσεων περιφερικών νεύρων**

Injured nerve	Missing function	Donor nerve	Recipient nerve
<b>Motor</b>			
Suprascapular	Shoulder abduction, external rotation	Distal spinal accessory	Suprascapular
Long thoracic	Scapula stabilization, forward abduction	Medial pectoral, thoracodorsal, intercostal	Long thoracic
Axillary	Shoulder abduction	Triceps branch of radial nerve, medial pectoral	Axillary
Musculocutaneous	Elbow flexion	Ulnar nerve fascicle to FCU; Median nerve fascicle to FCR, FDS	Brachialis branch; biceps branch
Spinal accessory	Shoulder elevation and abduction	Medial pectoral, C7 redundant fascicle	Spinal accessory
Ulnar	Intrinsic hand	Terminal AIN (branch to pronator quadratus)	Ulnar nerve fascicles to deep motor branch
Median	Thumb opposition Finger flexion Pronation	Terminal AIN (branch to pronator quadratus) FCU, brachialis ECRB, FCU, FDS	Median (recurrent) motor AIN Pronator branch
Radial	Wrist and finger extension	FCR, FDS ± PL	ECRB and PIN
<b>Sensory</b>			
Median sensory	Thumb-index key pinch area sensation	Ulnar common sensory branch to 4th web space Dorsal sensory branch of the ulnar nerve	Median common sensory branch to 1st web space Median common sensory branch to 1st web space
Ulnar sensory	Ring and small finger sensation	Median common sensory branch to the 3rd web space  Lateral antebrachial cutaneous	Ulnar common sensory branch to the 4th web space; ulnar digital nerve to the small finger Dorsal sensory branch of the ulnar nerve

*FCU: flexor carpi ulnaris; FCR: flexor carpi radialis; FDS: flexor digitorum superficialis; AIN: anterior interosseous nerve; ECRB: extensor carpi radialis brevis; PIN: posterior interosseous nerve; PL: palmaris longus. \*Προσαρμογή από: Panagopoulos et al (2017). The Present and Future for Peripheral Nerve Regeneration. Orthopedics, 40(1), e141-e156.*

### 3.1 FK506 & νευρική αναγέννηση

Το ανοσοκατασταλτικό φάρμακο FK506, γνωστό και ως Tacrolimus (Prograf®, Astellas Pharma Inc., Tokyo) είναι μία μακροκυκλική λακτόνη που παράγεται από το βακτήριο *Streptomyces tsukubaensis*, η οποία απομονώθηκε για πρώτη φορά από ζυμό ζήμωσης δείγματος χώματος στην Ιαπωνία, το 1984 (Kino, Hatanaka, Hashimoto, et al., 1987; Kino, Hatanaka, Miyata, et al., 1987). Το όνομα Tacrolimus προέκυψε από τη συγχώνευση των λέξεων "Tsukuba macrolide immunosuppressant". Ήταν ένα από τα πρώτα μακρολιδικά ανοσοκατασταλτικά που ανακαλύφθηκαν, με προγενέστερή του την ραπαμυκίνη (sirolimus), που απομονώθηκε στη Rapa Nui (Νήσος του Πάσχα ή Easter Island), το 1975. Λόγω της ανοσοκατασταλτικής του δράσης, το Tacrolimus εγκρίθηκε από τον FDA (Food & Drug Administration) το 1994, αρχικά για της αναστολή απόρριψης του μοσχεύματος στην μεταμόσχευση του ήπατος (Εικόνα 37).

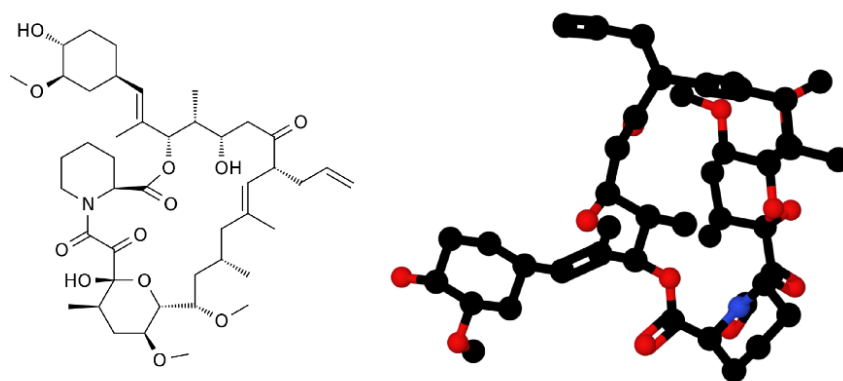
Year	Description
1982	Fujisawa Pharmaceutical Co, Ltd (Tsukuba, Japan) tests wide range of fermented broths of <i>Streptomyces</i> species for inhibitory effects on lymphocytes
1984	Discovery of FR900506 (FK506) from a soil sample in Tsukuba, Japan; strain named <i>Streptomyces tsukubaensis</i>
1986	First scientific report of FK506 at 11th International Congress of Transplantation Society in Helsinki, Finland
1987	First experimental reports of FK506 published in literature
1989	First clinical trial of FK506 for rescue of chronic liver allograft rejection in Pittsburgh, PA
1992	New name for FK506: tacrolimus
1993	Prograf launched as an immediate-release oral immunosuppressant by Fujisawa Pharmaceutical Co, Ltd
1994	First experimental reports of FK506's neurotrophic properties published in literature
1994	FDA approval for prevention of immune rejection after liver transplantation
1997	FDA approval for prevention of immune rejection after kidney transplantation
1999	Protopic launched as a topical agent to treat atopic dermatitis by Fujisawa Pharmaceutical Co, Ltd
2006	FDA approval for prevention of immune rejection after heart transplantation

FDA, US Food and Drug Administration.  
\*Adapted from Wallemacq PE, Reding R. FK506 (tacrolimus), a novel immunosuppressant in organ transplantation: clinical, biomedical, and analytical aspects. Clin Chem. 1993;39(11 Pt 1):2219-2228 and Astellas Pharma, Inc (<https://www.astellas.com/jp/en/about/history>). Accessed October 2, 2019.

#### Εικόνα 37: Σύνοψη ιστορία του FK506/tacrolimus

Αναπαγωγή από: Zuo et al Systemic and Local FK506 (Tacrolimus) and its Application in Peripheral Nerve Surgery. J Hand Surg Am. 2020 Aug;45(8):759-765.

Μετά από πολλαπλές κλινικές μελέτες (όπως η μελέτη ELITE-Symphony), η χρήση του επεκτάθηκε, για να γίνει ο ακρογωνιαίος λίθος της ανοσοκατασταλτικής θεραπείας μετά από μεταμοσχεύσεις νεφρού, καρδιάς, ήπατος, παγκρέατος και πνεύμονα (Brunet et al., 2019; Ekberg et al., 2007; Kasiske et al., 2010; Zijlstra et al., 2015).



Εικόνα 38: Μοριακή δομή του FK506 (Tacrolimus)

Μεγάλο μέρος του ενθουσιασμού για την εισαγωγή του FK506 στην κλινική πράξη προήλθε μάλιστα από το γεγονός ότι η ανοσοκατασταλτική του ισχύς βρέθηκε να είναι 10 με 100 φορές αυτή της κυκλοσπορίνης A (CsA), σε συνδιασμό με ένα αρκετά ευνοϊκότερο προφίλ ανεπιθύμητων ενεργειών (Group, 1994; Starzl et al., 1989; Wang, Zeleny-Pooley, & Gold, 1997). Έτσι, ενώ αρχικά το Tacrolimus αναπτύχθηκε ως θεραπεία διάδωσης, στη συνέχεια υποσκέλισε την CsA ως το ανοσοκατασταλτικό εκλογής στις μεταμοσχεύσεις συμπαγών οργάνων, δεδομένης της μεγαλύτερης ισχύος και της περιορισμένης συγκριτικά νευροτοξικότητάς του (Starzl et al., 1989). Το FK506 παρουσιάζει πολλές μη ανοσολογικές δράσεις, μεταξύ των οποίων η παρεμπόδιση της ανάπτυξης του βακτηρίου *Saccharomyces cerevisiae* (Heitman et al., 1993; Schmidt, Hall, & Koller, 1994), ενίσχυση της ανάπτυξης των τριχοθυλακίων στον άνθρωπο (Yamamoto, Jiang, & Kato, 1994), η αναγέννηση των ηπατικών κυττάρων (Francavilla et al., 1989), και η επιτάχυνση της επούλωσης των τραυμάτων (Carroll et al., 1994). Χρησιμοποιείται επίσης στη θεραπεία της ελκώδους κολίτιδας, καθώς και τοπικά

σε παθήσεις του δέρματος, όπως η ατοπική δερματίτιδα. Η συνηθέστερη μορφή του φαρμάκου κυκλοφορεί με την εμπορική ονομασία Prograf®, από την εταιρεία Astellas Pharma, για χορήγηση 2 φορές την ημέρα. Επιπλέον, κυκλοφορούν σκευάσματα για χορήγηση μία φορά ημερησίως, όπως το Avdagraf® (Astellas Pharma) και Envarsus® (Veloxis Pharmaceuticals, Horsholm, Denmark στις ΗΠΑ και Chiesi Farmaceutici, Parma, Italy στην Ευρώπη). Τέλος, κυκλοφορεί σκεύασμα για τοπική χορήγηση, με την εμπορική ονομασία Protopic® (Leo Pharma, Ballerup, Denmark).

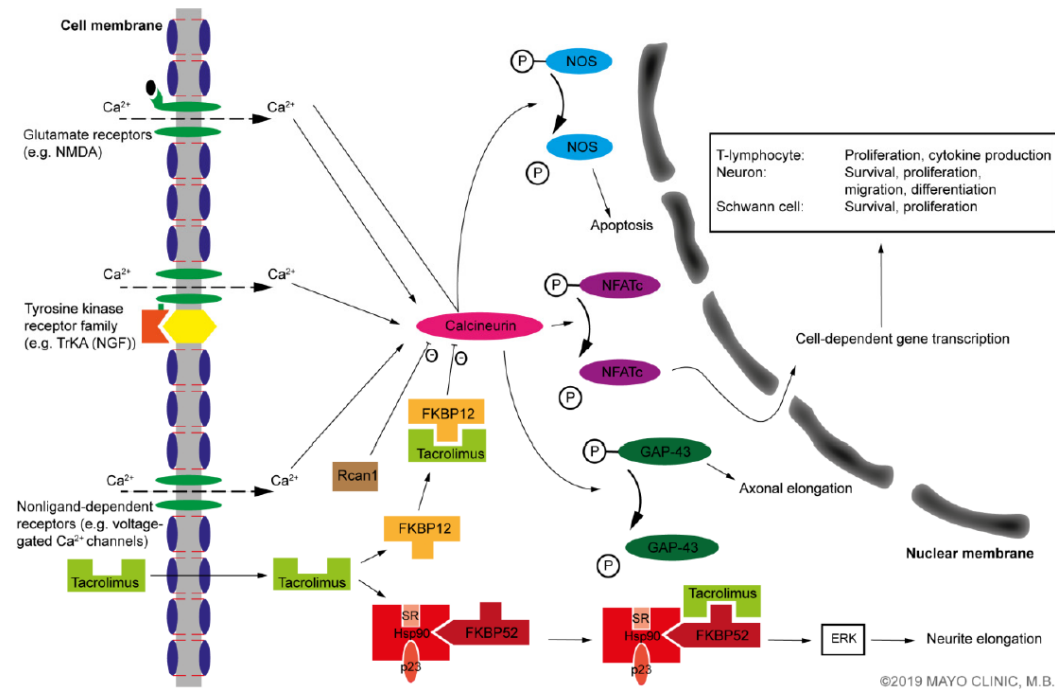
Από την άλλη μεριά, η ανοσοκατασταλτική θεραπεία στις μεταμοσχεύσεις ήπατος οδηγεί συχνά σε νευροτοξικές ανεπιθύμητες ενέργειες, μεταξύ των οποίων διαταραχές της ομιλίας, ψευδαισθήσεις, τρόμος, εφιάλτες, περίεργη συμπεριφορά, σύγχυση και περιφερική νευροπάθεια (Ayres et al., 1994; Starzl et al., 1989). Άλλες επιπλοκές περιλαμβάνουν ευκαιριακές λοιμώξεις, καρδιακή βλάβη, υπέρταση, νεφροτοξικότητα, υπερκαλιαιμία, υπομαγνησιαίμια, υπεργλυκαιμία, διαβήτης, κνησμός, πνευμονική βλάβη (Brenner, Tung, Jensen, & Mackinnon, 2002; Tung, 2010). Ο μεταμοσχευτικός σαχαρώδης διαβήτης (post-transplant diabetes mellitus ή PTDM) εμφανίζεται μέσα στον πρώτο μετεγχειρητικό χρόνο και φαίνεται να σχετίζεται με υψηλότερη δοσολογία Tacrolimus (Dedinska, Laca, Miklusica, Galajda, & Mokaň, 2015).

Παρά τις ανεπιθύμητες νευροτοξικές του ιδιότητες, εξαιρετικό ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι το FK506 έχει βρεθεί σε πειραματικές μελέτες όχι να καταστέλλει, αλλά να επιταχύνει την νευρική αναγέννηση. Οι Gold et al, το 1995, ήταν οι πρώτοι που περιέγραψαν αυτή του την ιδιότητα σε ζωϊκό μοντέλο σύνθλιψης νεύρου σε επίμυες (Gold, Katoh, & Storm-Dickerson, 1995). Έναν χρόνο πριν, οι Lyons et al., έδειξαν ότι το FK506 ενισχύει την αναγέννηση των νευρώνων in vitro (Lyons, George, Dawson, Steiner, & Snyder, 1994).

### 3.1.1 Μοριακός μηχανισμός δράσης του FK506

Αν και διάφοροι μηχανισμοί δράσης έχουν περιγραφεί στη βιβλιογραφία, το FK506 σε γενικές γραμμές προκαλεί μια ισχυρή παρεμπόδιση των T-λεμφοκυττάρων (Jain et al., 1993). Η ανοσοκατασταλτική δράση του FK506 προϋποθέτει τη δέσμευση της ανοσοφυλλίνης FK506-binding protein-12 (FKBP-12) (Bonner & Boulianne, 2017). Στη συνέχεια, το σύμπλεγμα tacrolimus-FKBP-12 παρεμποδίζει με τη σειρά του την πρωτεΐν-φωσφατάση καλσινευρίνη στα T-λεμφοκύτταρα, πρωτεΐνη η οποία ρυθμίζεται (ενεργοποιείται) από το σύμπλεγμα  $Ca^{2+}$ /καλμοδουλίνης. Με βάση το παραπάνω δεδομένο, το FK506 ταξινομείται ως παρεμποδιστής της καλσινευρίνης (calcineurin inhibitor ή CNI). Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η καλσινευρίνη αποφωσφορυλιώνει τους μεταγραφικούς παράγοντες NFATs (nuclear factors of activated T cells). Αυτοί, στη συνέχεια, μεταναστεύουν εντός του κυτταρικού πυρήνα ενεργοποιώντας μεταγραφική δραστηριότητα που οδηγεί στην αύξηση του πολλαπλασιασμού των T-λεμφοκυττάρων και στην παραγωγή κυτοκινών, ιδίως της ιντερλευκίνης IL-2 (Kannegieter et al., 2018; Mouzaki, Dai, Weil, & Rungger, 1992; Rao, Luo, & Hogan, 1997; Standaert, Galat, Verdine, & Schreiber, 1990). Κατά συνέπεια, η παρεμπόδιση της αποφωσφορυλίωσης των NFATs από το FK506 οδηγεί σε ισχυρή καταστολή των T-λεμφοκυττάρων (Jain et al., 1993).





**Εικόνα 39: Οδός καλσινευρίνης/NFAT και μηχανισμός δράσης FK506**

Στο κεντρικό νευρικό σύστημα, το  $Ca^{2+}$ , μέσω της καλμοδουλίνης, ενεργοποιεί την καλσινευρίνη, η οποία στη συνέχεια αποφωσφορυλιώνει το NFAT, οδηγώντας στην πυρηνική μετανάστευση. Η παρεμπόδιση της καλσινευρίνης είναι είτε ενδογενής, μέσω του ρυθμιστή Rcan1, είτε φαρμακολογικά, μέσω της δέσμευσης του FKBP-12 από το FK506. Η επακόλουθη παρεμπόδιση της καλσινευρίνης αποτρέπει την αποφωσφορυλίωση και απενεργοποίηση των GAP-43 και NOS, επιτρέποντας την αξονική επιμήκυνση και αποτρέποντας την νευροτοξικότητα, αντίστοιχα. Το σύμπλεγμα FKBP52-Hsp90-p23 οδηγεί στην ενεργοποίηση της οδού ERK, οδηγώντας στην περαιτέρω ενίσχυση στη νευρική αναγέννηση (Αναπαράγωγή από: Saffari et al. *Exploring the neuroregenerative potential of tacrolimus. Expert Rev Clin Pharmacol.* 2019 Nov;12(11):1047-1057).

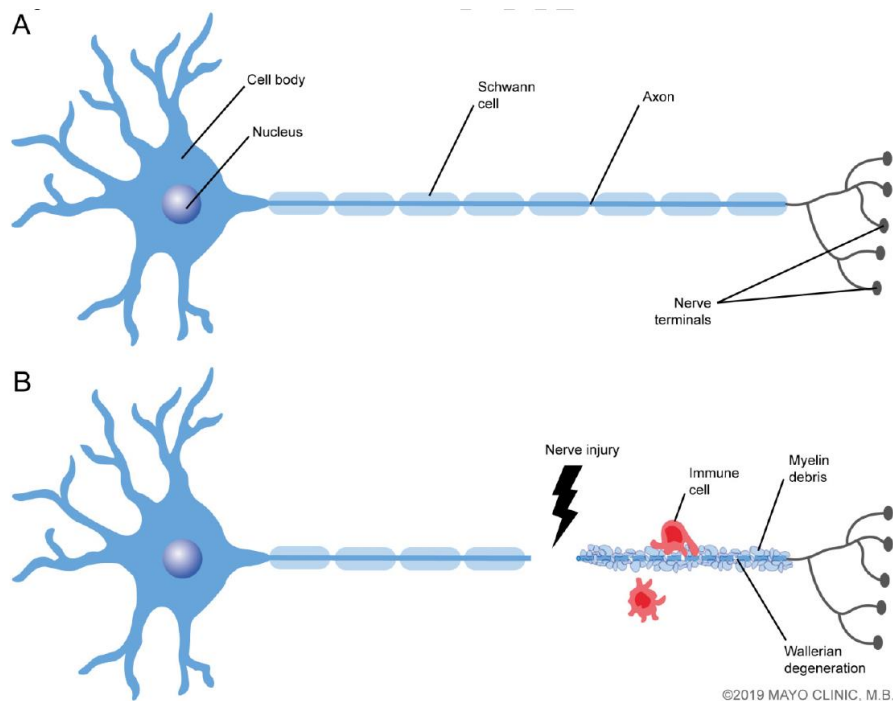
Πέρα από τον ρόλο της στους ανοσοποιητικούς μηχανισμούς, η σηματοδοτική οδός της καλσινευρίνης/NFAT φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο σε πλήθος διεργασιών του ενήλικου νευρικού συστήματος, όπως η μυελίνωση, η συναπτική ευπλαστικότητα, η επιβίωση, πολλαπλασιασμός, μετανάστευση και διαφοροποίηση των νευρώνων (Graef et al., 2003; Serrano-Perez et al., 2015). Η μεταγραφική δραστηριότητα που ρυθμίζεται από το NFAT φαίνεται να διαφοροποιείται ανάλογα με τον υποτύπο των νευρώνων. Διαφορετικοί υποτύποι νευρώνων διαθέτουν συγκεκριμένους NFAT-εξαρτώμενους μεταγραφικούς παράγοντες, με ενεργοποίηση διαφορετικών ομάδων γονιδίων (Εικόνα 39). Με βάση το παραπάνω δεδομένο, πιθανολογείται ότι η παρεμπόδιση από το FK506 της σηματοδοτικής οδού της

καλσινευρίνης/NFAT θα μπορούσε να έχει διαφορετική έκβαση, ανάλογα με τον υποτύπο νευρώνα υπό εξέταση (Kiranyula, Kimaro, & Seke Etet, 2016). Έχει προταθεί ότι η νευροτοξικότητα του FK506 οφείλεται σε βλάβη των ενδοθηλιακών κυττάρων, η οποία σχετίζεται με την υπερπαραγωγή αγγειοσυσταλτικών παραγόντων, όπως η ενδοθηλίνη, με επακόλουθο υποφλοιϊκό οίδημα (Anghel et al., 2013).

Οι νευροπροστατευτικές ιδιότητες του FK506 στο κεντρικό νευρικό σύστημα έχουν μελετηθεί σε ζωικό μοντέλο παροδικής καθολικής εγκεφαλικής ισχαιμίας σε επίμυες (Butcher, Henshall, Teramura, Iwasaki, & Sharkey, 1997; Giordani et al., 2003). Η νευρική βλάβη από εγκεφαλική ισχαιμία οδηγεί σε ενεργοποίηση από συσσώρευση γλουταμάτης των υποδοχέων NMDA (N-methyl-D-aspartate), και στη συνέχεια στην εξαρτώμενη από την καλσινευρίνη αποφωσφορλίωση της NOS (nitric oxide synthase). Η αύξηση της δραστηριότητας της NOS εμπλέκεται στον διεγερτικό νευρωνικό θάνατο (Choi, 1988). Με βάση αυτή τη παραδοχή, έχει πιθανολογηθεί ότι οι νευροπροστατευτικές ιδιότητες του FK506 σχετίζονται με τη μείωση της NOS-εξαρτώμενης νευροτοξικότητας, μέσω της παρεμπόδισης της καλσινευρίνης (Dawson et al., 1993). Η υπόθεση αυτή φαίνεται να επιβεβαιώνεται από το γεγονός ότι ο ενδογενής παρεμποδιστής της καλσινευρίνης Rcan-1 έχει βρεθεί να παίζει προστατευτικό ρόλο κατά την εγκεφαλική ισχαιμία (Sobrado et al., 2012). Άλλοι μελετητές υποστηρίζουν ότι η πρόληψη της ισχαιμικής εγκεφαλικής βλάβης από το FK506 σχετίζεται με de novo αντι-αποπτωτική πρωτεϊνοσύνθεση (Huang et al., 2017).

Στο περιφερικό νευρικό σύστημα, η δέσμευση από το Tacrolimus της FKBP-12 και η επακόλουθη παρεμπόδιση της καλσινευρίνης, πιθανολογείται ότι συμβάλλει στην επιτάχυνση της νευρικής αναγέννησης μέσω της αύξησης της φωσφορλίωσης του GAP-43 και της ενεργοποίησης της οδού TGF-β1 (Gold et al., 1995; Lyons, Steiner, Snyder, & Dawson, 1995). Μετά από περιφερική νευρική βλάβη, το περιφερικό νευρικό κολόβωμα υφίσταται μία

διεργασία γνωστή ως Βαλεριανή εκφύλιση (Waller, 1851). Οι άξονες και η μυελίνη εκφυλίζονται καθόλο το μήκος του νεύρου περιφερικά της κάκωσης, δημιουργώντας έναν "άδειο σωληνίσκο", στον οποίο στη συνέχεια θα μεταβούν οι άξονες και τα κύτταρα Schwann του κεντρικού νευρικού κολοβώματος, προκειμένου να επιτευχθεί η επανανεύρωση του μύς-στόχου.



**Εικόνα 40: Βαλεριανή εκφύλιση κατόπιν περιφερικής νευρικής κάκωσης**  
Αναπαραγωγή από: Saffari et al. *Exploring the neuroregenerative potential of tacrolimus*. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2019 Nov;12(11):1047-1057.

Οι Lyons et al απέδειξαν ότι τα επίπεδα τόσο του FKBP-12 όσο και του GAP-43 αυξάνονται μετά από περιφερική νευρική βλάβη (Lyons et al., 1995). Το GAP-43 βρίσκεται κυρίως στα αυξητικά κωνία και τα κύτταρα Schwann και η παρουσία του είναι κρίσιμη για τη νευρική αναγέννηση (Sabatini, Lai, & Snyder, 1997). Πιθανολογείται ότι το FK506 ενεργοποιεί την οδό του TGF-β1, μεθοδεύοντας την αποδέσμευση του FKBP-12 από τον υποδοχέα του TGF-β1, ώντας ο πρώτος σημαντικός παρεμποδιστής του τελευταίου. Η οδός αυτή διεγείρει στη συνέχεια την παραγωγή NGF (Wang et al., 1997). Επιπλέον, η αυξημένη έκφραση του TGF-β1

φαίνεται να επιταχύνει και τη Βαλεριανή εκφύλιση, ενισχύοντας τον πολλαπλασιασμό των SC και την απομάκρυνση της μυελίνης (Li et al., 2015).

Παράλληλα, έχει υποτεθεί ότι υπάρχουν και μηχανισμοί ανεξάρτητοι της οδού της καλσινευρίνης, δεδομένου ότι FKBP-12 knockout ποντικοί έχει βρεθεί πως διατηρούν τις ευνοϊκές αυτές ιδιότητες του FK506 (Udina, Ceballos, Verdu, Gold, & Navarro, 2002). Επιπλέον, η χορήγηση ενός μη ανοσοκατασταλτικού αναλόγου του FK506, από τους Gold et al, φαίνεται να επιταχύνει τη νευρική λειτουργική αποκατάσταση μετά από σύνθλιψη του ισχιακού νεύρου. Πληθώρα μελετών δείχνουν, επίσης, ότι το FK506 δεσμεύει μία ακόμα ανοσοφυλλίνη, την FKBP-52 (FK506-binding protein-52) (Quinta & Galigniana, 2012). Οι Gold et al απέδειξαν σε μελέτη ότι αντισώματα στη παραπάνω πρωτεΐνη παρεμποδίζουν την νευροτροφική δράση του FK506, αποτρέποντας την ενεργοποίηση της οδού ERK από το σύμπλεγμα FKBP52-Hsp90-p23 (Gold & Zhong, 2004).

### **3.1.2 Νευροτοξικότητα**

Το κλινικό εύρος της νευροτοξικότητας από FK506 είναι ευρύ και περιλαμβάνει τρόμο, κεφαλαγία, αϋπνία, επιληπτικές κρίσεις και διαταραχές της συνείδησης (Wijdicks, 2001). Η βαρύτητα των συμπτωμάτων σχετίζεται με τις συγκεντρώσεις του φαρμάκου στο πλάσμα. Ελάττωση ή παράλειψη δόσεων οδηγεί συνήθως σε ύφεση των συμπτωμάτων (Bechstein, 2000). Μακροπρόθεσμη χορήγηση μπορεί να οδηγήσει σε εμφάνιση περιφερικής νευροπάθειας. Επιπλέον, χορήγηση μία φορά την ημέρα με το σκεύασμα Envarsus® φαίνεται να περιορίζει ή να αμβλύνει τις παραπάνω ανεπιθύμητες ενέργειες (Langone et al., 2015).

### 3.1.3 Χρόνος χορήγησης του FK506

Πολλές ερευνητικές εργασίες αποπειράθηκαν να αποκαλύψουν την παρουσία συσχέτισης χρόνου χορήγησης του FK506 και αποτελεσματικότητας στην επιτάχυνση της νευρικής αναγέννησης, μελετώντας πιο στεχνά τη χρονική αλληλουχία μεταξύ της στιγμής της νευρικής βλάβης, του χρόνου της μικροχειρουργικής συρραφής και της έναρξης της φαρμακευτικής θεραπείας. Σε πολλές μελέτες, η άμεση συστηματική χορήγηση FK506 οδήγησε σε βελτίωση της λειτουργικής αποκατάστασης μετά από σύνθλιψη ή άμεση νευρική συρραφή (Doolabh & Mackinnon, 1999; Giordani et al., 2003; Gold, Densmore, Shou, Matzuk, & Gordon, 1999; Gold et al., 1995; Jost, Doolabh, Mackinnon, Lee, & Hunter, 2000). Βέβαια, κάτι τέτοιο σπάνια ανταποκρίνεται στην πραγματικότητα της καθημερινής κλινικής πράξης, όπου οι νευρικές συρραφές είναι κατά κανόνα όψιμες.

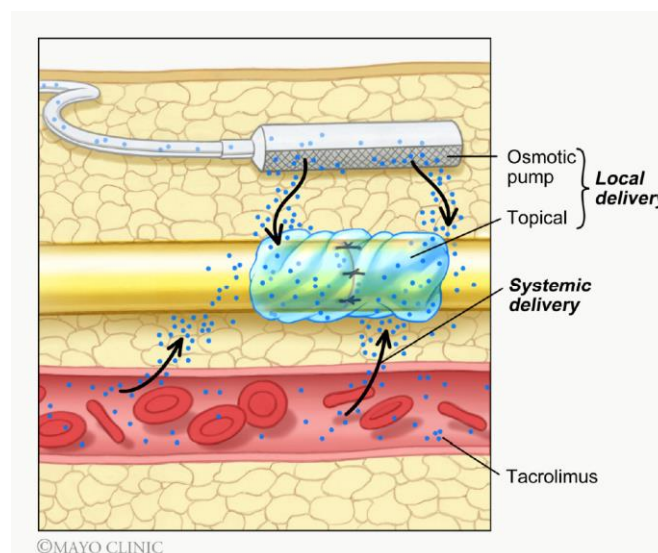
Οι Wang et al., παρατήρησαν ότι η διακεκομμένη χορήγηση του FK506, αν και λιγότερο αποτελεσματική από τη συνεχή χορήγηση, ήταν το ίδιο αποτελεσματική κατόπιν νευρικής διατομής, είτε σε περίπτωση άμεσης χορήγησης (ημέρες 0-8 και 10-17), είτε σε περίπτωση καθυστερημένης χορήγησης (ημέρες 9-17) (Wang & Gold, 1999). Ωστόσο, σύμφωνα με τη μελέτη των Sobol et al., η θετική επίπτωση στη νευρική αναγέννηση μειώνεται σημαντικά σε περίπτωση έναρξης χορήγησης 3 ημέρες μετά τη νευρική κάκωση, ενώ χάνεται τελείως με καθυστέρηση χορήγησης 5 ημερών (Sobol et al., 2003).

Οι Brenner et al., βρήκαν ότι η καθυστέρηση της χειρουργικής συρραφής και της χορήγησης FK506 (ακόμα και 7 ημερών), ή το άμεσο χειρουργείο με συνοδό καθυστερημένη χορήγηση, οδηγούν σε πιο περιορισμένη εκβλάστηση νέων νευραξόνων. Από την άλλη, το άμεσο χειρουργείο με συνοδό άμεση χορήγηση οδήγησαν σε βελτίωση της λειτουργικής αποκατάστασης (Brenner et al., 2005). Οι Sulaiman et al., είχαν καλύτερα αποτελέσματα με 5mg/kg FK506 μετά από χρόνια αξονότμηση, όχι όμως με χρόνια απονεύρωση κυττάρων

Schwann (Sulaiman, Voda, Gold, & Gordon, 2002). Οι Chunasuwankul et al., μελέτησαν την αποτελεσματικότητα διακεκομμένης χαμηλής δόσης και βρήκαν καλά αποτελέσματα, ακόμα και μετά τη διακοπή της θεραπείας μετά από 2 μήνες (Chunasuwankul et al., 2002). Οι Snyder et al., βρήκαν ότι και η προπαρασκευαστική χορήγηση FK506 πριν το χειρουργείο έχει καλά αποτελέσματα (Snyder et al., 2006).

### 3.1.4 Οδός χορήγησης του FK506

Οι οδοί χορήγησης του FK506 ποικίλουν, με καθεμία να διαθέτει σχετικά πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα. Οι δύο βασικές οδοί είναι η συστηματική οδός (από το στόμα, υποδόρια, ενδοφλέβια, ενδοπεριτοναϊκή, ενδομυϊκή), και η τοπική οδός (Εικόνα 41).



**Εικόνα 41: Συστηματική και τοπική χορήγηση FK506**

Αναπαραγωγή από: Saffari et al. Exploring the neuroregenerative potential of tacrolimus. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2019 Nov;12(11):1047-1057.

Η οδός χορήγησης επηρεάζει καθοριστικά την βιοδιαθεσιμότητα του φαρμάκου. Η συστηματική χορήγηση συχνά προτιμάται, καθώς είναι πιο εύχρηστη (Serwer, Hashizume, Ozawa, & James, 2010). Ωστόσο είναι πιο εύκολο να οδηγήσει σε μεγαλύτερες ημερήσιες δόσεις, επηρεάζοντας έτσι την αποτελεσματικότητα και το προφίλ των ανεπιθύμητων

ενεργειών. Η τοπική χορήγηση μπορεί να πετύχει θεραπευτικά επίπεδα του φαρμάκου στην περιοχή της βλάβης, αποφεύγοντας τις ανεπιθύμητες ενέργειες της συστηματικής χορήγησης (Saffari et al., 2019).

Σε ζωϊκά μοντέλα, η υποδόρια χορήγηση FK506 φαίνεται να επιταχύνει την νευρική αναγέννηση και να οδηγεί σε βελτίωση της λειτουργικής αποκατάστασης, τόσο σε μοντέλο σύνθλιψης του ισχιακού νεύρου (Gold et al., 1995; Gold, Storm-Dickerson, & Austin, 1994; Wang et al., 1997), όσο και μετά από χρήση αλλομοσχεύματος για ανακατασκευή νευρικής βλάβης (Shahraki, Mohammadi, & Najafrou, 2015). Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρούνται ακόμα και σε μεγάλα ζωϊκά μοντέλα (Jensen, Brenner, Tung, Hunter, & Mackinnon, 2005). Η τοπική χορήγηση με φλεβικό μόσχευμα εμποτισμένο με FK506 οδήγησε σε βελτίωση της κινητικής αποκατάστασης (Azizi, Mohammadi, Amini, & Fallah, 2012). Ένα από τα προβλήματα της τοπικής χορήγησης παραμένει η διάρκεια της βιοδιαθεσιμότητας του φαρμάκου (Labroo et al., 2019).

