

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΗΜΑΤΟΣ ΣΤΗ ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΤΩΝ ΑΝΑΠΤΥΣΣΟΜΕΝΩΝ ΣΚΕΛΕΤΙΚΩΝ ΔΟΜΩΝ ΤΟΥ ΑΝΩ ΑΚΡΟΥ

ΙΩΑΝΝΗΣ Σ. ΓΚΙΑΤΑΣ

Ιατρός, Ειδικευόμενος Ορθοπαιδικής

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

 $I\,\Omega\,A\,N\,N\,I\,N\,A\ 2\,0\,1\,8$



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΗΜΑΤΟΣ ΣΤΗ ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΤΩΝ ΑΝΑΠΤΥΣΣΟΜΕΝΩΝ ΣΚΕΛΕΤΙΚΩΝ ΔΟΜΩΝ ΤΟΥ ΑΝΩ ΑΚΡΟΥ

ΙΩΑΝΝΗΣ Σ. ΓΚΙΑΤΑΣ

Ιατρός, Ειδικευόμενος Ορθοπαιδικής

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

 $I\,\Omega\,A\,N\,N\,I\,N\,A\ 2\,0\,1\,8$

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνωμών του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)

Ημερομηνία αίτησης του κ. Γκιάτα Ιωάννη: 26-5-2010

Ημέρομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 687%/8-6-2010

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Κορομπίλιας Αναστάσιος, Επίκουρος Καθηγητής Ορθοπαιδικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Μπερής Αλέξανδρος, Καθηγητής Ορθοπαιδικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων Βεκρής Μάριος, Επίκουρος Καθηγητής Ορθοπαιδικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 29-6-2010

«Εκτίμηση της επίδρασης του περιφερικού νευρικού συστήματος στην διαμόρφωση των αναπτυσσόμενων σκελετικών δομών του άνω άκρου»

Βεκρής Μάριος	Καθηγητής Ορθοπαιδικής του Τμήματος Ιατρικής του
	Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Κορομπίλιας Αναστάσιος	Καθηγητής Ορθοπαιδικής του Τμήματος Ιατρικής του
	Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Μπατιστάτου Άννα	Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας του Τμήματος
	Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Πασχόπουλος Μηνάς	Καθηγητής Μαιευτικής –Γυναικολογίας του Τμήματος
	Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Αγαθόπουλος Συμεών	Αναπληρωτής Καθηγητής Τεχνολογίας Κεραμικών
	Υλικών του Τμήματος Μηχανικών Επιστήμης Υλικών του
	Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Γελαλής Ιωάννης	Αναπληρωτής Καθηγητής Ορθοπαιδικής με Έμφαση στη
	Χειρουργική Σπονδυλικής Στήλης και Επανορθωτική
	Χειρουργική Ενηλίκων
Πάκος Αιμίλιος	Επίκουρος Καθηγητής Ορθοπαιδικής Βιολογικής
	Μηχανικής

ΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ 8204/28-9-2017

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 21-6-2018

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Μηνάς Πασχόπουλος Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας

Η Γραμματέας του Τμήματος mono ІА КАШТОПОУЛОУ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Χωρίς την παρουσία, την υποστήριξη και την ανεκτικότητα κάποιων ανθρώπων δε θα ήταν δυνατή η υλοποίηση της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

Θα ήθελα λοιπόν να ευχαριστήσω τον κ. Αναστάσιο Κορομπίλια, καθηγητή Ορθοπαιδικής του Πανεπιστημιου Ιωαννίνων και επιβλέποντα της συγκεκριμένης διατριβής για την υποστήριξη και την καθοδήγησή στην ολοκλήρωση της παρούσας διδακτόρικής διατριβής. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Αλέξανδρο Μπερή, ομότιμο καθηγητή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και τον κ. Μάριο Βεκρή, καθηγητή Ορθοπαιδικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής για την καθοδήγηση και τη συνεργασία τους. Θα ήθελα σε αυτό το σημείο να ευχαριστήσω τον κ. Ιωάννη Κώστα-Αγνάντη, επιμελητή Α' στην Ορθοπαιδική κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων για την ουσιώδη στήριξη και καθοδήγησή του από το σχεδιασμό μέχρι την υλοποίηση της παρούσας διατριβής. Θέλω επίσης να ευγαριστήσω τον κ. Συμεών Αγαθόπουλο, καθηγητή στο τμήμα Μηγανικών των Υλικών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, για τη σημαντική βοήθειά του στην ολοκλήρωση των εμβιομηχανικών αναλύσεων, Επίσης ευχαριστώ την κα Άννα Μπατιστάτου, καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων για την καίρια βοήθειά της στην παθολογοανατομική μελέτη του ερευνητικού πρωτοκόλλου. Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω τον κ. Αλέξανδρο Τσουκνίδα για την ανάλυση των πεπερασμένων στοιχείων και το συνάδελφο Δημήτριο Κοσμά για τη βοήθειά του.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου, τους γονείς μου Σταύρο και Μαρία και τον αδελφό μου Χαράλαμπο, για την απόλυτη στήριξη που μου παρείχαν σε όλη αυτή τη διαδρομή καθώς και τη σύντροφό μου Βασιλική Κίγκα για την πολύτιμη βοήθειά της στην ολοκλήρωση της παρούσας διατριβής.

προλογος

Η οστική ανάπτυξη αποτελεί πολυπαραγοντική διαδικασία κατά την οποία διαμορφώνεται ο ώριμος σκελετός. Αν και διάφοροι παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των οστών έχουν εκτενώς μελετηθεί, η διεθνής βιβλιογραφία δεν είναι το ίδιο εκτενής όσον αφορά την επίδραση του περιφερικού νευρικού συστηματος.

Κάποιες μελέτες ασχολήθηκαν με την επίδραση του περιφερικού νευρικού συστήματος στο ερειστικό σύστημα επικεντρώνοντας το ενδιαφέρον τους κυρίως στην ανάπτυξη των οστών. Η παρούσα πειραματική μελέτη δεν περιορίζεται αποκλειστικά στην επιρροή του περιφερικού νευρικού συστήματος στις διαστάσεις των οστών αλλα και στη δομή τους, όπως η οστική πυκνότητα. Επιπλέον μελετήθηκε και η εμβιομηχανική συμπεριφορά των απονευρωμένων οστών συγκριτικά με τα «φυσιολογικά» πράγμα το οποίο δεν έχει μελετηθεί στη διεθνή βιβλιογραφία.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ
1.0 ΕΙΣΑΓΩΓΗ
1.0.1 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ 7
1.0.2 ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ ΝΕΥΡΙΚΗΣ ΒΛΑΒΗΣ
1.0.3 ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΝΕΥΡΙΚΗΣ ΒΛΑΒΗΣ9
1.1 АNATOMIA ТОУ ПЕРІФЕРІКОУ NEYPOY 11
1.1.1 NEYPIKA KYTTAPA 11
1.1.2 МУЕЛІНН
1.1.3. ΠΕΡΙΣΦΙΓΞΕΙΣ Η ΚΟΜΒΟΙ ΤΟΥ RANVIER
1.1.4. ΣΤΗΡΙΚΤΙΚΟΣ ΙΣΤΟΣ
1.1.5 ΑΓΓΕΙΩΣΗ ΚΑΙ ΝΕΥΡΩΣΗ ΤΟΥ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΟΥ –
ΑΙΜΑΤΟΝΕΥΡΙΚΟΣ ΦΡΑΓΜΟΣ
1.1.6. ΕΣΩΤΕΡΙΚΗ ΤΟΠΟΓΡΑΦΙΑ ΤΟΥ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΟΥ
1.2 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΟΥ
1.2.1 ΗΛΕΚΤΡΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΤΩΝ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΩΣΕΩΝ 23
1.2.2 Η ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΤΗΣ ΣΥΣΤΟΛΗΣ ΤΩΝ ΣΚΕΛΕΤΙΚΩΝ ΜΥΩΝ
1.2.3 АΞΟΝΙΚΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑ
1.3 ΔΟΜΗ ΟΣΤΟΥ
1.4 ΟΣΤΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ
1.4.1 ΓΕΝΙΚΑ ΠΕΡΙ ΟΣΤΙΚΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ
1.4.2 ΣΥΖΕΥΚΤΙΚΟΣ ΧΟΝΔΡΟΣ
1.4.3. ΕΠΙΜΗΚΗΣ ΟΣΤΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ
1.4.4 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΜΗΚΟΥΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ

1.4.5 ΟΣΤΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΤΑ ΠΛΑΤΟΣ	42
1.4.6 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΚΑΤΑ ΠΛΑΤΟΣ	42
1.5 ANATOMIA	44
1.5.1 ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΟΣΤΙΚΗΣ ΝΕΥΡΩΣΗΣ	44
1.5.2 ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΒΡΑΧΙΟΝΙΟΥ ΠΛΕΓΜΑΤΟΣ	44
1.5.3 ΤΡΑΥΜΑΤΙΣΜΟΣ ΒΡΑΧΙΟΝΙΟΥ ΠΛΕΓΜΑΤΟΣ	47
1.5.4 ΠΕΡΙΓΕΝΝΗΤΙΚΗ ΠΑΡΑΛΥΣΗ ΒΡΑΧΙΟΝΙΟΥ ΠΛΕΓΜΑΤΟΣ	49
2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	53
2.0 ҮЛІКО & МЕЮОДОІ	53
2.0.1 ΠΡΟΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ	53
2.0.2 ХЕІРОҮРГІКН ТЕХЛІКН	54
2.0.3 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	57
2.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	66
2.1.1 ΟΜΑΔΑ Α1	66
2.1.2 OMAAA A2	68
2.1.3. ΟΜΑΔΑ B1	70
2.1.4 OMADA B2	73
2.1.5 ΟΜΑΔΑ C1	74
2.1.6 ОМАДА С2	77
2.1.7 ОМАЛА C3	79
2.1.8 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΕΠΕΡΑΣΜΕΝΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ	83
3. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	87
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	89