Οι Diaz et al., σε πειραματικό μοντέλο συρραφής του προσωπικού νεύρου σε κουνέλια, είχαν σημαντικά καλύτερα αποτελέσματα στην ομάδα με τοπική χορήγηση FK506 (Diaz et al., 2004). Οι Unadkat et al., σε πειραματικό μοντέλο αλλομεταμόσχευσης κάτω άκρου σε επίμυες, δημιούργησαν ένα βιοδιασπώμενο δίσκο, επενδυμένο με μικροσφαιρίδια φορτωμένα με FK506, που εμφύτευσαν υποδορίως πλησίον του χειρουργηθέντος σκέλους. Μέσω του δίσκου αυτού, πέτυχαν συγκεντρώσεις FK506 μεταξύ 5-15 ng/kg, για  $146 \pm 11$  ημέρες, με σταδιακή μείωση των επιπέδων του φαρμάκου κατόπιν αυτού του χρονικού σημείου. Τα πειραματόζωα που έλαβαν τον δίσκο είχαν επιβίωση του άκρου χωρίς απόρριψη για 180 ημέρες στο 100% των περιπτώσεων (Unadkat et al., 2017). Μία εναλλακτική μέθοδος τοπικής χορήγησης που έχει προταθεί είναι η χρήση σωλινίσκων σιλικόνης, συνδεδεμένους με οσμωτικές αντλίες. Ωστόσο, οι αντλίες αυτές δεν είναι βιοδιασπώμενες και μπορεί να



οδηγήσουν σε δευτερογενή τοπικά προβλήματα, όπως η ίνωση και η χρόνια νευρική βλάβη από δευτερογενή παγίδευση (Guilhem et al., 2009; Lundborg, 2000; Merle, Dellon, Campbell, & Chang, 1989). Οι Tadjaran et al., μελέτησαν τον ρυθμό αποδέσμευσης και την τοπική συγκέντρωση 3 διαφορετικών μορφών του φαρμάκου εμποτισμένων σε γέλη ινικής: σε διάλυμα, μικροσωματίδια και FK506 εμποτισμένο σε μικροσφαιρίδια PLGA. Η μορφή σε διάλυμα είχε την γρηγορότερη αποδέσμευση, αλλά τα μικροσφαιρίδια PLGA παρουσίασαν την πιο παρατεταμένη αποδέσμευση ως και 28 ημέρες (Tajdaran, Shoichet, Gordon, & Borschel, 2015). Το πολυμερές PLGA φαίνεται να είναι ένα πολλά υποσχόμενο νέο σύστημα τοπικής φαρμακευτικής χορήγησης, το οποίο επιτρέπει μια διφασική καμπύλη αποδέσμευσης, με γρήγορη αύξηση της συγκέντρωσης τις πρώτες 2-3 εβδομάδες, ακολουθούμενη από μία πιο βραδεία αποδέσμευση (Davis et al., 2018; Faisant, Siermann, & Benoit, 2002). Οι Tajdaran et al., στη συνέχεια εφήρμοσαν το σύστημα χορήγησης FK506 με μικροσφαιρίδια PLGA σε πειραματικό μοντέλο διατομής του κοινού περονιαίου νεύρου σε επίμυες, όπου και διαπίστωσαν σημαντική επιτάχυνση της νευρικής αναγέννησης, με μεγάλη αύξηση των εμμύλων νευρώνων στην ομάδα που έλαβε FK506 (Tajdaran, Chan, Shoichet, Gordon, & Borschel, 2019). Οι Davis et al., χρησιμοποίησαν παρόμοιο πειραματικό μοντέλο με FK506-εμποτισμένο ικρίωμα από PLC film, για την αποκατάσταση διατομής ισχιακού νεύρου σε ποντικούς. Η ομάδα FK506 είχε επίσης καλύτερα αποτελέσματα, με αύξηση του βάρους του γαστροκνημίου μυός, ευνοϊκότερο ηλεκτρομυογράφημα άκρου ποδός, και αυξημένο αριθμό νευρώνων περιφερικά της νευρικής βλάβης (Davis et al., 2019).

### **3.1.5 Δοσολογία του FK506**

Οι υπάρχουσες πειραματικές μελέτες σχετικά με την εμπλοκή του FK506 στην νευρική αναγέννηση, συχνά χρησιμοποιούν διαφορετικές δόσεις του φαρμάκου και διαφορετικές

οδούς χορήγησης, γεγονός που καθιστά την άμεση σύγκριση προβληματική. Ο καθορισμός της ιδανικής δοσολογίας είναι εξαιρετικά σημαντικός προκειμένου να βελτιστοποιηθεί η κλινική χρήση. Συγκεκριμένα, είναι ιδιαίτερα σημαντικό να καθοριστεί αν υπό-ανοσοκατασταλτικές δόσεις είναι ικανές να επιταχύνουν την νευρική αναγέννηση.

Πολλαπλές μελέτες έχουν δείξει ότι η δράση του FK506 στην νευρική αναγέννηση είναι όντως δοσο-εξαρτώμενη, με τις απαιτούμενες δόσεις να είναι σε γενικές γραμμές χαμηλότερες από αυτές που προκαλούν ανοσοκαταστολή (Ellis, Brenner, Mackinnon, Myskatyn, & Hunter, 2003). Στην πειραματική μελέτη τους σε επίμυες, οι Yang et al., συμπέραναν ότι η ανοσοκατασταλτική δόση που αποτρέπει την απόρριψη δερματικού αλλομοσχεύματος είναι 2.0 mg/kg, ενώ η αντίστοιχη δόση που απαιτείται για την ενίσχυση της νευρικής αναγέννησης είναι 1.0 mg/kg (Yang et al., 2003). Οι Wang et al., κατέληξαν ότι η ιδανική δόση είναι 5.0 mg/kg υποδορίως (Wang et al., 1997). Οι Sulaiman et al., πρότειναν ως ιδανική δοσολογία την χορήγηση 0.5-1.0 mg/kg ημερησίως με υποδόριες ενέσεις (Sulaiman et al., 2002). Οι Fansa et al., χρησιμοποίησαν 0.3-0.6 mg/kg σε επίμυες Wistar, που είχαν λάβει ισογονικά νευρικά μοσχεύματα, με την πειραματική ομάδα να παρουσιάζει μεγαλύτερο αριθμό αξόνων από την ομάδα ελέγχου (Fansa, Keilhoff, Altmann, et al., 1999). Οι Chunasuwankul et al., είχαν καλά αποτελέσματα με χαμηλή δόση 0.5 mg/kg, τα οποία διατηρήθηκαν ακόμα και μετά τη διακοπή της χορήγησης μετά από 2 μήνες (Chunasuwankul et al., 2002). Οι Gold et al., διαπίστωσαν ισχυρότερη νευρική αναγέννηση με 15 mg/kg σε σχέση με τα 5 mg/kg (Gold, Zeleny-Pooley, Chaturvedi, & Wang, 1998). Οι Konofaos et al. και Terzis et al., σε μοντέλο νευρομεταφοράς ετερόπλευρης A7 αυχενικής ρίζας με μεγάλο νευρικό έλλειμμα 4cm και χαμηλή δόση FK506 (0.7 mg/kg), βρήκαν σημαντική ενίσχυση της νευρικής αναγέννησης με αυτομόσχευμα, αλλά όχι με ικρίωμα (Konofaos, Burns, & Terzis, 2010; Terzis & Konofaos, 2010).

### 3.1.6 Πειραματικά μοντέλα

Πληθώρα πειραματικών μοντέλων έχει προταθεί για τη μελέτη της επίδρασης του FK506 στην νευρική αναγέννηση. Παρά την ποικιλία των ζωικών μοντέλων υπό μελέτη (επίμυες, ποντίκια, κλπ.), οι περισσότερες μελέτες καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι το FK506 επιταχύνει τη νευρική αναγέννηση κατόπιν νευρικής κάκωσης. Ωστόσο, διαφορές στη μεθοδολογία για την αξιολόγηση της νευρικής αναγέννησης και της λειτουργικής αποκατάστασης, καθώς και φαρμακοκινητικές διαφορές μεταξύ ειδών, οδηγούν αναπόφευκτα σε μικρές διαφοροποιήσεις στα αποτελέσματα των διαφόρων μελετών. Το μοντέλο σύνθλιψης ή διατομής του ισχιακού νεύρου και αποκατάστασης με αυτομόσχευμα ή ικρίωμα σε συνδυασμό με θεραπεία FK506, είναι η συνηθέστερη επιλογή στη βιβλιογραφία. Για την αξιολόγηση της νευρικής αναγέννησης, οι περισσότερες μελέτες περιλαμβάνουν ανάλυση βάδισης και ιστομορφομετρία του χειρουργηθέντος νεύρου, παράλληλα με ανοσοφθορισμό ή ηλεκτρομυογραφικές μελέτες.

Σε μοντέλα σύνθλιψης του ισχιακού νεύρου (Gold et al., 1994; M. Lee, Doolabh, Mackinnon, & Jost, 2000) ή σε μοντέλα διατομής και αποκατάστασης με αυτομόσχευμα (Doolabh & Mackinnon, 1999; Fansa, Keilhoff, Altmann, et al., 1999), το FK506 βρέθηκε πιο αποτελεσματικό σε περίπτωση συνεχούς χορήγησης καθόλη την αναγεννητική περίοδο. Οι Lee et al., κατέληξαν ότι η καθημερινή χορήγηση FK506 είναι πιο αποτελεσματική από την CsA ή από την απουσία θεραπείας (M. Lee et al., 2000). Οι Sulaiman et al., διαπίστωσαν ότι το FK506 είναι αποτελεσματικό ακόμα και σε περίπτωση όψιμης νευρικής αποκατάστασης μετά από χρόνια αξονότμηση (Sulaiman et al., 2002). Το FK506 παρουσιάζει επίσης θετικά αποτελέσματα σε μοντέλα διατομής του ισχιακού νεύρου και αποκατάστασης με ικρίωμα. Οι Archibald et al., είχαν θετικά αποτελέσματα σε μοντέλο ελλείμματος 10mm ισχιακού νεύρου

με γεφύρωση μέσω ικρίωματος. Αντίθετα, τα αποτελέσματα δεν υπήρξαν τόσο ενθαρρυντικά σε περίπτωση μεγαλύτερου νευρικού ελλείμματος. Ωστόσο, ορισμένοι ερευνητές παρουσίασαν καλά αποτελέσματα σε μοντέλο νευρομεταφοράς της ετερόπλευρης 7ης αυχενικής ρίζας στο μυοδερματικό νεύρο με τη βοήθεια αυτομοσχεύματος 4cm, σε συνδυασμό με χορήγηση χαμηλής δόσης FK506 (Konofaos et al., 2010; Terzis & Konofaos, 2010). Τέλος, οι Chen et al., παρουσίασαν καλά αποτελέσματα με θεραπεία FK506 σε συνδυασμό με αποκατάσταση νευρικού ελλείμματος με τη χρήση τελικο-πλάγιας συρραφής (B. Chen, Song, & Liu, 2009).

Πίνακας 8: Tacrolimus σε in vivo πειραματικές μελέτες για την επιτάχυνση της νευρικής αναγέννησης

Study	Experimental design				Tacrolimus			Control	Outcomes
	Animal model	N per group	Nerve	Type of Injury	Adm.	Dosage	Start & follow up time		
<b>Davies et al, 2019</b>	Mouse	8	Sciatic nerve	Autograft Repair	top	0.01% and 0.05% drug wraps	One adm., 6w	Wraps w/o tacrolimus	Improvement of functional & morphometric outcomes
<b>Tajdaran et al, 2019</b>	Rat	6	Tibial nerve	Cross-suturing of tibial nerve to peroneal nerve	top	200 µg solid FK506 particulates or 5 mg FK506 microspheres	One adm., 7d, 14d, 21d, 28d	No delivery of tacrolimus or fibrin gel containing empty microspheres	Improvement of morphometric outcomes
<b>Yin et al, 2019</b>	Rat	5	Sciatic nerve	Allograft repair	sc	1 mg/kg	Once a day for 1w, 12w	Allograft w/o tacrolimus	Only improvement in dual drug delivery w/ NGF
<b>Kim et al, 2018</b>	Rat	11	Sciatic nerve	Allograft repair	sc	2.0 mg/kg	Once daily, 12w	0.9% saline	Improvement of functional recovery
<b>Labroo et al, 2018</b>	Mouse	8	Sciatic nerve	Conduit repair	top		One adm., 10 & 18w	GDNF administration	Improvement of functional & morphometric outcomes
<b>Uzun et al, 2018</b>	Rat	6	Sciatic nerve	Crush repair	top	10 µg/ml	One adm., 4w	Sham surgery, 0.9% saline	Improvement of functional recovery
<b>Mekaj et al, 2016</b>	Rabbit	10	Sciatic nerve	Transection repair	top	10 ng/ml	One adm., 12w	0.9% saline	Improvement of morphometric outcomes
<b>Shahraki et al, 2015</b>	Rat	10	Sciatic nerve	Allograft repair	ip	1.0 mg/ml	Once daily, 1w	Sham surgery	Improvement of functional & morphometric outcomes
<b>Azizi et al, 2012</b>	Rat	6	Sciatic nerve	Vein graft repair	top	10 ng/ml	One adm., 4w, 8w, 12w, 16w	Carrier dilution	Improvement of functional & morphometric outcomes
<b>Rustemeyer et al, 2010</b>	Rat	10	Sciatic nerve	Allograft repair	im	0.1 mg/kg	Once daily, 4, 8, 12, 16w	No surgery	Improvement of functional recovery
<b>Chaiyasate et al, 2019</b>	Rat	10	Sciatic nerve	Vein graft repair	op	0.5 mg/kg	Once daily for 2w, 6 & 12w	0.9% saline	Improvement of functional & morphometric outcomes

*Adm: administration; D: days; W: weeks; GDNF: Glial cell line-derived nerve factor; NGF: nerve growth factor; top: topical; sc: subcutaneous; im: intramuscular; ip: intraperitoneal; it: intrathecal; op: osmotic pump.*

Study	Experimental design				Tacrolimus			Control	Outcomes
	Animal model	N per group	Nerve	Type of Injury	Adm.	Dosage	Start & follow up time		
<b>Sarikcioglu et al, 2006</b>	Rat	10	Sciatic nerve	Crush injury	it	0.05 mg/kg	Once daily, 6w	No surgery, sham surgery	Beneficial effects on histomorphometry & functional outcomes
<b>Snyder et al, 2005</b>	Rat	8	Tibial nerve	Transection repair	ip	2 mg/kg	Once daily @ day 0 or -3, 3w	Placebo	Improved morphometric outcomes when given 3d before surgery
<b>Brenner et al, 2004</b>	Rat	8	Tibial nerve	Transection repair (a) immediately & (b) 7d delayed	sc	2 mg/kg	Once daily, 3w	Immediate & delayed repair w/o tacrolimus	Improved morphometric outcomes after immediate repair
<b>Jensen et al, 2004</b>	Swine	8	Ulnar nerve	Autograft & allograft repair	iv	0.1-0.4 mg/kg	Twice weekly, 24w	Autograft & allograft w/o tacrolimus	Improved morphometric outcomes
<b>Udina et al, 2004</b>	Mouse	6 or 8	Sciatic nerve	Autograft & allograft repair	sc	5 mg/kg	Once daily, 16w or once daily, 5w followed by 3 mg/kg for 4w	0.9% saline	Improved functional recovery & morphometric outcomes in continuous adm.
<b>Sobol et al, 2003</b>	Rat	8	Tibial nerve	Transection repair	sc	2 mg/kg	Once daily @ day 1,3 or 5 postop, 21, 28 & 42d	Repair w/o tacrolimus	Improved morphometric outcomes, significant when started @ day 1 & 3 postop
<b>Udina, Voda et al, 2003</b>	Mouse/rat	5	Sciatic nerve	Autograft, allograft, or xenograft repair	sc	0.2 mg/kg 2.0 mg/kg 5.0 mg/kg	Once daily, 3w	N/A	Improved morphometric outcomes w/ 5.0 mg/kg
<b>Udinaa, Ceballos et al, 2003</b>	Mouse	5-10	Sciatic nerve	Crush injury	sc	0.2 mg/kg 5.0 mg/kg	Once daily, 4w	Crush w/o tacrolimus	Shorter recover & improved outcomes, greater w/ 5.0 mg/kg
<b>Yang et al, 2003</b>	Rat	6	Tibial nerve	Transection repair	sc	0.25 mg/kg 0.5 mg/kg 1.0 mg/kg 2.0 mg/kg	Once daily, 25, 30, 35d	Transection w/o tacrolimus	Improved histomorphometry w/ 0.5 & 1.0 mg/kg @ 30 & 35d

Study	Experimental design				Tacrolimus		Control	Outcomes	
	Animal model	N per group	Nerve	Type of Injury	Adm.	Dosage			Start & follow up time
<b>Udina et al, 2002</b>	Mouse	9 or 12	Sciatic nerve	Crush injury	sc	0.2 mg/kg 0.5 mg/kg 1.0 mg/kg 2.0 mg/kg 5.0 mg/kg 10 mg/kg	Once daily, 2, 4 or 7d	0.9% saline	Improved morphometric outcomes w/ 0.2, 2.0 & 5.0 mg/kg
<b>Feng et al, 2001</b>	Rat	3 or 6	Tibial nerve	Allograft repair	sc	2 mg/kg	Once daily @ day 7, 10 or 14 postop - 2, 8w	Allograft w/o tacrolimus	Improved functional & morphometric outcomes when started within 10d postop followed by 2w of treatment
<b>Navarro et al, 2001</b>	Mouse	5, 8 or 12	Sciatic nerve	Autograft or silicon tube repair	sc	5 mg/kg for 5w, then 3 mg/kg for 4w	@ day 1 postop for 5d - 9w	Autograft or tube repair w/o tacrolimus	No significant improvement
<b>Fansa et al, 2000</b>	Rat		Sciatic nerve	Autograft repair	sc	0.6 mg/kg	Once daily - 2 & 6w	0.9% saline	Improved morphometric outcomes
<b>Doolabh et al, 1998</b>	Rat	10 or 15	Tibial nerve	Isograft repair	ip	1 mg/kg	Once daily - 7 & 10.5w	Isograft repair w/o tacrolimus	Improved functional & morphometric outcomes
<b>Fansa et al, 1999</b>	Rat	8	Sciatic nerve	Autograft repair	sc	0.3 mg/kg 0.6 mg/kg	Once daily - 2 & 6w	0.9% saline	Improved morphometric outcomes after 2w
<b>Buttermeyer et al, 1995</b>	Rat	10 or 15	Sciatic nerve	Allograft repair	im	2 mg/kg	Once daily - 12w, then (a) twice weekly or (b) discontinued - for another 8w	Repair w/o tacrolimus	Improved functional & morphometric outcomes in continued intermittent (a)
<b>Gold et al, 1995</b>	Rat	3, 4 or 5	Sciatic nerve	Crush injury	sc	1 mg/kg	Once daily - 18d	0.9% saline	Improved morphometric outcomes
<b>Gold et al, 1994</b>	Rat	5	Sciatic nerve	Crush injury	sc	1 mg/kg	Once daily - 18d	0.9% saline	Improved functional & morphometric outcomes



## Ειδικό Μέρος

### 4.1 Εισαγωγή

Η επιστημονική έρευνα των τελευταίων δεκαετιών έχει συμβάλλει σημαντικά στην κατανόηση των βιολογικών μηχανισμών που εμπλέκονται στη διαδικασία της μετατραυματικής νευρικής αναγέννησης στα περιφερικά νεύρα. Οι νευρικές βλάβες διαφέρουν από οποιαδήποτε άλλη ιστική βλάβη στο ότι η επούλωση κάθε άλλο παρά αποτελεί μία αποκλειστικά τοπική διεργασία. Αντίθετα, η διατομή των νευρικών αξόνων επιφέρει μια διαταραχή της φυσιολογίας του εμπλεκόμενου νευρώνα καθόλο το μήκος του, με τους αναγεννούμενους νευρώνες να πρέπει να διανύσουν ακόμα και πολύ μεγάλες αποστάσεις προκειμένου να ολοκληρωθεί επιτυχώς η όλη διαδικασία. Επιπλέον, οι νευρικές βλάβες έχουν άμεσες επιπτώσεις και στο κεντρικό νευρικό σύστημα, επιφέροντας μία ταχεία λειτουργική ανακατανομή στον εγκεφαλικό φλοιό (Konofaos & Terzis, 2013).

Είναι ευρέως αποδεκτό στην παγκόσμια επιστημονική κοινότητα ότι η θεραπεία εκλογής των ασθενών με διατομή περιφερικών νεύρων συνίσταται στην επαρκή νεαροποίηση και τελικο-τελική αναστόμωση/συρραφή των εμπλεκομένων νευρικών ινών χωρίς τάση. Στην κλινική πράξη, πολλές φορές εκ των πραγμάτων η παραπάνω είναι εξαιρετικά δύσκολη. Αυτό συμβαίνει διότι οι κακώσεις των περιφερικών νεύρων τυπικά συνοδεύονται από τη δημιουργία σημαντικού νευρικού ελλείμματος που συχνά καθίσταται αδύνατο να γεφυρωθεί. Σε αυτή την περίπτωση, η ιδανική αντιμετώπιση περιλαμβάνει τη χρήση αυτόλογων νευρικών μοσχευμάτων για τη γεφύρωση του προκύπτοντος νευρικού ελλείμματος (Kline, 2000).

Η χρήση αυτόλογων νευρικών μοσχευμάτων, όμως, παρουσιάζει αφ' εαυτού αρκετά μειονεκτήματα, όπως η τοπική νοσηρότητα και το νευρολογικό έλλειμμα που συχνά προκύπτει στη περιοχή δότη, η ύπαρξη περιορισμένων εναλλακτικών μοσχευμάτων αντίστοιχου μήκους και πάχους, καθώς και η συχνή αναντιστοιχία του μεγέθους και είδους των ινών του μοσχεύματος με εκείνες της περιοχής λήπτη (Navarro, Udina, Ceballos, & Gold, 2001). Για το λόγο αυτό, ως εναλλακτική στη χρήση αυτόλογων νευρικών μοσχευμάτων, η σύγχρονη έρευνα εστιάζει στη δημιουργία συνθετικών ή βιολογικών νευρικών αγωγών ή ικρωμάτων (*nerve guidance channels*), χωρίς ωστόσο μέχρι σήμερα οι νευρικοί αγωγοί να έχουν αποδειχθεί ανώτεροι από τα αυτόλογα νευρικά μοσχεύματα (Johnson, Zoubov, & Soucasos, 2005).

Η χρήση ή ενίσχυση εκείνων των κυτταρικών και μοριακών διεργασιών που εμπλέκονται στη νευρική αναγέννηση, ή στη παρεμπόδιση εκείνων που την αναστέλλουν έχει μελετηθεί προηγουμένα. Η λειτουργική αποκατάσταση μετά από κάκωση περιφερικών νεύρων εξαρτάται σε πολύ μεγάλο βαθμό και από τον ρυθμό της νευρικής αναγέννησης (Kobayashi et al., 1997). Συνεπώς, η επιτάχυνση της νευρικής αναγέννησης όχι μόνο επισπεύδει την τελική νευρική αποκατάσταση, αλλά και βελτιώνει τον βαθμό στον οποίο αυτή μπορεί να επιτευχθεί. Προς αυτή την κατεύθυνση, έχουν ερευνηθεί πληθώρα φαρμακολογικών παραγόντων για τις δυνητικές νευροτροφικές και νευροπροστατευτικές τους ιδιότητες (Angelov et al., 1996; Badalamente, Hurst, & Stracher, 1989; Birge et al., 2004; Campana, Mohiuddin, Misasi, O'Brien, & Calcutt, 2000; Gold & Villafranca, 2003; Myckatyn et al., 2002). Ανάμεσα σε εκείνους που κατά καιρούς έχουν χρησιμοποιηθεί, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η ανοσοκατασταλτική ουσία FK506, γνωστή και ως Tacrolimus (Prograf®, Astellas, GR). Το FK506 είναι μία μακρολίδη που απομονώθηκε για πρώτη φορά στην Tsukuba της Ιαπωνίας το 1984 από το βακτήριο *Streptomyces tsukubaensis* (Kino,

Hatanaka, Hashimoto, et al., 1987; Kino, Hatanaka, Miyata, et al., 1987). Λόγω της ανοσοκατασταλτικής του δράσης, το εν λόγω φάρμακο εγκρίθηκε από τον FDA το 1994, αρχικά ως ανοσοκατασταλτικό σε ασθενείς μετά από μεταμόσχευση ήπατος και στις συνέχεια για τις περισσότερες μεταμοσχεύσεις συμπαγών οργάνων. Μεγάλο μέρος του ενθουσιασμού από την εισαγωγή του FK506 στην κλινική πράξη προήλθε από το γεγονός ότι η ανοσοκατασταλτική του ισχύς βρέθηκε να είναι 10-100 φορές μεγαλύτερη της κυκλοσπορίνης A (CsA), σε συνδυασμό με ένα αρκετά ευνοϊκότερο προφίλ ανεπιθύμητων ενεργειών (Starzl et al., 1989; Wang et al., 1997).

Η ανοσοκατασταλτική δράση του FK506 προϋποθέτει την δέσμευση της ανοσοφυλλίνης FKBP-12 και εν συνεχεία την παρεμπόδιση της πρωτεΐν-φωσφατάσης καλσινευρίνης, η οποία επιφέρει την αποφυγή της μετανάστευσης ενός πυρηνικού παράγοντα στα ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα, με τελική συνέπεια τη μείωση της παραγωγής της ιντερλευκίνης-2 (IL-2). Ως συνέπεια αυτής της οδού, προκύπτει η παρεμπόδιση της φυσιολογικής κυτταρικής ανοσολογικής αντίδρασης (Ho et al., 1996; Liu et al., 1992). Το FK506 παρουσιάζει πολλές μη ανοσολογικές δράσεις, μεταξύ των οποίων η αναστολή της ανάπτυξης του βακτηρίου *Saccharomyces cerevisiae* (Heitman et al., 1993; Schmidt et al., 1994), η ενίσχυση της ανάπτυξης των τριχοθυλακίων στον άνθρωπο (Yamamoto et al., 1994; Yamamoto & Kato, 1994), η αναγέννηση των ηπατικών κυττάρων (Francavilla et al., 1989) και η επιτάχυνση της επούλωσης των τραυμάτων (Carroll et al., 1994).

Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι το FK506 παρουσιάζει και νευροτροφική δράση, η οποία έχει μελετηθεί εκτενώς στο παρελθόν σε *in vitro* και *in vivo* πειραματικά μοντέλα (Doolabh & Mackinnon, 1999; Gold et al., 1995; Jost et al., 2000; Lassner et al., 1989; M. Lee et al., 2000; Udina et al., 2002; Wang et al., 1997). Αν και γενικότερα σε μεγάλο βαθμό

ασαφής (Konofaos & Terzis, 2013), υπάρχουν ενδείξεις πως ο τρόπος με τον οποίο το FK506 συνδράμει στην επιτάχυνση της νευρικής αναγέννησης είναι ανεξάρτητος από την ανοσοκατασταλτική του δράση. Πολλοί ερευνητές πιστεύουν ότι η νευροτροφική δράση του FK506 σχετίζεται με τη δέσμευση του FKBP-12 και την ενεργοποίηση του GAP-43 (growth associated protein-43) και της διόδου του TGF-β1 (Fansa, Keilhoff, Altmann, et al., 1999). Επίσης, πιστεύεται ότι προκαλεί και επιπρόσθετη επαγωγή του πολλαπλασιασμού των κυττάρων Schwann, με επακόλουθη έκλυση νευροτροφικών παραγόντων (Fansa, Keilhoff, Horn, et al., 1999). Άλλοι ερευνητές θεωρούν ότι η επίδραση του FK506 στη νευρική αναγέννηση γίνεται με μηχανισμό που δεν προϋποθέτει τη μεσολάβηση της καλσινευρίνης (Kuffler, 2009).

Οι περισσότερες *in vivo* μελέτες επί του αντικειμένου, αφορούν στη συστηματική χορήγηση του φαρμάκου σε διαφορετικό εύρος δόσεων και για διαφορετικά χρονικά διαστήματα (Gold, 1997; Navarro et al., 2001). Ένας περιορισμός αυτής της πρακτικής είναι η δυνητική ανάπτυξη ανεπιθύμητων συστηματικών ενεργειών (Udina, Voda, Gold, & Navarro, 2003; Varghese et al., 2014; Yamazoe, Yamazoe, Yamaguchi, Omoto, & Shimazaki, 2014), όπως νεφροτοξικότητα, νευροτοξικότητα, υπερκαλιαιμία, υπεργλυκαιμία, διαβήτης, υπέρταση, δευτερογενείς νεοπλασίες και λοιμώξεις (Brenner et al., 2002; Tung, 2010). Μία λύση στο παραπάνω πρόβλημα θα αποτελούσε η τοπική βραδεία αποδέσμευση του FK506, η οποία θα επέτρεπε την αποφυγή των παραπάνω συστηματικών επιπλοκών (Konofaos & Terzis, 2013). Τα διαθέσιμα σύγχρονα εμφυτεύσιμα συστήματα παρατεταμένης αποδέσμευσης φαρμάκων συνίστανται σε οσμωτικές αντλίες με σωληνώσεις από σιλικόνη, αλλά δεν φαίνεται να είναι ιδανικά για χρήση στη νευρική αναγέννηση καθώς έχουν συσχετισθεί με υψηλά ποσοστά αποτυχίας, λοίμωξης και τοπικής ίνωσης (Guilhem et al., 2009; Lundborg, 2000; Merle et al., 1989). Επομένως, η δημιουργία εναλλακτικών μεθόδων,

όπως εμποτισμένων βιοδιασπώμενων βιοϋλικών, θα αποτελούσε μία πιο βιώσιμη και ρεαλιστική λύση (Tajdaran et al., 2015; Wood et al., 2013; Wood et al., 2012). Εξ αυτών, η χρήση γέλης ινικής φαίνεται ως πολλά υποσχόμενη ως σύστημα παρατεταμένης φαρμακευτικής αποδέσμευσης, δεδομένης της ευκολίας κατασκευής και τοποθέτησης, καθώς και της βιολογικής της ουδετερότητας (Jubran & Widenfalk, 2003; Sameem, Wood, & Bain, 2011).

## 4.2 Σκοπός

Η παρούσα πειραματική μελέτη αποβλέπει στη δημιουργία ενός πειραματικού μοντέλου περιφερικής νευρικής βλάβης σε επίμυες, σε συνδυασμό με την τοπική χρήση FK506 εμποτισμένου σε γέλη ινικής ως ικρίωμα βραδείας αποδέσμευσης του φαρμάκου και ως νευροαγωγό στην περιοχή του νευρικού ελλείμματος.

Το πείραμα περιέλαβε 4 ομάδες (3 ομάδες ελέγχου και μια πειραματική). Στην πρώτη ομάδα, κατόπιν παρασκευής του ισχιακού νεύρου, έγινε απλή σύγκλειση κατά στρώματα και το χειρουργείο τερματίστηκε (sham surgery group). Στις υπόλοιπες 3 ομάδες, οι επίμυες υποβλήθηκαν σε πλήρη διατομή του ισχιακού νεύρου και πρόκληση νευρικού ελλείμματος 10 mm. Στην δεύτερη ομάδα, για τη σύγκλειση της βλάβης πραγματοποιήθηκε δεύτερη τομή στο ισχιακό νεύρο περιφερικότερα, και το προκύπτον νευρικό τεμάχιο αναστράφηκε, προκειμένου να προσωμοιάσει νευρικό αυτομόσχευμα (reverse autograft). Στις υπολοιπούμενες 2 ομάδες, το νευρικό έλλειμμα γεφυρώθηκε με νευροαγωγό κατασκευασμένο από γέλη ινικής (fibrin glue – Tiseel<sup>®</sup>, Baxter, GR). Στην πειραματική ομάδα, η κόλλα ινικής εμπλουτίστηκε με 200 μg άμορφου FK506, η οποία σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες παρέχει βραδεία αποδέσμευση σε διάστημα 15 ημερών (Jubran &

Widenfalk, 2003; Sameem et al., 2011). Στη συνέχεια, μετά από 12 εβδομάδες, ακολούθησε αξιολόγηση της νευρικής αναγέννησης με ανάλυση βάδισης, ηλεκτροφυσιολογικό έλεγχο και ιστολογική εξέταση με τη χρήση οπτικού μικροσκοπίου. Μετά την ολοκλήρωση του πειράματος, τα πειραματόζωα θανατώθηκαν με ευθανασία σύμφωνα με τις προβλεπόμενες διαδικασίες και νομοθεσία. Τέλος, ακολούθησε καταγραφή και στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων.

## 4.3 Υλικό & Μέθοδος

### 4.3.1 Μεθοδολογία - Πειραματόζωα

Στην παρούσα μελέτη, χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο πλήρους διατομής (νευρότμηση) του ισχιακού νεύρου σε επίμυες Wistar. Η εν λόγω επιλογή παρουσιάζει αρκετά πλεονεκτήματα. Το μεγαλύτερο μέγεθος των νεύρων στους επίμυες μειώνει την πολυπλοκότητα των μικροχειρουργικών επεμβάσεων (Tos et al., 2008). Οι επίμυες είναι αρκετά ανθεκτικοί και δεν απαιτούν πολύπλοκες υποδομές για τη συντήρησή τους. Η ανατομία των επιμύων έχει μελετηθεί εκτενώς και παρουσιάζει ομοιότητες με την ανθρώπινη ανατομία (Greene, 1963). Λόγω της δημοφιλίας του εν λόγω μοντέλου, υπάρχει πληθώρα λειτουργικών δοκιμασιών που μπορούν να συμβάλλουν στην ανάλυση των αποτελεσμάτων (Nichols et al., 2005). Οι επίμυες Wistar (Εικόνα 42) είναι από τα πιο δημοφιλή πειραματόζωα, τείνουν να κερδίσουν βάρος σχετικά γρήγορα και παρουσιάζουν σχετικά λιγότερη τάση προς την αυτοτομή (αυτο-ακρωτηριασμός) σε σχέση με τους επίμυες Sprague-Dawley (Panerai, Sacerdote, Brini, Bianchi, & Mantegazza, 1987).



**Εικόνα 42: Επίμυες για χρήση σε πειραματικά μοντέλα**

Οι επίμυες Wistar (αριστερά) παρουσιάζουν σημαντικά πλεονεκτήματα σε σχέση με του επίμυες Sprague-Dawley (δεξιά), όπως μία μικρότερη τάση προς την αυτοτομή (automutilation).