5. ПЕРІЛНҰН	
6. SUMMARY	
7. ВІВЛІОГРАФІА	

1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.0 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.0.1 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Η σπουδαιότητα των νεύρων θεωρείται σήμερα δεδομένη. Η πρώτη αναφορά για τη σημασία των νεύρων αποδίδεται στο Ιπποκράτη. Σύμφωνα με αυτόν κατά την προσπάθεια ανάταξης των εξαρθρωμένων ώμων των στρατιωτών πρέπει να δίνεται ιδιαίτερη προσοχή ώστε να αποφευχθεί ο τραυματισμός των νεύρων. Ο Galen (200-130 π.Χ.) διαχώρισε τα νεύρα από τους τένοντες και περιέγραψε την επιτυχημένη νευρική αποκατάσταση από άλλους. Παρόλα αυτά δεν υπάρχουν στοιχεία που να αποδεικνύουν ότι ο ίδιος επιχείρησε ανάλογη ενέργεια. Τον έβδομο αιώνα μ.Χ., ο Paulus Aegineta ήταν ο πρώτος που χρησιμοποίησε την τεχνική της συρραφής με ράμματα για τη νευρική αποκατάσταση. Ο Gabriele Ferrara (1543-1627 μ.Χ.) ήταν ο χειρουργός εκείνος που πρώτος περιέγραψε την τεχνική της συρραφής των κολοβωμάτων ενός τραυματισμένου νεύρου. Η τεχνική αυτή περιελάμβανε την ακριβή αναγνώριση των νευρικών κολοβωμάτων, την προσεκτική έλξη τους και την συρραφή τους χωρίς την πρόκληση βλάβης σε αυτά. Ακολουθούσε η ακινητοποίηση του σκέλους με σκοπό την αποφυγή διάσπασης της συρραφής. Πριν τον 19ο αιώνα ήταν γενική παραδοχή ότι τα νεύρα δεν αναγεννιούνται. Συνέπεια της πεποίθησης αυτής ήταν η συντηρητική αντιμετώπιση ή ο ακρωτηριασμός σε κάθε περίπτωση τραυματισμού μεγάλου νευρικού στελέχους. Κατά τη διάρκεια του 19ου αιώνα η πρόοδος στον τομέα της μικροσκόπησης και των τεχνικών χρώσης, επέτρεψε τη λεπτομερή εξέταση του νευρικού ιστού. Οι νέες αυτές τεχνικές επέτρεψαν στον Waller να περιγράψει τις μεταβολές που συμβαίνουν στο νεύρο μετά τη διατομή του, στον Cruikshank να παρατηρήσει την νευρική αναγέννηση και στον Cajal το 1905 να διαλευκάνει τα γεγονότα που λαμβάνουν χώρα κατά την αξονική αναγέννηση¹. Οι ανακαλύψεις αυτές αποτελούν τη βάση του σύγχρονου μοντέλου της νευρικής αναγέννησης που ακολουθεί τον τραυματισμό των περιφερικών νεύρων.

Πριν το δεύτερο παγκόσμιο πόλεμο, η νευρική αποκατάσταση περιελάμβανε την απλή συμπλησίαση των νευρικών κολοβωμάτων και τη μεταξύ τους συρραφή. Κατά τη διάρκεια του πρώτου παγκοσμίου πολέμου, οι νευρικές συρραφές γίνονταν υπό τάση, με αυξημένα ποσοστά αποτυχίας εξαιτίας των φλεγμονών και της συνυπάρχουσας σημαντικής απώλειας

μαλακών μορίων. Κατά το δεύτερο παγκόσμιο πόλεμο, η συχνότατη επανάληψη των κακώσεων αυτών έστρεψε το ενδιαφέρον της έρευνας προς την λεπτομερή περιγραφή της ανατομίας και της φυσιολογίας των περιφερικών νεύρων. Τότε ήταν που οι Seddon και Woodhall, δουλεύοντας σε διαφορετικές χώρες, πρότειναν διάφορες νέες για την εποχή μεθόδους νευρικής αποκατάστασης. Λίγο μετά το δεύτερο παγκόσμιο πόλεμο, ο Sunderland περιέγραψε τις παρατηρήσεις του στην τοπογραφική ανατομία των νεύρων². Πιο πρόσφατα, ο Millesi με τη βοήθεια των μικροεργαλείων και της μικροχειρουργικής τεχνικής έδωσε νέα πνοή στην «τέχνη της νευρικής αποκατάστασης»^{3,4}.

1.0.2 ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ ΝΕΥΡΙΚΗΣ ΒΛΑΒΗΣ

Η δυσλειτουργία των περιφερικών νεύρων μπορεί να είναι το αποτέλεσμα της βλάβης του νευρώνα, των κυττάρων Schwann ή του ελύτρου της μυελίνης. Τα νεύρα εκείνα που έχουν υποστεί βλάβη δεν μπορούν να μεταδώσουν τις νευρικές ώσεις κατά τρόπο φυσιολογικό⁵. Η βλάβη των περιφερικών νεύρων μπορεί να προκληθεί με διάφορους μηχανισμούς καθένας από τους οποίους προκαλεί συγκεκριμένου τύπου βλάβη. Στη συνέχεια περιγράφονται οι μηχανισμοί αυτοί καθώς και ο τρόπος με τον οποίον διαταράσσουν τη φυσιολογική νευρική λειτουργία:

 Μηχανική βλάβη. Δυο αντιπροσωπευτικά παραδείγματα αυτού του τύπου νευρικής βλάβης είναι η «παράλυση του σαββατόβραδου» (Saturday night paralysis) που αφορά το κερκιδικό νεύρο και η παράλυση μετά από εφαρμογή ίσχαιμης περίδεσης (tourniquet paralysis)⁶. Η μηχανική βλάβη έχει σαν αποτέλεσμα την διαταραχή της νευρικής αγωγής σε τοπικό επίπεδο σχετιζόμενη με μια οξεία βλάβη από συμπίεση.

• Βλάβη από σύνθλιψη και πρόσκρουση. Τέτοιου τύπου βλάβες μπορεί να είναι το αποτέλεσμα καταγμάτων, αιματωμάτων και συνδρόμων διαμερίσματος. Σε πειραματικά μοντέλα για την πρόκληση τέτοιου τύπου βλάβης χρησιμοποιούνται ειδικού τύπου λαβίδες. Στην περίπτωση δε του συνδρόμου διαμερίσματος, αρχικά δημιουργείται μια αύξηση της πίεσης στους ιστούς που περιβάλλουν το νεύρο. Η αυξημένη αυτή πίεση διαταράσσει την αιματική παροχή του περιφερικού νεύρου, η οποία εφόσον δεν αρθεί, οδηγεί στον θάνατο των νευρικών κυττάρων.

Έμμεση βλάβη από θλαστικό ή διατιτραίνον τραύμα. Στην περίπτωση αυτή ο νευρικός κορμός τραυματίζεται με έναν ακανόνιστο τρόπο⁷

Βλάβη από διατιτραίνον τραύμα με πλήρη ή μερική διατομή του περιφερικού νεύρου.

 Βλάβη από εξελκυσμό. Η εσωτερική κατασκευή του νευρικού κορμού επιτρέπει τη διάτασή του μέχρι περίπου το 10-20% του φυσιολογικού του μήκους⁸. Μετά το όριο αυτό προκαλείται βλάβη των δομικών του συστατικών. Οι βλάβες από εξελκυσμό προκαλούν αξονότμηση κατά την οποία μεγάλα τμήματα του νευράξονα καταστρέφονται.

 Βλάβη από τραυματισμό υψηλής ενέργειας. Τέτοιου είδους τραύματα προκαλούνται συνήθως από αυτοκινητιστικά ατυχήματα και πυροβολισμούς.

Βλάβη από ψύχος. Έκθεση σε θερμοκρασίες μεταξύ -2,5οC και 10oC για μεγάλα χρονικά διαστήματα μπορεί να προκαλέσει πρώιμη βλάβη στα περιφερικά νεύρα, αφού αυτά αποτελούν πιο ευαίσθητες δομές από τους περιβάλλοντες ιστούς⁶.

Η βλάβη των περιφερικών νεύρων μπορεί να είναι το αποτέλεσμα της φυσιολογικής διαδικασίας επούλωσης. Για παράδειγμα, ο τραυματισμός του ισχίου μπορεί να έχει σαν επακόλουθο τη συμπίεση του ισχιακού νεύρου λόγω δημιουργίας αιματώματος, δευτεροπαθούς έκτοπης οστεοποίησης ή του σχηματισμού ουλώδους ιστού⁹. Τέλος, ο ιατρογενής τραυματισμός των νεύρων αποτελεί μια ακόμη αιτία οξείας νευρικής βλάβης.

1.0.3 ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΝΕΥΡΙΚΗΣ ΒΛΑΒΗΣ

Ο τραυματισμός των περιφερικών νεύρων είναι σχετικά συχνός. Τα συνηθέστερα αιτία αποτελούν τα διατιτραίνοντα τραύματα από βλήματα όπλων⁷. Η νευρική βλάβη, συνέπεια τραύματος από νύσσον και τέμνον όργανο δεν είναι συχνή. Η τελευταία αυτή μορφή βλάβης παρέχει στο χειρουργό τη δυνατότητα της πρώιμης νευρικής αποκατάστασης αμέσως μετά τον τραυματισμό.

Η νευρική βλάβη μπορεί να συνδυάζεται με κατάγματα ή κατάγματα-εξαρθρήματα. Περίπου το 95% των βλαβών των περιφερικών νεύρων που σχετίζεται με κάποιο κάταγμα, αφορά τα άνω άκρα. Ο συχνότερος τύπος τέτοιας βλάβης είναι αυτός του κερκιδικού νεύρου ως αποτέλεσμα κατάγματος του βραχιονίου οστού⁷. Η συχνότερη δε μορφή νευρικής βλάβης που σχετίζεται με κατάγματα ή κατάγματα-εξαρθρήματα του αγκώνα είναι η νευραπραξία του ωλενίου νεύρου, η οποία αποκαθίσταται συνήθως μετά την κλειστή ανάταξη του κατάγματος ή του εξαρθρήματος. Στα παιδιά μετά από υπερκονδύλια κατάγματα του βραχιονίου οστού, η συχνότητα της νευρικής βλάβης ανέρχεται στο 12-16%. Τα οπίσθια και έσω παρεκτοπισμένα κατάγματα είναι αυτά που συχνότερα μπορεί να προκαλέσουν νευρικό τραυματισμό. Το 86-100% των βλαβών αυτού του τύπου έχουν τη μορφή της νευραπραξίας. Στην περίπτωση όμως επιπλεγμένων καταγμάτων το ποσοστό αυτό αυξάνει. Έτσι στο 64% των ανοικτών καταγμάτων της διάφυσης του βραχιονίου οστού, τα περιφερικά νεύρα στο ύψος της βλάβης είναι είτε διατμημένα, είτε εγκλωβισμένα μεταξύ των κατεαγόντων άκρων¹⁰.