Το μοντέλο της νευρότμησης προτιμήθηκε εκείνου της αξονότμησης, καθότι γενικά παρουσιάζει μια πιο αργή διαδικασία αναγέννησης, γεγονός που θα επιτρέψει τον πιο εύκολο εντοπισμό στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των πειραματικών ομάδων (Tos et al., 2009). Το ισχιακό νεύρο προτιμήθηκε λόγω μεγαλύτερου μεγέθους και λιγότερων παράπλευρων κλάδων, στοιχείων που δυνητικά θα επιτρέψουν την απλούστευση της μικροχειρουργικής τεχνικής (Tos et al., 2009).

Ο Υποψήφιος Διδάκτωρ προμηθεύτηκε τους 40 επίμυες Wistar της μελέτης, ηλικίας 6-9 εβδομάδων, από το Τμήμα Ζωικών Προτύπων Βιοϊατρικής Έρευνας του Ελληνικού Ινστιτούτου Παστέρ. Τα πειράματα που ακολούθησαν πραγματοποιήθηκαν εξ ολοκλήρου στη Μονάδα Χρήσης Ζώων για Πειραματικούς Επιστημονικούς Σκοπούς του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Αττικών, επί της οδού Ρίμινι 1 - Χαϊδάρι, με κωδικό καταχώρησης EL 25 BIO 114, κατόπιν της θετικής γνωμοδότησης της Επιτροπής Αξιολόγησης Πρωτοκόλλων της Κτηνιατρικής Υπηρεσίας της Περιφέρειας Αττικής (Αριθμ. Πρωτ.: 4964).

Κατά την διεξαγωγή της μελέτης, έγινε πλήρης εφαρμογή της συνθήκης των 3Rs (replacement - reduction - refinement) (Goodman, Chandna, & Roe, 2015). Οι επίμυες δεν βασανίσθηκαν κατά τη διεξαγωγή του πειράματος. Τα πειραματόζωα χειρουργήθηκαν χωρίς πόνο, υπό γενική ενδομυϊκή αναισθησία. Προνάρκωση και μυοχάλαση επιτεύχθηκαν με ξυλαζίνη (3mg/kg), ενώ για νάρκωση και αναλγησία χορηγήθηκαν κεταμίνη (70mg/kg) και παρακεταμόλη αντίστοιχα, ενδομυϊκά. Η χρησιμοποιούμενη χειρουργική προσπέλαση δεν προκάλεσε βλάβες σε σπλαχνικές ανατομικές δομές ούτε ακρωτηρίασε τα πειραματόζωα, ενώ το επισυμβαίνον χειρουργικό τραύμα ήταν μικρό. Οι επεμβάσεις έγιναν υπό άσηπτες συνθήκες. Το τελικό σημείο προσδιορίστηκε από την κωματώδη κατάσταση για 24-48 ώρες μετά την παρέμβαση ή σοβαρή διαταραχή της ευζωίας των πειραματοζώων. Τα πειραματόζωα είχαν καθημερινή φροντίδα και επίβλεψη ανά 24 ώρες από το έμπειρο

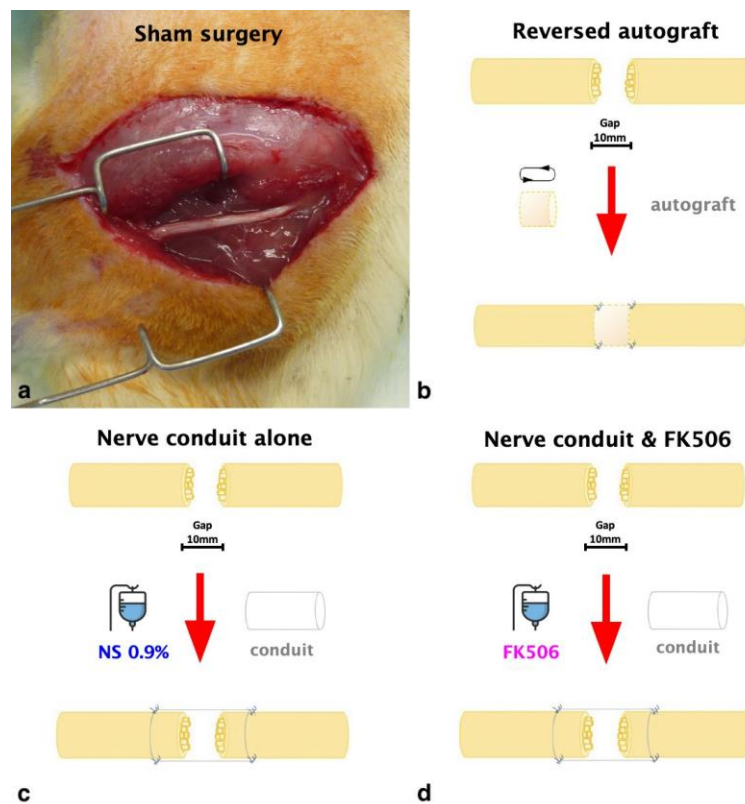
προσωπικό του Ερευνητικού Κέντρου. Σε όλα τα πειραματόζωα παρασχέθηκε στέγαση, τροφή, νερό και φροντίδα, σε κλουβιά κατάλληλου εμβαδού και ύψους, διεθνών προδιαγραφών, σε χώρο κλιματιζόμενου σταβλισμού, με συνοδό διεξαγωγή καθημερινού ελέγχου και καθαρισμού. Υπήρξε επίσης μέριμνα για την παρουσία υπεύθυνου κτηνίατρου για την παρακολούθηση της υγείας των επίμυων. Με τον τρόπο αυτό, τα πειραματόζωα υπέστησαν την ελάχιστη δυνατή επιβάρυνση, ενώ αντίθετα τα οφέλη από την εργασία ήταν σημαντικά. Στο τέλος της εργασίας, όλα τα ζώα θανατώθηκαν με ανώδυνο τρόπο, σύμφωνα με τις σχετικές οδηγίες, με αιθέρα σε εισπνοή.

Οι παραπάνω 40 επίμυες κατανεμήθηκαν ισοτίμως σε τρεις ομάδες ελέγχου (Group A, Group B, Group C) και σε μία πειραματική ομάδα (Group D) (10 επίμυες σε κάθε ομάδα). Οι επίμυες προσαρμόστηκαν στις συνθήκες του εργαστηρίου πριν από το πείραμα για 2 εβδομάδες. Τα πειραματόζωα στεγάστηκαν σε κλουβιά με πριονίδι, τροφή και ύδωρ κατά βούληση, σε περιβάλλον ελεγχόμενης θερμοκρασίας (19-22°C), σχετική υγρασία 55% και 12ωρο κύκλο φωτός. Κατά την έναρξη του πειράματος υπήρξε ομοιγένεια μεταξύ των πειραματοζώων σε ότι αφορά το σωματικό βάρος και την ηλικία. Η μεθοδολογία του πειράματος περιγράφεται συνοπτικά στον παρακάτω πίνακα ([Πίνακας 9](#)) και απεικονίζεται σχηματικά στην [Εικόνα 43](#).

**Πίνακας 9: Πειραματική μεθοδολογία**

Ομάδες	Πειραματόζωα (αριθμός)	Αναισθησία (ενδομυϊκά)	Νεύρο	Χειρουργική παρέμβαση	Έγχυση	Θυσία
<b>Ελέγχου</b>						
Group A	10		Ισχιακό	Sham surgery	-	
Group B	10	Ketamine (70mg/kg) & xylazine (3mg/kg)	Ισχιακό	Reverse autograft	-	Εισπνοή με αιθέρα
Group C	10		Ισχιακό	Fibrin glue conduit	-	
<b>Πειραματική</b>						
Group D	10	Ketamine (70mg/kg) & xylazine (3mg/kg)	Ισχιακό	Fibrin glue conduit	FK506	Εισπνοή με αιθέρα

*Συνθήκες πειράματος: θερμοκρασία 19-22°C, σχετική υγρασία 55%, 12ωρος κύκλος φωτός, τροφή & ύδωρ ad libitum.*

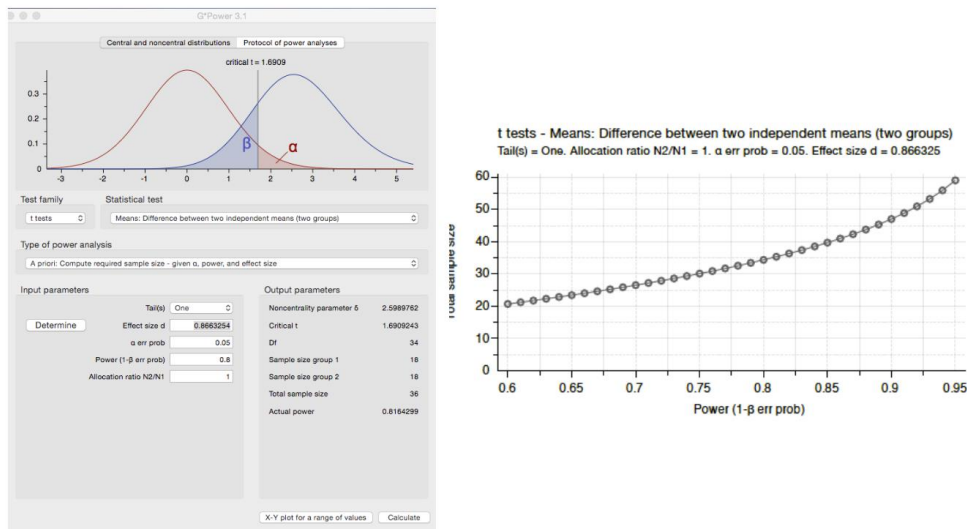


**Εικόνα 43: Σχηματική απεικόνιση πειραματικής μεθοδολογίας**

(a) Group A: Sham surgery, (b) group B: ανάστροφο αυτομόσχευμα, (c) group C: νευρικός αγωγός με φυσιολογικό ορό, (d) group D: νευρικός αγωγός με FK506.

### 4.3.2 Ανάλυση Ισχύος (Power analysis)

Η αρχική στατιστική ανάλυση, για την εξασφάλιση στατιστικής ισχύος των αποτελεσμάτων προέβλεπε ότι θα χρειαστούν τουλάχιστον 36 πειραματόζωα ( $p$  value < 0.05 και Power > 0.8), προκειμένου να στελεχωθούν 2 πειραματικές ομάδες από 18 επίμυες η καθεμία. Για τον υπολογισμό του δείγματος (power analysis) χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό G\*Power® (Universität Düsseldorf) (Faul, Erdfelder, Lang, & Buchner, 2007). Υπολογίζοντας μια απώλεια πειραματοζώων της τάξεως του 10% (attrition), συνολικά για την παρούσα μελέτη κρίθηκε απαραίτητο να χρησιμοποιηθούν 40 επίμυες (Εικόνα 44).

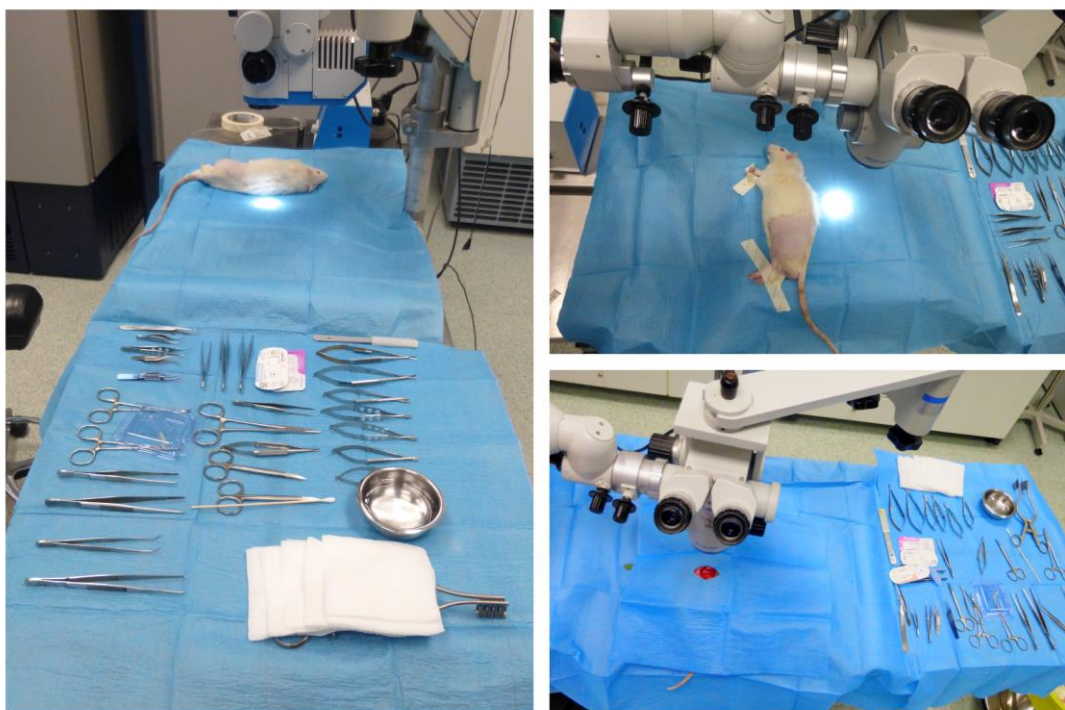


**Εικόνα 44: Στατιστική ανάλυση ισχύος (power analysis)**

Η ανάλυση ισχύος έγινε με χρήση του λογισμικού G\*Power® (Universität Düsseldorf).

### 4.3.3 Χειρουργική Τεχνική

Η προεγχειρητική προετοιμασία υπήρξε η ίδια και στις 4 ομάδες. Η προνάρκωση και η μυοχάλαση επετεύχθησαν με ξυλαζίνη (3mg/kg), ενώ για νάρκωση και αναλγησία χορηγήθηκαν κεταμίνη (70mg/kg) και παρακεταμόλη αντίστοιχα, ενδομυϊκά. Ακολούθησε σήμανση του δεξιού αυτιού των πειραματοζώων, με μία (Group A), δύο (group B), τρεις (group C) ή τέσσερις σπές (group D) αντίστοιχα, για να διακρίνονται οι επίμυες της κάθε ομάδας. Όλες οι χειρουργικές επεμβάσεις έγιναν με τη βοήθεια μικροχειρουργικών εργαλείων και χειρουργικού μικροσκοπίου (Εικόνα 45). Τα πειραματόζωα τοποθετήθηκαν σε πλάγια θέση στο χειρουργικό τραπέζι και ακολούθησε ξύρισμα του αριστερού μηρού για τον ευπρεπισμό του χειρουργικού πεδίου, καθώς και αντισηψία με διάλυμα 10% ιωδιούχου ποβιδόνης.



**Εικόνα 45: Πειραματικό χειρουργείο**

Οι επεμβάσεις έγιναν με μικροχειρουργική τεχνική και μικροεργαλεία, υπό άσηπτες συνθήκες και με τη βοήθεια του χειρουργικού μικροσκοπίου.

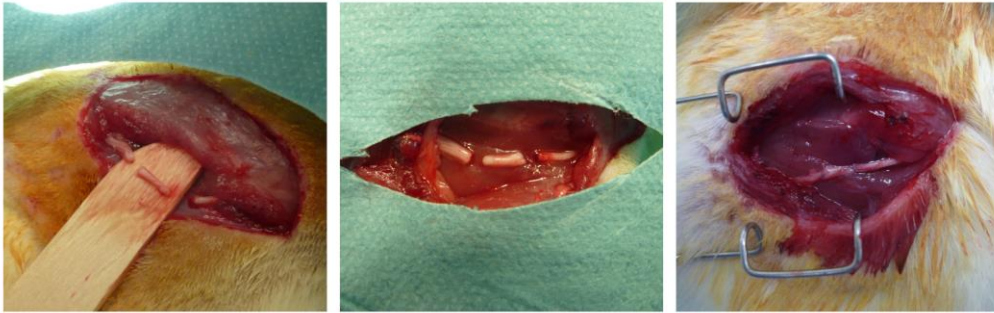
Κατά τη διάρκεια της χειρουργικής επέμβασης, πραγματοποιήθηκε αρχικά επιμήκης τομή περίπου 3 cm επί του οπισθίου τριτημορίου του μηρού του αριστερού κάτω άκρου, ξεκινώντας κεντρικά από την αριστερή εντομή. Στη συνέχεια, κατόπιν ανάσπασης του δικεφάλου μηριαίου μυός, διενεργήθηκε προσπέλαση και παρασκευή του αριστερού ισχιακού νεύρου μέχρι τον διχασμό αυτού σε κνημιαίο και περονιαίο νεύρο (Εικόνα 46). Στην πρώτη ομάδα ελέγχου (Group A), μετά την προσπέλαση και την παρασκευή του ισχιακού νεύρου, δε διενεργήθηκε κάποια παρέμβαση σε αυτό και ακολούθησε άμεσα η σύγκλιση του τραύματος κατά στρώματα (sham surgery).



**Εικόνα 46: Προσπέλαση & παρασκευή ισχιακού νεύρου**

Στη δεύτερη ομάδα ελέγχου (Group B), οι επίμυες υπέστησαν πλήρη διατομή του ισχιακού νεύρου σε δύο σημεία αυτού, έτσι ώστε να αφαιρεθεί νευρικό μόσχευμα 10 mm και να προκύψει ισότιμο νευρικό έλλειμμα στο ισχιακό νεύρο των επιμύων (Εικόνα 47).

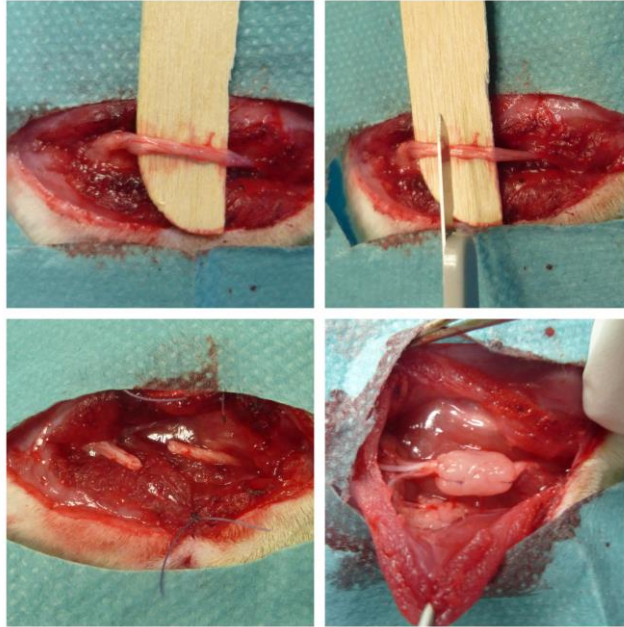




**Εικόνα 47: Διατομή ισχιακού νεύρου & ανάστροφο αυτομόσχευμα (reversed autograft)**

Έπειτα, το νευρικό μόσχευμα, επαναποθετήθηκε με αντίθετη φορά (επαναπροσανατολισμός  $180^\circ$ ) στο νευρικό έλλειμμα για να προσομοιάσει την εφαρμογή νευρικού αυτομοσχεύματος (reverse autograft). Η συρραφή των νευρικών κολοβμάτων επετεύχθη με τη βοήθεια 2 ή 3 μεμονωμένων επινευρικών συρραφών (9/0 Prolene®, Ethicon). Στην τρίτη ομάδα ελέγχου (Group C) και στην ομάδα πειραματισμού (Group D), οι επίμυες υπέστησαν πλήρη διατομή του ισχιακού νεύρου στη μεσότητα αυτού (μέσο σημείο μεταξύ σπονδυλικής στήλης και τριχασμού) και πρόκληση νευρικού ελλείμματος 10 mm. Το προκύπτον νευρικό έλλειμμα, εν συνεχεία, γεφυρώθηκε με αυτοσχέδιο νευρικό οδηγό κατασκευασμένο από γέλη ινικής (fibrin glue, Tisseel®, Baxter, GR) (Εικόνα 48). Το Tisseel® (Tisseel® Kit VH 1.0) περιέχει ινοδογόνο,  $70-100 \text{ mg ml}^{-1}$ , φιβρονεκτίνη πλάσματος,  $2-9 \text{ mg ml}^{-1}$ , παράγοντα XIII,  $10-50 \text{ U ml}^{-1}$ , πλασμινογόνο,  $40-120 \text{ } \mu\text{g ml}^{-1}$ , διάλυμα απροτινίνης  $3000 \text{ KIU ml}^{-1}$ , θρομβίνη  $4 \text{ IU ml}^{-1}$ , και χλωριούχο ασβέστιο,  $40 \text{ mmol l}^{-1}$ .





**Εικόνα 48: Γεφύρωση ελλείμματος 10mm με ικρίωμα από κόλλα ινικής (fibrin glue)**

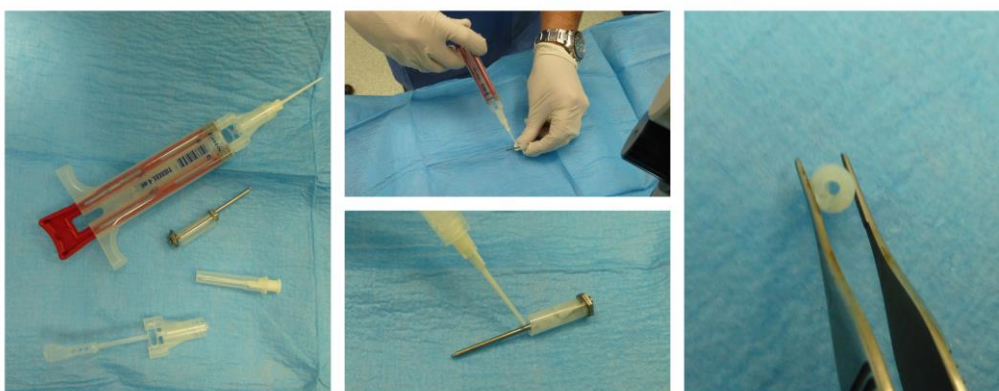
Για την διαμόρφωση του νευρικού αγωγού, το προϊόν τοποθετήθηκε σε ειδικά διαμορφωμένο εκμαγείο από σιλικόνη γύρω από ένα μεταλλικό πύρο και υπεβλήθη σε ήπια πίεση μέχρι να στερεοποιηθεί (Εικόνες 49 & 50).



**Εικόνα 49: Μεθοδολογία διαμόρφωσης νευρικού αγωγού**

Χρήση κυλινδρικού εκμαγείου από σιλικόνη και ήλου, προκειμένου ο προκύπτων αγωγός να έχει το επιθυμητό μήκος και κατάλληλη διάμετρο αυλού.

Με τον τρόπο αυτό, διαμορφώθηκαν ομοιογενείς αγωγοί μήκους 14 mm, με πάχος τοιχώματος 1 mm και αυλό διαμέτρου 2 mm. Στο κεντρικό και περιφερικό κολόβωμα τοποθετήθηκαν 2 mm εντός του αυλού του νευροαγωγού και συγκρατήθηκαν με τη βοήθεια 2 ραμμάτων στο επινεύριο (9/0 Prolene®, Ethicon). Στην τρίτη ομάδα ελέγχου (Group C), εντός του νευροαγωγού τοποθετήθηκε φυσιολογικός ορός. Ωστόσο, στην πειραματική ομάδα (Group D), η γέλη ινικής προτού μετατραπεί σε σταθερή γέλη αναμίχθηκε με 200 μg άμορφου FK506 (Εικόνες 51 & 52).



Εικόνα 50: Διαδικασία παρασκευής νευρικών αγωγών από κόλλα ινικής



Εικόνα 51: Νευρικοί αγωγοί έτοιμοι για χρήση

Αυτή η διαδικασία, σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες, εξασφαλίζει παρατεταμένη βραδεία τοπική αποδέσμευση του φαρμάκου για 15 ημέρες και θεωρείται

ότι θα επιταχύνει αισθητά τη διαδικασία της νευρικής αναγέννησης. Τέλος, σε όλες τις ομάδες ακολούθησε σύγκλιση κατά στρώματα του χειρουργικού τραύματος με ανεξάρτητα απορροφήσιμα ράμματα (4/0 Vicryl®, Ethicon) και του δέρματος με μεταλλικά clips (Appose™ ULC Skin Stapler, Covidien).



**Εικόνα 52: Νευρικοί αγωγοί εμποτισμένοι με FK506**

Κατά την άμεση μετεγχειρητική περίοδο, υπήρξε στενή παρακολούθηση, προκειμένου να εντοπιστεί άμεσα τυχόν διαταραχή της ευζωίας των πειραματοζώων. Τα πειραματόζωα είχαν καθημερινή φροντίδα και επίβλεψη ανά 24 ώρες από το έμπειρο προσωπικό του Ερευνητικού Κέντρου. Σε όλα τα πειραματόζωα παρήχθη στέγαση, τροφή, νερό και φροντίδα, σε κλουβιά κατάλληλου εμβαδού και ύψους, διεθνών προδιαγραφών, σε χώρο κλιματιζόμενου σταβλισμού. Οι εγκαταστάσεις υφίσταντο καθημερινά έλεγχο και καθαρισμό. Υπήρχε, επίσης, άμεσα διαθέσιμος υπεύθυνος κτηνίατρος για την παρακολούθηση της υγείας των επίμυων. Τα πειραματόζωα υπέστησαν με τον τρόπο αυτό την ελάχιστη δυνατή επιβάρυνση. Οι χειρουργικές επεμβάσεις σε όλα τα πειραματόζωα

πραγματοποιήθηκαν από τον ίδιο χειρουργό (Γ.Ν.Π., με βοηθό τον συνεργάτη Π.Δ.Μ.), με άσηπτη τεχνική. Στο τέλος του μετεγχειρητικού διαστήματος της νευρικής αναγέννησης, που σύμφωνα με το παρόν πρωτόκολλο ορίστηκε στις 12 εβδομάδες, όλα τα ζώα θανατώθηκαν με ανώδυνο τρόπο, σύμφωνα με τις σχετικές οδηγίες, με αιθέρα σε εισπνοή.

Η αξιολόγηση του βαθμού της νευρικής αναγέννησης έγινε 12 εβδομάδες μετεγχειρητικά με (1) ανάλυση βάδισης και (2) ηλεκτροφυσιολογικό έλεγχο πριν τη θανάτωση των πειραματοζώων, και (3) ιστολογική εξέταση με νευροϊστομορφομετρία μετά τη θανάτωση των επίμυων.

### 4.3.3 Ανάλυση Βάδισης

Προεγχειρητικά, στις 4, 8 και 12 εβδομάδες μετά το πειραματικό χειρουργείο, έλαβε χώρα αξιολόγηση της λειτουργικής αποκατάστασης των επίμυων με ανάλυση βάδισης και υπολογισμό του ισχιακού λειτουργικού δείκτη (*sciatic functional index, SFI*). Ο SFI είναι ένας ποσοτικός δείκτης της λειτουργικότητας του ισχιακού νεύρου σε επίμυες βασισμένος σε μετρήσεις που προκύπτουν από το αποτύπωμα των πελμάτων των ζώων, που καθιερώθηκε για πρώτη φορά το 1982 στο εργαστήριο του de Medinacelli (Costa, Simoes, Mauricio, & Varejao, 2009; de Medinaceli, Freed, & Wyatt, 1982). Έκτοτε, ο SFI έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς σε μελέτες περιφερικής νευρικής βλάβης και αναγέννησης, καθώς θεωρείται μία απλή, φθηνή και εύκολα αναπαράξιμη μέθοδος, που δεν χρήζει προμήθειας πολύπλοκου εξοπλισμού (Nichols et al., 2005; Varejao, Meek, Ferreira, Patricio, & Cabrita, 2001). Στη πράξη, οι επίμυες καλούνται να διασχίσουν ένα στενό διάδρομο (42 cm x 8.2 cm) που καταλήγει σε ένα σκοτεινό κλωβό (Εικόνα 53).





**Εικόνα 53: Κατασκευή διαδρόμου ανάλυσης βάδισης**

Κατασκευή διαδρόμου 42 cm x 8.2 cm, που καταλήγει σε σκοτεινό κλωβό, στρωμένο με απορροφητικό χαρτί για την λήψη των αποτυπωμάτων των επίμυων κατά την ανάλυση βάδισης.

Μετά από 2-3 δοκιμές προσαρμογής, οι επίμυες συνήθως κατευθύνονται σταθερά κατά μήκος του διαδρόμου και προς τον τελικό κλωβό. Τα κάτω άκρα των επίμυων εμβαπτίζονται σε ουδέτερη χρωστική και τα αποτυπώματα των πελμάτων τους αποτυπώνονται σε ειδικό απορροφητικό χαρτί που καλύπτει το δάπεδο του διαδρόμου (Monte-Raso, Barbieri, Mazzer, Yamasita, & Barbieri, 2008) (Εικόνα 54).

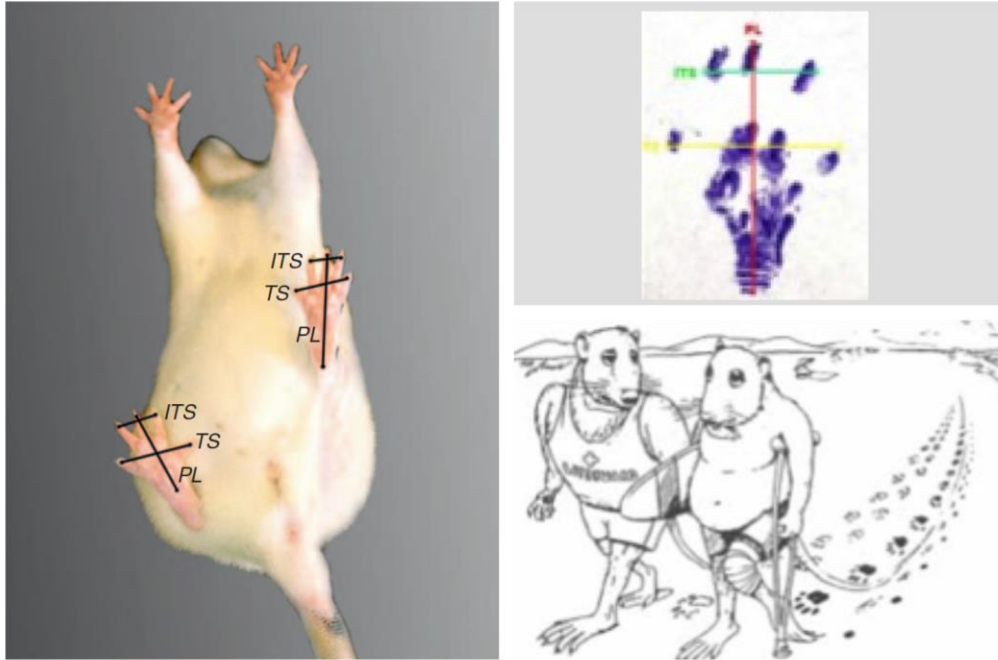


**Εικόνα 54: Ανάλυση βάδισης - λήψη αποτυπωμάτων**

Κατόπιν εμβάπτισης των πελμάτων με χρωστική, οι επίμυες διασχίζουν έναν επιμήκη διάδρομο που καταλήγει σε έναν σκοτεινό κλωβό. Ειδικό απορροφητικό χαρτί καλύπτει το δάπεδο του διαδρόμου, επιτρέποντας την καταγραφή των αποτυπωμάτων.

Τα αποτυπώματα αξιολογούνται με τη βοήθεια 3 διαφορετικών παραμέτρων: (1) απόσταση από τη πτέρνα μέχρι το 3<sup>ο</sup> δάκτυλο (print length, PL), (2) απόσταση από το 1<sup>ο</sup> μέχρι το 5<sup>ο</sup> δάκτυλο (toe spread, TS), και (3) απόσταση από το 2<sup>ο</sup> μέχρι το 4<sup>ο</sup> δάκτυλο (intermediary toe spread, ITS) (Εικόνες 55 & 56).





**Εικόνα 55: Υπολογισμός ισχιακού λειτουργικού δείκτη (sciatic functional index, SFI)**

Παράμετροι που συνυπολογίζονται για τον καθορισμό του SFI, όπως αποτυπώνονται στα πέλματα των επίμυων (αριστερά), και στο απορροφητικό χαρτί (πάνω δεξιά). Η νευρική βλάβη στο ένα άκρο αντισταθμίζεται από εντονότερο αποτύπωμα του υγιούς άκρου, που πρέπει να συνυπολογιστεί στον καθορισμό του SFI (Dellon & Dellon, 1991).

Όλες οι μετρήσεις γίνονται από τη πειραματική (experimental, E) και από την φυσιολογική πλευρά (normal, N). Στη συνέχεια, ο SFI υπολογίζεται με βάση την εξίσωση των Bain et al (Bain, Mackinnon, & Hunter, 1989):

$$SFI = -38.3 \frac{EPL - NPL}{NPL} + 109.5 \frac{ETS - NTS}{NTS} + 13.3 \frac{EITS - NITS}{NITS} - 8.8$$

**TS:** distance between 1<sup>st</sup>-5<sup>th</sup> toes; toe spread

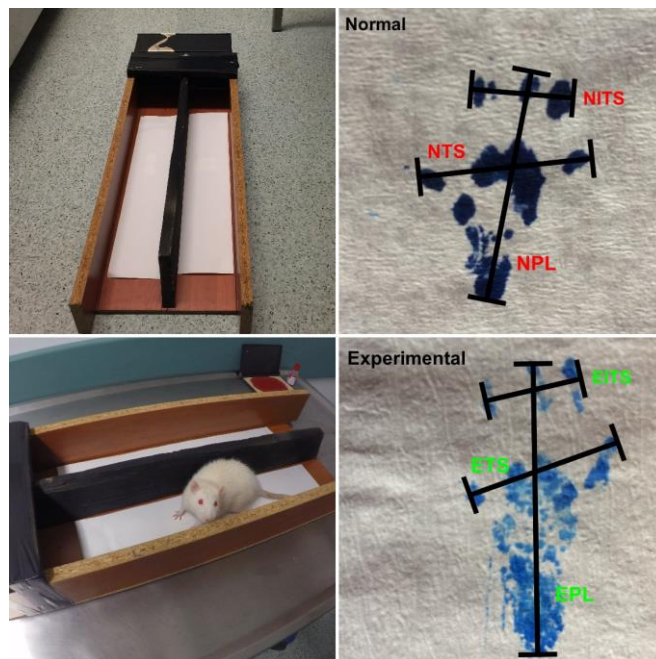
**IT:** distance between 2<sup>nd</sup>-4<sup>th</sup> toes; intermediary toe spread

**PL:** distance between tip of the 3<sup>rd</sup> toe & most posterior part of the foot; print length

**N:** normal limbs

**E:** experimental limbs

Ο SFI είναι 0 στα φυσιολογικά ζώα και -100 μετά από πλήρη διατομή του ισχιακού νεύρου. Οι μετρήσεις αυτές έγιναν στα πειραματόζωα και των 4 ομάδων και οι μέσες τιμές υποβλήθηκαν σε συγκριτική στατιστική ανάλυση.



Εικόνα 56: Παράμετροι ανάλυσης βάδισης

Μόλις η χρωστική στέγνωσε, οι λωρίδες του απορροφητικού χαρτιού με τα αποτυπώματα των πειραματόζωων μετατρέπονταν σε ψηφιακές εικόνες. Από κάθε πειραματόζωο αξιολογήθηκαν τουλάχιστον τρία αποτυπώματα από κάθε πέλμα. Στη συνέχεια, οι ψηφιακές εικόνες αποθηκεύονταν σε ηλεκτρονικό υπολογιστή και αναλύονταν με τη βοήθεια λογισμικού (ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <https://imagej.nih.gov/ij>). οι μετρήσεις και ο υπολογισμός του μέσου όρου του SFI κατά τη διάρκεια της μελέτης έγιναν από δύο παρατηρητές, οι οποίοι δεν γνώριζαν τον κωδικό του πειραματόζωου που αντιστοιχούσε σε κάθε ψηφιακή εικόνα.



**Εικόνα 57: Επιπλοκές που δυσχέραναν την ανάλυση βάδισης**

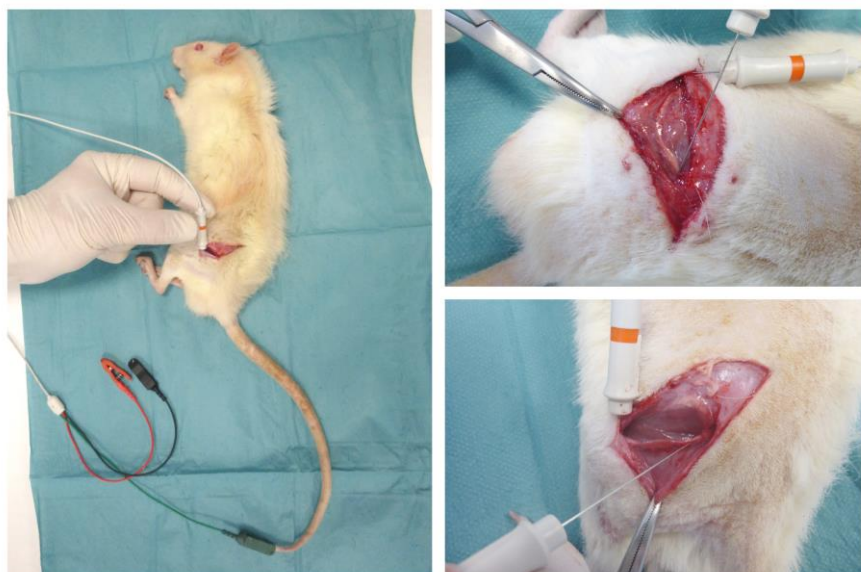
Διακρίνονται παραδείγματα περιπτώσεων αυτοτομής, καθώς και πτερνικού έλκους, που κατέστησαν δυσχερή την ανάλυση βάδισης.

Αν και η παραπάνω τεχνική χρησιμοποιείται ευρύτατα σε μελέτες νεύρων, αξίζει να σημειωθεί ότι παρουσιάζει ορισμένα μειονεκτήματα. Συχνά απαιτούνται πολλαπλές απόπειρες μέχρι να προκύψουν πραγματικά ορατά αποτυπώματα. Για να αποφευχθεί αυτό το πρόβλημα, οι αρουραίοι απαιτείται να υποβληθούν σε πολλαπλές δοκιμές προσαρμογής. Παράλληλα, ορισμένοι ερευνητές πιστεύουν ότι η νευρική βλάβη ενός άκρου επηρεάζει τον τρόπο βάδισης του ετερόπλευρου υγιούς, με αποτέλεσμα το αποτύπωμα του υγιούς άκρου να μη είναι πλήρως φυσιολογικό (E. S. Dellon & Dellon, 1991). Τέλος, πολλές φορές προκύπτουν αποτυπώματα που είναι μη μετρήσιμα, λόγω σχηματισμού δυσκαμψιών των φαλαγγικών αρθρώσεων, clawing, πτερνικών ελκών κατάκλισης, αυτοτομής, υπερβολικής ανάπτυξης των ονύχων των πειραματοζώων, καθώς και λόγω συχνής παρεμβολής της ουράς

τους, που ενδέχεται να διασπείρει τη μελάνη (Varejão, Melo-Pinto, Meek, Filipe, & Bulas-Cruz, 2004). Στην παρούσα μελέτη, προκειμένου να αποφευχθεί ο σχηματισμός συγκάμψεων, τα πειραματόζωα υποβάλλονταν σε συχνή φυσικοθεραπεία, με τη χρήση τροχού ή συρμάτινου πλέγματος εντός του κλωβού, τον οποίο μπορούσαν να χρησιμοποιούν ελεύθερα (Strasberg et al., 1996). Δύο επίμυες που παρουσίασαν έλκη, συγκάμψεις ή αυτοτομή, αντικαταστάθηκαν από άλλους υγιείς, χωρίς περαιτέρω σημείωση επιπλοκών (Εικόνα 57).

#### 4.3.4 Ηλεκτροφυσιολογικός έλεγχος

Ο ηλεκτροφυσιολογικός έλεγχος της νευρικής αναγέννησης πραγματοποιήθηκε μέσω της διενέργειας ηλεκτρομυογραφήματος, 12 εβδομάδες μετεγχειρητικά, πριν τη θανάτωση των πειραματοζώων, με την χρήση του ηλεκτρομυογράφου Dantec Keypoint Focus® (Natus Medical Inc.) του Ορθοπαιδικού Κέντρου Έρευνας και Εκπαίδευσης. Κατά την διάρκεια του νευροφυσιολογικού ελέγχου, οι επίμυες βρίσκονταν σε καταστολή υπό γενική αναισθησία (70 mg/kg ketamine + 3 mg/kg xylazine). Ο ερεθισμός αλλά και η καταγραφή των προκλητών δυναμικών έγιναν με την χρήση βελονοειδών ηλεκτροδίων (Εικόνα 58).

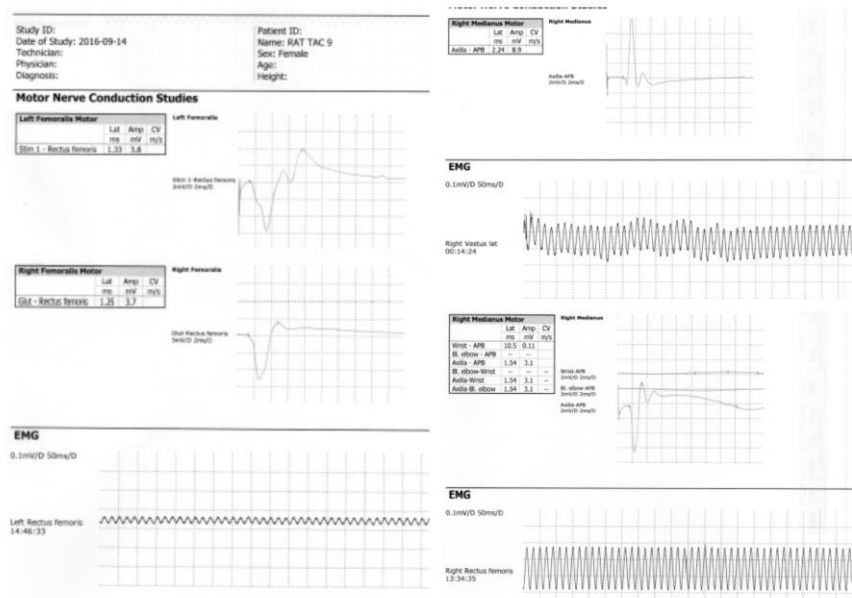


**Εικόνα 58: Ηλεκτροφυσιολογικός έλεγχος**

Οι επίμυες υποβλήθηκαν σε ηλεκτρομυογράφημα 12 εβδομάδες μετεγχειρητικά, πριν από τη θανάτωσή τους και τη συλλογή του νευρικού ιστού για περαιτέρω ιστολογική εξέταση.

Λεπτά ηλεκτρόδια τοποθετήθηκαν στους μύς του οπίσθιου άκρου των επίμυων από την πειραματική και την υγιή πλευρά, ενώ ξεχωριστό ηλεκτρόδιο προκάλεσε κεντρικότερα τη διέγερση του ισχιακού νεύρου. Ο λανθάνων χρόνος (latency) και το εύρος (amplitude) των δυναμικών ενέργειας των μυϊκών μονάδων (CMAP - compound muscle action potential) καταγράφηκαν προκειμένου στη συνέχεια τα αποτελέσματα όλων των ομάδων να

συγκριθούν. Τα δύο ισχιακά νεύρα κάθε πειραματοζώου διεγέρθηκαν με υπερμέγιστο ερέθισμα στο ύψος της ισχιακής εντομής. Η καταγραφή του σύνθετου προκλητού μυϊκού δυναμικού CMAPs έγινε από την έσω μοίρα του γαστροκνημίου μύος (Εικόνα 59).



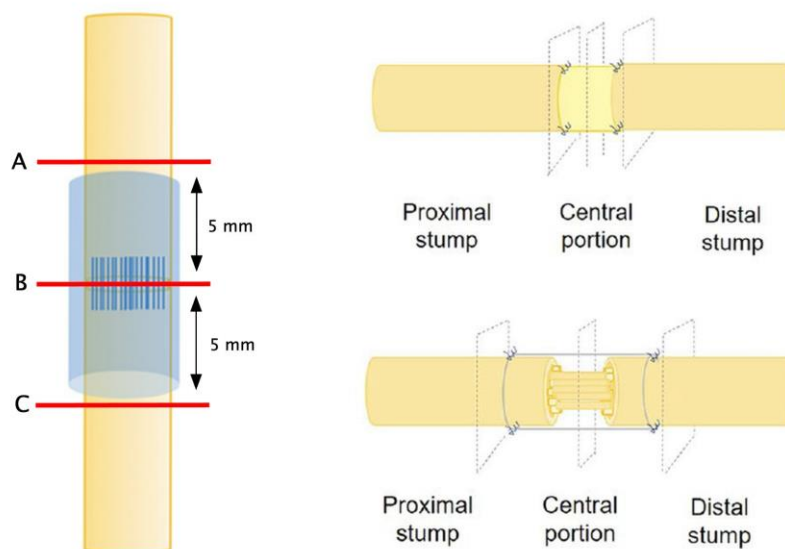
Εικόνα 59: Καταγραφή αποτελεσμάτων ηλεκτρομυογραφήματος

Η γείωση του μηχανήματος τοποθετήθηκε στη βάση της ουράς του κάθε επίμυος. Η συχνότητα του ηλεκτρικού παλμού που χρησιμοποιήθηκε ανερχόταν σε ένα κύκλο ανά δευτερόλεπτο (1 Hz), η διάρκεια του ερεθισμού σε 0.2 m/s, ενώ η ένταση που χρησιμοποιήθηκε ήταν 20mA. Τέλος, καταγράφηκε ο λόγος των αποτελεσμάτων του πάσχοντος προς το φυσιολογικό ισχιακό νεύρο για κάθε πειραματοζώο και στις 4 ομάδες, σε ότι αφορά το εύρος των CMAPs (peak amplitude). Με τον τρόπο αυτό, προέκυψε το CMAP recovery index, που χρησιμοποιήθηκε για την στατιστική ανάλυση μεταξύ των ομάδων (Jiang et al., 2016; Shen, Yang, Huang, Chan, & Liu, 2013; Zhuang et al., 2016).



#### 4.3.5 Νευροϊστομορφομετρία

Μετά τη θανάτωση των πειραματόζων 12 εβδομάδες μετά το χειρουργείο, έγινε σε κάθε πειραματόζωο λήψη παρασκευάσματος που περιείχε μέρος του κεντρικού και περιφερικού νευρικού κολοβώματος του αριστερού ισχιακού νεύρου, καθώς και το μεσολαβών ικρίωμα. Σε κάθε περίπτωση, το περιφερικό άκρο κάθε δείγματος σημαδεύτηκε για λόγους προσανατολισμού με ράμμα 6-0 Prolene®. Ακολούθησε μονιμοποίηση σε 10% φορμόλη, με επακόλουθη αφυδάτωση σε διαβαθμισμένη αλκοόλη και εγκλεισμό σε κύβους παραφίνης για την δημιουργία λεπτών τομών. Κατόπιν, τα παρασκευάσματα εστάλησαν σε παθολογοανατομικό εργαστήριο, προκειμένου να ληφθούν ημίλεπτες τομές από το κεντρικό και περιφερικό κολόβωμα και το μέσον της περιοχής του ικριώματος.

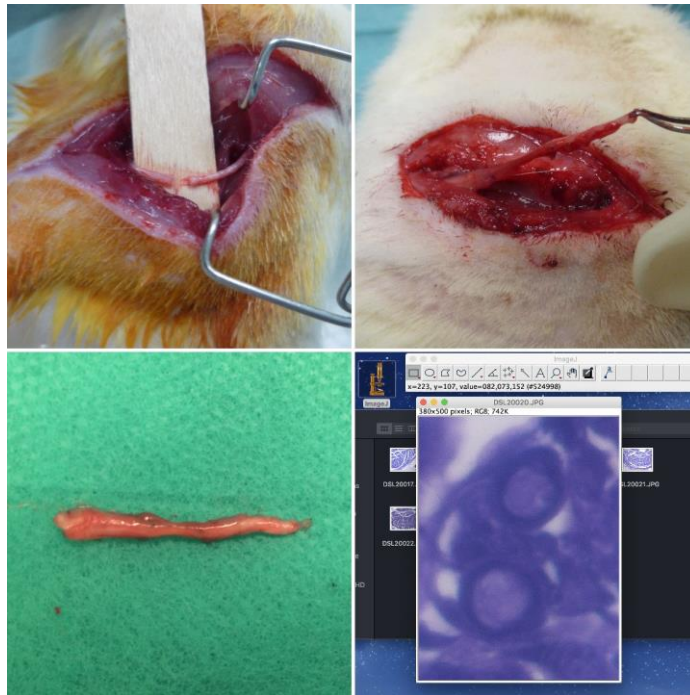


**Εικόνα 60: Σχηματική απεικόνιση λήψης ιστολογικών δειγμάτων**

Λήψη ημίλεπτων τομών πραγματοποιήθηκε από το κεντρικό (A) και το περιφερικό (B) κολόβωμα, καθώς και από την μεσότητα της περιοχής του ικριώματος (C).



Οι τομές χρωματίστηκαν στη συνέχεια με διάλυμα 1% κυανού της τολουιδίνης/1% βόρακα και παρατηρήθηκαν υπό το οπτικό μικροσκόπιο.

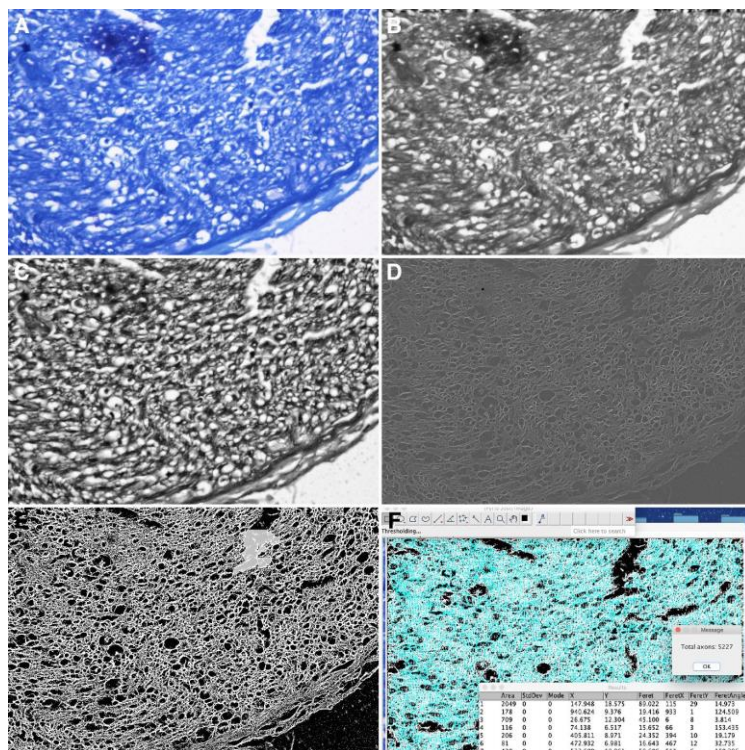


**Εικόνα 61: Λήψη παρασκευάσματος και ψηφιακή ανάλυση**

Τα ιστολογικά παρασκευάσματα υποβλήθηκαν σε ψηφιακή φωτογράφιση με σύστημα ψηφιακής φωτογραφίας για οπτικό μικροσκόπιο Nikon DS-Fi1 L2 (Nikon Corporation, Tokyo, Japan). Οι φωτογραφίες μεταφέρθηκαν σε λογισμικό ψηφιακής επεξεργασίας εικόνας (ImageJ, πρόγραμμα επεξεργασίας εικόνας open source, εξελιγμένο από τον Wayne Rasband, National Institutes for Health (NIH), Bethesda, USA, <http://rsb.info.nih.gov/ij/index.html>). Ο αριθμός και η διάμετρος των εμμέλων νευρικών ινών καταγράφηκαν σε πολλαπλά τυχαία οπτικά πεδία ανά παθολογικό παρασκεύασμα (Εικόνα 61). Τα άνωθι αποτελέσματα υποβλήθηκαν στη συνέχεια σε στατιστική ανάλυση για περαιτέρω σύγκριση μεταξύ των πειραματικών ομάδων.

Λόγω της δυσχέρειας και υποκειμενικότητας της χειροκίνητης μεθόδου καταμέτρησης των μορφομετρικών παραμέτρων, διενεργήθηκε ημιαυτόματη καταμέτρηση

του αριθμού και της διαμέτρου των εμμέλων αξόνων μέσω του επικουρικού εργαλείου AxonJ του λογισμικού ImageJ (διαθέσιμο δωρεάν στον ιστότοπο [imagej.nih.gov/ij/plugins/axonj/](http://imagej.nih.gov/ij/plugins/axonj/)). Το AxonJ αναπτύχθηκε από την ερευνητική ομάδα των Zarei et al. το 2016, για τη μελέτη των νευρικών ινών του οπτικού νεύρου στο γλαύκωμα (Zarei et al., 2016). Το λογισμικό περιέχει έναν πολύπλοκο αλγόριθμο επεξεργασίας εικόνας (local histogram equalization, Hessian transform, thresholding), που επιτρέπει την αναγνώριση και καταμέτρηση μορφομετρικών παραμέτρων των νευραξόνων (Εικόνα 62).

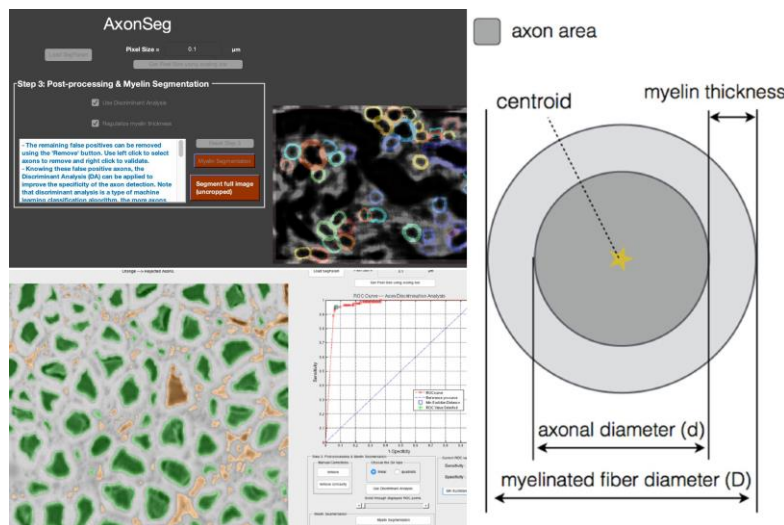


**Εικόνα 62: Λογισμικό επεξεργασίας εικόνας AxonJ**

A: αρχικό ιστολογικό δείγμα, B-E: αλγόριθμος επεξεργασίας εικόνας, F: τελική καταμέτρηση αριθμού νευραξόνων.

Στοιχεία όπως ο συνολικός αριθμός και η μέση τιμή  $\pm$  απόκλιση του εμβαδού των νευραξόνων εξάγονται αυτόματα και μπορούν να μεταφερθούν σε υπολογιστικό αρχείο excel για περαιτέρω στατιστική σύγκριση.

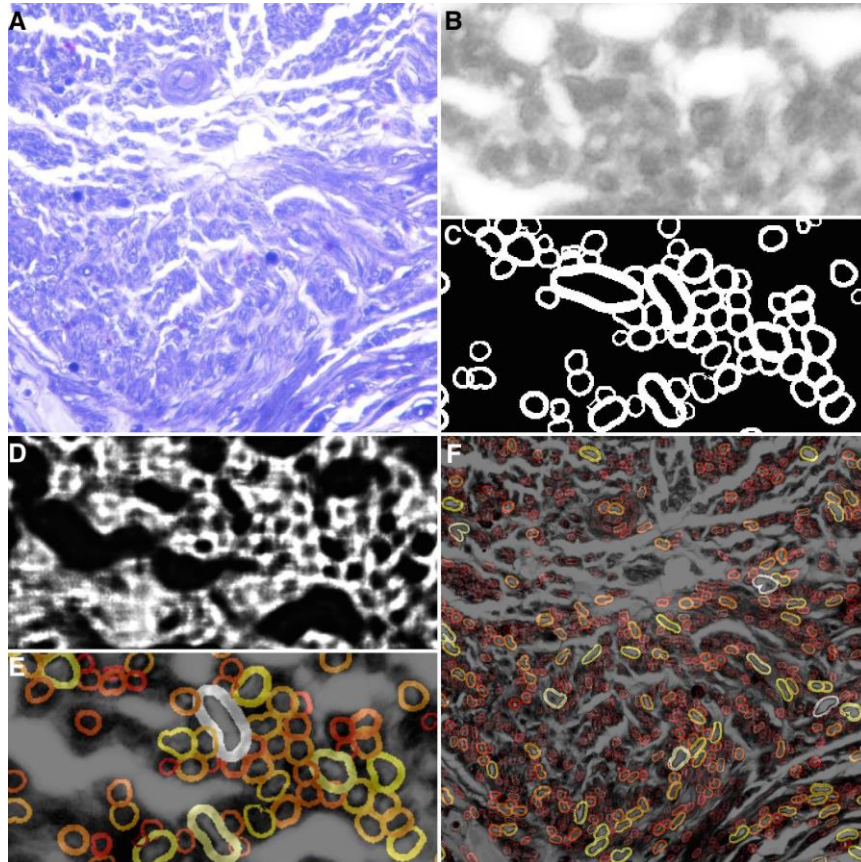
Για την περαιτέρω επιβεβαίωση των τιμών που εξήχθησαν με τη χρήση λογισμικού, έγινε επιπλέον χρήση του λογισμικού AxonSeg, το οποίο αναπτύχθηκε από τους Zaimi et al., το 2016 (Zaimi et al., 2016). Το AxonSeg είναι ελεύθερα διαθέσιμο στο διαδίκτυο (<https://github.com/neuropoly/axonseg>) χωρίς κόστος. Είναι ικανό να πραγματοποιήσει τη διάκριση μεταξύ μυελίνης και νευράξονα, και κατόπιν με κατάλληλη επεξεργασία της εικόνας να προβεί σε μορφομετρική ανάλυση (Εικόνες 63 & 64). Οι μετρήσεις που δύνανται να προκύψουν με το τρόπο αυτό περιλαμβάνουν τον συνολικό αριθμό των νευραξόνων, το εμβαδό των νευραξόνων, το πάχος της μυελίνης, καθώς και την παράμετρο G-ratio (έσω διάμετρος/έξω διάμετρος), η οποία θεωρείται ένας εξαιρετικά αξιόπιστος δείκτης επαναμυελίνωσης (Chomiak & Hu, 2009).



**Εικόνα 63: Μορφομετρική ανάλυση με λογισμικό AxonSeg**

Κατόπιν επεξεργασίας εικόνας, το λογισμικό δύναται να μετρήσει τον αριθμό των νευραξόνων, το εμβαδό του εμμέλου άξονα, τη διάμετρο του άξονα και το πάχος της μυελίνης, καθώς και την παράμετρο g-ratio ( $d/D$ ). Αναπαραγωγή από: Zaimi et al. *AxonSeg: Open Source Software for Axon and Myelin Segmentation and Morphometric Analysis*. *Front Neuroinform.* 2016;10:37.



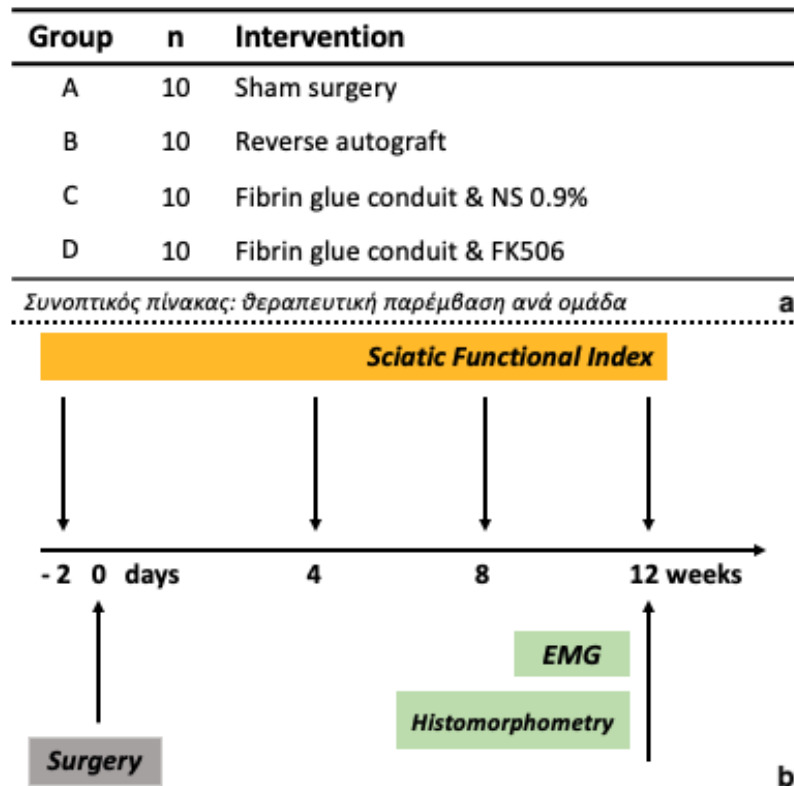


**Εικόνα 64: Επεξεργασία εικόνας - AxonSeg**

A: Αρχικό ιστολογικό δείγμα, B-E: επεξεργασία εικόνας σε περιορισμένο οπτικό πεδίο, F: Τελική διάκριση άξονα-μυελίνης.

Το λογισμικό AxonSeg επιτρέπει τη διενέργεια μορφομετρικής ανάλυσης σε εικόνες οπτικού ή ηλεκτρονικού μικροσκοπίου και έχει τη δυνατότητα εξαγωγής των αποτελεσμάτων σε υπολογιστικό αρχείο τύπου excel, για περαιτέρω στατιστική ανάλυση. Λόγω της υψηλής ανάλυσης των εικόνων, το λογισμικό συνιστά την επιλογή μικρών αντιπροσωπευτικών περιοχών (τυπικά 50-100μm), η οποία γίνεται μέσω της επιλογής "Crop Image". Προκειμένου να καταστεί πιο εμφανής η διάκριση μεταξύ μυελίνης και άξονα, ακολουθεί περαιτέρω επεξεργασία (επιλογές "Invert Color" και "Histogram equalization"). Στη συνέχεια, οι εικόνες υφίστανται thresholding και υποβάλλονται σε επιπλέον αξιολόγηση με επιπρόσθετα κριτήρια ("Minimal Size", "Solidity", "Ellipticity"). Τέλος, ακολουθεί η τεμαχιοποίηση ("Segmentation") τόσο της προεπιλεγμένης περιοχής, όσο και της αρχικής εικόνας. Το

σύστημα, αν και σχετικά πολύπλοκο στην αρχή, επιτρέπει την γρήγορη επεξεργασία μεγάλου αριθμού εικόνων, ενώ η αναπαραγωγική του έχει εξακριβωθεί από διάφορους μελετητές, τόσο για την ανάλυση ιστολογικών δειγμάτων στο οπτικό και ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, όσο και για την ποσοτικοποίηση ιστολογικών παραμέτρων in vivo με τη χρήση μαγνητικής τομογραφίας (Duval et al., 2019; Stikov et al., 2015; Zaimi et al., 2016).



#### Εικόνα 65: Επισκόπηση μεθοδολογίας - λειτουργικών δοκιμασιών

(a) Συνοπτικός πίνακας με τις πειραματικές ομάδες και την εφαρμοζόμενη θεραπευτική παρέμβαση ανά ομάδα. (b) Απεικόνιση θεραπευτικού πρωτοκόλλου με παράθεση σχηματικού χρονοδιαγράμματος θεραπευτικών παρεμβάσεων και λειτουργικών δοκιμασιών.

#### 4.3.6 Στατιστική Ανάλυση

Για την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων των λειτουργικών δοκιμασιών και την τεκμηρίωση των συμπερασμάτων της παρούσας μελέτης χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό λογισμικό πρόγραμμα GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, California, USA). Τα δεδομένα όλων των ομάδων από κάθε λειτουργική δοκιμασία υποβλήθηκαν σε περιγραφική στατιστική ανάλυση (descriptive statistics) για τον προσδιορισμό μέσης τιμής  $\pm$  τυπικής απόκλισης (mean  $\pm$  standard deviation, SD). Ανά περίπτωση, πραγματοποιήθηκε για όλα τα δεδομένα έλεγχος κανονικότητας (normality test) με τη χρήση του D'Agostino - Pearson omnibus normality test (K2), προκειμένου να διαπιστωθεί αν οι υπό εξέταση μεταβλητές ακολουθούσαν κανονική κατανομή (Gaussian distribution). Η επιλογή της περαιτέρω στατιστικής ανάλυσης έγινε με βάση το γεγονός ότι τα υπό εξέταση δεδομένα περιλάμβαναν μία ποσοτική (π.χ. SFI ή αριθμός νευραξόνων) και μία ποιοτική μεταβλητή (επί μέρους ομάδα) με πάνω από 2 κατηγορίες (συνολικά 4 ομάδες), με μη εξαρτημένα/μη συσχετιζόμενα δείγματα. Με βάση τα παραπάνω, στην περίπτωση που τα δεδομένα ακολουθούσαν φυσιολογική κατανομή, επιλέχθηκε η ανάλυση διακύμανσης ή διασποράς με έναν παράγοντα (one-way ANOVA), ακολουθούμενη από το Tukey test (δοκιμασία επανεξέτασης ή posthoc test) προκειμένου να γίνει πολλαπλή σύγκριση μεταξύ των ομάδων, εφόσον είχε προκύψει στατιστική σημαντικότητα. Για τα δεδομένα στα οποία δεν προέκυψε το κριτήριο της προϋπόθεσης της φυσιολογικής κατανομής κατόπιν του test κανονικότητας, χρησιμοποιήθηκε το Kruskal-Wallis test, ακολουθούμενο από το Dunn's test για πολλαπλές συγκρίσεις μεταξύ των ζευγών (μη παραμετρικές δοκιμασίες), εφόσον υπήρχε στατιστική σημαντικότητα. Η στατιστική σημαντικότητα ορίστηκε για τιμές του  $p < 0.05$ . Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται παρακάτω υπό τη μορφή πίνακα με αναρτημένες μέση τιμή

± τυπική απόκλιση ανά ομάδα για κάθε λειτουργική δοκιμασία, καθώς και υπό τη μορφή σχηματικής απεικόνισης με bar & error graphs, με παράλληλη παράθεση των στατιστικών διαφορών (ns  $p > 0.05$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*\*\*  $p < 0.0001$ ). Τέλος, η χρονική μεταβολή των παραμέτρων του SFI (μη παραμετρικά δεδομένα πάνω από δύο εξαρτημένων/συσχετιζόμενων δειγμάτων) πραγματοποιήθηκε με το Friedman test (two-way ANOVA για μη παραμετρικά δεδομένα). Για τη σχηματική απεικόνιση των παραμέτρων του SFI χρησιμοποιήθηκε ένα XY graph με points και connecting lines (spaghetti graph).