Η βλάβη των περιφερικών νεύρων παρατηρείται συχνότερα μετά από εξαρθρήματα, τα οποία ασκούν δυνάμεις ελκυσμού στο νευρικό κορμό. Τέτοιου τύπου βλάβες παρατηρούνται στο 18% των περιπτώσεων μετά από εξαρθρήματα του γόνατος και στο 13% μετά από οπίσθια εξαρθρήματα της άρθρωσης του ισχίου⁷. Μετά από τραυματικής αιτιολογίας εξάρθρημα ή κάταγμα-εξάρθρημα του ισχίου, η συχνότητα νευρικής βλάβης ανέρχεται περίπου στο 10% στους ενήλικες και στο 5% στα παιδιά.

Οι ιατρικοί χειρισμοί αποτελούν μια ακόμη αιτία νευρικής βλάβης. Η συχνότητα δε της ιατρογενούς νευρικής βλάβης ποικίλει από 1% έως 10% σε ασθενείς με κλειστά κατάγματα του αντιβραχίου που αντιμετωπίστηκαν με εσωτερική οστεοσύνθεση. Πολλές φορές η διάκριση μεταξύ ιατρογενούς και τραυματικής αιτιολογίας της νευρικής βλάβης είναι εξαιρετικά δύσκολη¹⁰.

1.1 ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΤΟΥ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΟΥ

1.1.1 ΝΕΥΡΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Το νευρικό σύστημα επιτρέπει την ταχεία και εξειδικευμένη επικοινωνία απομακρυσμένων περιοχών του ανθρωπίνου σώματος. Τα βασικά συστατικά του στοιχεία, υπεύθυνα για τη λειτουργία του, είναι τα νευρικά κύτταρα (νευρώνες). Κάθε νευρώνας αποτελείται από το κυτταρικό σώμα (περικάρυο) που περιέχει τον πυρήνα και τα περισσότερα οργανίδια του νευρικού κυττάρου, μια μακριά κυτταρική αποφυάδα (νευράξονας) μήκους μέχρι 1m, πολλαπλές βραχείες αποφυάδες (δενδρίτες) και τις εξειδικευμένες συνδέσεις του νευρικού κυττάρου με άλλα κύτταρα (συνάψεις) (εικόνα. 1.1B).



Εικόνα 1.1: Το νευρικό κύτταρο.

Α. Μικροφωτογραφία ενός νευρώνα με μεγάλο πυρήνα (Π) και ευδιάκριτο πυρήνιο. Είναι φανερή η πορφυρόχροη ουσία του Nissl (ON) καθώς και ο ευμεγέθης νευράζονας (Α).

B. Μικροφωτογραφία στην οποία διακρίνονται καλά το κυτταρικό σώμα, ο νευράξονας και οι δενδρίτες του νευρικού κυττάρου. (Stevens A, Lowe JS: Histology. Gower Medical Publishing, Nottingham, 1993)

Στο κυτταρικό σώμα ενός τυπικού νευρικού κυττάρου ανευρίσκεται ο πυρήνας ο οποίος είναι ευμεγέθης με μεγάλο κεντρικό πυρήνιο. Στο περικάρυο και τους δενδρίτες (όχι όμως στο νευράξονα) υπάρχει άφθονο αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο. Το τελευταίο σε τομές Α & Η παίρνει τη μορφή πορφυρόχρωμων κοκκίων που αποτελούν την ουσία του Nissl (Εικόνα 1.1Α). Επιπλέον το κυτταρικό σώμα περιέχει άφθονα μιτοχόνδρια, πολυάριθμα λυσοσώματα, καλά αναπτυγμένη συσκευή Golgi, ενώ στους ηλικιωμένους ανευρίσκονται και υπολειμματικά σωμάτια που περιέχουν λιποφουσκίνη. Ο κυτταροσκελετός του νευρικού κυττάρου αποτελείται από τα νευροϊνίδια και τους μικροσωληνίσκους. Τα νευροϊνίδια ανήκουν στα ενδιάμεσα ινίδια και συμβάλλουν στη διατήρηση του σχήματος του σώματος και του νευράξονα. Οι νευρώνες εμφανίζουν έντονη μεταβολική δραστηριότητα τα προϊόντα της οποίας μεταφέρονται κατά μήκος του νευράξονα μέσω ενός καλά οργανωμένου δικτύου μικροσωληνίσκων και οργανιδίων.

Οι νευρώνες ανάλογα με τη λειτουργία και τη μορφολογία τους διακρίνονται σε κινητικούς, αισθητικούς και διάμεσους. Οι κινητικοί νευρώνες ανήκουν στους πολύπολους νευρώνες αφού φέρουν μακρύ νευράξονα και πολυάριθμους δενδρίτες. Αντιθέτως οι αισθητικοί νευρώνες συνήθως φέρουν μια μακριά αποφυάδα με δυο κλάδους, έναν κεντρικό και έναν περιφερικό. Για το λόγο αυτό ανήκουν συνήθως στα μονόπολα κύτταρα. Οι διάμεσοι νευρώνες ανευρίσκονται στο κεντρικό νευρικό σύστημα και είναι δίπολα κύτταρα με μια αξονική και μια δενδριτική αποφυάδα. Εκτός βέβαια από αυτούς τους τρεις τύπους κυττάρων υπάρχουν και πολυάριθμοι άλλοι σε συγκεκριμένες περιοχές του κεντρικού νευρικού συστήματος, όπως για παράδειγμα τα κύτταρα του Purkinje στην παρεγκεφαλίδα. Η ανατομική μορφή του νεύρου απαντάται σε τρεις τύπους (εικόνα 1.2):

α. μονοδεσμιδικός, με μία μεγάλη νευρική δεσμίδα

β. ολιγοδεσμιδικός, με λίγες νευρικές δεσμίδες και

γ. πολυδεσμιδικός, ο οποίος αποτελείται από πολλές δεσμίδες διαφόρων μεγεθών, που μπορεί να είναι οργανωμένες σε ομάδες ή όχι.



Εικόνα 1.2: Ο μονοδεσμιδικός (α), ο ολιγοδεσμιδικός (β) και ο πολυδεσμιδικός τύπος (γ) του περιφερικού νεύρου.

Το περιφερικό νευρικό σύστημα αποτελείται από νεύρα και γάγγλια. Το νεύρο αποτελεί ένα άθροισμα νευραξόνων που συνδέονται μεταξύ τους με στηρικτικό ιστό. Οι νευράξονες αυτοί μπορεί να είναι αισθητικοί ή κινητικοί, εμμύελοι ή αμύελοι. Το γάγγλιο είναι μια άθροιση νευρικών κυτταρικών σωμάτων με τους απαγωγούς και προσαγωγούς νευράξονές τους που περιβάλλονται από στηρικτικά κύτταρα. Τα γάγγλια μπορεί να αποτελούνται είτε από κυτταρικά σώματα αισθητικών νευρικών ινών (π.χ. νωτιαία αισθητικά γάγγλια), είτε από κυτταρικά σώματα αυτόνομων νευρικών ινών (συμπαθητικά και παρασυμπαθητικά γάγγλια).

1.1.2 МУЕЛІНН

Η μυελίνη παράγεται από εξειδικευμένα στηρικτικά κύτταρα, τα ολιγοδενδροκύτταρα στο κεντρικό νευρικό σύστημα και τα κύτταρα Schwann στο περιφερικό νευρικό σύστημα (Εικόνα 1.3). Οι δυο τύποι κυττάρων διαφέρουν τόσο στη σύνθεση της παραγόμενης μυελίνης, όσο και στο γεγονός ότι ένα κύτταρο Schwann χορηγεί μυελίνη σε ένα νευράζονα, ενώ ένα ολιγοδενδροκύτταρο είναι δυνατό να χορηγήσει μυελίνη σε πολλούς γειτονικούς νευρικό σύστημα και την νευρική αναγέννηση. Καθώς το νεύρο αναπτύσσεται, χωρίζουν τους άζονες σε ομάδες δημιουργώντας με τις μεγάλες ίνες σχέση 1:1, μετατρέποντας αυτές σε εμμύελες^{11,12}. Η κυτταρική μεμβράνη των στηρικτικών αυτών κυττάρων φέρει ειδικές πρωτεΐνες και λιπίδια, όπως το γλυκολιπίδιο γαλακτοκερεβροσίδιο. Η μυελίνη αποτελείται από 75% λιπίδια και 25% πρωτεΐνη. Τα πιο σημαντικά λιπίδια είναι η χοληστερόλη και η σφιγγομυελίνη, ο τρόπος δε που είναι τοποθετημένα είναι υπεύθυνος για την παραγωγή της μυελίνης.



Εικόνα 1.3: Φωτογραφία με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο στην οποία φαίνεται ένα κύτταρο Schwann και ο πυρήνας του (Π), ένας άξονας (A) και η μυελίνη (M) που τον περιβάλλει. (Stevens A, Lowe JS: Histology. Gower Medical Publishing, Nottingham, 1993)

Με την κάλυψη με μυελίνη επιτυγχάνεται τόσο η μόνωση, όσο και η μείωση της ηλεκτρικής χωρητικότητας των νευραξόνων με αποτέλεσμα την αύξηση της ταχύτητας νευρικής αγωγής χωρίς σημαντική αύξηση στη διάμετρο του νευράξονα¹³. Το έλυτρο της μυελίνης είναι σημαντικό για τη φυσιολογική λειτουργία του περιφερικού νευρικού συστήματος. Στις περιπτώσεις κληρονομικής νευροπάθειας, στις οποίες η παραγωγή της μυελίνης διαταράσσεται, παρατηρείται αναστολή της ανάπτυξης¹⁴.