## 4.4 Αποτελέσματα

### 4.4.1 Ανάλυση Βάδισης

Η λειτουργική εκτίμηση του ισχιακού νεύρου με τη μέθοδο Bain-Mackinnon-Hunter έγινε τόσο προεγχειρητικά, όσο και στις 4, 8, και 12 εβδομάδες μετεγχειρητικά. Η ανάλυση βάδισης κατέδειξε σταδιακή βελτίωση των τιμών του SFI (sciatic functional index). Προεγχειρητικά, οι τιμές ήταν όπως αναμενόταν πολύ κοντά σε φυσιολογικά επίπεδα (κοντά στο 0, που αποτελεί την θεωρητικά φυσιολογική τιμή). Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά των προεγχειρητικών τιμών μεταξύ των ομάδων ( $p=0.3494$ ). Προεγχειρητικά, οι τιμές του SFI είχαν ως εξής:

- Ομάδα A (sham surgery):  $-8.99 \pm 0.40$
- Ομάδα B (reverse autograft):  $-10.88 \pm 2.16$
- Ομάδα C (conduit alone):  $-10.04 \pm 0.98$
- Ομάδα D (conduit & FK506):  $-10.15 \pm 1.84$

Καθότι στην ομάδα A (sham surgery group) δεν προκλήθηκε εσκεμμένα κάκωση του ισχιακού νεύρου όπως στις υπόλοιπες ομάδες, οι τιμές αυτές παρέμειναν σχετικά σταθερές μετεγχειρητικά. Η ομάδα A υπερέβη τις υπολοίπων με στατιστικά σημαντική διαφορά σε όλες τις μετεγχειρητικές χρονικές περιόδους. Στις υπόλοιπες ομάδες, οι τιμές του SFI μειώθηκαν σημαντικά μετεγχειρητικά, όπου και έγιναν ισχυρά αρνητικές, γεγονός που αποτελεί ένδειξη απώλειας λειτουργικότητας κατόπιν νευρικής βλάβης. Οι τιμές αυτές αυξήθηκαν κατά την πάροδο του χρόνου, παρουσιάζοντας στατιστικά σημαντική βελτίωση εντός κάθε ομάδας. Στις 4 εβδομάδες, ο SFI των ομάδων B, C και D δεν παρουσίαζε

στατιστικά σημαντική διαφορά στις πολλαπλές συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων. Κατά τις αρχικές μετρήσεις, 4 εβδομάδες μετεγχειρητικά, οι τιμές του SFI είχαν ως εξής:

- Ομάδα A (sham surgery):  $-17.23 \pm 5.12$
- Ομάδα B (reverse autograft):  $-68.45 \pm 2.55$
- Ομάδα C (conduit alone):  $-80.06 \pm 2.08$
- Ομάδα D (conduit & FK506):  $-65.79 \pm 6.04$

Στις 8 εβδομάδες, υπήρξε σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων C (SLN) και D (FK506) [ $-60.28 \pm 3.54$  vs  $-48.39 \pm 5.35$ ,  $p < 0.05$ ], με την ομάδα D να υπερτερεί. Κατά τις ενδιάμεσες μετρήσεις, 8 εβδομάδες μετεγχειρητικά, οι τιμές του SFI είχαν ως εξής:

- Ομάδα A (sham surgery):  $-13.23 \pm 7.39$
- Ομάδα B (reverse autograft):  $-50.24 \pm 2.54$
- Ομάδα C (conduit alone):  $-60.28 \pm 3.54$
- Ομάδα D (conduit & FK506):  $-48.39 \pm 5.35$

Με το πέρας των 12 εβδομάδων, η ομάδα D (FK506) παρουσίασε εντονότερη βελτίωση του SFI σε σχέση με την ομάδα C (νευρικός αγωγός με φυσιολογικό ορό, χωρίς FK506), διαφορά η οποία ήταν στατιστικά σημαντική ( $-38.39 \pm 6.39$  vs  $-51.73 \pm 4.62$ ,  $p < 0.05$ ). Οι υπόλοιποι συσχετισμοί δεν παρουσίασαν αξιόλογες στατιστικές διαφορές. Κατά τις τελικές μετρήσεις, 12 εβδομάδες μετεγχειρητικά, οι τιμές του SFI είχαν ως εξής:

- Ομάδα A (sham surgery):  $-11.65 \pm 10.76$
- Ομάδα B (reverse autograft):  $-36.98 \pm 5.17$
- Ομάδα C (conduit alone):  $-51.73 \pm 4.62$
- Ομάδα D (conduit & FK506):  $-38.39 \pm 6.39$

Οι παραπάνω τιμές επιβεβαιώνουν ένα ελαφρύ προβάδισμα της ομάδας D (FK506), σε σχέση με την ομάδα C (SLN). Αν και η ομάδα B (AUTO) υπερτερούσε ελαφρώς αριθμητικά της ομάδας D (FK506), η διαφορά αυτή δεν παρουσίαζε στατιστική σημαντικότητα ( $p > 0.05$ ). Τα αποτελέσματα της ανάλυσης βάρδισης συνοψίζονται στον [Πίνακα 10](#). Στην [Εικόνα 66](#), παρατίθεται σχηματική απεικόνιση των αποτελεσμάτων σε γραφήμα (spaghetti graph).

**Πίνακας 10: Ισχιακός λειτουργικός δείκτης σε όλες τις πειραματικές ομάδες 4, 8 & 12 εβδομάδες μετεγχειρητικά**

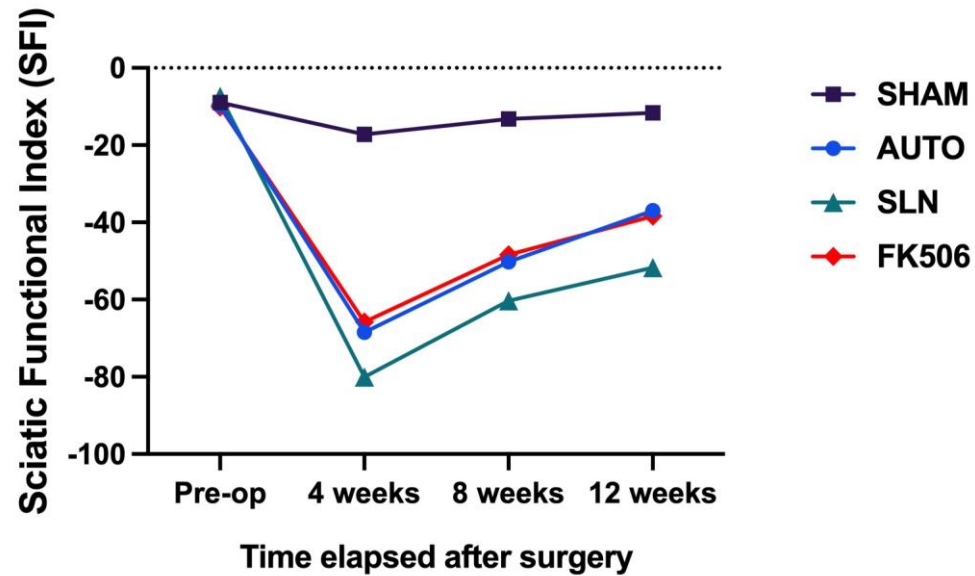
	<b>4 weeks</b>	<b>8 weeks</b>	<b>12 weeks</b>	<b>p value*</b>
<b>Sham surgery</b>	-17.23±5.12	-13.23±7.39	-11.65±10.76	0.0003
<b>Reverse autograft</b>	-68.45±2.55	-50.24±2.54	-36.98±5.17	<0.0001
<b>Conduit</b>	-80.07±2.08	-60.28±3.53	-51.74±4.62	<0.0001
<b>Conduit &amp; FK506</b>	-65.79±6.04	-48.39±5.35	-38.39±6.39	<0.0001
<b>p value **</b>	<0.0001	<0.0001	<0.0001	

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση (SD).

\* Η σύγκριση της ΔΤ (χρονική μεταβολή του SFI) εντός κάθε ομάδας έγινε με το Friedman test (μη παραμετρικά δεδομένα - πάνω από 2 εξαρτημένα δείγματα).

\*\* Η σύγκριση μεταξύ των ομάδων έγινε με το Kruskal-Wallis test (μη παραμετρικά δεδομένα - πάνω από 2 μη εξαρτημένα δείγματα).

#n=10 ανά ομάδα



**Εικόνα 66: Σχηματική απεικόνιση αποτελεσμάτων ανάλυσης βάδισης**

Απεικόνιση της μεταβολής του SFI (sciatic functional index) προεγχειρητικά, καθώς και 4, 8, και 12 εβδομάδες μετεγχειρητικά. Οι στίξεις αντιπροσωπεύουν τις μέσες τιμές σε κάθε ομάδα. Στην ομάδα A (sham) δεν απεικονίζεται ιδιαίτερη μεταβολή, καθώς δεν υπήρξε νευρική κάκωση. Στις υπόλοιπες ομάδες όπου υπήρξε πειραματική διατομή του ισχιακού νεύρου, παρουσιάζεται πτώση του SFI στις 4 εβδομάδες, ακολουθούμενη από σταδιακή ανάκαμψη. Η πειραματική ομάδα FK506 παρουσιάζει ευνοϊκότερες τιμές από την ομάδα SLN.

#### 4.4.2 Ηλεκτροφυσιολογικός έλεγχος

Οι μετρήσεις που προέκυψαν από τον ηλεκτροφυσιολογικό έλεγχο περιλάμβαναν τα παρακάτω δεδομένα:

- λαθάνων χρόνο (latency)
- εύρος (amplitude)
- CMAP recovery index

Κατά την ηλεκτρομυογραφία, ήταν παρόντα δυναμικά επανανεύρωσης σε όλα τα πειραματόζωα. Ο ηλεκτροφυσιολογικός έλεγχος του λανθάνοντα χρόνου (latency), του εύρους (amplitude), καθώς και του CMAP recovery index (λόγος amplitude μεταξύ χειρουργημένου και φυσιολογικού άκρου), επίσης κατέγραψε σημαντικές διαφορές μεταξύ των ελεγχόμενων ομάδων. Κατά τη στατιστική σύγκριση όλων των ομάδων, στατιστικά σημαντικές διαφορές βρέθηκαν και για τις 3 κατηγορίες δεδομένων ( $p < 0.0001$ ). Η ομάδα A (sham) παρουσίασε τον μικρότερο λανθάνοντα χρόνο, όπως αναμενόταν, ενώ η ομάδα C (νευρικός αγωγός με ορό) παρουσίασε τον μεγαλύτερο. Η ομάδα D (FK506) είχε στατιστικά σημαντική ευνοϊκότερη τιμή σε σχέση με την ομάδα C (SLN) [ $1.90 \pm 0.16$  vs  $2.34 \pm 0.24$ ,  $p < 0.01$ ]. Η ομάδα B (ανάστροφο αυτομόσχευμα, ή AUTO) υπερείχε της ομάδας D (FK506) [ $1.61 \pm 0.24$  vs  $1.90 \pm 0.16$ ,  $p < 0.05$ ], αν και με λιγότερο ισχυρή στατιστικά σημαντική διαφορά. Σε ό,τι αφορά το εύρος των προκλητών δυναμικών (amplitude), η πειραματική ομάδα D (FK506) είχε σημαντικά καλύτερη επίδοση από την ομάδα C (SLN), ενώ τα αποτελέσματα ήταν στατιστικά σημαντικά [ $16.9 \pm 1.70$  vs  $11.71 \pm 3.10$ ,  $p < 0.001$ ]. Αντιθέτως, οι ομάδες B και D δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά, παρότι η ομάδα B υπερεπούσε αριθμητικά [ $19.07 \pm 2.83$  vs  $16.9 \pm 1.70$ ,  $p > 0.05$ ]. Τέλος, σχετικά με το CMAP recovery index, το group D παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά μόνο σε σχέση των αποτελεσμάτων της ομάδας

C, η οποία είχε χειρότερη επίδοση [ $0.62 \pm 0.03$  vs  $0.42 \pm 0.06$ ,  $p < 0.001$ ]. Τα αποτελέσματα του ηλεκτροφυσιολογικού ελέγχου συνοψίζονται στον [Πίνακα 11](#). Στην [Εικόνα 67](#) παρατίθεται σχηματική απεικόνιση των αποτελεσμάτων σε γραφήματα (bar & error graphs), με ανάρτηση των επί μέρους στατιστικών διαφορών, όπως αυτές προέκυψαν από τις πολλαπλές συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων.



**Πίνακας 11: Ηλεκτροφυσιολογικός έλεγχος σε όλες τις πειραματικές ομάδες**

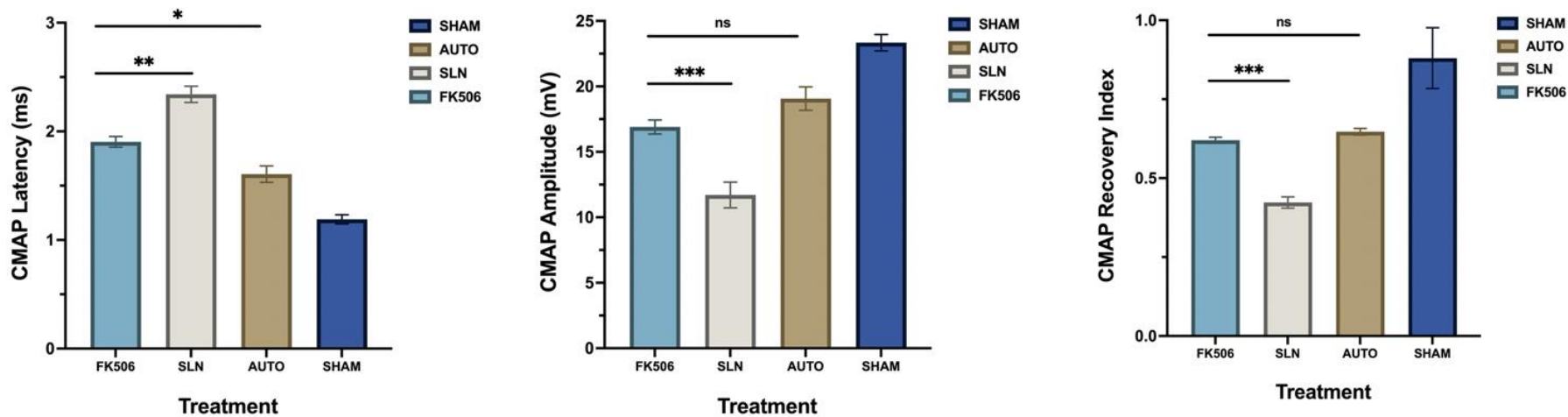
	Latency (msec)	Amplitude (mV)	CMAP recovery index (%)
<b>Sham surgery</b>	1.19±0.13	23.34±1.98	0.88±0.30
<b>Reverse autograft</b>	1.61±0.24	19.07±2.83	0.67±0.03
<b>Conduit</b>	2.34±0.24	11.71±3.10	0.42±0.06
<b>Conduit &amp; FK506</b>	1.90±0.16	16.9±1.70	0.62±0.03
<b><i>p value</i>*</b>	<0.0001	<0.0001	<0.0001

*CMAP, compound action potential*

*#n=10 ανά ομάδα*

*Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση.*

*\*Ο υπολογισμός των *p values* πραγματοποιήθηκε με το *Kruskal-Wallis test* (μη παραμετρικά δεδομένα) ή με *one-way ANOVA* (παραμετρικά δεδομένα).*



**Εικόνα 67: Σχηματική απεικόνιση ηλεκτροφυσιολογικού ελέγχου 12 εβδομάδες μετεγχειρητικά**

CMAP: compound muscle action potential, latency: λανθάνων χρόνος, amplitude: εύρος, recovery index: λόγος amplitude μεταξύ χειρουργημένου και φυσιολογικού άκρου, ns  $p > 0.05$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*\*\*  $p < 0.0001$ . Το CMAP recovery index παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ conduit και FK506, με υπεροχή του τελευταίου. Το sham group παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά με όλες τις ομάδες.

#### 4.4.3 Νευροϊστομορφομετρία

##### Μακροσκοπικές παρατηρήσεις

Δώδεκα εβδομάδες μετεγχειρητικά, τα πειραματόζωα υποβλήθηκαν σε ανώδυνη ευθανασία, προσπέλαση και παρασκευή του αριστερού ισχιακού νεύρου που είχε υποστεί την πρότερη θεραπευτική παρέμβαση. Κατά την παρασκευή, οι νευρικοί αγωγοί ήταν ανεπαίσθητα ορατοί μακροσκοπικά, έχοντας υποστεί σε όλες τις περιπτώσεις σημαντική απορρόφηση. Το γεγονός αυτό καταδεικνύει ότι οι αγωγοί ενσωματώθηκαν εύκολα από τους ιστούς των πειραματόζωων, χωρίς να προκαλέσουν αντίδραση ξένου σώματος. Αν και ελάχιστα ορατοί κατά την οπτική επισκόπηση, οι αγωγοί είχαν διατηρήσει το κυλινδρικό τους σχήμα και ομοιόμορφη διάμετρο καθόλο το μήκος της πρόθεσης. Σε κανένα πειραματόζωο δεν παρατηρήθηκε παρεκτόπιση των εμφυτευμένων αγωγών, τοπική φλεγμονώδης αντίδραση ή σχηματισμός νευρινώματος στο κεντρικό ή περιφερικό κολόβωμα. Στα πειραματόζωα του group B (reversed autograft), τα ανεστραμμένα αυτομοσχεύματα βρέθηκαν στην αναμενόμενη θέση, χωρίς παρουσία επιπλοκών.

### Ιστολογικές παρατηρήσεις

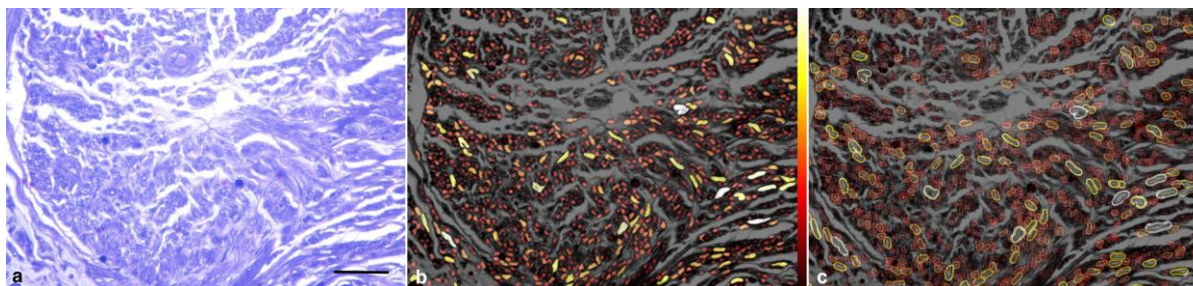
Κατά την ιστολογική εξέταση, η χρώση και μικροσκοπική παρατήρηση των ληφθέντων δειγμάτων από το μέσον της περιοχής του ικριώματος κατέγραψε την παρουσία αναγεννηθέντος νευρικού ιστού, με επιτυχή γεφύρωση του νευρικού ελλείμματος μεταξύ κεντρικού και περιφερικού κολοβώματος. Όπως ήταν αναμενόμενο, ενδεικτική μικροσκοπική ανάλυση των τομών από το κεντρικό κολόβωμα δεν κατέδειξε σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων. Η απουσία σημαντικής φλεγμονώδους αντίδρασης ή αντίδρασης τύπου ξένου σώματος επιβεβαιώθηκε και ιστολογικά. Στις υπό εξέταση τομές, οι παρούσες νευρικές ίνες παρουσίαζαν πιο ομοιογενή κατανομή στο group B (AUTO) και D (FK506). Στο group C (SLN), οι νευρικές ίνες παρουσιάζονταν πιο ανομοιογενώς κατανεμημένες, με παρουσία νεκρού χώρου σε μεγαλύτερη συχνότητα.

Η μορφομετρική ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε τομές από το περιφερικό κολόβωμα του νεύρου υπό εξέταση (~5mm από την περιφερική συρραφή). Οι μετρήσεις περιλάμβαναν δεδομένα σχετικά με τις εξής μεταβλητές:

- τον συνολικό αριθμό των νευραξόνων
- την διάμετρο των νευραξόνων.

### Περιφερικές τομές

Οι μετρήσεις των παραμέτρων στις περιφερικές τομές κατέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των υπό εξέταση ομάδων. Οι ομάδες C (SLN) και D (FK506) παρουσίασαν ισχυρή διαφορά στον αριθμό των εμμύελων ινών, με την ομάδα D υπερτερεί [249.2±27.14 vs 319.1±37.59,  $p<0.001$ ]. Η ομάδα B (AUTO) είχε καλύτερη επίδοση από την ομάδα D (FK506), αν και η διαφορά αυτή ήταν λιγότερο ισχυρή στατιστικά [389.9±64.16 vs 319.1±37.59,  $p<0.05$ ]. Όπως ήταν αναμενόμενο, το group A (SHAM) υπερτερούσε σημαντικά όλων των υπόλοιπων ομάδων [825.6±64.21,  $p<0.001$ ]. Η διάμετρος των νευρικών ινών, αντιθέτως, δεν εμφάνισε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των group B (AUTO) vs D (FK506), αν και το group B υπερτερούσε πάλι αριθμητικά [7.60±0.53 vs 6.60±0.48,  $p>0.05$ ]. Στην ίδια κατηγορία, το group C (SLN) βρέθηκε σημαντικά ασθενέστερο στατιστικά από τις άλλες 2 πειραματικές ομάδες (B και D) [3.58±0.21 vs 7.60±0.53 vs 6.60±0.48,  $p<0.001$ ]. Όπως ήταν και πάλι αναμενόμενο, το group A (SHAM), ή ομάδα ελέγχου, υπερτερούσε σημαντικά όλων των υπόλοιπων ομάδων [11.37±0.14,  $p<0.001$ ]. Τα αποτελέσματα από τις περιφερικές τομές συνοψίζονται στον [Πίνακα 12](#) και στην [Εικόνα 70](#).

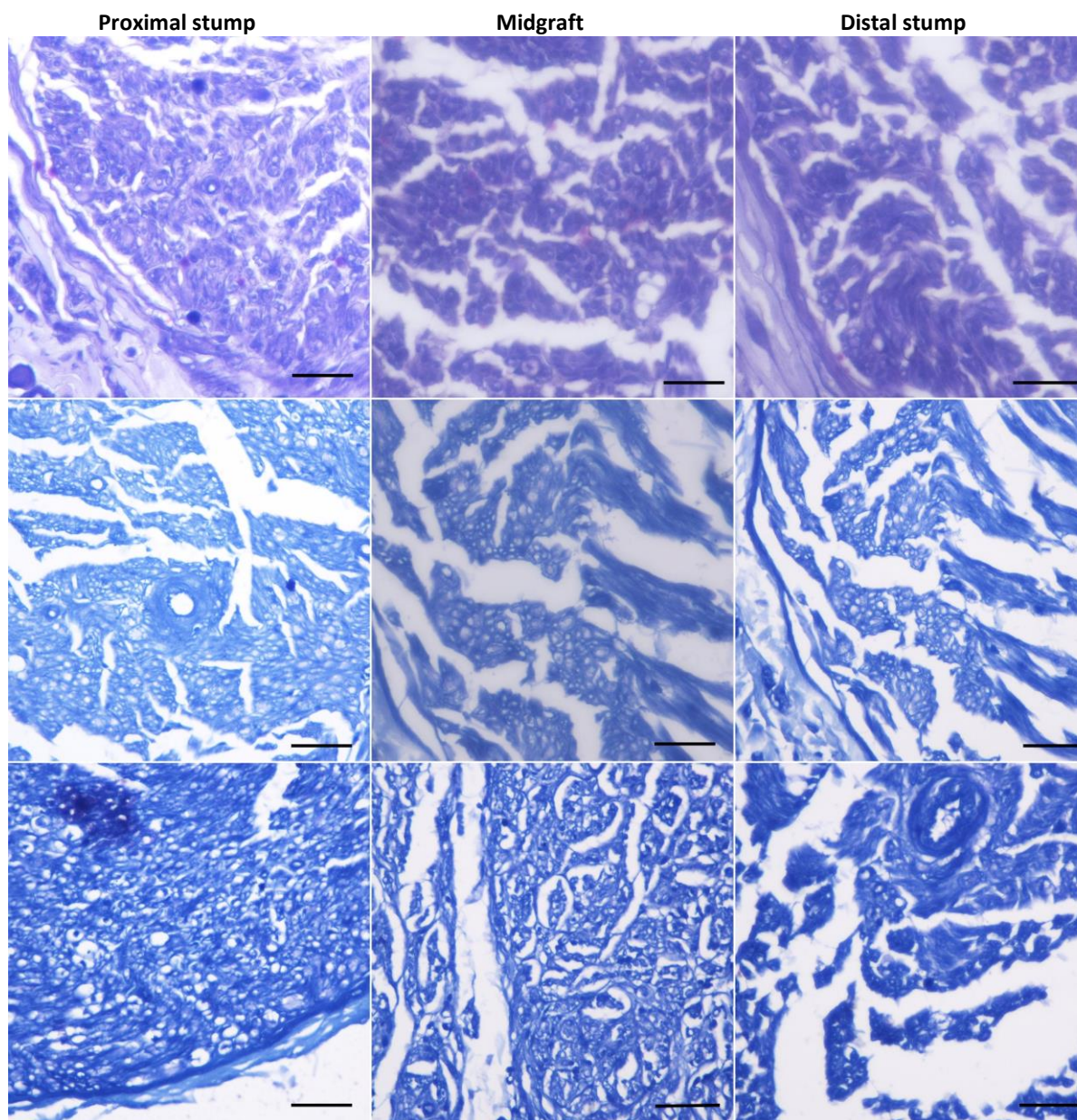


**Εικόνα 68: Νευροϊστομορφομετρία - επεξεργασία εικόνας**

(a) Αρχικό ιστολογικό δείγμα 12 εβδομάδες μετεγχειρητικά, χρώση toluidine blue, scale bar 50μm.

(b), (c) Διαδικασία διάκρισης μυελίνης και αξονοπλάσματος (AxonSeg).





**Εικόνα 69: Ιστολογική εκτίμηση δειγμάτων ισχιακού νεύρου επίμυων**

Αντιπροσωπευτικά παρασκευάσματα τομών ισχιακού νεύρου επίμυων Wistar 12 εβδομάδες μετεγχειρητικά μετά τη θανάτωση των πειραματοζώων. Τομές από το κεντρικό κολόβωμα (αριστερά). Τομές από τη μεσότητα του ικριώματος/αυτομοσχεύματος (μέση). Τομές από το περιφερικό κολόβωμα (δεξιά). Χρώση toluidine blue, scale bar 50μm.

**Πίνακας 12: Μορφομετρική ανάλυση 12 εβδομάδες μετεγχειρητικά (περιφερικές τομές)**

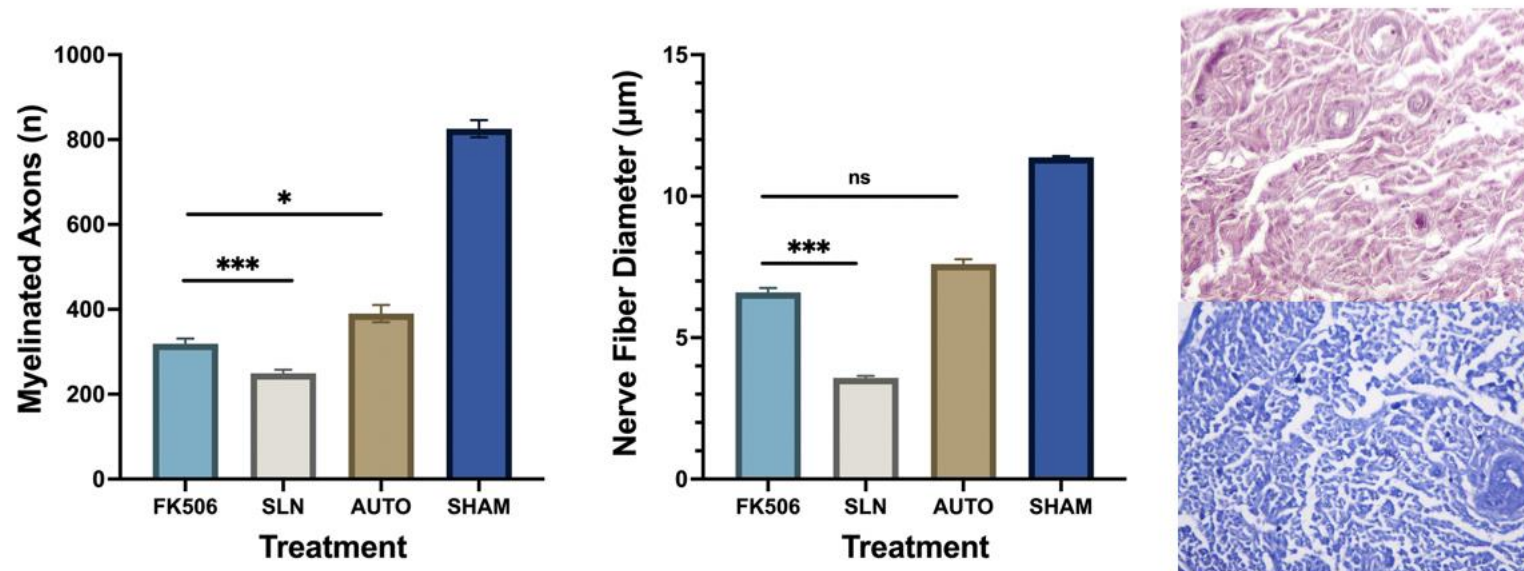
	(A) Sham surgery	(B) Reverse autograft	(C) Conduit	(D) Conduit & FK506	p value**
<b>Myelinated axon number</b>	825.6±64.21	389.9±64.16	249.2±27.14	319.1±37.59	<0.0001
<b>Axon diameter (μm)</b>	11.37±0.14	7.60±0.53	3.58±0.21	6.60±0.48	<0.0001

#n=10 ανά ομάδα

\*Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση.

\*\*Ο υπολογισμός των p values πραγματοποιήθηκε με το *Kruskal-Wallis test* (μη παραμετρικά δεδομένα - *Dunn's test* για πολλαπλές συγκρίσεις) ή με *one-way ANOVA* (παραμετρικά δεδομένα - *Turek's test* για πολλαπλές συγκρίσεις).





**Εικόνα 70: Μορφομετρική ανάλυση - περιφερικές τομές**

Απεικονίζονται bar & error graphs σχετικά με τον αριθμό των εμύελων νευρικών ινών και τη διάμετρο των νευραξόνων από τις τομές του περιφερικού κολοβώματος για όλες τις ομάδες υπό εξέταση. Οι στατιστικές διαφορές απεικονίζονται ως εξής: ns  $p > 0.05$ , \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ , \*\*\*\*  $p < 0.0001$ .



## 4.5 Συζήτηση

Επί του παρόντος, το FK506 αποτελεί τον ακρογωνιαίο λίθο της σύγχρονης ανοσοκατασταλτικής θεραπείας μετά από μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων, ρόλο που αναμένεται να διατηρήσει τουλάχιστον για την επόμενη δεκαετία (Shrestha, 2017). Αν και οι ανεπιθύμητες ενέργειές του είναι ήδη γνωστές, ο ακριβής μηχανισμός της νευροβιολογικής δράσης του φαρμάκου δεν έχει ακόμα διαλευκανθεί πλήρως. Είναι γεγονός ότι λιγότερο συχνές ανεπιθύμητες ενέργειες, όπως η περιφερική πολυνευροπάθεια, έρχονται σε αντιδιαστολή με την νευροαναγεννητική δράση που έχει διαπιστωθεί τόσο σε κλινικές όσο και σε πειραματικές μελέτες (G. Wu, Weng, & Balaraman, 2013). Επομένως, η περαιτέρω μελέτη του μηχανισμού αυτού κρίνεται καθοριστική προκειμένου να ενσωματωθεί το FK506 στην καθημερινή πράξη του τομέα της περιφερικής νευρικής αναγέννησης.

Ταυτόχρονα, αξίζει να σημειωθεί ότι η τοπική χρήση του FK506 έχει πρόσφατα διευρυνθεί σε διάφορους τομείς της ιατρικής. Στην δερματολογία, η τοπική χρήση FK506 έχει δοκιμαστεί στη θεραπεία των υπερτροφικών ουλών, της ατοπικής δερματίτιδας και άλλων παθήσεων του δέρματος (Cury Martins et al., 2015; Hu et al., 2019; Menezes & Vasconcellos, 2019; X. Zhang, Yang, Chen, & Ji, 2019). Στην οφθαλμολογία, η τοπική χρήση FK506 έχει μελετηθεί κατόπιν μεταμόσχευσης κερατοειδούς (Ghaffari et al., 2017). Στην ορθοπαιδική και την ρευματολογία, το FK506 έχει πρόσφατα χρησιμοποιηθεί για τη βελτίωση της αποκατάστασης μετά από τραύμα και για την αντιμετώπιση της αρθρίτιδας (Hurtgen et al., 2017; Sangadala, Devereaux, & Presciutti, 2019; H. Wu et al., 2017).

Ο παράγοντας εκείνος που φαίνεται να διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο τόσο στις νευροτοξικές όσο και στις νευροαναγεννητικές ιδιότητες του FK506 είναι η ικανότητά του να παρεμποδίζει τη δράση της καλσινευρίνης (Su, Zhao, Weber, Eugster, & Ryffel, 1995). Η περαιτέρω διαλεύκανση αυτής της οδού θα μπορούσε ενδεχομένως να οδηγήσει στην

ανάπτυξη αναλόγων του tacrolimus με ηπιότερη νευροτοξική δράση. Παράλληλα, υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι ο μηχανισμός δράσης του tacrolimus σχετίζεται με την ικανότητα δέσμευσης της ανοσοφυλλίνης FKBP-52 (Gold et al., 1999). Η ύπαρξη 2 διαφορετικών binding domains στην πρωτεΐνη αυτή πιθανόν εξηγεί την διτροπική σχέση δόσης-απόκρισης (bimodal dose-response) του tacrolimus (Tajdaran et al., 2019; Udina et al., 2002).

Παρά την ύπαρξη πολυάριθμων πειραματικών μελετών, οι πραγματικές κλινικές δοκιμές με αντικείμενο την νευροαναγεννητική δράση του tacrolimus παραμένουν περιορισμένες σε αριθμό, έχοντας παράλληλα αποτύχει να ποσοτικοποιήσουν ξεκάθαρα μια κλινική επιτάχυνση της νευρικής αναγέννησης (Phan & Schuind, 2012). Παρ'ολ'αυτά, το tacrolimus χρησιμοποιήθηκε στην πρώτη επιτυχημένη μεταμόσχευση άκρας χειρός, όπου και εξακολουθεί να θεωρείται ότι συνέβαλε στην αναγέννηση του μέσου και ωλενίου νεύρου (Dubernard et al., 1999). Παρομοίως, η χρήση του φαίνεται να συμβάλλει στην αισθητική νευρική αποκατάσταση μετά από μεταμόσχευση προσώπου (Siemionow, Gharb, & Rampazzo, 2011). Η χρήση τέτοιων αλλομοσχευμάτων είναι πολύ πιθανό να αυξηθεί στο μέλλον, ειδικά αν αυξηθεί η άμεση διαθεσιμότητά τους. Ταυτόχρονα, η ανάπτυξη στρατηγικών τοπικής χορήγησης ανοσοκατασταλτικών με παράλληλη νευροαναγεννητική δράση θα μπορούσε να βελτιώσει ραγδαία τα κλινικά αποτελέσματα, φέρνοντας επανάσταση στην αντιμετώπιση πολύπλοκων νευρικών βλαβών. Προς αυτή τη κατεύθυνση, ιδανική θα ήταν η εξατομίκευση των πρωτοκόλλων χορήγησης και η φαρμακοδυναμική παρακολούθησή τους, προκειμένου να επιτευχθεί ένα στενό εύρος θεραπευτικής δοσολογίας, που να περιορίζει τις ανεπιθύμητες ενέργειες, βελτιστοποιώντας τα κλινικά αποτελέσματα (Andrews et al., 2017; Jouve, Noble, Rostaing, & Malvezzi, 2019).

Λαμβάνοντας υπόψιν τον ρυθμό των τεχνολογικών εξελίξεων, είναι σχετικά ασφαλές να υποθέσουμε ότι η μηχανική των ιστών (tissue engineering) ενδέχεται να

διατελέσει προεξάρχοντα ρόλο στο μέλλον στην κλινική πράξη. Η ιστική μηχανική έχει ως αρχή την ανάπτυξη βιολογικών υποκατάστατων για τη θεραπεία ιστών και οργάνων. Παράλληλα, η ανάπτυξη της εξατομικευμένης ιατρικής ενδέχεται να επιτρέψει μια πιο στοχευμένη και ασφαλή χορήγηση του FK506. Η συνεργική δράση των ανοσοκατασταλτικών/νευροαναγεννητικών φαρμάκων, σε συνδυασμό με την τεχνική της κυτταρικής μεταμόσχευσης υπόσχονται σύντομα την εμφάνιση νέων μεθόδων για τη γεφύρωση των περιφερικών νευρικών βλαβών.

## 4.6 Συμπεράσματα

Στην παρούσα μελέτη, η χρήση νευρικού αγωγού εμποτισμένου με FK506 παρουσίασε ευνοϊκότερα αποτελέσματα και γρηγορότερη αποκατάσταση σε σχέση με τον νευρικό αγωγό χωρίς πρόσθετα. Αντιθέτως, η σύγκριση του αγωγού με FK506 και του ανάστροφου αυτομοσχεύματος δεν εμφάνισε τόσο ισχυρές διαφορές. Η παρούσα μελέτη επιβεβαιώνει τη δυνητική αξία της τοπικής χορήγησης FK506 μέσω βιοδιασπώμενου νευρικού αγωγού, για την επιτάχυνση της νευρικής αναγέννησης. Η ενσωμάτωση σε βιοδιασπώμενο αγωγό επιτρέπει την παρατεταμένη τοπική έγχυση και βραδεία αποδέσμευση του φαρμάκου για μεγάλα χρονικά διαστήματα. Η τοπική χορήγηση επιτρέπει την αποφυγή των ανεπιθύμητων ενεργειών που σχετίζονται με την συστηματική χορήγηση. Παράμετροι όπως η ιδανική δόση, ο χρόνος χορήγησης, ή η επιλογή του κατάλληλου νευρικού αγωγού με τα ευνοϊκότερα χαρακτηριστικά, είναι ακόμα μερικοί από τους παράγοντες υπό διαμόρφωση. Ο μελετητής πιστεύει ότι μία μελλοντική ενσωμάτωση του φαρμάκου σε εμπορικά διαθέσιμους νευρικούς αγωγούς θα ήταν σίγουρα κλινικά επωφελής. Οι μελλοντικές ερευνητικές προσπάθειες θα πρέπει να εστιάσουν στην διαμόρφωση παρόμοιων συσκευών τοπικής χορήγησης, που να είναι συμβατές με την κλινική πράξη, να είναι σχετικά απλές στη χρήση και με ικανοποιητικό κόστος, καθώς και να παρουσιάζουν την απαιτούμενη κλινική αποτελεσματικότητα.

## 4.7 Περίληψη

**Σκοπός:** Η παρούσα πειραματική μελέτη αποβλέπει στη δημιουργία ενός πειραματικού μοντέλου περιφερικής νευρικής βλάβης σε επίμυες, σε συνδυασμό με την τοπική χρήση FK506 εμποτισμένου σε γέλη ινικής ως ικρίωμα βραδείας αποδέσμευσης του φαρμάκου και ως νευροαγωγό στην περιοχή του νευρικού ελλείμματος.

**Μέθοδοι:** Στην παρούσα μελέτη, χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο πλήρους διατομής (νευρότμηση) του ισχιακού νεύρου σε επίμυες Wistar. Ο Υποψήφιος Διδάκτωρ προμηθεύτηκε 40 επίμυες Wistar της μελέτης, ηλικίας 6-9 εβδομάδων. Οι παραπάνω 40 επίμυες κατανεμήθηκαν ισοτίμως σε τέσσερις ομάδες (Group A, Group B, Group C και Group D) [10 επίμυες σε κάθε ομάδα]. Στην πρώτη ομάδα [Group A (SHAM)], μετά την προσπέλαση και την παρασκευή του ισχιακού νεύρου, δεν διενεργήθηκε κάποια παρέμβαση σε αυτό και ακολούθησε άμεσα η σύγκλειση του τραύματος κατά στρώματα (sham surgery). Στη δεύτερη ομάδα [Group B (AUTO)], οι επίμυες υπέστησαν πλήρη διατομή του ισχιακού νεύρου σε δύο σημεία αυτού, έτσι ώστε να αφαιρεθεί νευρικό μόσχευμα 10 mm και να προκύψει ισότιμο νευρικό έλλειμμα στο ισχιακό νεύρο των επιμύων. Το νευρικό μόσχευμα, επανατοποθετήθηκε με αντίθετη φορά (επαναπροσανατολισμός 180°) στο νευρικό έλλειμμα για να προσομοιάσει την εφαρμογή νευρικού αυτομοσχεύματος (reverse autograft). Στην τρίτη ομάδα [Group C (SLN)] και στην ομάδα πειραματισμού [Group D (FK506)], οι επίμυες υπέστησαν πλήρη διατομή του ισχιακού νεύρου στη μεσότητα αυτού (μέσο σημείο μεταξύ σπονδυλικής στήλης και τριχασμού) και πρόκληση νευρικού ελλείμματος 10 mm. Το νευρικό έλλειμμα, εν συνεχεία, γεφυρώθηκε με αυτοσχέδιο νευρικό οδηγό κατασκευασμένο από γέλη ινικής (Tisseel®). Στην τρίτη ομάδα (Group C), εντός του νευροαγωγού τοποθετήθηκε φυσιολογικός ορός. Ωστόσο, στην πειραματική ομάδα (Group D), η γέλη ινικής προτού μετατραπεί σε σταθερή γέλη αναμίχθηκε με FK506. Η αξιολόγηση του βαθμού της νευρικής αναγέννησης έγινε με (1) ανάλυση βάδισης προεγχειρητικά, καθώς και 4, 8 και 12 εβδομάδες μετεγχειρητικά, (2) ηλεκτροφυσιολογικό έλεγχο πριν τη θανάτωση των πειραματοζώων 12 εβδομάδες μετεγχειρητικά, και (3) ιστολογική εξέταση με νευροϊστομορφομετρία μετά τη θανάτωση των επιμύων, 12 εβδομάδες μετεγχειρητικά. Τέλος, ακολούθησε καταγραφή και στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από τις λειτουργικές δοκιμασίες.



**Αποτελέσματα:** Μετά την ολοκλήρωση των προαναφερθέντων λειτουργικών δοκιμασιών και την καταγραφή των αποτελεσμάτων στα πειραματόζωα, ακολούθησε η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων. Η επεξεργασία των δεδομένων που προέκυψαν από τις άνωθι δοκιμασίες περιλάμβανε περιγραφική στατιστική ανάλυση για τον υπολογισμό μέσης τιμής  $\pm$  σταθερής απόκλισης, καθώς και χρήση κατάλληλων στατιστικών δοκιμασιών, προκειμένου να διαπιστωθεί αν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των υπό εξέταση ομάδων. Οι τιμές που συλλέχθηκαν υποβλήθηκαν σε στατιστικά ανάλυση με το λογισμικό GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, California, USA). Η ανάλυση βάδισης κατέδειξε σταδιακή βελτίωση των τιμών του SFI (sciatic functional index). Προεγχειρητικά, οι τιμές κυμάνθηκαν κοντά σε φυσιολογικά επίπεδα. Καθότι στην ομάδα A (sham surgery group) δεν προκλήθηκε εσκεμμένα κάκωση του ισχιακού νεύρου όπως στις υπόλοιπες ομάδες, οι τιμές αυτές παρέμειναν σχετικά σταθερές μετεγχειρητικά. Η ομάδα A υπερτερούσε των υπολοίπων με στατιστικά σημαντική διαφορά σε όλες τις μετεγχειρητικές χρονικές περιόδους. Στις υπόλοιπες ομάδες, οι τιμές του SFI μειώθηκαν σημαντικά μετεγχειρητικά, όπου και έγιναν ισχυρά αρνητικές, γεγονός που αποτελεί ένδειξη απώλειας λειτουργικότητας κατόπιν νευρικής βλάβης. Οι τιμές αυτές αυξήθηκαν κατά την πάροδο του χρόνου, παρουσιάζοντας στατιστικά σημαντική βελτίωση εντός κάθε ομάδας. Με το πέρας των 12 εβδομάδων, η ομάδα D (FK506) παρουσίασε εντονότερη βελτίωση του SFI σε σχέση με την ομάδα C (νευρικός αγωγός με φυσιολογικό ορό, χωρίς FK506), διαφορά η οποία ήταν στατιστικά σημαντική. Κατά την ηλεκτρομυογραφία, ήταν παρόντα δυναμικά επανανεύρωσης σε όλα τα πειραματόζωα. Ο ηλεκτροφυσιολογικός έλεγχος του λανθάνοντα χρόνου (latency), του εύρους (amplitude), καθώς και του CMAP recovery index (λόγος amplitude μεταξύ χειρουργημένου και φυσιολογικού άκρου), επίσης κατέγραψε σημαντικές διαφορές μεταξύ των ελεγχόμενων ομάδων. Η ομάδα A (sham) παρουσίασε τον μικρότερο λανθάνοντα χρόνο, ενώ η ομάδα C (νευρικός αγωγός με ορό) παρουσίασε τον μεγαλύτερο. Η ομάδα D είχε στατιστικά σημαντική ευνοϊκότερη τιμή σε σχέση με την ομάδα C (SLN). Η ομάδα B υπερείχε της ομάδας D, αν και με λιγότερο ισχυρή στατιστικά σημαντική διαφορά. Σε ό,τι αφορά το εύρος των προκλητών δυναμικών (amplitude), η πειραματική ομάδα D είχε σημαντικά καλύτερη επίδοση από την ομάδα C, ενώ τα αποτελέσματα ήταν στατιστικά σημαντικά. Αντιθέτως, οι ομάδες B και D δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά. Τέλος, σχετικά με το CMAP recovery index, το group D παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά μόνο σε σχέση των αποτελεσμάτων της ομάδας C, η οποία είχε χειρότερη επίδοση.

Η μορφομετρική ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε τομές από το περιφερικό κολόβωμα. Οι μετρήσεις περιλάμβαναν δεδομένα σχετικά με τον συνολικό αριθμό των νευραξόνων και την διάμετρο των νευρικών ινών. Οι ληφθείσες μετρήσεις από το περιφερικό κολόβωμα παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, με τις ομάδες Β και D υπερτερούν σημαντικά της ομάδας C σε ό,τι αφορά και στις 2 παραμέτρους υπό εξέταση. Οι ομάδες C και D παρουσίασαν ισχυρή διαφορά στον αριθμό των εμμύελων ινών, με την ομάδα D υπερτερεί. Η ομάδα Β είχε καλύτερη επίδοση από την ομάδα D, αν και η διαφορά αυτή ήταν λιγότερο ισχυρή στατιστικά. Η διάμετρος των νευρικών ινών, αντιθέτως, δεν εμφάνισε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των group Β και D. Στην ίδια κατηγορία, το group C βρέθηκε σημαντικά ασθενέστερο στατιστικά από τις άλλες 2 πειραματικές ομάδες (Β και D).

**Συμπέρασμα:** Η χρήση νευρικού αγωγού εμποτισμένου με FK506 παρουσίασε ευνοϊκότερα αποτελέσματα και γρηγορότερη αποκατάσταση σε σχέση με τον νευρικό αγωγό χωρίς πρόσθετα. Η παρούσα μελέτη επιβεβαιώνει τη δυνητική αξία της τοπικής χορήγησης FK506 μέσω βιοδιασπώμενου νευρικού αγωγού, για την επιτάχυνση της νευρικής αναγέννησης.

## 4.8 Summary

**Aim:** Nerve injuries with a gap represent a clinical challenge without a clear solution. Despite substantial improvement in microsurgical techniques for nerve repair, recovery after peripheral nerve injury usually remains incomplete. Tacrolimus (FK506), an FDA approved immunosuppressant, has been found to improve reinnervation and functional recovery following peripheral nerve injury in animal models. However, systemically delivered FK506 causes undesired immunosuppression. Aim of this study was to assess the efficacy of local FK506 delivery by means of a biodegradable fibrin gel conduit to improve outcomes in the setting of a rat sciatic nerve transection model.

**Methods:** 40 Wistar rats were procured and equally distributed in 4 groups (A to D). After surgical preparation, in group A (SHAM), the left sciatic nerve was exposed through a gluteal incision and then the surgical wound was closed in layers without any further intervention. In group B (AUTO), the sciatic nerve was exposed, and a 10-mm section was transected. This nerve section was reversed in orientation and re-implanted in lieu of an autograft. In groups C (SLN) and D (FK506), the sciatic nerve was transected so as to create a 10-mm nerve gap. A fibrin conduit was prepared using a two-compound fibrin glue (Tisseel®). Fibrin glue was dispensed in a silicone mould around a stainless-steel core and pressed into shape for a few minutes. In group C, the fibrin conduit was mixed with normal saline, whereas in group D, the fibrin glue conduit was mixed with FK506. The conduits were subsequently used to bridge the nerve gap by being fixed to the nerve ends by 1-2 single epineurial sutures. Finally, surgical wounds were copiously irrigated and closed in layers in a regular fashion. Nerve regeneration was evaluated at 12 weeks following surgery by means of walking track analysis, electromyography and neurohistomorphometry. The resulting data was used for statistical analysis.

**Results:** After completion of the aforementioned tests, retrieved results underwent statistical analysis. Descriptive statistics was used to express results as means  $\pm$  standard deviations. Appropriate statistical tests were then used to identify differences between group means. Statistical analysis was conducted with the software GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, California, USA). Walking track analysis performed preoperatively, at 4, 8 and 12

weeks after surgery, demonstrated a gradual improvement in SFI (sciatic functional index). Preoperatively, values remained in normal-subnormal levels, as expected. In group A, as there was no nerve injury inflicted at any time, SFI values remained similar to preoperative values throughout the experiment. Group A values were also statistically better than all other groups at any time postoperatively. In all other groups, SFI was reduced significantly postoperatively, becoming strongly negative, prior to start recovering, fact indicative of the procured nerve injury and subsequent loss of function. The SFI increased over time after nerve injury within all groups. At 12 weeks, group D presented more favorable values to group C, difference found to be statistically significant. During electromyography, action potentials were demonstrated in all groups. The mean latency, amplitude and CMAP recovery index were measured at 12 weeks postoperatively. Group A (sham) had the shortest latency, whereas group C (conduit alone) had the longest. Group D had more favorable values compared to group C but inferior as compared to group B. Group D demonstrated significantly better mean amplitude as compared to group C. Group D also demonstrated a significantly better CMAP recovery index than group C. Morphometric analysis was performed in sections from the distal nerve stump. The parameters measures included myelinated axon number and nerve fiber diameter. Significant differences between the nerve areas were found in the distal nerve portion, with groups B and D performing significantly better than group C. Group B also outperformed group D, even though statistical difference was weaker.

**Conclusion:** The use of fibrin gel conduit loaded with FK506 has had more favorable outcomes and faster functional recovery compared with a conduit without additives. The current study suggests that local delivery of FK506 with a biodegradable conduit can be effectively used to enhance peripheral nerve regeneration.

## Παράρτημα

### 5.1 Κάρτα παρακολούθησης πειραματοζώων

#### Κάρτα παρακολούθησης των πειραματοζώων

- ΚΩΔΙΚΟΣ ΑΡΙΘΜΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΖΩΟΥ.....
- ΦΥΛΛΟ.....
- ΒΑΡΟΣ ΚΑΤΑ ΤΟ ΧΕΙΡΟΥΡΓΕΙΟ.....
- ΒΑΡΟΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΘΥΣΙΑ.....
- ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΗΣ.....
- ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΙΣΑΓΩΓΗΣ.....
- ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΧΕΙΡΟΥΡΓΕΙΟΥ.....
- ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ.....
- ΧΕΙΡΟΥΡΓΕΙΟ.....
- ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ.....
- ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΘΥΣΙΑΣ.....
- ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ.....
- ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ.....

## 5.2 Κτηνιατρική Υπηρεσία

  
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΑΤΤΙΚΗΣ  
ΓΕΝΙΚΗ ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ  
ΟΙΚΟΝΟΜΙΑΣ & ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ  
Δ/ΝΣΗ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ &  
ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΠΟΛΙΤΙΚΗΣ  
ΤΜΗΜΑ: ΚΑΦΕ  
ΣΥΓΓΡΟΥ 80-88, 117 41 Αθήνα  
ΠΑΡΟΡΦΟΡΕΣ: Π. Ανδριανούδης  
Τηλέφωνο: 213 2065 751  
Fax: 213 2065 020  
e-mail: pandriopoulos@patt.gov.gr

Αθήνα, 20-10-2015  
Αριθμ. Πρωτ.: 4964

ΘΕΜΑ: «Χορήγηση άδειας πρωτοκόλλου διαδικασιών σε ζώα»

**ΑΠΟΦΑΣΗ**

Έχοντας υπ' όψη:

1. Τις διατάξεις:
1. Του Ν.3852/2010 «Νέα Αρχιτεκτονική της Αυτοδιοίκησης και της Αποκεντρωμένης Διοίκησης- Πρόγραμμα Καλλικράτης» (ΦΕΚ 87/τ.Α/7-6-2010)
2. Του Π.Δ. 143/2010 «Οργανισμός της Περιφέρειας Αττικής» (ΦΕΚ 238/τ.Α/27-12-2010)
3. Της Υ.Α.44403/4-11-11(ΦΕΚ 2494B) περί Έγκρισης τροποποίησης του Οργανισμού Εσωτερικής Υπηρεσίας της Περιφέρειας Αττικής
4. Της με αριθμ. πρωτ. οικ.130082/01-12-2011 Απόφασης των Περιφερειαρχών Αττικής περί τοποθέτησης Προστατήσεων στην Δ/νση Αγροτικής & Κτηνιατρικής Πολιτικής
5. Του Ν. 1197/81 «Περί προστασίας ζώων και συγκεκριμένα το άρθρο 4
6. Του Ν. 2015/92 «Περί Κοινωνίας της Ευρωπαϊκής Συμφωνίας για την Προστασία των σπονδυλωτών ζώων που χρησιμοποιούνται για πειραματικούς ή άλλους επιστημονικούς σκοπούς»
7. Του Π.Δ. 26/2013 Προώθηση της Ελληνικής νομοθεσίας στην Οδηγία 2010/63/ΕΕ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 22ας Σεπτεμβρίου 2010(276/320.10.2010) «σχετικά με την προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς σκοπούς»

Β) Την με αριθ. πρωτ. 4964/16-10-2015 αίτηση του κ. **Γεωργίου Παναγόπουλου** (ιατρού – ειδικόμενου ορθοπαιδικής) για πραγματοποίηση Πρωτοκόλλου διαδικασιών σε ζώα (επίρρεες) με τον τίτλο: «Αναγέννηση περιφερικών νεύρων με τη χρήση FK506 (τακρολίμους) σε κούρια κώλια ινικής – Παραρτηματική μελέτη σε επίρρεες», που θα διεξαχθεί στη ΜΟΝΑΔΑ ΧΡΗΣΗΣ ΖΩΩΝ ΓΙΑ ΙΑΤΡΙΚΟΥΣ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΥΣ ΣΚΟΠΟΥΣ ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟΥ ΓΕΝΙΚΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ «ΑΤΤΙΚΟΝ», επί της οδού Ρίμνι 1-Χαϊδάρη, με κωδικό καταχώρησης: ΣΕ 25 ΒΙΟ 014.

Γ) Την θετική γνωμάτευση της Επιτροπής Αξιολόγησης Πρωτοκόλλων.

**ΑΠΟΦΑΣΙΖΟΥΜΕ**

Χορηγούμε άδεια για την πραγματοποίηση του συγκεκριμένου Πρωτοκόλλου διαδικασιών σε ζώα από τον κ. **Γεώργιο Παναγόπουλο** (ιατρό-ειδ. ορθοπαιδικής) ως **Υπεύθυνο του Πρωτοκόλλου** και ως **Υπεύθυνο Εκτέλεσης/Υλοποίησης του Πρωτοκόλλου** και τον κ. **Λάμπρο Σαμπράκο** (απειθόνο κτηνίατρο της εγκατάστασης) ως **Υπεύθυνο Συμμόρφωσης προς την αδειοδότηση του Πρωτοκόλλου**, καθόσον τηρούνται οι προϋποθέσεις της σχετικής, για την Προστασία των ζώων, νομοθεσίας. Λοιποί συμμετέχοντες και Υπεύθυνοι για την συνολική υλοποίηση του Πρωτοκόλλου θα είναι: ο κ. **Ανδρέας Μαυρογιάννης** (ιατρός-

ορθοπαιδικός), η κα **Ευανθία Μητσοκάπα** (φουίστρας) και η κα **Διονυσία-Ειρήνη Αραγγίτη** (νοσηλεύτρια χειρουργείου).

Η άδεια αυτή ισχύει για **τρία χρόνια** από την ημερομηνία εκδόσεώς της.

Οποιαδήποτε μεταβολή, που αφορά τους υπευθύνους του πρωτοκόλλου, όπως αυτοί αναφέρονται παραπάνω, θα πρέπει να δηλώνονται στην υπηρεσία μας.

Δεν απαιτείται αναδρομική αξιολόγηση του Πρωτοκόλλου.

Οι χρησιμοποιούμενες φαρμακευτικές ή και λοιπές ουσίες για την διεξαγωγή του πρωτοκόλλου υπόκεινται, όσον αφορά την εισαγωγή και εν γένει κυκλοφορία τους, στις σχετικές κείμενες διατάξεις.

ΚΟΙΝΩΝΕΙΣ ΑΝΤΙΓΡΑΦΟ

  
ΤΑΧΥΔΕΛΤΙΑ ΧΑΪΔΑΡΗ

Ο Προϊστάμενος της Δ/νσης

Γεώργιος Τίτις

### ΚΟΙΝΟΠΟΙΗΣΗ:

1. Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων

Γεν. Δ/νση Βιώσιμης Ζωικής Παραγωγής & Κτηνιατρικής

Δ/νση Προστασίας των Ζώων, Φαρμάκων και Κτηνιατρικών Εφαρμογών

Αχαρνών 2, Τ.Κ.10176 Αθήνα

2. Δ/νση Αγρ. Οικονομίας & Κτηνιατρικής

Περιφερειακής Ενότητας Δυτικού Τομέα Αθηνών

Ιερά Οδός 294, Τ.Κ.12243 Αιγάλεω

3. Επιτροπή Αξιολόγησης Πρωτοκόλλων της ΜΟΝΑΔΑΣ ΧΡΗΣΗΣ ΖΩΩΝ ΓΙΑ ΙΑΤΡΙΚΟΥΣ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΥΣ ΣΚΟΠΟΥΣ ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟΥ ΓΕΝΙΚΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ «ΑΤΤΙΚΟΝ»

Ρίμνι 1, Τ.Κ.12464 Χαϊδάρη

4. α) κ. Γεώργιο Παναγόπουλο

β) κ. Λάμπρο Σαμπράκο

γ) κ. Ανδρέα Μαυρογιάννη

δ) κα Ευανθία Μητσοκάπα

ε) κα Διονυσία Αραγγίτη

και της ΜΟΝΑΔΑΣ ΧΡΗΣΗΣ ΖΩΩΝ ΓΙΑ ΙΑΤΡΙΚΟΥΣ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΥΣ ΣΚΟΠΟΥΣ ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟΥ ΓΕΝΙΚΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ «ΑΤΤΙΚΟΝ»

Ρίμνι 1, Τ.Κ.12464 Χαϊδάρη

Εικόνα 71: Απόφαση χορήγησης άδειας πρωτοκόλλου διαδικασιών σε ζώα

## Βιβλιογραφία

- Aglah, C., Gordon, T., & Posse de Chaves, E. I. (2008). cAMP promotes neurite outgrowth and extension through protein kinase A but independently of Erk activation in cultured rat motoneurons. *Neuropharmacology*, *55*(1), 8-17. doi:10.1016/j.neuropharm.2008.04.005
- Allmeling, C., Jokuszies, A., Reimers, K., Kall, S., Choi, C. Y., Brandes, G., . . . Vogt, P. M. (2008). Spider silk fibres in artificial nerve constructs promote peripheral nerve regeneration. *Cell Prolif*, *41*(3), 408-420. doi:10.1111/j.1365-2184.2008.00534.x
- Andrews, L. M., Li, Y., De Winter, B. C. M., Shi, Y. Y., Baan, C. C., Van Gelder, T., & Hesselink, D. A. (2017). Pharmacokinetic considerations related to therapeutic drug monitoring of tacrolimus in kidney transplant patients. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, *13*(12), 1225-1236. doi:10.1080/17425255.2017.1395413
- Angelov, D. N., Neiss, W. F., Streppel, M., Andermahr, J., Mader, K., & Stennert, E. (1996). Nimodipine accelerates axonal sprouting after surgical repair of rat facial nerve. *J Neurosci*, *16*(3), 1041-1048. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8558232>
- Anghel, D., Tanasescu, R., Campeanu, A., Lupescu, I., Podda, G., & Bajenaru, O. (2013). Neurotoxicity of immunosuppressive therapies in organ transplantation. *Maedica (Buchar)*, *8*(2), 170-175. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24371481>
- Ayres, R. C., Dousset, B., Wixon, S., Buckels, J. A., McMaster, P., & Mayer, A. D. (1994). Peripheral neurotoxicity with tacrolimus. *Lancet*, *343*(8901), 862-863. doi:10.1016/s0140-6736(94)92070-2
- Azizi, S., Mohammadi, R., Amini, K., & Fallah, R. (2012). Effects of topically administered FK506 on sciatic nerve regeneration and reinnervation after vein graft repair of short nerve gaps. *Neurosurg Focus*, *32*(5), E5. doi:10.3171/2012.1.FOCUS11320
- Badalamente, M. A., Hurst, L. C., & Stracher, A. (1989). Neuromuscular recovery using calcium protease inhibition after median nerve repair in primates. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *86*(15), 5983-5987. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2548194>
- Bain, J. R., Mackinnon, S. E., & Hunter, D. A. (1989). Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconstr Surg*, *83*(1), 129-138. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2909054>
- Battiston, B., & Lanzetta, M. (1999). Reconstruction of high ulnar nerve lesions by distal double median to ulnar nerve transfer. *J Hand Surg Am*, *24*(6), 1185-1191. doi:10.1053/j.jhsu.1999.1185
- Bechstein, W. O. (2000). Neurotoxicity of calcineurin inhibitors: impact and clinical management. *Transpl Int*, *13*(5), 313-326. doi:10.1007/s001470050708
- Bertleff, M. J., Meek, M. F., & Nicolai, J. P. (2005). A prospective clinical evaluation of biodegradable neurolac nerve guides for sensory nerve repair in the hand. *J Hand Surg Am*, *30*(3), 513-518. doi:10.1016/j.jhsa.2004.12.009
- Birch, R., Misra, P., Stewart, M. P., Eardley, W. G., Ramasamy, A., Brown, K., . . . Etherington, J. (2012). Nerve injuries sustained during warfare: part I--Epidemiology. *J Bone Joint Surg Br*, *94*(4), 523-528. doi:10.1302/0301-620X.94B4.28483
- Birge, R. B., Wadsworth, S., Akakura, R., Abeyasinghe, H., Kanojia, R., Maclellag, M., . . . Weinstein, D. E. (2004). A role for schwann cells in the neuroregenerative effects of a non-immunosuppressive fk506 derivative, jnj460. *Neuroscience*, *124*(2), 351-366. doi:10.1016/j.neuroscience.2003.10.013
- Bonner, J. M., & Boulianne, G. L. (2017). Diverse structures, functions and uses of FK506 binding proteins. *Cell Signal*, *38*, 97-105. doi:10.1016/j.cellsig.2017.06.013
- Boyd, J. G., & Gordon, T. (2003). Neurotrophic factors and their receptors in axonal regeneration and functional recovery after peripheral nerve



- injury. *Mol Neurobiol*, 27(3), 277-324. doi:10.1385/MN:27:3:277
- Brenner, M. J., Lowe, J. B., 3rd, Fox, I. K., Mackinnon, S. E., Hunter, D. A., Darcy, M. D., . . . Mohanakumar, T. (2005). Effects of Schwann cells and donor antigen on long-nerve allograft regeneration. *Microsurgery*, 25(1), 61-70. doi:10.1002/micr.20083
- Brenner, M. J., Tung, T. H., Jensen, J. N., & Mackinnon, S. E. (2002). The spectrum of complications of immunosuppression: is the time right for hand transplantation? *J Bone Joint Surg Am*, 84-A(10), 1861-1870. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12377920>
- Brien, W. W., Kuschner, S. H., Brien, E. W., & Wiss, D. A. (1995). The management of gunshot wounds to the femur. *Orthop Clin North Am*, 26(1), 133-138. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7838493>
- Brown, J. M., Yee, A., & Mackinnon, S. E. (2009). Distal median to ulnar nerve transfers to restore ulnar motor and sensory function within the hand: technical nuances. *Neurosurgery*, 65(5), 966-977; discussion 977-968. doi:10.1227/01.NEU.0000358951.64043.73
- Brunet, M., van Gelder, T., Asberg, A., Haufroid, V., Hesselink, D. A., Langman, L., . . . Bergan, S. (2019). Therapeutic Drug Monitoring of Tacrolimus- Personalized Therapy: Second Consensus Report. *Ther Drug Monit*, 41(3), 261-307. doi:10.1097/FTD.0000000000000640
- Brushart, T. M. (1991). Central course of digital axons within the median nerve of Macaca mulatta. *J Comp Neurol*, 311(2), 197-209. doi:10.1002/cne.903110203
- Brushart, T. M. (2011). *Nerve repair*. New York: Oxford University Press.
- Bunting, S., Di Silvio, L., Deb, S., & Hall, S. (2005). Bioresorbable glass fibres facilitate peripheral nerve regeneration. *J Hand Surg Br*, 30(3), 242-247. doi:10.1016/j.jhsb.2004.11.003
- Butcher, S. P., Henshall, D. C., Teramura, Y., Iwasaki, K., & Sharkey, J. (1997). Neuroprotective actions of FK506 in experimental stroke: in vivo evidence against an antiexcitotoxic mechanism. *J Neurosci*, 17(18), 6939-6946. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9278529>
- Cabaud, H. E., Rodkey, W. G., McCarroll, H. R., Jr., Mutz, S. B., & Niebauer, J. J. (1976). Epineurial and perineurial fascicular nerve repairs: a critical comparison. *J Hand Surg Am*, 1(2), 131-137. doi:10.1016/s0363-5023(76)80006-8
- Campana, W. M., Mohiuddin, L., Misasi, R., O'Brien, J. S., & Calcutt, N. A. (2000). Prosaposin-derived peptides enhanced sprouting of sensory neurons in vitro and induced sprouting at motor endplates in vivo. *J Peripher Nerv Syst*, 5(3), 126-130. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11442168>
- Carroll, P. B., Rilo, H. L., Abu Elmagd, K., Johnson, N., Carter, C., Wright, H., . . . Van Thiel, D. H. (1994). Effect of tacrolimus (FK506) in dystrophic epidermolysis bullosa: rationale and preliminary results. *Arch Dermatol*, 130(11), 1457-1458. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7526802>
- Chan, K. M., Gordon, T., Zochodne, D. W., & Power, H. A. (2014). Improving peripheral nerve regeneration: from molecular mechanisms to potential therapeutic targets. *Exp Neurol*, 261, 826-835. doi:10.1016/j.expneurol.2014.09.006
- Chen, B., Song, Y., & Liu, Z. (2009). Promotion of nerve regeneration in peripheral nerve by short-course FK506 after end-to-side neuroorrhaphy. *J Surg Res*, 152(2), 303-310. doi:10.1016/j.jss.2008.03.032
- Chen, X., Wang, X. D., Chen, G., Lin, W. W., Yao, J., & Gu, X. S. (2006). Study of in vivo differentiation of rat bone marrow stromal cells into schwann cell-like cells. *Microsurgery*, 26(2), 111-115. doi:10.1002/micr.20184
- Cheng, C., Webber, C. A., Wang, J., Xu, Y., Martinez, J. A., Liu, W. Q., . . . Zochodne, D. W. (2008). Activated RHOA and peripheral axon regeneration. *Exp Neurol*, 212(2), 358-369. doi:10.1016/j.expneurol.2008.04.023
- Chiriac, S., Facca, S., Diaconu, M., Gouzou, S., & Liverneaux, P. (2012). Experience of using the bioresorbable copolyester poly(DL-lactide-epsilon-caprolactone) nerve conduit guide Neurolac for nerve repair in peripheral nerve defects: report on a series of 28 lesions. *J Hand Surg Eur Vol*, 37(4), 342-349. doi:10.1177/1753193411422685
- Choi, D. W. (1988). Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. *Neuron*, 1(8), 623-634. doi:10.1016/0896-6273(88)90162-6