Η κάλυψη με μυελίνη αρχίζει με τον εγκολεασμό του νευράξονα μέσα στο κύτταρο Schwann (στην περίπτωση του περιφερικού νευρικού συστήματος), οπότε οι εξωτερικές μεμβράνες αυτού έρχονται σε αντιπαράθεση με αποτέλεσμα το σχηματισμό του μεσάξονα (Εικόνα 1.4A). Η μυελίνωση συνεχίζεται καθώς το κύτταρο Schwann σχηματίζει όλο και περισσότερα στρώματα μεσάξονα γύρω από το νευράξονα¹⁵, ενώ παράλληλα το κυτταρόπλασμά του εξαφανίζεται παραμένοντας μόνο σε τέσσερις θέσεις με σκοπό τη διατήρηση της μεμβράνης που σχηματίζει τη μυελίνη (Εικόνα 1.4 B και Γ):

Ι. δίπλα στο νευράξονα (εσωτερικό περιλαίμιο),

ΙΙ. δίπλα στο κυτταρικό σώμα (εξωτερικό περιλαίμιο),

ΙΙΙ. δίπλα στους κόμβους του Ranvier και

IV. μεταξύ των μεσοκομβικών στρωμάτων της μυελίνης (εντομές Schmidt-Lantermann).

Ο αριθμός των στρωμάτων της μυελίνης που περιβάλλουν τον νευράξονα θα καθορίσει και το πάχος της.



Εικόνα 1.4: Η μυελινική κάλυψη των νευραξόνων.

A. Αρχικά ο άξονας περιβάλλεται από ένα κύτταρο Schwann, τα εξωτερικά χείλη της μεμβράνης του οποίου θα σχηματίσουν το μεσάξονα. Τα στρώματα του μεσάξονα αυξάνονται σταδιακά, ενώ το εσωτερικό πέταλο της κυτταρικής μεμβράνης του κυττάρου Schwann συνενώνεται για να σχηματίσει τη μείζονα πυκνή γραμμή.

B. Φωτογραφία με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο στην οποία απεικονίζεται ο νευράξονας (A) που περιβάλλεται από στοιβάδες μυελίνης (M). qιακρίνονται επίσης ο εξωτερικός μεσάξονας (EM), οι εντομές Schmidt-Lantermann (S), καθώς και το εσωτερικό περιλαίμιο (EΠ).

Γ. Φωτογραφία με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σε μεγέθυνση μεγάλης ισχύος, στην οποία διακρίνονται καθαρά τα πέταλα της μυελίνης. (Stevens A, Lowe JS: Histology. Gower Medical Publishing, Nottingham, 1993)

Οι νευρικές ίνες μπορεί να είναι αμύελες ή εμμύελες. Τα κινητικά και αισθητικά νεύρα περιέχουν αμύελες και εμμύελες νευρικές ίνες σε αναλογία 4:1. Στις αμύελες νευρικές ίνες ένα κύτταρο Schwann περιβάλλει πολλούς νευράζονες, ενώ στις εμμύελες κάθε νευράζονας περιβάλλεται από ένα κύτταρο Schwann. Κάθε κύτταρο Schwann φέρει έναν καλά σχηματισμένο συνεχή εξωτερικό υμένα, ο οποίος και το χωρίζει από το ενδονεύριο. Το ενδονευρικό αυτό έλυτρο αναφέρεται σαν βασική στοιβάδα έξω από το κύτταρο Schwann. Κάθε 1 έως 2 mm κατά μήκος του ελύτρου της μυελίνης παρουσιάζεται μια περίσφιγξη, η περίσφιγξη του Ranvier. Κατά την αγωγή του νευρικού ερεθίσματος οι περισφίγξεις αυτές παίζουν σημαντικό ρόλο στην ταχεία προώθηση της ώσης με τη μεταφορά του ερεθίσματος κατά άλματα (Εικόνα 1.5). Η αγωγή του ερεθίσματος είναι το πάχος της μυελίνης, τόσο μεγαλύτερη είναι η ταχύτητα αγωγής του νεύρου. Όσο μεγαλύτερη δε είναι η διάμετρος της νευρικής ίνας, τόσο μεγαλύτερο είναι το μήκος του τμήματος του άζονα που καλύπτεται από ένα κύτταρο Schwann (internode)⁴.



Εικόνα 1.5: Η «κατά άλματα» αγωγή της νευρικής διέγερσης από κόμβο σε κόμβο κατά μήκος ενός εμμύελου νευράζονα.

Ένα περιφερικό νεύρο περιέχει τόσο εμμύελες όσο και αμύελες ίνες, κεντρομόλες και φυγόκεντρες, καθώς και σωματικές και φυτικές. Οι σωματικές και οι φυτικές, οι κεντρομόλες και οι φυγόκεντρες ίνες μέσα σε ένα μικτό νεύρο φέρονται όχι σε χωριστά δεμάτια, αλλά ανάμικτες διακλαδιζόμενες λίγο πριν φθάσουν στον τελικό προορισμό τους σε μυϊκά, αρθρικά, δερματικά και φυτικά νεύρα.

Η ταχύτητα αγωγής των νευρικών ινών ποικίλλει από 0,5 m/sec στις πολύ λεπτές αμύελες νευρικές ίνες έως και 100 m/sec στις παχείες εμμύελες ίνες. Η ταχύτητα αγωγής αυξάνει ανάλογα με τη διάμετρο στις εμμύελες και ανάλογα με την τετραγωνική ρίζα της διαμέτρου στις αμύελες νευρικές ίνες. Ανάλογα με το πάχος της μυελίνης και την ταχύτητα αγωγής, οι νευρικές ίνες κατατάσσονται σε διάφορες κατηγορίες (πίνακας 1.1).

Τύποι νευρικών ινών	
Α-ίνες: εμμύελες ίνες σωματικών νεύρων	
Μυϊκό νεύρο	
Κεντρομόλες	
Ομάδα Ι: 12-21 μm	
Ομάδα ΙΙ: 6-12 μm	
Ομάδα ΙΙΙ: 1-6 μm	
Ομάδα ΙV: C-ίνες	
Απαγωγές	
Άλφα κινητικού νευρώνα	
Γάμα κινητικού νευρώνα	
Δερματικό νεύρο	
Κεντρομόλες	
Άλφα-ίνες: 6-17μm	
Δέλτα-ίνες: 1-6μm	
Β-ίνες: εμμεύελες προγαγγλιονικές ίνες αυτόνομου νεύρου	
C-ίνες: αμύελες ίνες σωματικού ή αυτόνομου νεύρου	
sC-ίνες: απαγωγές μεταγαγγλιονικές ίνες αυτόνομου νεύρου	
drC-ίνες: κεντρομόλες ίνες ραχιαίας ρίζας και περιφερικού νεύρου	

Πίνακας 1.1: Κατάταξη των νευρικών ινών ανάλογα με τη διάμετρό τους

1.1.3. ΠΕΡΙΣΦΙΓΞΕΙΣ Η ΚΟΜΒΟΙ ΤΟΥ RANVIER

Όπως ήδη αναφέρθηκε, η μυελινική μόνωση δεν είναι συνεχής σε όλο το μήκος του νευράξονα, αλλά διακόπτεται ανά διαστήματα μήκους 1-2 mm, σχηματίζοντας έτσι γυμνές περιοχές που ονομάζονται περισφίγξεις ή κόμβοι του Ranvier (εικόνα 1.6). Οι περισφίξεις αυτές περιγράφηκαν για πρώτη φορά από τον ίδιο τον Ranvier το 1876¹⁶. Ο Ranvier υπέθεσε ότι οι περισφίξεις αυτές μπορεί να εμποδίζουν την παρεκτόπιση ή τη ροή της ημίρρευστης μυελίνης κατά μήκος των νευρικών ινών και ότι η έλλειψη μυελίνης στο σημείο της περίσφιξης επιτρέπει τη διάχυση θρεπτικών ουσιών¹⁷. Στο περιφερικό νευρικό σύστημα οι νευράξονες στην περιοχή των περισφίγξεων καλύπτονται από αναδιπλώσεις της κυτταρικής μεμβράνης γειτονικών κυττάρων Schwann, ενώ στο κεντρικό νευρικό σύστημα παραμένουν ακάλυπτοι.



Εικόνα 1.6: Διακοπή της μυελινικής μόνωσης του νευράξονα και σχηματισμός των κόμβων του Ranvier (βέλη). (Stevens A, Lowe JS: Histology. Gower Medical Publishing, Nottingham, 1993)

Ο νευράξονας δίπλα στους κόμβους του Ranvier (παρακομβική περιοχή) περιέχει τον μεγαλύτερο αριθμό δικλειδωτών αγωγών για το Na+, ενώ στις μεσοκομβικές περιοχές ανάμεσα σε δυο περισφίγξεις (internodes) δεν παρατηρούνται δικλειδωτοί αγωγοί. Η εκπόλωση μιας περίσφιγξης Ranvier θα οδηγήσει σε παθητική αγωγή του ρεύματος κάτω από το έλυτρο της μυελίνης μέχρι την επόμενη περίσφιγξη. Η παθητική αυτή μετάδοση γίνεται με ελάχιστες απώλειες εξαιτίας της μόνωσης που προσφέρει το έλυτρο της μυελίνης. Όταν το ρεύμα εκπόλωσης συναντήσει την επόμενη περίσφιγξη ακολουθεί νέα εκπόλωση με αποτέλεσμα τη μεταφορά του ερεθίσματος «κατά άλματα».

Σε μια εμμύελη νευρική ίνα η είσοδος του Na+ γίνεται σε μικρές επιφάνειες, σε αντίθεση με την αμύελη ίνα όπου γίνεται σε όλο το μήκος του νευράξονα. Με τον τρόπο αυτό στην εμμύελη ίνα η ενέργεια που απαιτείται για την απομάκρυνση του Na+ είναι μικρότερη και επομένως η μετάδοση της εκπόλωσης πιο αποτελεσματική μεταβολικά.