- Chomiak, T., & Hu, B. (2009). What is the optimal value of the g-ratio for myelinated fibers in the rat CNS? A theoretical approach. *PLoS One*, *4*(11), e7754. doi:10.1371/journal.pone.0007754
- Christie, K. J., Webber, C. A., Martinez, J. A., Singh, B., & Zochodne, D. W. (2010). PTEN inhibition to facilitate intrinsic regenerative outgrowth of adult peripheral axons. *J Neurosci*, *30*(27), 9306-9315. doi:10.1523/JNEUROSCI.6271-09.2010
- Chunasuwankul, R., Ayrout, C., Dereli, Z., Gal, A., Lanzetta, M., & Owen, E. (2002). Low dose discontinued FK506 treatment enhances peripheral nerve regeneration. *Int Surg*, *87*(4), 274-278. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12575814>
- Colbert, S. H., & Mackinnon, S. (2006). Posterior approach for double nerve transfer for restoration of shoulder function in upper brachial plexus palsy. *Hand (N Y)*, *1*(2), 71-77. doi:10.1007/s11552-006-9004-4
- Colen, K. L., Choi, M., & Chiu, D. T. (2009). Nerve grafts and conduits. *Plast Reconstr Surg*, *124*(6 Suppl), e386-394. doi:10.1097/PRS.0b013e3181bf8430
- Costa, L. M., Simoes, M. J., Mauricio, A. C., & Varejao, A. S. (2009). Chapter 7: Methods and protocols in peripheral nerve regeneration experimental research: part IV-kinematic gait analysis to quantify peripheral nerve regeneration in the rat. *Int Rev Neurobiol*, *87*, 127-139. doi:10.1016/S0074-7742(09)87007-4
- Cury Martins, J., Martins, C., Aoki, V., Gois, A. F., Ishii, H. A., & da Silva, E. M. (2015). Topical tacrolimus for atopic dermatitis. *Cochrane Database Syst Rev*, *2015*(7), Cd009864. doi:10.1002/14651858.CD009864.pub2
- Dahlin, L. B., & Lundborg, G. (2001). Use of tubes in peripheral nerve repair. *Neurosurg Clin N Am*, *12*(2), 341-352. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11525212>
- Davis, B., Hilgart, D., Erickson, S., Labroo, P., Burton, J., Sant, H., . . . Agarwal, J. (2019). Local FK506 delivery at the direct nerve repair site improves nerve regeneration. *Muscle Nerve*, *60*(5), 613-620. doi:10.1002/mus.26656
- Davis, B., Wojtalewicz, S., Labroo, P., Shea, J., Sant, H., Gale, B., & Agarwal, J. (2018). Controlled release of FK506 from micropatterned PLGA films: potential for application in peripheral nerve repair. *Neural Regen Res*, *13*(7), 1247-1252. doi:10.4103/1673-5374.235063
- Dawson, T. M., Steiner, J. P., Dawson, V. L., Dinerman, J. L., Uhl, G. R., & Snyder, S. H. (1993). Immunosuppressant FK506 enhances phosphorylation of nitric oxide synthase and protects against glutamate neurotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *90*(21), 9808-9812. doi:10.1073/pnas.90.21.9808
- de Medinaceli, L., Freed, W. J., & Wyatt, R. J. (1982). An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. *Exp Neurol*, *77*(3), 634-643. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7117467>
- Dedinska, I., Laca, L., Miklusica, M., Galajda, P., & Mokan, M. (2015). Twelve-Month and Five-Year Analyses of Risk Factors for New-Onset Diabetes After Transplantation in a Group of Patients Homogeneous for Immunosuppression. *Transplant Proc*, *47*(6), 1831-1839. doi:10.1016/j.transproceed.2015.05.017
- Dellon, A. L., & Mackinnon, S. E. (1988). An alternative to the classical nerve graft for the management of the short nerve gap. *Plast Reconstr Surg*, *82*(5), 849-856. doi:10.1097/00006534-198811000-00020
- Dellon, E. S., & Dellon, A. L. (1991). Functional assessment of neurologic impairment: track analysis in diabetic and compression neuropathies. *Plast Reconstr Surg*, *88*(4), 686-694. doi:10.1097/00006534-199110000-00020
- Diaz, L. M., Steele, M. H., Guerra, A. B., Aubert, F. E., Sloop, G. D., Diaz, H. A., . . . Metzinger, S. E. (2004). The role of topically administered FK506 (tacrolimus) at the time of facial nerve repair using entubulation neuroorrhaphy in a rabbit model. *Ann Plast Surg*, *52*(4), 407-413. doi:10.1097/01.sap.0000107780.37285.6d
- Doolabh, V. B., & Mackinnon, S. E. (1999). FK506 accelerates functional recovery following nerve grafting in a rat model. *Plast Reconstr Surg*, *103*(7), 1928-1936. doi:10.1097/00006534-199906000-00018
- Driscoll, P. J., Glasby, M. A., & Lawson, G. M. (2002). An in vivo study of peripheral nerves in continuity: biomechanical and physiological

- responses to elongation. *J Orthop Res*, 20(2), 370-375. doi:10.1016/S0736-0266(01)00104-8
- Dubernard, J. M., Owen, E., Herzberg, G., Lanzetta, M., Martin, X., Kapila, H., . . . Hakim, N. S. (1999). Human hand allograft: report on first 6 months. *Lancet*, 353(9161), 1315-1320. doi:10.1016/s0140-6736(99)02062-0
- Dudek, H., Datta, S. R., Franke, T. F., Birnbaum, M. J., Yao, R., Cooper, G. M., . . . Greenberg, M. E. (1997). Regulation of neuronal survival by the serine-threonine protein kinase Akt. *Science*, 275(5300), 661-665. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9005851>
- Duval, T., Saliari, A., Nami, H., Nanci, A., Stikov, N., Leblond, H., & Cohen-Adad, J. (2019). Axons morphometry in the human spinal cord. *Neuroimage*, 185, 119-128. doi:10.1016/j.neuroimage.2018.10.033
- Dvali, L., & Mackinnon, S. (2003). Nerve repair, grafting, and nerve transfers. *Clin Plast Surg*, 30(2), 203-221. doi:10.1016/s0094-1298(02)00096-2
- Ekberg, H., Tedesco-Silva, H., Demirbas, A., Vitko, S., Nashan, B., Gurkan, A., . . . Study, E. L.-S. (2007). Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *N Engl J Med*, 357(25), 2562-2575. doi:10.1056/NEJMoa067411
- Elfar, J. C., Jacobson, J. A., Puzas, J. E., Rosier, R. N., & Zuscik, M. J. (2008). Erythropoietin accelerates functional recovery after peripheral nerve injury. *J Bone Joint Surg Am*, 90(8), 1644-1653. doi:10.2106/JBJS.G.00557
- Ellis, R. A., Brenner, M. J., Mackinnon, S. E., Myckatyn, T. M., & Hunter, D. A. (2003). Use of mixed lymphocyte reaction to identify subimmunosuppressive FK-506 levels in mice. *Microsurgery*, 23(3), 276-282. doi:10.1002/micr.10117
- Evans, G. R., Brandt, K., Katz, S., Chauvin, P., Otto, L., Bogle, M., . . . Patrick, C. W., Jr. (2002). Bioactive poly(L-lactic acid) conduits seeded with Schwann cells for peripheral nerve regeneration. *Biomaterials*, 23(3), 841-848. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11774850>
- Evans, P. J., Bain, J. R., Mackinnon, S. E., Makino, A. P., & Hunter, D. A. (1991). Selective reinnervation: a comparison of recovery following microsuture and conduit nerve repair. *Brain Res*, 559(2), 315-321. doi:10.1016/0006-8993(91)90018-q
- Evans, P. J., Mackinnon, S. E., Best, T. J., Wade, J. A., Awerbuck, D. C., Makino, A. P., . . . Midha, R. (1995). Regeneration across preserved peripheral nerve grafts. *Muscle Nerve*, 18(10), 1128-1138. doi:10.1002/mus.880181009
- Faisant, N., Siepmann, J., & Benoit, J. P. (2002). PLGA-based microparticles: elucidation of mechanisms and a new, simple mathematical model quantifying drug release. *Eur J Pharm Sci*, 15(4), 355-366. doi:10.1016/s0928-0987(02)00023-4
- Fansa, H., Keilhoff, G., Altmann, S., Plogmeier, K., Wolf, G., & Schneider, W. (1999). The effect of the immunosuppressant FK 506 on peripheral nerve regeneration following nerve grafting. *J Hand Surg Br*, 24(1), 38-42. doi:10.1016/s0266-7681(99)90021-9
- Fansa, H., Keilhoff, G., Horn, T., Altmann, S., Wolf, G., & Schneider, W. (1999). [Stimulation of Schwann cell growth and axon regeneration of peripheral nerves by the immunosuppressive drug FK 506]. *Handchir Mikrochir Plast Chir*, 31(5), 323-329; discussion 330-322. doi:10.1055/s-1999-13544
- Fansa, H., Schneider, W., Wolf, G., & Keilhoff, G. (2002). Influence of insulin-like growth factor-I (IGF-I) on nerve autografts and tissue-engineered nerve grafts. *Muscle Nerve*, 26(1), 87-93. doi:10.1002/mus.10165
- Farnebo, S., Thorfinn, J., & Dahlin, L. (2013). Peripheral nerve injuries of the upper extremity. In P. Neligan (Ed.), *Plastic Surgery* (Vol. 6, pp. 694-718). Philadelphia, PA: Elsevier.
- Faul, F., Erdfelder, E., Lang, A. G., & Buchner, A. (2007). G\*Power 3: a flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods*, 39(2), 175-191. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17695343>
- Fleming, C. E., Saraiva, M. J., & Sousa, M. M. (2007). Transthyretin enhances nerve regeneration. *J Neurochem*, 103(2), 831-839. doi:10.1111/j.1471-4159.2007.04828.x
- FrancaVilla, A., Barone, M., Todo, S., Zeng, Q., Porter, K. A., & Starzl, T. E. (1989). Augmentation of rat liver regeneration by FK 506 compared with cyclosporin. *Lancet*, 2(8674), 1248-1249. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2479802>

- Fu, Q., Hue, J., & Li, S. (2007). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs promote axon regeneration via RhoA inhibition. *J Neurosci*, *27*(15), 4154-4164. doi:10.1523/JNEUROSCI.4353-06.2007
- Fujioka, T., Fujioka, A., & Duman, R. S. (2004). Activation of cAMP signaling facilitates the morphological maturation of newborn neurons in adult hippocampus. *J Neurosci*, *24*(2), 319-328. doi:10.1523/JNEUROSCI.1065.03.2004
- Ghaffari, R., Ghassemi, H., Zarei-Ghanavati, M., Latifi, G., Deghani, S., Haq, Z., & Djalilian, A. R. (2017). Tacrolimus Eye Drops as Adjunct Therapy in Severe Corneal Endothelial Rejection Refractory to Corticosteroids. *Cornea*, *36*(10), 1195-1199. doi:10.1097/ico.0000000000001298
- Giordani, F., Benetolli, A., Favero-Filho, L. A., Lima, K. C., Cestari Junior, L., & Milani, H. (2003). Tacrolimus (FK506) reduces ischemia-induced hippocampal damage in rats: a 7- and 30-day study. *Braz J Med Biol Res*, *36*(4), 495-502. doi:10.1590/s0100-879x2003000400012
- Gold, B. G. (1997). FK506 and the role of immunophilins in nerve regeneration. *Mol Neurobiol*, *15*(3), 285-306. doi:10.1007/BF02740664
- Gold, B. G., Densmore, V., Shou, W., Matzuk, M. M., & Gordon, H. S. (1999). Immunophilin FK506-binding protein 52 (not FK506-binding protein 12) mediates the neurotrophic action of FK506. *J Pharmacol Exp Ther*, *289*(3), 1202-1210. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10336507>
- Gold, B. G., Katoh, K., & Storm-Dickerson, T. (1995). The immunosuppressant FK506 increases the rate of axonal regeneration in rat sciatic nerve. *J Neurosci*, *15*(11), 7509-7516. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7472502>
- Gold, B. G., Storm-Dickerson, T., & Austin, D. R. (1994). The immunosuppressant FK506 increases functional recovery and nerve regeneration following peripheral nerve injury. *Restor Neurol Neurosci*, *6*(4), 287-296. doi:10.3233/RNN-1994-6404
- Gold, B. G., & Villafranca, J. E. (2003). Neuroimmunophilin ligands: the development of novel neuroregenerative/ neuroprotective compounds. *Curr Top Med Chem*, *3*(12), 1368-1375. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12871168>
- Gold, B. G., Zeleny-Pooley, M., Chaturvedi, P., & Wang, M. S. (1998). Oral administration of a nonimmunosuppressant FKBP-12 ligand speeds nerve regeneration. *Neuroreport*, *9*(3), 553-558. doi:10.1097/00001756-199802160-00031
- Gold, B. G., & Zhong, Y. P. (2004). FK506 requires stimulation of the extracellular signal-regulated kinase 1/2 and the steroid receptor chaperone protein p23 for neurite elongation. *Neurosignals*, *13*(3), 122-129. doi:10.1159/000076565
- Goodman, J., Chandna, A., & Roe, K. (2015). Trends in animal use at US research facilities. *J Med Ethics*, *41*(7), 567-569. doi:10.1136/medethics-2014-102404
- Graef, I. A., Wang, F., Charron, F., Chen, L., Neilson, J., Tessier-Lavigne, M., & Crabtree, G. R. (2003). Neurotrophins and netrins require calcineurin/NFAT signaling to stimulate outgrowth of embryonic axons. *Cell*, *113*(5), 657-670. doi:10.1016/s0092-8674(03)00390-8
- Greene, E. C. (1963). *Anatomy of the rat*. New York: Hafner.
- Griffin, J. W., Hogan, M. V., Chhabra, A. B., & Deal, D. N. (2013). Peripheral nerve repair and reconstruction. *J Bone Joint Surg Am*, *95*(23), 2144-2151. doi:10.2106/JBJS.L.00704
- Grinsell, D., & Keating, C. P. (2014). Peripheral nerve reconstruction after injury: a review of clinical and experimental therapies. *Biomed Res Int*, *2014*, 698256. doi:10.1155/2014/698256
- Group, T. U. S. M. F. L. S. (1994). A comparison of tacrolimus (FK 506) and cyclosporine for immunosuppression in liver transplantation. *N Engl J Med*, *331*(17), 1110-1115. doi:10.1056/NEJM199410273311702
- Guilhem, I., Balkau, B., Lecordier, F., Malecot, J. M., Elbadii, S., Leguerrier, A. M., . . . Bonnet, F. (2009). Insulin pump failures are still frequent: a prospective study over 6 years from 2001 to 2007. *Diabetologia*, *52*(12), 2662-2664. doi:10.1007/s00125-009-1549-7
- Hannila, S. S., & Filbin, M. T. (2008). The role of cyclic AMP signaling in promoting axonal regeneration after spinal cord injury. *Exp Neurol*, *209*(2), 321-332. doi:10.1016/j.expneurol.2007.06.020

- Hart, A. M., Terenghi, G., Kellerth, J. O., & Wiberg, M. (2004). Sensory neuroprotection, mitochondrial preservation, and therapeutic potential of N-acetyl-cysteine after nerve injury. *Neuroscience*, *125*(1), 91-101. doi:10.1016/j.neuroscience.2003.12.040
- Hayashi, A., Pannucci, C., Moradzadeh, A., Kawamura, D., Magill, C., Hunter, D. A., . . . Myckatyn, T. M. (2008). Axotomy or compression is required for axonal sprouting following end-to-side neurorrhaphy. *Exp Neurol*, *211*(2), 539-550. doi:10.1016/j.expneurol.2008.02.031
- Heitman, J., Koller, A., Kunz, J., Henriquez, R., Schmidt, A., Movva, N. R., & Hall, M. N. (1993). The immunosuppressant FK506 inhibits amino acid import in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol*, *13*(8), 5010-5019. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7687745>
- Hershman, D. L., Unger, J. M., Crew, K. D., Minasian, L. M., Awad, D., Moinpour, C. M., . . . Albain, K. S. (2013). Randomized double-blind placebo-controlled trial of acetyl-L-carnitine for the prevention of taxane-induced neuropathy in women undergoing adjuvant breast cancer therapy. *J Clin Oncol*, *31*(20), 2627-2633. doi:10.1200/JCO.2012.44.8738
- Hiraga, A., Kuwabara, S., Doya, H., Kanai, K., Fujitani, M., Taniguchi, J., . . . Yamashita, T. (2006). Rho-kinase inhibition enhances axonal regeneration after peripheral nerve injury. *J Peripher Nerv Syst*, *11*(3), 217-224. doi:10.1111/j.1529-8027.2006.00091.x
- Ho, S., Clipstone, N., Timmermann, L., Northrop, J., Graef, I., Fiorentino, D., . . . Crabtree, G. R. (1996). The mechanism of action of cyclosporin A and FK506. *Clin Immunol Immunopathol*, *80*(3 Pt 2), S40-45. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8811062>
- Hobson, M. I., Green, C. J., & Terenghi, G. (2000). VEGF enhances intraneural angiogenesis and improves nerve regeneration after axotomy. *J Anat*, *197* Pt 4, 591-605. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11197533>
- Hoke, A., Redett, R., Hameed, H., Jari, R., Zhou, C., Li, Z. B., . . . Brushart, T. M. (2006). Schwann cells express motor and sensory phenotypes that regulate axon regeneration. *J Neurosci*, *26*(38), 9646-9655. doi:10.1523/JNEUROSCI.1620-06.2006
- Hu, W., Xu, Y., Ma, Y., Lei, J., Lin, F., & Xu, A. E. (2019). Efficacy of the Topical Calcineurin Inhibitors Tacrolimus and Pimecrolimus in the Treatment of Vitiligo in Infants Under 2 Years of Age: A Randomized, Open-Label Pilot Study. *Clin Drug Investig*, *39*(12), 1233-1238. doi:10.1007/s40261-019-00845-x
- Huang, T. Q., Song, J. N., Zheng, F. W., Pang, H. G., Zhao, Y. L., Gu, H., & Zhao, J. J. (2017). Protection of FK506 against neuronal apoptosis and axonal injury following experimental diffuse axonal injury. *Mol Med Rep*, *15*(5), 3001-3010. doi:10.3892/mmr.2017.6350
- Hurtgen, B. J., Henderson, B. E. P., Ward, C. L., Goldman, S. M., Garg, K., McKinley, T. O., . . . Corona, B. T. (2017). Impairment of early fracture healing by skeletal muscle trauma is restored by FK506. *BMC Musculoskelet Disord*, *18*(1), 253. doi:10.1186/s12891-017-1617-y
- Jain, J., McCaffrey, P. G., Miner, Z., Kerppola, T. K., Lambert, J. N., Verdine, G. L., . . . Rao, A. (1993). The T-cell transcription factor NFATp is a substrate for calcineurin and interacts with Fos and Jun. *Nature*, *365*(6444), 352-355. doi:10.1038/365352a0
- Jensen, J. N., Brenner, M. J., Tung, T. H., Hunter, D. A., & Mackinnon, S. E. (2005). Effect of FK506 on peripheral nerve regeneration through long grafts in inbred swine. *Ann Plast Surg*, *54*(4), 420-427. doi:10.1097/01.sap.0000151461.60911.c0
- Jiang, W., Wang, Y., Tang, J., Peng, J., Wang, Y., Guo, Q., . . . Zhang, J. (2016). Low-intensity pulsed ultrasound treatment improved the rate of autograft peripheral nerve regeneration in rat. *Sci Rep*, *6*, 22773. doi:10.1038/srep22773
- Johnson, E. O., Zoubos, A. B., & Soucacos, P. N. (2005). Regeneration and repair of peripheral nerves. *Injury*, *36* Suppl 4, S24-29. doi:10.1016/j.injury.2005.10.012
- Jones, K. J., Kinderman, N. B., & Oblinger, M. M. (1997). Alterations in glial fibrillary acidic protein (GFAP) mRNA levels in the hamster facial motor nucleus: effects of axotomy and testosterone. *Neurochem Res*, *22*(11), 1359-1366. doi:10.1023/a:1022019106417
- Jost, S. C., Doolabh, V. B., Mackinnon, S. E., Lee, M., & Hunter, D. (2000). Acceleration of peripheral nerve regeneration following FK506 administration. *Restor Neurol Neurosci*, *17*(1), 39-



44. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11490076>
- Jouve, T., Noble, J., Rostaing, L., & Malvezzi, P. (2019). An update on the safety of tacrolimus in kidney transplant recipients, with a focus on tacrolimus minimization. *Expert Opin Drug Saf*, 18(4), 285-294. doi:10.1080/14740338.2019.1599858
- Jubran, M., & Widenfalk, J. (2003). Repair of peripheral nerve transections with fibrin sealant containing neurotrophic factors. *Exp Neurol*, 181(2), 204-212. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12781993>
- Kalbermatten, D. F., Kingham, P. J., Mahay, D., Mantovani, C., Pettersson, J., Raffoul, W., . . . Terenghi, G. (2008). Fibrin matrix for suspension of regenerative cells in an artificial nerve conduit. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 61(6), 669-675. doi:10.1016/j.bjps.2007.12.015
- Kale, S. S., Glaus, S. W., Yee, A., Nicoson, M. C., Hunter, D. A., Mackinnon, S. E., & Johnson, P. J. (2011). Reverse end-to-side nerve transfer: from animal model to clinical use. *J Hand Surg Am*, 36(10), 1631-1639 e1632. doi:10.1016/j.jhssa.2011.06.029
- Kannegieter, N. M., Hesselink, D. A., Dieterich, M., de Graav, G. N., Kraaijeveld, R., & Baan, C. C. (2018). Analysis of NFATc1 amplification in T cells for pharmacodynamic monitoring of tacrolimus in kidney transplant recipients. *PLoS One*, 13(7), e0201113. doi:10.1371/journal.pone.0201113
- Kaplan, D. R., & Miller, F. D. (2000). Neurotrophin signal transduction in the nervous system. *Curr Opin Neurobiol*, 10(3), 381-391. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10851172>
- Kasiskis, B. L., Zeier, M. G., Chapman, J. R., Craig, J. C., Ekberg, H., Garvey, C. A., . . . Kidney Disease: Improving Global, O. (2010). KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients: a summary. *Kidney Int*, 77(4), 299-311. doi:10.1038/ki.2009.377
- Kawabata, H., Kawai, H., Masatomi, T., & Yasui, N. (1994). Accessory nerve neurotization in infants with brachial plexus birth palsy. *Microsurgery*, 15(11), 768-772. doi:10.1002/micr.1920151105
- Kehoe, S., Zhang, X. F., & Boyd, D. (2012). FDA approved guidance conduits and wraps for peripheral nerve injury: a review of materials and efficacy. *Injury*, 43(5), 553-572. doi:10.1016/j.injury.2010.12.030
- Keilhoff, G., Goihl, A., Stang, F., Wolf, G., & Fansa, H. (2006). Peripheral nerve tissue engineering: autologous Schwann cells vs. transdifferentiated mesenchymal stem cells. *Tissue Eng*, 12(6), 1451-1465. doi:10.1089/ten.2006.12.1451
- Kelsey, J. L. (1997). *Upper extremity disorders : frequency, impact, and cost*. New York: Churchill Livingstone.
- Kino, T., Hatanaka, H., Hashimoto, M., Nishiyama, M., Goto, T., Okuhara, M., . . . Imanaka, H. (1987). FK-506, a novel immunosuppressant isolated from a Streptomyces. I. Fermentation, isolation, and physico-chemical and biological characteristics. *J Antibiot (Tokyo)*, 40(9), 1249-1255. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2445721>
- Kino, T., Hatanaka, H., Miyata, S., Inamura, N., Nishiyama, M., Yajima, T., . . . et al. (1987). FK-506, a novel immunosuppressant isolated from a Streptomyces. II. Immunosuppressive effect of FK-506 in vitro. *J Antibiot (Tokyo)*, 40(9), 1256-1265. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2445722>
- Kipanyula, M. J., Kimaro, W. H., & Seke Etet, P. F. (2016). The Emerging Roles of the Calcineurin-Nuclear Factor of Activated T-Lymphocytes Pathway in Nervous System Functions and Diseases. *J Aging Res*, 2016, 5081021. doi:10.1155/2016/5081021
- Klesse, L. J., Meyers, K. A., Marshall, C. J., & Parada, L. F. (1999). Nerve growth factor induces survival and differentiation through two distinct signaling cascades in PC12 cells. *Oncogene*, 18(12), 2055-2068. doi:10.1038/sj.onc.1202524
- Kline, D. G. (2000). Nerve surgery as it is now and as it may be. *Neurosurgery*, 46(6), 1285-1293. doi:10.1097/00006123-200006000-00001
- Kobayashi, J., Mackinnon, S. E., Watanabe, O., Ball, D. J., Gu, X. M., Hunter, D. A., & Kuzon, W. M., Jr. (1997). The effect of duration of muscle denervation on functional recovery in the rat model. *Muscle Nerve*, 20(7), 858-866. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9179158>
- Kokkalis, Z. T., Soucacos, P. N., & Terzis, J. K. (2009). Effect of acetyl-L-carnitine on axonal sprouting following donor nerve injury distal to an

- end-to-side neuroorrhaphy model. *J Reconstr Microsurg*, 25(8), 483-495. doi:10.1055/s-0029-1234027
- Konofaos, P., Burns, J., & Terzis, J. K. (2010). Effect of low-dose FK506 after contralateral C7 transfer to the musculocutaneous nerve: a study in rats. *J Reconstr Microsurg*, 26(4), 225-233. doi:10.1055/s-0030-1248230
- Konofaos, P., & Terzis, J. K. (2013). FK506 and nerve regeneration: past, present, and future. *J Reconstr Microsurg*, 29(3), 141-148. doi:10.1055/s-0032-1333314
- Konofaos, P., & Ver Halen, J. P. (2013). Nerve repair by means of tubulization: past, present, future. *J Reconstr Microsurg*, 29(3), 149-164. doi:10.1055/s-0032-1333316
- Kostopoulos, V. K., Davis, C. L., & Terzis, J. K. (2009). Effects of acetylo-L-carnitine in end-to-side neuroorrhaphy: a pilot study. *Microsurgery*, 29(6), 456-463. doi:10.1002/micr.20639
- Kouyoumdjian, J. A. (2006). Peripheral nerve injuries: a retrospective survey of 456 cases. *Muscle Nerve*, 34(6), 785-788. doi:10.1002/mus.20624
- Krarup, C., Archibald, S. J., & Madison, R. D. (2002). Factors that influence peripheral nerve regeneration: an electrophysiological study of the monkey median nerve. *Ann Neurol*, 51(1), 69-81. doi:10.1002/ana.10054
- Kuffler, D. P. (2009). Chapter 18: Enhancement of nerve regeneration and recovery by immunosuppressive agents. *Int Rev Neurobiol*, 87, 347-362. doi:10.1016/S0074-7742(09)87018-9
- Kujawa, K. A., Kinderman, N. B., & Jones, K. J. (1989). Testosterone-induced acceleration of recovery from facial paralysis following crush axotomy of the facial nerve in male hamsters. *Exp Neurol*, 105(1), 80-85. doi:10.1016/0014-4886(89)90174-x
- Labroo, P., Hilgart, D., Davis, B., Lambert, C., Sant, H., Gale, B., . . . Agarwal, J. (2019). Drug-delivering nerve conduit improves regeneration in a critical-sized gap. *Biotechnol Bioeng*, 116(1), 143-154. doi:10.1002/bit.26837
- Langone, A., Steinberg, S. M., Gedaly, R., Chan, L. K., Shah, T., Sethi, K. D., . . . Investigators, S. (2015). Switching STudy of Kidney TRansplant PATients with Tremor to LCP-TacrO (STRATO): an open-label, multicenter, prospective phase 3b study. *Clin Transplant*, 29(9), 796-805. doi:10.1111/ctr.12581
- Lassner, F., Schaller, E., Steinhoff, G., Wonigeit, K., Walter, G. F., & Berger, A. (1989). Cellular mechanisms of rejection and regeneration in peripheral nerve allografts. *Transplantation*, 48(3), 386-392. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2781604>
- Lee, M., Doolabh, V. B., Mackinnon, S. E., & Jost, S. (2000). FK506 promotes functional recovery in crushed rat sciatic nerve. *Muscle Nerve*, 23(4), 633-640. doi:10.1002/(sici)1097-4598(200004)23:4<633::aid-mus24>3.0.co;2-q
- Lee, S. K., & Wolfe, S. W. (2012). Nerve transfers for the upper extremity: new horizons in nerve reconstruction. *J Am Acad Orthop Surg*, 20(8), 506-517. doi:10.5435/JAAOS-20-08-506
- Leechavengvongs, S., Witoonchart, K., Uerpaiojkit, C., & Thuvasethakul, P. (2003). Nerve transfer to deltoid muscle using the nerve to the long head of the triceps, part II: a report of 7 cases. *J Hand Surg Am*, 28(4), 633-638. doi:10.1016/s0363-5023(03)00199-0
- Li, M., Zhang, P., Li, H., Zhu, Y., Cui, S., & Yao, D. (2015). TGF-beta1 is critical for Wallerian degeneration after rat sciatic nerve injury. *Neuroscience*, 284, 759-767. doi:10.1016/j.neuroscience.2014.10.051
- Liu, J., Albers, M. W., Wandless, T. J., Luan, S., Alberg, D. G., Belshaw, P. J., . . . Schreiber, S. L. (1992). Inhibition of T cell signaling by immunophilin-ligand complexes correlates with loss of calcineurin phosphatase activity. *Biochemistry*, 31(16), 3896-3901. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1373650>
- Liverneaux, P. A., Diaz, L. C., Beaulieu, J. Y., Durand, S., & Oberlin, C. (2006). Preliminary results of double nerve transfer to restore elbow flexion in upper type brachial plexus palsies. *Plast Reconstr Surg*, 117(3), 915-919. doi:10.1097/01.prs.0000200628.15546.06
- Lohmeyer, J. A., Sommer, B., Siemers, F., & Mailander, P. (2009). Nerve injuries of the upper extremity-expected outcome and clinical examination. *Plast Surg Nurs*, 29(2), 88-93; quiz 94-85. doi:10.1097/01.PSN.0000356867.18220.73



- Lubinska, L. (1977). Early course of Wallerian degeneration in myelinated fibres of the rat phrenic nerve. *Brain Res*, 130(1), 47-63. doi:10.1016/0006-8993(77)90841-1
- Lundborg, G. (2000). A 25-year perspective of peripheral nerve surgery: evolving neuroscientific concepts and clinical significance. *J Hand Surg Am*, 25(3), 391-414. doi:10.1053/jhsu.2000.4165
- Lundborg, G., Zhao, Q., Kanje, M., Danielsen, N., & Kerns, J. M. (1994). Can sensory and motor collateral sprouting be induced from intact peripheral nerve by end-to-side anastomosis? *J Hand Surg Br*, 19(3), 277-282. doi:10.1016/0266-7681(94)90069-8
- Lykissas, M. G., Sakellariou, E., Vekris, M. D., Kontogeorgakos, V. A., Batistatou, A. K., Mitsionis, G. I., & Beris, A. E. (2007). Axonal regeneration stimulated by erythropoietin: an experimental study in rats. *J Neurosci Methods*, 164(1), 107-115. doi:10.1016/j.jneumeth.2007.04.008
- Lyons, W. E., George, E. B., Dawson, T. M., Steiner, J. P., & Snyder, S. H. (1994). Immunosuppressant FK506 promotes neurite outgrowth in cultures of PC12 cells and sensory ganglia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91(8), 3191-3195. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7512727>
- Lyons, W. E., Steiner, J. P., Snyder, S. H., & Dawson, T. M. (1995). Neuronal regeneration enhances the expression of the immunophilin FKBP-12. *J Neurosci*, 15(4), 2985-2994. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7536825>
- Mackinnon, S. E., & Dellon, A. L. (1988). *Surgery of the peripheral nerve*. New York Stuttgart ; New York: Thieme Medical Publishers ; G. Thieme Verlag.
- Mackinnon, S. E., & Dellon, A. L. (1990). Clinical nerve reconstruction with a bioabsorbable polyglycolic acid tube. *Plast Reconstr Surg*, 85(3), 419-424. doi:10.1097/00006534-199003000-00015
- Mackinnon, S. E., Doolabh, V. B., Novak, C. B., & Trulock, E. P. (2001). Clinical outcome following nerve allograft transplantation. *Plast Reconstr Surg*, 107(6), 1419-1429. doi:10.1097/00006534-200105000-00016
- Mackinnon, S. E., Novak, C. B., Myckatyn, T. M., & Tung, T. H. (2005). Results of reinnervation of the biceps and brachialis muscles with a double fascicular transfer for elbow flexion. *J Hand Surg Am*, 30(5), 978-985. doi:10.1016/j.jhsa.2005.05.014
- Madura, T., Kubo, T., Tanag, M., Matsuda, K., Tomita, K., Yano, K., & Hosokawa, K. (2007). The Rho-associated kinase inhibitor fasudil hydrochloride enhances neural regeneration after axotomy in the peripheral nervous system. *Plast Reconstr Surg*, 119(2), 526-535. doi:10.1097/01.prs.0000246380.40596.29
- Madura, T., Tomita, K., & Terenghi, G. (2011). Ibuprofen improves functional outcome after axotomy and immediate repair in the peripheral nervous system. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 64(12), 1641-1646. doi:10.1016/j.bjps.2011.07.014
- Marenzi, G., Assanelli, E., Marana, I., Lauri, G., Campodonico, J., Grazi, M., . . . Bartorelli, A. L. (2006). N-acetylcysteine and contrast-induced nephropathy in primary angioplasty. *N Engl J Med*, 354(26), 2773-2782. doi:10.1056/NEJMoa054209
- Maricevic, A., & Erceg, M. (1997). War injuries to the extremities. *Mil Med*, 162(12), 808-811. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9433087>
- Matsumoto, K., Ohnishi, K., Kiyotani, T., Sekine, T., Ueda, H., Nakamura, T., . . . Shimizu, Y. (2000). 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*, 868(2), 315-328. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10854584>
- Menezes, M. C. S., & Vasconcellos, L. S. (2019). Evaluation of the use of tacrolimus ointment for the prevention of hypertrophic scars in experimental model. *94(2)*, 164-171. doi:10.1590/abd1806-4841.20197490
- Merle, M., Dellon, A. L., Campbell, J. N., & Chang, P. S. (1989). Complications from silicon-polymer intubulation of nerves. *Microsurgery*, 10(2), 130-133. doi:10.1002/micr.1920100213
- Millesi, H. (1986). The nerve gap. Theory and clinical practice. *Hand Clin*, 2(4), 651-663. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3539948>