1.1.4. ΣΤΗΡΙΚΤΙΚΟΣ ΙΣΤΟΣ

Σε κάθε περιφερικό νεύρο διακρίνουμε τέσσερα είδη στηρικτικού ιστού: το ενδονεύριο, το περινεύριο, το επινεύριο και το μεσονεύριο (εικόνα 1.7). Μαστοκύτταρα ανευρίσκονται τόσο στο ενδονεύριο όσο και στο επινεύριο των περιφερικών νεύρων καθώς και στα αισθητικά γάγγλια. Αύξηση του αριθμού τους παρατηρείται σε παθολογικές καταστάσεις, όπως η Βαλλεριανή εκφύλιση και σε ορισμένες νεοπλασματικές νόσους, όπως η νευροϊνωμάτωση του von Recklinghausen. Χαρακτηριστικά δε υψηλός αριθμός μαστοκυττάρων ανευρίσκεται στα νευροϊνώματα και σε συγκεκριμένες περιοχές των σβαννωμάτων^{18,19}. Το ενδονεύριο περιβάλλει τον νευράξονα, το συνοδό κύτταρο Schwann και τα τριχοειδή αγγεία. Αποτελείται από επιμήκως προσανατολισμένες ίνες κολλαγόνου, ινοβλάστες, εξωκυττάρια θεμέλια ουσία πλούσια σε γλυκοζαμινογλυκάνες και λίγα μαστοκύτταρα. Το κολλαγόνο είναι ιδιαίτερα οργανωμένο και σχηματίζει δυο στρώματα, το έξω και το έσω ενδονευρικό στρώμα. Το έξω ενδονευρικό στρώμα (των Key και Retzius) αποτελείται από επιμήκως προσανατολισμένες κολλαγόνες ίνες μεγάλης διαμέτρου, ενώ το έσω ενδονευρικό στρώμα (των Plent και Laidlaw) από ίνες μικρότερης διαμέτρου τοποθετημένες λοξά ή κυκλοτερώς σε σχέση με τις νευρικές ίνες. Στο έξω ενδονευρικό στρώμα ο επιμήκης προσανατολισμός των ινών του κολλαγόνου σε συνδυασμό με τους σωλήνες της βασικής μεμβράνης των αξόνων κατά τη νευρική αναγέννηση μετά από βλάβη του περιφερικού νεύρου^{16,18}.



Εικόνα 1.7: Κάθε περιφερικό νεύρο φέρει τέσσερα είδη στηρικτικού ιστού. Σε αυτάπεριλαμβάνεται το ενδονεύριο, το περινεύριο, το επινεύριο και το μεσονεύριο

Το περινεύριο περιβάλλει ομάδες νευραξόνων που σχηματίζουν τις νευρικές δεσμίδες. Αποτελείται από 7-8 συγκεντρικά στρώματα επιπεδωμένων κυττάρων που χωρίζονται μεταξύ τους από δέσμες κολλαγόνου. Τα κύτταρα ενώνονται μεταξύ τους με συναπτικά συμπλέγματα, ενώ κάθε στοιβάδα κυττάρων περιβάλλεται από εξωτερικό υμένα. Μεταξύ των εσωτερικών στρωμάτων του περινευρίου και των τριχοειδών του ενδονευρίου υπάρχουν στενές συνδέσεις έτσι ώστε να σχηματίζεται ένας αιματο-νευρικός φραγμός ανάλογος του αιματο-εγκεφαλικού^{20,21}.

Το επινεύριο αποτελεί ένα έλυτρο από χαλαρό ινοκολλαγονώδη ιστό που ενώνει τις νευρικές δεσμίδες μεταξύ τους, διακρίνεται δε σε έξω και έσω επινεύριο (εικόνα 1.7). Το έσω επινεύριο περιβάλλει τις μεμονωμένες νευρικές δεσμίδες, ενώ το έξω επινεύριο περιβάλλει ολόκληρο το νεύρο και ενώνεται με τον λιπώδη ιστό που καλύπτει τα περιφερικά νεύρα. Το επινεύριο περιέχει ινοβλάστες, μαστοκύτταρα, λιπώδη ιστό, κολλαγόνο και ελαστικές ίνες που προσδίδουν στο νεύρο την απαραίτητη ελαστικότητα²². Κατά μήκος του επινευρίου και παράλληλα με τις νευρικές ίνες ανευρίσκονται μια ή δυο αρτηρίες, φλέβες και λεμφαγγεία¹⁶. Κύρια αιτία νευρικής βλάβης στην περίπτωση μικροαγγειακής νόσου αποτελεί η φλεγμονή και η απόφραξη αυτών ακριβώς των αρτηριών.

Το μεσονεύριο αποτελώντας το αντίστοιχο του μεσεντερίου επεκτείνεται από το επινεύριο προς τους γύρω ιστούς. Δια του μεσονευρίου εισέρχεται στο νεύρο τμηματική αιματική παροχή. Παρά το γεγονός ότι το 1986 ο Millesi²³ υπέδειξε τη σημασία του μεσονευρίου, σύμφωνα με τον οποίο το μεσονεύριο είναι αυτό που επιτρέπει στο νεύρο να ολισθαίνει πάνω στο ιστικό του υπόστρωμα, η ύπαρξή του σήμερα αμφισβητείται.

1.1.5 ΑΓΓΕΙΩΣΗ ΚΑΙ ΝΕΥΡΩΣΗ ΤΟΥ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΟΥ – ΑΙΜΑΤΟΝΕΥΡΙΚΟΣ ΦΡΑΓΜΟΣ

Ο νευρικός ιστός χρειάζεται υψηλά ποσά οξυγόνου ώστε να εκτελέσει τις πολυάριθμες λειτουργίες του. Για το λόγο αυτό η αιματική ροή στα περιφερικά νεύρα είναι άφθονη και παρέχεται τόσο από τα εξωγενή όσο και από τα αυτόχθονα, ενδογενή αγγεία του νεύρου^{24,25}. Τα εξωγενή αγγεία διέρχονται διαμέσου του περινευρίου και τμηματικά τροφοδοτούν τα ενδογενή αγγεία μέσω των vasa nervorum. Τα ενδογενή αγγεία σχηματίζουν ένα επίμηκες αναστομωτικό πλέγμα στο εξωτερικό και στο εσωτερικό του επινευρίου και στο περινεύριο. Από το πλέγμα αυτό τα αγγεία διαπερνούν το περινεύριο φερόμενα λοξά και εισέρχονται στο ενδονεύριο με τη μορφή τριχοειδών, τα οποία περιβάλλονται συχνά από περικύτταρα. Επιπλέον ένας αριθμός ενδονευρικών αγγείων είναι παρόν, ο οποίος τροφοδοτεί τους νευράξονες. Τα ενδονευρικά αυτά τριχοειδή φέρουν στενές επιθηλιακές συνδέσεις που αποτελούν μέρος του αιματο-νευρικού φραγμού.

Η επιμήκης κατανομή των αγγείων εντός του νεύρου επιτρέπει στο χειρουργό να κινητοποιήσει τα περιφερικά νεύρα σε μεγάλη απόσταση χωρίς να περιορίσει σημαντικά την νευρική αγγειακή παροχή. Ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να δίνεται έτσι ώστε να αποφευχθεί ο τραυματισμός των μεγάλων τροφοφόρων αγγείων του νεύρου. Τα εξωγενή αγγεία προέρχονται από περιοστικά, μυοδερματικά και περιτοναϊκά αγγεία. Οι Breidenbach και Terzis πρότειναν μια ταξινόμηση της εξωτερικής αιματικής παροχής των περιφερικών νεύρων ιδιαίτερα σημαντική για τη χρήση των αγγειούμενων νευρικών μοσχευμάτων²⁶. Το

αξονικό περιβάλλον εντός του ενδονευρίου απομονώνεται από τον εξωκυττάριο χώρο με τη βοήθεια ενός φραγμού που ονομάζεται αιματο-νευρικός φραγμός¹⁵. Ο φραγμός αυτός σγηματίζεται από στενές ή αποφρακτικές συνάψεις (tight junctions) τόσο μεταξύ των κυττάρων της εσωτερικής στοιβάδας του περινευρίου, όσο και μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων του ενδονευρίου. Ο αιματο-νευρικός φραγμός εμφανίζεται αμέσως μετά τη γέννηση και φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση ενός άρτιου περιβάλλοντος για τους νευράξονες. qιαταραχή του φραγμού αυτού οδηγεί σε οίδημα του ενδονευρίου και καθιστά το περιφερικό νεύρο διαπερατό σε διάφορους επιβλαβείς παράγοντες. Ο φραγμός αυτός είναι φυσιολογικά διαπερατός στα απλά σάκχαρα (σχέση με τη διαβητική νευροπάθεια) και εμποδίζει την είσοδο φαρμάκων και άλλων ουσιών στα νεύρα που μπορεί να προκαλέσουν αποκλεισμό των νευρικών συνάψεων^{20,21}. Ο αιματο-νευρικός φραγμός καταργείται μετά από νευρική βλάβη με αποτέλεσμα την αύξηση της διαπερατότητας των ενδονευρικών αγγείων σε υγρά και πρωτεΐνες. Η αύξηση αυτή της διαπερατότητας μπορεί να σχετίζεται και με την απελευθέρωση πρωτεασών από τα μαστοκύτταρα, οι οποίες παίζουν ρόλο στον κατακερματισμό της μυελίνης σε συγκεκριμένες απομυελινωτικές νόσους²⁷. Μέχρι σήμερα έγουν αναγνωριστεί διάφορες πρωτεΐνες που σγετίζονται με τις αιματο-νευρικού φραγμού²⁸. διακυτταρικές συνάψεις του Σε στενές αυτές συμπεριλαμβάνονται οι κλοδίνες (claudins), 20 μέλη των οποίων έχουν βρεθεί στο ανθρώπινο γονιδίωμα²⁹. Η οκλουδίνη (occludin), ενώ θεωρούνταν ως η κύρια πρωτεΐνη των στενών συνάψεων, δεν είναι απαραίτητη για τον σχηματισμό τους. Επιπλέον διάφορες μελέτες έδειξαν ότι τα επίπεδα της οκλουδίνης σχετίζονται με τη διαπερατότητα των στενών συνάψεων. Η διαπερατότητα αυτή σήμερα πιστεύεται ότι σχετίζεται με την αλληλεπίδραση ενός ή περισσοτέρων από τις κλοδίνες, την οκλουδίνη και άλλες σχετιζόμενες με τις στενές συνάψεις πρωτεΐνες^{30,31}. Έχει αποδειχτεί ότι η νευρική βλάβη από σύνθλιψη (crush injury) προκαλεί κατάρρευση του αιματο-νευρικού φραγμού στο περιφερικό νευρικό σύστημα³². Επιπλέον έχει παρατηρηθεί ότι η έκφραση των κονεξίνων (connexin) Cx26, Cx32 και Cx43, οι οποίες αποτελούν πρωτεΐνες των γασματικών συνάψεων (συνάψεις επικοινωνίας-gap junctions) μεταβάλλεται μετά από νευρική βλάβη. Επίσης η οκλουδίνη συχνά συνυπάρχει με την Cx43 στο περινεύριο με αποτέλεσμα να θεωρείται πιθανός ο συσχετισμός της ρύθμισης των στενών συνάψεων με εκείνον των χασματικών συνάψεων³³. Τέλος στη διατήρηση του ενδοθηλιακού μέρους του αιματονευρικού φραγμού φαίνεται ότι συμμετέχουν και οι καδχερίνες οι οποίες αποτελούν μια ειδική ομάδα επιφανειακών κυτταρικών γλυκοπρωτεϊνών που μεσολαβούν στην κυτταρική προσκόλληση³⁴. Παρόλα αυτά η σχέση μεταξύ των αλλαγών στον αιματο- νευρικό φραγμό και την έκφραση των κλοδινών, της οκλουδίνης και των καδχερινών, μετά από νευρική βλάβη, παραμένει άγνωστη. Ο αιματο-εγκεφαλικός και ο αιματο-νευρικός φραγμός ενώ έχουν παρόμοια λειτουργία εμφανίζουν διαφορετική κατασκευή. Ο αιματο-νευρικός φραγμός θεωρείται ως επέκταση του αιματο-εγκεφαλικού στο περιφερικό νευρικό σύστημα προστατεύοντας τους νευράξονες από την τοξική επαφή τους με το πλάσμα του περιφερικού αίματος. Η διαπερατότητα του αιματονευρικού φραγμού διαφέρει μεταξύ των ειδών, των διαφόρων νεύρων και της εντόπισης ενός συγκεκριμένου νεύρου. Στο αναγεννούμενο περιφερικό νεύρο το τραυματισμένο περινεύριο γίνεται διαβατότητα των αγγείων του ενδονευρίου³⁵⁻³⁷. Αντιθέτως, στο κεντρικό νευρικό σύστημα, π.χ. στο οπτικό νεύρο, δεν παρατηρείται μετατραυματική αύξηση της διαπερατότητας³⁸.

Το 1867 ο Sappey ήταν ο πρώτος που παρατήρησε ότι νευρικές ίνες υπάρχουν και στο τοίχωμα των αγγείων των νεύρων³⁹. Οι δομές αυτές ονομάστηκαν από τον ίδιο «nervi nervorum». Αργότερα και άλλοι ερευνητές διαπίστωσαν την ύπαρξη νεύρωσης στο συνδετικό ιστό συγκεκριμένων κρανιακών και περιφερικών νεύρων⁴⁰. Οι νεότεροι ερευνητές συμπέραναν ότι τα «nervi nervorum» αποτελούνται από ίνες, δεσμίδες, κύτταρα και υποδοχείς που εντοπίζονται στο επινεύριο, στο περινεύριο και στο ενδονεύριο. Αποδείχτηκε δε ότι στα ενδονευρικά αιμοφόρα αγγεία του τριδύμου νεύρου υπάρχουν δυο είδη νευρικών ινών, αισθητικές και συμπαθητικές⁴¹. Οι νευρικοί υποδοχείς των ενδονευρικά στο επινεύριο και στο μπέρουν συο είδη νευρικών ινών, αισθητικές και συμπαθητικές⁴¹. Οι νευρικοί υποδοχείς των ενδονευρικής κυκλοφορίας, ιδιαίτερα στο επίπεδο της μικροκυκλοφορίας⁴². Όσον αφορά το τρίδυμο νεύρο οι ενδονευρικοί αυτοί υποδοχείς παίζουν καθοριστικό ρόλο στη γένεση του πόνου που σχετίζεται με τη νευραλγία του νεύρου αυτού⁴³⁻⁴⁵.

1.1.6. ΕΣΩΤΕΡΙΚΗ ΤΟΠΟΓΡΑΦΙΑ ΤΟΥ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΟΥ

Αρχικά, όταν ο Sunderland περιέγραψε την παρουσία των νευρικών δεσμίδων το 1947, ανέφερε ένα μοντέλο διαπλεκόμενων δεσμίδων τόσο έντονο ώστε η εσωτερική νευρόλυση και η χρήση των νευρικών μοσχευμάτων θεωρήθηκε αδύνατη (εικόνα 1.8B)⁴⁶. Ευτυχώς το μοντέλο αυτό του Sunderland αφορά μόνο το κεντρικότερο τμήμα των νεύρων. Όπως παρατηρήθηκε αργότερα από τους Williams και Jabaley το 1986, οι νευρικές δεσμίδες διατρέχουν το περιφερικό τμήμα του αντιβραχίου περισσότερο επιμήκως, με λιγότερη διαπλοκή από ότι το κεντρικότερο τμήμα αυτού⁴⁷. Η διαπλοκή αυτή που συμβαίνει στο κεντρικότερο τμήμα των νεύρων χωρίζει τις νευρικές ίνες με βάση τη λειτουργία τους, με αποτέλεσμα στο περιφερικό πλέον τμήμα του νεύρου οι δεσμίδες να περιέχουν σχεδόν αποκλειστικά αισθητικούς ή κινητικούς νευράξονες^{4,48}. Παρά το γεγονός ότι η κατανομή αυτή διαφέρει ανάλογα με το νεύρο, θεωρείται ότι σε γενικές γραμμές οι αισθητικές δεσμίδες τοποθετούνται περισσότερο περιφερικά, ενώ οι κινητικές περισσότερο κεντρικά^{49,50}.



Εικόνα 1.8: Αναπαράσταση της οργάνωσης των νευρικών δεσμίδων στα περιφερικά νεύρα

A. Η οργάνωση των νευρικών δεσμίδων με τη μορφή ινών καλωδίου όπως περιγράφτηκε από τους Jabaley et al. (Jabaley ME, Wallace WH, Heckler FR: Internal topography of major nerves of the forearm and hand: a current view. J Hand Surg (Am) 5:1-18, 1980)

B. Η εσωτερική τοπογραφία του περιφερικού νεύρου με την έντονη διαπλοκή των δεσμίδων όπως αυτή περιγράφτηκε από τον Sunderland (Sunderland S: Nerves and nerve injuries. Churchill Livinngstone, Edinburgh, p. 1046, 1978).

1.2 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΟΥ

1.2.1 ΗΛΕΚΤΡΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΜΕΤΑΛΟΣΗΣ ΤΩΝ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΩΣΕΩΝ

Στην κυτταρική μεμβράνη των νευρώνων εντοπίζονται εξειδικευμένες πρωτεΐνες στις οποίες συμπεριλαμβάνονται:

Διάσπαρτα κατανεμημένες πρωτεΐνες που λειτουργούν σαν αντλίες ιόντων, διατηρώντας
τη διαφορά δυναμικού μεταξύ της εσωτερικής και της εξωτερικής επιφάνειας της
μεμβράνης.

 Πρωτεΐνες-εκλεκτικοί αγωγοί ιόντων που λειτουργούν σαν τροποποιητές της ηλεκτρικής διαβάθμισης εκατέρωθεν της κυτταρικής μεμβράνης, μέσω σχηματισμού ανοικτών πόρων ή φραγμάτων. Το άνοιγμα ή το κλείσιμο των δικλειδωτών αυτών αγωγών μεταβάλει τη διαβατότητα της κυτταρικής μεμβράνης των νευρώνων στα διάφορα ιόντα.

Οι δικλειδωτοί αγωγοί ηλεκτρικής τάσης είναι ευρέως κατανεμημένοι στην κυτταρική μεμβράνη και παίρνουν μέρος στην «εκρηκτική» και ταχεία εκπόλωση. Οι αγωγοί αυτοί εντοπίζονται στις νευρικές συνάψεις όπου καθηλώνονται με ειδικά συνδετικά μόρια. Η δέσμευσή τους με νευροδιαβιβαστικές ουσίες οδηγεί στο άνοιγμα ή στο κλείσιμο των δικλειδωτών αγωγών. Το δυναμικό της μεμβράνης μιας παχιάς νευρικής ίνας όταν αυτή δεν μεταδίδει νευρικές ώσεις, βρίσκεται δηλαδή σε κατάσταση ηρεμίας, είναι περίπου 90 mV. Αυτό δηλώνει ότι το δυναμικό μέσα από την μεμβράνη είναι ηλεκτροαρνητικότερο κατά 90 mV από το εξωκυττάριο υγρό της νευρικής ίνας. Τα νευρικά σήματα μεταδίδονται με τα δυναμικά ενεργείας που αποτελούν ταχείες μεταβολές του δυναμικού της μεμβράνης. Εάν μια περιοχή του νευράξονα εκπολωθεί και το ρεύμα είναι ισχυρό, ανοίγουν οι δικλείδες των αγωγών για το Na^+ και το K^+ με αποτέλεσμα τη δημιουργία του δυναμικού ενεργείας. Στην περίπτωση αυτή η ηλεκτρική ώση μεταδίδεται προς το άκρο του νευράξονα, προκαλώντας αλυσιδωτή αντίδραση διέγερσης των δικλειδωτών αγωγών. Όσο μεγαλύτερη είναι η διάμετρος του νευράξονα, τόσο μεγαλύτερη είναι και η ταχύτητα μετάδοσης της νευρικής ώσης. Αντιθέτως, στην περίπτωση που το ρεύμα εκπόλωσης είναι μικρό οι δικλειδωτοί αγωγοί δεν θα ανοίζουν. Η νευρική ώση θα μετακινηθεί κατά μήκος του νευράξονα με παθητική τοπική μετάδοση και στη συνέχεια, αφού διανύσει μικρή απόσταση, θα εξαφανισθεί. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται νόμος του «όλον ή ουδέν» και ισχύει για όλους τους διεγέρσιμους ιστούς. Για τη φυσιολογική αγωγή της νευρικής ώσης, ο λόγος του δυναμικού ενεργείας προς τη βαλβίδα ερεθισμού, γνωστός και ως

«συντελεστής ασφαλείας», θα πρέπει να είναι μεγαλύτερος της μονάδος. Το δυναμικό ενεργείας απομακρυνόμενο από το σημείο της αρχικής διέγερσης άγεται και προς τις δυο κατευθύνσεις της νευρικής ίνας. Τελικά επεκτείνεται και στο πιο μικρό κλωνίο, έως ότου όλη η μεμβράνη του νευρικού κυττάρου εκπολωθεί. Το δυναμικό ενεργείας ακολουθεί τρία διαδοχικά στάδια:

Στάδιο ηρεμίας. Πρόκειται για το δυναμικό ηρεμίας της μεμβράνης. Σε αυτήν την κατάσταση η μεμβράνη λέγεται «πολωμένη» εξαιτίας του ισχυρού αρνητικού της δυναμικού.