- Millesi, H. (1990). Peripheral nerve surgery today: turning point or continuous development? *J Hand Surg Br*, *15*(3), 281-287. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2230491>
- Millesi, H., Meissl, G., & Berger, A. (1972). The interfascicular nerve-grafting of the median and ulnar nerves. *J Bone Joint Surg Am*, *54*(4), 727-750. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4560075>
- Mohammadi, R., Hirsaeae, M. A., & Amini, K. (2013). Improvement of functional recovery of transected peripheral nerve by means of artery grafts filled with diclofenac. *Int J Surg*, *11*(3), 259-264. doi:10.1016/j.ijisu.2013.01.008
- Monte-Raso, V. V., Barbieri, C. H., Mazzer, N., Yamasita, A. C., & Barbieri, G. (2008). Is the Sciatic Functional Index always reliable and reproducible? *J Neurosci Methods*, *170*(2), 255-261. doi:10.1016/j.jneumeth.2008.01.022
- Moore, A. M., Ray, W. Z., Chenard, K. E., Tung, T., & Mackinnon, S. E. (2009). Nerve allotransplantation as it pertains to composite tissue transplantation. *Hand (N Y)*, *4*(3), 239-244. doi:10.1007/s11552-009-9183-x
- Mosahebi, A., Wiberg, M., & Terenghi, G. (2003). Addition of fibronectin to alginate matrix improves peripheral nerve regeneration in tissue-engineered conduits. *Tissue Eng*, *9*(2), 209-218. doi:10.1089/107632703764664684
- Mouzaki, A., Dai, Y., Weil, R., & Rungger, D. (1992). Cyclosporin A and FK506 prevent the derepression of the IL-2 gene in mitogen-induced primary T lymphocytes. *Cytokine*, *4*(2), 151-160. doi:10.1016/1043-4666(92)90050-2
- Myckatyn, T. M., Ellis, R. A., Grand, A. G., Sen, S. K., Lowe, J. B., 3rd, Hunter, D. A., & Mackinnon, S. E. (2002). The effects of rapamycin in murine peripheral nerve isografts and allografts. *Plast Reconstr Surg*, *109*(7), 2405-2417. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12045568>
- Nakayama, K., Takakuda, K., Koyama, Y., Itoh, S., Wang, W., Mukai, T., & Shirahama, N. (2007). Enhancement of peripheral nerve regeneration using bioabsorbable polymer tubes packed with fibrin gel. *Artif Organs*, *31*(7), 500-508. doi:10.1111/j.1525-1594.2007.00418.x
- Navarro, X., Udina, E., Ceballos, D., & Gold, B. G. (2001). Effects of FK506 on nerve regeneration and reinnervation after graft or tube repair of long nerve gaps. *Muscle Nerve*, *24*(7), 905-915. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11410918>
- Neckers, L., & Workman, P. (2012). Hsp90 molecular chaperone inhibitors: are we there yet? *Clin Cancer Res*, *18*(1), 64-76. doi:10.1158/1078-0432.CCR-11-1000
- Neumann, S., Bradke, F., Tessier-Lavigne, M., & Basbaum, A. I. (2002). Regeneration of sensory axons within the injured spinal cord induced by intraganglionic cAMP elevation. *Neuron*, *34*(6), 885-893. doi:10.1016/s0896-6273(02)00702-x
- Nichols, C. M., Myckatyn, T. M., Rickman, S. R., Fox, I. K., Hadlock, T., & Mackinnon, S. E. (2005). Choosing the correct functional assay: a comprehensive assessment of functional tests in the rat. *Behav Brain Res*, *163*(2), 143-158. doi:10.1016/j.bbr.2005.05.003
- Nilsson, A., Dahlin, L., Lundborg, G., & Kanje, M. (2005). Graft repair of a peripheral nerve without the sacrifice of a healthy donor nerve by the use of acutely dissociated autologous Schwann cells. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*, *39*(1), 1-6. doi:10.1080/02844310410017979
- Noaman, H. H., Shiha, A. E., & Bahm, J. (2004). Oberlin's ulnar nerve transfer to the biceps motor nerve in obstetric brachial plexus palsy: indications, and good and bad results. *Microsurgery*, *24*(3), 182-187. doi:10.1002/micr.20037
- Noble, J., Munro, C. A., Prasad, V. S., & Midha, R. (1998). Analysis of upper and lower extremity peripheral nerve injuries in a population of patients with multiple injuries. *J Trauma*, *45*(1), 116-122. doi:10.1097/00005373-199807000-00025
- Norkus, T., Norkus, M., & Ramanauskas, T. (2005). Donor, recipient and nerve grafts in brachial plexus reconstruction: anatomical and technical features for facilitating the exposure. *Surg Radiol Anat*, *27*(6), 524-530. doi:10.1007/s00276-005-0024-5
- Novak, C. B., & Mackinnon, S. E. (2002). Distal anterior interosseous nerve transfer to the deep motor branch of the ulnar nerve for reconstruction of high ulnar nerve injuries. *J Reconstr Microsurg*, *18*(6), 459-464. doi:10.1055/s-2002-33326

- Novak, C. B., Mackinnon, S. E., & Tung, T. H. (2002). Patient outcome following a thoracodorsal to musculocutaneous nerve transfer for reconstruction of elbow flexion. *British journal of plastic surgery*, *55*(5), 416-419. doi:10.1054/bjps.2002.3859
- Odaci, E., & Kaplan, S. (2009). Chapter 16: Melatonin and nerve regeneration. *Int Rev Neurobiol*, *87*, 317-335. doi:10.1016/S0074-7742(09)87016-5
- Ohta, M., Suzuki, Y., Chou, H., Ishikawa, N., Suzuki, S., Tanihara, M., . . . Ide, C. (2004). Novel heparin/alginate gel combined with basic fibroblast growth factor promotes nerve regeneration in rat sciatic nerve. *J Biomed Mater Res A*, *71*(4), 661-668. doi:10.1002/jbm.a.30194
- Panagopoulos, G. N., Megaloikonomos, P. D., & Mavrogenis, A. F. (2017). The Present and Future for Peripheral Nerve Regeneration. *Orthopedics*, *40*(1), e141-e156. doi:10.3928/01477447-20161019-01
- Panerai, A. E., Sacerdote, P., Brini, A., Bianchi, M., & Mantegazza, P. (1987). Autotomy and central nervous system neuropeptides after section of the sciatic nerve in rats of different strains. *Pharmacol Biochem Behav*, *28*(3), 385-388. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2960988>
- Pearse, D. D., Pereira, F. C., Marcillo, A. E., Bates, M. L., Berrocal, Y. A., Filbin, M. T., & Bunge, M. B. (2004). cAMP and Schwann cells promote axonal growth and functional recovery after spinal cord injury. *Nat Med*, *10*(6), 610-616. doi:10.1038/nm1056
- Phan, D. Q., & Schuind, F. (2012). Tolerance and effects of FK506 (tacrolimus) on nerve regeneration: a pilot study. *J Hand Surg Eur Vol*, *37*(6), 537-543. doi:10.1177/1753193411427826
- Pondaag, W., de Boer, R., van Wijlen-Hempel, M. S., Hofstede-Buitenhuis, S. M., & Malessy, M. J. (2005). External rotation as a result of suprascapular nerve neurotization in obstetric brachial plexus lesions. *Neurosurgery*, *57*(3), 530-537; discussion 530-537. doi:10.1227/01.neu.0000170557.13788.d2
- Quinta, H. R., & Galigniana, M. D. (2012). The neuroregenerative mechanism mediated by the Hsp90-binding immunophilin FKBP52 resembles the early steps of neuronal differentiation. *Br J Pharmacol*, *166*(2), 637-649. doi:10.1111/j.1476-5381.2011.01783.x
- Raimondo, S., Nicolino, S., Tos, P., Battiston, B., Giacobini-Robecchi, M. G., Perroteau, I., & Geuna, S. (2005). Schwann cell behavior after nerve repair by means of tissue-engineered muscle-vein combined guides. *J Comp Neurol*, *489*(2), 249-259. doi:10.1002/cne.20625
- Ramón y Cajal, S. (1959). *Degeneration & regeneration of the nervous system*. New York,: Hafner Pub. Co.
- Rao, A., Luo, C., & Hogan, P. G. (1997). Transcription factors of the NFAT family: regulation and function. *Annu Rev Immunol*, *15*, 707-747. doi:10.1146/annurev.immunol.15.1.707
- Ray, W. Z., & Mackinnon, S. E. (2010). Management of nerve gaps: autografts, allografts, nerve transfers, and end-to-side neurorrhaphy. *Exp Neurol*, *223*(1), 77-85. doi:10.1016/j.expneurol.2009.03.031
- Ray, W. Z., & Mackinnon, S. E. (2011). Clinical outcomes following median to radial nerve transfers. *J Hand Surg Am*, *36*(2), 201-208. doi:10.1016/j.jhsa.2010.09.034
- Ray, W. Z., Pet, M. A., Yee, A., & Mackinnon, S. E. (2011). Double fascicular nerve transfer to the biceps and brachialis muscles after brachial plexus injury: clinical outcomes in a series of 29 cases. *Journal of neurosurgery*, *114*(6), 1520-1528. doi:10.3171/2011.1.JNS10810
- Ray, W. Z., Yarbrough, C. K., Yee, A., & Mackinnon, S. E. (2012). Clinical outcomes following brachialis to anterior interosseous nerve transfers. *Journal of neurosurgery*, *117*(3), 604-609. doi:10.3171/2012.6.JNS111332
- Razaq, S., Yasmeen, R., Butt, A. W., Akhtar, N., & Mansoor, S. N. (2015). The pattern of peripheral nerve injuries among Pakistani soldiers in the war against terror. *J Coll Physicians Surg Pak*, *25*(5), 363-366. doi:05.2015/JCPSP.363366
- Read, D. E., & Gorman, A. M. (2009). Involvement of Akt in neurite outgrowth. *Cell Mol Life Sci*, *66*(18), 2975-2984. doi:10.1007/s00018-009-0057-8
- Reid, A. J., Shawcross, S. G., Hamilton, A. E., Wiberg, M., & Terenghi, G. (2009). N-acetylcysteine alters apoptotic gene expression in

- axotomised primary sensory afferent subpopulations. *Neurosci Res*, 65(2), 148-155. doi:10.1016/j.neures.2009.06.008
- Sabatini, D. M., Lai, M. M., & Snyder, S. H. (1997). Neural roles of immunophilins and their ligands. *Mol Neurobiol*, 15(2), 223-239. doi:10.1007/BF02740635
- Sachanandani, N. F., Pothula, A., & Tung, T. H. (2014). Nerve gaps. *Plast Reconstr Surg*, 133(2), 313-319. doi:10.1097/01.prs.0000436856.55398.0f
- Safa, B., Shores, J. T., Ingari, J. V., Weber, R. V., Cho, M., Zoldos, J., . . . Buncke, G. M. (2019). Recovery of Motor Function after Mixed and Motor Nerve Repair with Processed Nerve Allograft. *Plast Reconstr Surg Glob Open*, 7(3), e2163. doi:10.1097/GOX.0000000000002163
- Saffari, T. M., Bedar, M., Zuidam, J. M., Shin, A. Y., Baan, C. C., Hesselink, D. A., & Hundepool, C. A. (2019). Exploring the neuroregenerative potential of tacrolimus. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 12(11), 1047-1057. doi:10.1080/17512433.2019.1675507
- Sameem, M., Wood, T. J., & Bain, J. R. (2011). A systematic review on the use of fibrin glue for peripheral nerve repair. *Plast Reconstr Surg*, 127(6), 2381-2390. doi:10.1097/PRS.0b013e3182131cf5
- Sangadala, S., Devereaux, E. J., & Presciutti, S. M. (2019). FK506 Induces Ligand-Independent Activation of the Bone Morphogenetic Protein Pathway and Osteogenesis. *20(8)*. doi:10.3390/ijms20081900
- Satinsky, D., Pepe, F. A., & Liu, C. N. (1964). The Neurilemma Cell in Peripheral Nerve Degeneration and Regeneration. *Exp Neurol*, 9, 441-451. doi:10.1016/0014-4886(64)90052-4
- Schlaepfer, W. W., & Bunge, R. P. (1973). Effects of calcium ion concentration on the degeneration of amputated axons in tissue culture. *J Cell Biol*, 59(2 Pt 1), 456-470. doi:10.1083/jcb.59.2.456
- Schmidt, A., Hall, M. N., & Koller, A. (1994). Two FK506 resistance-conferring genes in *Saccharomyces cerevisiae*, TAT1 and TAT2, encode amino acid permeases mediating tyrosine and tryptophan uptake. *Mol Cell Biol*, 14(10), 6597-6606. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7523855>
- Seddon, H. (1943). Three types of nerve injury. *Brain*, 4(66), 237-288.
- Serrano-Perez, M. C., Fernandez, M., Neria, F., Berjon-Otero, M., Doncel-Perez, E., Cano, E., & Tranque, P. (2015). NFAT transcription factors regulate survival, proliferation, migration, and differentiation of neural precursor cells. *Glia*, 63(6), 987-1004. doi:10.1002/glia.22797
- Serwer, L., Hashizume, R., Ozawa, T., & James, C. D. (2010). Systemic and local drug delivery for treating diseases of the central nervous system in rodent models. *J Vis Exp*(42). doi:10.3791/1992
- Shahraki, M., Mohammadi, R., & Najafpour, A. (2015). Influence of Tacrolimus (FK506) on Nerve Regeneration Using Allografts: A Rat Sciatic Nerve Model. *J Oral Maxillofac Surg*, 73(7), 1438 e1431-1439. doi:10.1016/j.joms.2015.03.032
- Shen, C. C., Yang, Y. C., Huang, T. B., Chan, S. C., & Liu, B. S. (2013). Neural regeneration in a novel nerve conduit across a large gap of the transected sciatic nerve in rats with low-level laser phototherapy. *J Biomed Mater Res A*, 101(10), 2763-2777. doi:10.1002/jbm.a.34581
- Shrestha, B. M. (2017). Two Decades of Tacrolimus in Renal Transplant: Basic Science and Clinical Evidences. *Exp Clin Transplant*, 15(1), 1-9. doi:10.6002/ect.2016.0157
- Siemionow, M., & Brzezicki, G. (2009). Chapter 8: Current techniques and concepts in peripheral nerve repair. *Int Rev Neurobiol*, 87, 141-172. doi:10.1016/S0074-7742(09)87008-6
- Siemionow, M., Gharb, B. B., & Rampazzo, A. (2011). Pathways of sensory recovery after face transplantation. *Plast Reconstr Surg*, 127(5), 1875-1889. doi:10.1097/PRS.0b013e31820e90c3
- Snyder, A. K., Fox, I. K., Nichols, C. M., Rickman, S. R., Hunter, D. A., Tung, T. H., & Mackinnon, S. E. (2006). Neuroregenerative effects of preinjury FK-506 administration. *Plast Reconstr Surg*, 118(2), 360-367. doi:10.1097/01.prs.0000227628.43867.5b
- Sobol, J. B., Lowe, I. J., Yang, R. K., Sen, S. K., Hunter, D. A., & Mackinnon, S. E. (2003). Effects of delaying FK506 administration on neuroregeneration in a rodent model. *J Reconstr Microsurg*, 19(2), 113-118. doi:10.1055/s-2003-37817

- Sobrado, M., Ramirez, B. G., Neria, F., Lizasoain, I., Arbones, M. L., Minami, T., . . . Cano, E. (2012). Regulator of calcineurin 1 (Rcan1) has a protective role in brain ischemia/reperfusion injury. *J Neuroinflammation*, *9*, 48. doi:10.1186/1742-2094-9-48
- Songcharoen, P., Wongtrakul, S., & Spinner, R. J. (2005). Brachial plexus injuries in the adult. nerve transfers: the Siriraj Hospital experience. *Hand Clin*, *21*(1), 83-89. doi:10.1016/j.hcl.2004.10.002
- Standaert, R. F., Galat, A., Verdine, G. L., & Schreiber, S. L. (1990). Molecular cloning and overexpression of the human FK506-binding protein FKBP. *Nature*, *346*(6285), 671-674. doi:10.1038/346671a0
- Starzl, T. E., Todo, S., Fung, J., Demetris, A. J., Venkatarammam, R., & Jain, A. (1989). FK 506 for liver, kidney, and pancreas transplantation. *Lancet*, *2*(8670), 1000-1004. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2478846>
- Stikov, N., Campbell, J. S., Stroh, T., Lavelée, M., Frey, S., Novek, J., . . . Pike, G. B. (2015). In vivo histology of the myelin g-ratio with magnetic resonance imaging. *Neuroimage*, *118*, 397-405. doi:10.1016/j.neuroimage.2015.05.023
- Stoll, G., Griffin, J. W., Li, C. Y., & Trapp, B. D. (1989). Wallerian degeneration in the peripheral nervous system: participation of both Schwann cells and macrophages in myelin degradation. *J Neurocytol*, *18*(5), 671-683. doi:10.1007/bf01187086
- Stoll, G., & Muller, H. W. (1999). Nerve injury, axonal degeneration and neural regeneration: basic insights. *Brain Pathol*, *9*(2), 313-325. doi:10.1111/j.1750-3639.1999.tb00229.x
- Strasberg, S. R., Watanabe, O., Mackinnon, S. E., Tarasidis, G., Hertl, M. C., & Wells, M. R. (1996). Wire mesh as a post-operative physiotherapy assistive device following peripheral nerve graft repair in the rat. *J Peripher Nerv Syst*, *1*(1), 73-76.
- Su, Q., Zhao, M., Weber, E., Eugster, H. P., & Ryffel, B. (1995). Distribution and activity of calcineurin in rat tissues. Evidence for post-transcriptional regulation of testis-specific calcineurin B. *Eur J Biochem*, *230*(2), 469-474. doi:10.1111/j.1432-1033.1995.0469h.x
- Sulaiman, O. A., Voda, J., Gold, B. G., & Gordon, T. (2002). FK506 increases peripheral nerve regeneration after chronic axotomy but not after chronic schwann cell denervation. *Exp Neurol*, *175*(1), 127-137. doi:10.1006/exnr.2002.7878
- Sunderland, S. (1945). The intraneural topography of the radial, median and ulnar nerves. *Brain*, *68*, 243-299. doi:10.1093/brain/68.4.243
- Sunderland, S. (1951). A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. *Brain*, *74*(4), 491-516. doi:10.1093/brain/74.4.491
- Sunderland, S. (1978). *Nerves and nerve injuries* (2d ed.). Edinburgh ; New York: New York: Churchill Livingstone ; distributed by Longman.
- Sunderland, S., & Bradley, K. C. (1949). The cross-sectional area of peripheral nerve trunks devoted to nerve fibers. *Brain*, *72*(3), 428-449. doi:10.1093/brain/72.3.428
- Sunderland, S., Marshall, R. D., & Swaney, W. E. (1959). The intraneural topography of the circumflex, musculocutaneous and obturator nerves. *Brain*, *82*(1), 116-129. doi:10.1093/brain/82.1.116
- Sunderland, S., & Ray, L. J. (1948). The intraneural topography of the sciatic nerve and its popliteal divisions in man. *Brain*, *71*(Pt. 3), 242-273. doi:10.1093/brain/71.3.242
- Suzuki, Y., Shibuya, M., Satoh, S., Sugimoto, Y., & Takakura, K. (2007). A postmarketing surveillance study of fasudil treatment after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Surg Neurol*, *68*(2), 126-131; discussion 131-122. doi:10.1016/j.surneu.2006.10.037
- Tajdaran, K., Chan, K., Shoichet, M. S., Gordon, T., & Borschel, G. H. (2019). Local delivery of FK506 to injured peripheral nerve enhances axon regeneration after surgical nerve repair in rats. *Acta Biomater*, *96*, 211-221. doi:10.1016/j.actbio.2019.05.058
- Tajdaran, K., Shoichet, M. S., Gordon, T., & Borschel, G. H. (2015). A novel polymeric drug delivery system for localized and sustained release of tacrolimus (FK506). *Biotechnol Bioeng*, *112*(9), 1948-1953. doi:10.1002/bit.25598
- Taras, J. S., Jacoby, S. M., & Lincoski, C. J. (2011). Reconstruction of digital nerves with collagen conduits. *J Hand Surg Am*, *36*(9), 1441-1446. doi:10.1016/j.jhsa.2011.06.009



- Teboul, F., Kakkar, R., Ameer, N., Beaulieu, J. Y., & Oberlin, C. (2004). Transfer of fascicles from the ulnar nerve to the nerve to the biceps in the treatment of upper brachial plexus palsy. *J Bone Joint Surg Am*, *86*(7), 1485-1490. doi:10.2106/00004623-200407000-00018
- Terzis, J. K., & Konofaos, P. (2010). Low-dose FK506 after contralateral C7 transfer to the musculocutaneous nerve using two different tubes: a study in rats. *Ann Plast Surg*, *64*(5), 622-631. doi:10.1097/SAP.0b013e3181b6aae1
- Terzis, J. K., & Kostas, I. (2006). Suprascapular nerve reconstruction in 118 cases of adult posttraumatic brachial plexus. *Plast Reconstr Surg*, *117*(2), 613-629. doi:10.1097/01.prs.0000203410.35395.fa
- Terzis, J. K., & Kostopoulos, V. K. (2010). Vascularized nerve grafts and vascularized fascia for upper extremity nerve reconstruction. *Hand (N Y)*, *5*(1), 19-30. doi:10.1007/s11552-009-9189-4
- Tetzlaff, J., Tanzer, L., & Jones, K. J. (2007). Exogenous androgen treatment delays the stress response following hamster facial nerve injury. *J Neuroendocrinol*, *19*(5), 383-389. doi:10.1111/j.1365-2826.2007.01538.x
- Tos, P., Ronchi, G., Nicolino, S., Audisio, C., Raimondo, S., Fornaro, M., . . . Geuna, S. (2008). Employment of the mouse median nerve model for the experimental assessment of peripheral nerve regeneration. *J Neurosci Methods*, *169*(1), 119-127. doi:10.1016/j.jneumeth.2007.11.030
- Tos, P., Ronchi, G., Papalia, I., Sallen, V., Legagneux, J., Geuna, S., & Giacobini-Robecchi, M. G. (2009). Chapter 4: Methods and protocols in peripheral nerve regeneration experimental research: part I-experimental models. *Int Rev Neurobiol*, *87*, 47-79. doi:10.1016/S0074-7742(09)87004-9
- Tsao, B., Boulis, N., Bethoux, F., & Murray, B. (2012). Trauma of the Nervous System. In R. Daroff, G. Fenichel, J. Jankovic, & J. Mazziotta (Eds.), *Bradley's Neurology in Clinical Practice* (6th ed., pp. 984-1002). Philadelphia, PA: Elsevier.
- Tung, T. H. (2010). Tacrolimus (FK506): Safety and Applications in Reconstructive Surgery. *Hand (N Y)*, *5*(1), 1-8. doi:10.1007/s11552-009-9193-8
- Tung, T. H., & Mackinnon, S. E. (2001). Flexor digitorum superficialis nerve transfer to restore pronation: two case reports and anatomic study. *J Hand Surg Am*, *26*(6), 1065-1072. doi:10.1053/j.jhsu.2001.28427
- Tung, T. H., & Mackinnon, S. E. (2010). Nerve transfers: indications, techniques, and outcomes. *J Hand Surg Am*, *35*(2), 332-341. doi:10.1016/j.jhsa.2009.12.002
- Udina, E., Ceballos, D., Verdu, E., Gold, B. G., & Navarro, X. (2002). Bimodal dose-dependence of FK506 on the rate of axonal regeneration in mouse peripheral nerve. *Muscle Nerve*, *26*(3), 348-355. doi:10.1002/mus.10195
- Udina, E., Ladak, A., Furey, M., Brushart, T., Tyreman, N., & Gordon, T. (2010). Rolipram-induced elevation of cAMP or chondroitinase ABC breakdown of inhibitory proteoglycans in the extracellular matrix promotes peripheral nerve regeneration. *Exp Neurol*, *223*(1), 143-152. doi:10.1016/j.expneurol.2009.08.026
- Udina, E., Voda, J., Gold, B. G., & Navarro, X. (2003). Comparative dose-dependence study of FK506 on transected mouse sciatic nerve repaired by allograft or xenograft. *J Peripher Nerv Syst*, *8*(3), 145-154. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12904235>
- Unadkat, J. V., Schnider, J. T., Feturi, F. G., Tsuji, W., Bliley, J. M., Venkataramanan, R., . . . Spiess, A. M. (2017). Single Implantable FK506 Disk Prevents Rejection in Vascularized Composite Allotransplantation. *Plast Reconstr Surg*, *139*(2), 403e-414e. doi:10.1097/PRS.0000000000002951
- Vanhaesebroeck, B., & Alessi, D. R. (2000). The PI3K-PDK1 connection: more than just a road to PKB. *Biochem J*, *346 Pt 3*, 561-576. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10698680>
- Varejao, A. S., Meek, M. F., Ferreira, A. J., Patricio, J. A., & Cabrita, A. M. (2001). Functional evaluation of peripheral nerve regeneration in the rat: walking track analysis. *J Neurosci Methods*, *108*(1), 1-9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11459612>
- Varejão, A. S., Melo-Pinto, P., Meek, M. F., Filipe, V. M., & Bulas-Cruz, J. (2004). Methods for the experimental functional assessment of rat sciatic nerve regeneration. *Neurol Res*, *26*(2), 186-194. doi:10.1179/016164104225013833
- Varghese, J., Reddy, M. S., Venugopal, K., Perumalla, R., Narasimhan, G., Arikichenin, O., . . .

- Rela, M. (2014). Tacrolimus-related adverse effects in liver transplant recipients: its association with trough concentrations. *Indian J Gastroenterol*, 33(3), 219-225. doi:10.1007/s12664-014-0456-0
- Viterbo, F., Trindade, J. C., Hoshino, K., & Mazzoni Neto, A. (1992). Latero-terminal neurorrhaphy without removal of the epineural sheath. Experimental study in rats. *Rev Paul Med*, 110(6), 267-275. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1341024>
- Viterbo, F., Trindade, J. C., Hoshino, K., & Mazzoni Neto, A. (1994). End-to-side neurorrhaphy with removal of the epineural sheath: an experimental study in rats. *Plast Reconstr Surg*, 94(7), 1038-1047. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7972457>
- Waller, A. (1851). Experiments on the Section of the Glosso-Pharyngeal and Hypoglossal Nerves of the Frog, and Observations of the Alterations Produced Thereby in the Structure of Their Primitive Fibres. *Edinb Med Surg J*, 76(189), 369-376. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30332247>
- Wang, M. S., & Gold, B. G. (1999). FK506 increases the regeneration of spinal cord axons in a predegenerated peripheral nerve autograft. *J Spinal Cord Med*, 22(4), 287-296. doi:10.1080/10790268.1999.11719582
- Wang, M. S., Zeleny-Pooley, M., & Gold, B. G. (1997). Comparative dose-dependence study of FK506 and cyclosporin A on the rate of axonal regeneration in the rat sciatic nerve. *J Pharmacol Exp Ther*, 282(2), 1084-1093. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9262378>
- Wijdicks, E. F. (2001). Neurotoxicity of immunosuppressive drugs. *Liver Transpl*, 7(11), 937-942. doi:10.1053/jlts.2001.27475
- Witoonchart, K., Leechavengvongs, S., Uerpairojkit, C., Thuvasethakul, P., & Wongnopsuwan, V. (2003). Nerve transfer to deltoid muscle using the nerve to the long head of the triceps, part I: an anatomic feasibility study. *J Hand Surg Am*, 28(4), 628-632. doi:10.1016/s0363-5023(03)00200-4
- Wong, A. H., Pianta, T. J., & Mastella, D. J. (2012). Nerve transfers. *Hand Clin*, 28(4), 571-577. doi:10.1016/j.hcl.2012.08.007
- Wood, M. D., Gordon, T., Kim, H., Szykaruk, M., Phua, P., Lafontaine, C., . . . Borschel, G. H. (2013). Fibrin gels containing GDNF microspheres increase axonal regeneration after delayed peripheral nerve repair. *Regen Med*, 8(1), 27-37. doi:10.2217/rme.12.105
- Wood, M. D., Kim, H., Bilbily, A., Kemp, S. W., Lafontaine, C., Gordon, T., . . . Borschel, G. H. (2012). GDNF released from microspheres enhances nerve regeneration after delayed repair. *Muscle Nerve*, 46(1), 122-124. doi:10.1002/mus.23295
- Wood, M. D., Moore, A. M., Hunter, D. A., Tuffaha, S., Borschel, G. H., Mackinnon, S. E., & Sakiyama-Elbert, S. E. (2009). Affinity-based release of glial-derived neurotrophic factor from fibrin matrices enhances sciatic nerve regeneration. *Acta Biomater*, 5(4), 959-968. doi:10.1016/j.actbio.2008.11.008
- Wu, G., Weng, F. L., & Balaraman, V. (2013). Tacrolimus-induced encephalopathy and polyneuropathy in a renal transplant recipient. *BMJ Case Rep*, 2013. doi:10.1136/bcr-2013-201099
- Wu, H., Wang, K., Wang, H., Chen, F., Huang, W., Chen, Y., . . . Xiong, S. (2017). Novel self-assembled tacrolimus nanoparticles cross-linking thermosensitive hydrogels for local rheumatoid arthritis therapy. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 149, 97-104. doi:10.1016/j.colsurfb.2016.10.013
- Xing, B., Li, H., Wang, H., Mukhopadhyay, D., Fisher, D., Gilpin, C. J., & Li, S. (2011). RhoA-inhibiting NSAIDs promote axonal myelination after spinal cord injury. *Exp Neurol*, 231(2), 247-260. doi:10.1016/j.expneurol.2011.06.018
- Xu, X., Yee, W. C., Hwang, P. Y., Yu, H., Wan, A. C., Gao, S., . . . Wang, S. (2003). Peripheral nerve regeneration with sustained release of poly(phosphoester) microencapsulated nerve growth factor within nerve guide conduits. *Biomaterials*, 24(13), 2405-2412. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12699678>
- Yamamoto, S., Jiang, H., & Kato, R. (1994). Stimulation of hair growth by topical application of FK506, a potent immunosuppressive agent. *J Invest Dermatol*, 102(2), 160-164. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7508960>
- Yamamoto, S., & Kato, R. (1994). Hair growth-stimulating effects of cyclosporin A and FK506,



- potent immunosuppressants. *J Dermatol Sci, 7 Suppl*, S47-54. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7528050>
- Yamazoe, K., Yamazoe, K., Yamaguchi, T., Omoto, M., & Shimazaki, J. (2014). Efficacy and safety of systemic tacrolimus in high-risk penetrating keratoplasty after graft failure with systemic cyclosporine. *Cornea, 33*(11), 1157-1163. doi:10.1097/ICO.0000000000000258
- Yan, H., Zhang, F., Chen, M. B., & Lineaweaver, W. C. (2009). Chapter 10: Conduit luminal additives for peripheral nerve repair. *Int Rev Neurobiol, 87*, 199-225. doi:10.1016/S0074-7742(09)87010-4
- Yan, Y., Sun, H. H., Hunter, D. A., Mackinnon, S. E., & Johnson, P. J. (2012). Efficacy of short-term FK506 administration on accelerating nerve regeneration. *Neurorehabil Neural Repair, 26*(6), 570-580. doi:10.1177/1545968311431965
- Yang, R. K., Lowe, J. B., 3rd, Sobol, J. B., Sen, S. K., Hunter, D. A., & Mackinnon, S. E. (2003). Dose-dependent effects of FK506 on neuroregeneration in a rat model. *Plast Reconstr Surg, 112*(7), 1832-1840. doi:10.1097/01.PRS.0000091167.27303.18
- Youle, M., Osio, M., & Group, A. S. (2007). A double-blind, parallel-group, placebo-controlled, multicentre study of acetyl L-carnitine in the symptomatic treatment of antiretroviral toxic neuropathy in patients with HIV-1 infection. *HIV Med, 8*(4), 241-250. doi:10.1111/j.1468-1293.2007.00467.x
- Zaimi, A., Duval, T., Gasecka, A., Côté, D., Stikov, N., & Cohen-Adad, J. (2016). AxonSeg: Open Source Software for Axon and Myelin Segmentation and Morphometric Analysis. *Front Neuroinform, 10*, 37. doi:10.3389/fninf.2016.00037
- Zarei, K., Scheetz, T. E., Christopher, M., Miller, K., Hedberg-Buenz, A., Tandon, A., . . . Abramoff, M. D. (2016). Automated Axon Counting in Rodent Optic Nerve Sections with AxonJ. *Sci Rep, 6*, 26559. doi:10.1038/srep26559
- Zhang, J., Lineaweaver, W. C., Oswald, T., Chen, Z., Chen, Z., & Zhang, F. (2004). Ciliary neurotrophic factor for acceleration of peripheral nerve regeneration: an experimental study. *J Reconstr Microsurg, 20*(4), 323-327. doi:10.1055/s-2004-824891
- Zhang, X., Yang, K., Chen, S., & Ji, Y. (2019). Tacrolimus ointment for the treatment of superficial kaposiform hemangioendothelioma and tufted angioma. *46*(10), 898-901. doi:10.1111/1346-8138.15031
- Zhao, Q., Dahlin, L. B., Kanje, M., & Lundborg, G. (1992). Specificity of muscle reinnervation following repair of the transected sciatic nerve. A comparative study of different repair techniques in the rat. *J Hand Surg Br, 17*(3), 257-261. doi:10.1016/0266-7681(92)90110-n
- Zheng, X. Y., Hou, C. L., Gu, Y. D., Shi, Q. L., & Guan, S. B. (2008). Repair of brachial plexus lower trunk injury by transferring brachialis muscle branch of musculocutaneous nerve: anatomic feasibility and clinical trials. *Chin Med J (Engl), 121*(2), 99-104. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18272032>
- Zhuang, H., Bu, S., Hua, L., Darabi, M. A., Cao, X., & Xing, M. (2016). Gelatin-methacrylamide gel loaded with microspheres to deliver GDNF in bilayer collagen conduit promoting sciatic nerve growth. *Int J Nanomedicine, 11*, 1383-1394. doi:10.2147/ijn.s96324
- Zijlstra, L. E., Constantinescu, A. A., Manintveld, O., Birim, O., Hesselink, D. A., van Thiel, R., . . . Caliskan, K. (2015). Improved long-term survival in Dutch heart transplant patients despite increasing donor age: the Rotterdam experience. *Transpl Int, 28*(8), 962-971. doi:10.1111/tri.12503
- Zuo, J., Neubauer, D., Graham, J., Krekoski, C. A., Ferguson, T. A., & Muir, D. (2002). Regeneration of axons after nerve transection repair is enhanced by degradation of chondroitin sulfate proteoglycan. *Exp Neurol, 176*(1), 221-228. doi:10.1006/exnr.2002.7922