 Στάδιο εκπόλωσης. Η κυτταρική μεμβράνη γίνεται απότομα διαβατή σε μεγάλες ποσότητες ιόντων νατρίου με αποτέλεσμα το δυναμικό της να ανέρχεται ταχέως προς τη θετική κατεύθυνση. Στις μικρότερες νευρικές ίνες μόλις πλησιάζει το μηδέν, παραμένοντας αρνητικό. Αντιθέτως στις μεγάλες νευρικές ίνες προσλαμβάνει θετική τιμή.

 Στάδιο επαναπόλωσης. Σε ελάχιστο χρονικό διάστημα από τη διάνοιξή τους οι δίαυλοι του νατρίου κλείνουν, ενώ οι δίαυλοι του καλίου ανοίγουν περισσότερο. Αποτέλεσμα αυτού είναι η ταχεία διάχυση των ιόντων καλίου προς τα έξω και η αποκατάσταση του δυναμικού ηρεμίας της κυτταρικής μεμβράνης.

1.2.2 Η ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΤΗΣ ΣΥΣΤΟΛΗΣ ΤΩΝ ΣΚΕΛΕΤΙΚΩΝ ΜΥΩΝ

Η σύναψη είναι μια ειδική σύνδεση που επιτρέπει την επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων. Το περιφερικό άκρο του νευράζονα εμφανίζει μια διόγκωση, το συναπτικό κομβίο το οποίο δεν έρχεται σε επαφή με το τελικό όργανο στόχο αλλά αφήνει ένα μικρό κενό εύρους 20 nm σχηματίζοντας έτσι τη συναπτική σχισμή. Το συναπτικό κομβίο περιέχει μιτοχόνδρια, μικροσωληνίσκους και νευροϊνίδια καθώς επίσης και τα νευροεκκριτικά κοκκία. Τα τελευταία αφορίζονται σαφώς από μεμβράνη, έχουν διάμετρο 40-65 nm και περιέχουν τις διαβιβαστικές ουσίες που εκκρίνονται στις συνάψεις. Επιπλέον περιέχουν και μη- διαβιβαστικές πρωτεΐνες που μπορούν να ανιχνευθούν ανοσοϊστοχημικά, όπως την συναπτοφυσίνη, μια γλυκοπρωτεΐνη της μεμβράνης των κοκκίων και τις χρωμογρανίνες, οι οποίες αποτελούν πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην έγκλειση της διαβιβαστικής ουσίας στα κοκκία. Στο κεντρικό νευρικό σύστημα οι συνάψεις εμφανίζουν μια ποικιλία συνδυασμών, όπως μεταξύ αξόνων και δενδριτών, αξόνων και άλλων αξόνων καθώς και μεταξύ αξόνων και κυτταρικών σωμάτων.
Η νευρομυϊκή σύναψη αποτελεί μια εξειδικευμένη μορφή σύναψης μεταξύ ενός κινητικού νευράζονα και ενός σκελετικού μυός (εικόνα 1.9). Οι μυϊκές ίνες των σκελετικών μυών δέχονται νεύρωση από παχείες, εμμύελες νευρικές ίνες, οι οποίες προέρχονται από τους μεγάλους κινητικούς νευρώνες των προσθίων κεράτων του νωτιαίου μυελού. Σε κάθε μυϊκή ίνα ανευρίσκεται μόνο μια νευρομυϊκή σύναψη, με εξαίρεση το 2% των περιπτώσεων. Στο περιφερικό της άκρο η νευρική ίνα διακλαδίζεται σχηματίζοντας ένα σύμπλεγμα νευρικών απολήξεων, οι οποίες εκτείνονται μέσα σε εγκόλπωμα της μυϊκής ίνας. Η κατασκευή αυτή ονομάζεται τελική κινητική πλάκα και καλύπτεται από ένα ή περισσότερα κύτταρα Schwann, τα οποία την απομονώνουν από το γύρω περιβάλλον. Τα άφθονα μιτοχόνδρια που υπάρχουν στην απόληξη του νευράξονα παρέχουν την απαιτούμενη ενάργεια, κυρίως για τη σύνθεση της διεγερτικής διαβιβαστικής ουσίας ακετυλοχολίνης. Στο βασικό πέταλο που καλύπτει τη συναπτική σχισμή βρίσκονται συνδεδεμένες μεγάλες ποσότητες του ενζύμου ακετυλοχολινεστεράση, το οποίο διασπά την ακετυλοχολίνη. Όταν το κύμα εκπόλωσης φθάσει στο συναπτικό κομβίο, προκαλείται απελευθέρωση της ακετυλοχολίνης από τα νευροεκκριτικά κοκκία με εξωκυττάρωση. Ακολούθως η διαβιβαστική ουσία διαπερνά το συναπτικό χάσμα και αντιδρά με τους υποδοχείς της μετασυναπτικής μεμβράνης της μυϊκής ίνας. Στη συνέχεια γίνεται διάνοιξη των «χολινεργικών» διαύλων με αποτέλεσμα την είσοδο μεγάλου αριθμού ιόντων Νa⁺ και επομένως θετικών φορτίων στο εσωτερικό της μυϊκής ίνας. Με τον τρόπο αυτό δημιουργείται ένα τοπικό δυναμικό που ονομάζεται δυναμικό της τελικής κινητικής πλάκας. Το τελευταίο προκαλεί την έναρξη ενός δυναμικού ενεργείας στην κυτταρική μεμβράνη της μυϊκής ίνας με τελικό αποτέλεσμα την πρόκληση της μυϊκής συστολής.



Εικόνα 1.9: Η τελική κινητική πλάκα της γραμμωτής μυϊκής ίνας.

1.2.3 ΑΞΟΝΙΚΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑ

Οι νευρώνες είναι ευκαρυωτικά κύτταρα τα οποία διαθέτουν όπως και κάθε άλλο ευκαρυωτικό κύτταρο πυρήνα, συσκευή Golgi, ενδοπλασματικό δίκτυο, μιτοχόνδρια, λυσοσώματα και κυτταροσκελετό. Αν και τα νευρικά κύτταρα κατά τα άλλα δε διαφέρουν από τα υπόλοιπα κύτταρα, έχουν ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό όσον αφορά το σχήμα τους. Ένα τυπικό ευκαρυωτικό κύτταρο έχει συνήθως σφαιρικό σχήμα με διάμετρο περίπου 20-50 μm. Έτσι κάθε πρωτεΐνη που συντίθεται στο κέντρο του κυττάρου έχει να διανύσει απόσταση 10-25 μm ώστε να φθάσει στην κυτταρική επιφάνεια ή σε οποιοδήποτε άλλο σημείο εντός του κυττάρου. Από την άλλη πλευρά οι νευρώνες είναι ασύμμετρα κύτταρα με νευράξονα και δενδρίτες που εκτείνονται μακριά από το κυτταρικό σώμα έχουν να διανύσουν μεγάλες αποστάσεις για να φθάσουν στα άκρα του νευρικού κυττάρου. Μερικές φορές πρέπει να διανύσουν ακόμη και 10 cm, απόσταση 10.000 φορές μεγαλύτερη από τη διάμετρο του κυτταρικό σώματος.

Αν και η γενική ιδέα της μεταφοράς ουσιών από και προς το κυτταρικό σώμα χρονολογείται από τις αρχές του 1900, μόλις τα τελευταία 20 χρόνια ο μοριακός μηχανισμός της διαδικασίας αυτής άρχισε να γίνεται ξεκάθαρος. Ο πρώτος που παρατήρησε τη μεταφορά των διαφόρων ουσιών ήταν ο Scott το 1906, ο οποίος πρότεινε ότι τα κυτταρικά σώματα εκκρίνουν «ουσίες ανάπτυξης» ώστε να διατηρείται η λειτουργία του άξονα, ενώ ήταν ο Paul Weiss αυτός που εισήγαγε πρώτος τον όρο αξονοπλασμική μεταφορά⁵¹. Ο Weiss, σε ένα απλό κατά τα άλλα πείραμα, παρατήρησε ότι εαν μία απολίνωση τοποθετηθεί γύρω από το νεύρο επίμυος σωματίδια συσσωρεύονται κεντρικά της απολίνωσης και σε μικρότερο βαθμό περιφερικά αυτής εξαιτίας της παρουσίας της φυγόκεντρου και της κεντρομόλου αξονικής μεταφοράς. Σήμερα πλέον είναι γνωστό πως η μεταβολική συντήρηση των νευραξόνων απαιτεί ένα σύστημα μεταφοράς των οργανιδίων, των μεταβολιτών και των ενζύμων από και προς το κυτταρικό σώμα^{52,53}.

Τα διάφορα στοιχεία του κυτταροσκελετού (τουμπουλίνη, μικροσωληνίσκοι, νευροϊνίδια, μικροϊνίδια και ακτίνη), καθώς και τα ένζυμα μεταφέρονται φυγόκεντρα με ταχύτητα 1-6 mm/ημέρα, με έναν άγνωστο μηχανισμό. Πρόκειται για τη βραδεία αξονική μεταφορά η οποία αποτελεί μια μονόδρομη διαδικασία⁵⁴. Τα νευροϊνίδια διαλύονται από Τα οργανίδια που περιβάλλονται από μεμβράνη, όπως τα νευροεκκριτικά κυστίδια, καθώς και ουσίες που είναι απαραίτητες για την ανασύνθεση της κυτταρικής μεμβράνης (λιπίδια, γλυκοπρωτεΐνες) μεταφέρονται με την προς τα πρόσω ταχεία αξονική μεταφορά με ταχύτητα 410 mm/ημέρα⁵⁵. Η μεταφορά αυτή γίνεται με τη βοήθεια των μικροσωληνίσκων, οι οποίοι χρησιμοποιούν το μόριο κινησίνη ως μοριακό κινητήρα. Η προς τα πρόσω ταχεία αξονική μεταφορά εξαρτάται από την τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP) και από τα ιόντα ασβεστίου και μαγνησίου. Ουσίες, όπως η τριοφλουοπεραζίνη, οι οποίες μπλοκάρουν την πρωτεΐνη ενεργοποίησης του ασβεστίου καλμοδουλίνη, μπορούν να εμποδίσουν την αξονική μεταφορά. Επίσης ουσίες όπως η βινκριστίνη και η βινπλαστίνη συνδέονται με την τουμπουλίνη και διαταράσσουν τη φυσιολογική συγκέντρωση των νευροσωληνίσκων, εμποδίζοντας την προς τα πρόσω ταχεία αξονική μεταφορά⁵⁶.

Η επαναφορά της ανακυκλωμένης μεμβράνης και των χρησιμοποιημένων οργανιδίων από το συναπτικό άκρο προς το κυτταρικό σώμα του νευρώνα γίνεται με την ανάδρομη ταχεία μεταφορά με ταχύτητα 300 mm/ημέρα^{55,57}. Η μεταφορά αυτή επιτυγχάνεται με τους μικροσωληνίσκους μεταφοράς, που χρησιμοποιούν το μόριο δυνεΐνη ως μοριακό κινητήρα. Έχει αναφερθεί ότι τα μετασυναπτικά κύτταρα εκκρίνουν ουσίες οι οποίες συλλέγονται από το συναπτικό άκρο του νεύρου, πακετάρονται σε κυστίδια και μεταφέρονται ανάστροφα προς το κυτταρικό σώμα, όπου χρησιμοποιούνται ως αγγελιοφόροι ή ως ρυθμιστικές ουσίες. Οι μετασυναπτικοί αυτοί αγγελιοφόροι δρουν σαν τοπικές ορμόνες (κυτοκίνες) διεγείροντας τη γονιδιακή έκφραση στους προσυναπτικούς νευρώνες. Η ανάδρομη ταχεία μεταφορά αποδεικνύεται με τη χρήση βιολογικών δεικτών, όπως είναι η HRP (horseradish peroxidase), η οποία δεσμεύεται από το συναπτικό άκρο του νευρικού κυττάρου και μεταφέρεται μέσα σε κυστίδια προς το κυτταρικό σώμα. Την ανάδρομη αυτή μεταφορά χρησιμοποιούν και πολλοί μικροοργανισμοί για τη μετακίνηση των ίδιων ή των τοξινών τους στο νευρικό σύστημα. Η νευροτοξίνη του τετάνου και νευροτροπικοί ιοί όπως του έρπητα, της λύσσας και της πολιομυελίτιδας μπορούν να μεταφέρονται στο κεντρικό νευρικό σύστημα με την κεντρομόλο μεταφορά³⁸. Εξάλλου όπως θα αναφερθεί και στη συνέχεια της παρούσας μελέτης, κατά μήκος του νευράξονα μεταφέρονται και οι νευροτροφικοί παράγοντες. Στα ανώριμα νεύρα, αυξητικοί παράγοντες προσλαμβάνονται από τα άκρα των νεύρων και μεταφέρονται προς τα κυτταρικά σώματα διαδραματίζοντας έτσι σημαντικό ρόλο στην ωρίμανση των νευρώνων. Στα ώριμα νευρικά κύτταρα η μεταφορά αυξητικών παραγόντων μπορεί να επηρεάσει τον μεταβολισμό τους, ενώ η απουσία τους μπορεί να οδηγήσει σε χρωματόλυση.

Δεν είναι ακόμη ξεκάθαρο αν κατά τη διάρκεια της νευρικής αναγέννησης ο ρυθμός της αξονικής μεταφοράς αυξάνεται, μειώνεται ή παραμένει αμετάβλητος. Σύμφωνα πάντως με τους περισσότερους ερευνητές, στο αναγεννούμενο περιφερικό νεύρο ο ρυθμός της αξονικής μεταφοράς δεν μεταβάλλεται. Αντιθέτως αυξάνουν οι μεταφερόμενες ουσίες ή η σύνθεση των μεταφερόμενων πρωτεϊνών⁵⁹. Τέλος έχει αποδειχθεί πως η αξονική μεταφορά μειώνεται με την αύξηση της ηλικίας⁶⁰.

1.3 ΔΟΜΗ ΟΣΤΟΥ

Το οστό αποτελέι μια εξειδικευμένη μορφή στηρικτικού ιστού στον οποίο τα εξωκυττάρια συστατικά έχουν αφαλατωθεί. Αποτελέιται από ασβεστοποιημένες πρωτεΐνες που βρίσκονται έξω από τα κύτταρα και αποτεούν το οστεοειδές. Το οστεοειδές αποτελείται από κολλαγόνο τύπου Ι και γλυκοζαμινογλυκάνες που περιέχουν γλυκοπρωτεΐνες που μπορούν να δεσμεύσουν μεγάλες ποσότητες ασβεστίου, όπως οστεοκαλσίνη. Τα άλατα ασβεστίου δίνουν στο οστό μηχανική ισχύ. Το ασβέστιο μαζί με τα φωσφορικά ιόντα σχηματίζουν τον υδροξυαπατίτη [Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂]. Αν και το οστό είναι σχεδόν άκαμπτο, οι ίνες κολλαγόνου του προσδίδουν μικρό βαθμό ελαστικότητας.

Στον άνθρωπο το οστό αποτελείται από μια εξωτερική συμπαγή ζώνη η οποία αποκαλείται φλοιός, μέσα στην οποία βρίσκεται η δοκιδώδης ή σπογγώδη ζώνη. Ο φλοιός είναι αυτός που δέχεται και ανθίσταται στις δυνάμεις παραμόρφωσης, ενώ το δοκιδώδες οστό δρα σαν ένα πολύπλοκο σύστημα στηριγμάτων. Ο χώρος ανάμεσα στις δοκίδες γεμίζει με λίπος ή ερυθρό μυελό ο οποίος παράγει τα κύτταρα του αίματος. Η δομική μονάδα οστού είναι ο οστεώνας (Εικόνα 1), ο οποίος αποτελείται από τους αβέρσειους σωλήνες (Εικόνα 2) μέσα στους οποίους βρίσκονται αιμοφόρα αγγεία και νεύρα, και το οστεοειδές που σχηματίζει πέταλα γύρω του. Το οστό περιβάλλεται από ένα «μανδύα» από ινοκολλαγονώδη ιστό, το περιόστεο⁶¹.











B

Εικόνα 1.11

Α. Αβέρσειοι σωλήνες σε φλοιώδες οστούν

B. Μεγέθυνση των αβέρσειων σωλήνων (Εικόνες από micro CT, Scanco Medical)

Τα κύτταρα που βρίσκονται στο οστό είναι τριών ειδών:

Οι οστεοβλάστες που είναι είναι υπεύθυνες για τη σύνθεση και έκκριση του οργανικού στοιχείου της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας του νεισχηματιζόμενου οστού, μιας ουσίας γνωστής ως οστεοειδές. Οι οστεοβλάστες εγκλωβίζονται στο εσωτερικό του οστού ως οστεοκύτταρα τα οποία στη συνέχεια γίνονται υπέυθυνα για τη συντήρηση της οστικής θεμέλιας ουσίας⁶². Η διαφοροποίηση των οστεοβλαστών in vivo γίνεται γίνεται με τις ιντερλευκίνες (IL), τον αυξητικό παράγοντα των αιμοπεταλίων (PDGF) και τον αυξητικό παράγοντα της ινσουλίνης (IGF). Οι οστεοβλάστες ανταποκρίνονται στη δράση της παραθορμόνης (PTH), κολλαγόνο τύπου Ι, οστεοκαλσίνη και οστική σιαλοπρωτεΐνη.

Τα οστεοκύτταρα τα οποία, όπως και οι οστεοβλάστες προέρχονται από κύτταρα μεσεγχυματικού τύπου που ονομάζονται οστεοπρογονικά κύτταρα. Συμβάλλουν στην ομοιόσταση του οστίτη ιστού και αποτελούν το 90% των κυττάρων του ώριμου σκελετού.
 Ουσιαστικά είναι πρώην οστεοβλάστες οι οποίες περιβάλλονται από νεοσχηματιζόμενη θεμέλια ουσία. Διεγέιρονται από την καλσιτονίνη και αναστέλλονται από την παραθορμόννη (PTH).

Οι οστεοκλάστες που είναι πολυπύρηνα κύτταρα με προέλευση πιθανώς από το σύστημα των μακροφάγων-μονοκυττάρων. Συμμετέχουν ενεργά στις διαδικασίες απορρόφησης που συνοδεύουν τη συνεχή ανακατασκευή του οστού. Συνθέτουν

φωσφορικό οξύ ανθεκτικό στο τρυγικό οξύ. Παράγουν ιόντα υδρογόνου (μέσω της καρβονικής ανυδράσης), τα οποία μειώνουν το pH και αυξάνουν τη διαλυτότητα των κρυστάλλων υδροξυαπατίτη, ενώ η οργανική θεμέλια ουσία απομακρύνεται με πρωτεόλυση^{63,64}.

Η θεμέλια ουσία του οστού αποτελείται από οργανικά (40%) και ανόργανα συστατικά (60%). Στα οργανικά συστατικά συγκαταλέγονται το κολλαγόνο τύπου, οι πρωτεογλυκάνες, οι μηκολλαγονικές πρωτεΐνες θεμέλιας ουσίας όπως η οστεοκαλσίνη καθώς και αυξητικοί παράγοντες και κυτοκίνες. Όσον αφορά τα ανόργανα συστατικά, εννοούμε το ασβέστιο σε μορφή κρυστάλλων υδροξυαπατίτη και το φωσφορικό ασβέστιο (βρουσίτης).

1.4 ΟΣΤΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ

1.4.1 ΓΕΝΙΚΑ ΠΕΡΙ ΟΣΤΙΚΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ

Οι διαφορές στο μέγεθος των οστών εμφανίζονται πολύ νωρίς στη ζωή πολύ πριν από την εφηβεία και είναι πολύ πιθανό να εμφανίζονται και στην ενδομήτριο ζωή⁶⁵. Το οστό ξεκινά να διαμορφώνεται όταν τα μεσεγχυματικά κύτταρα δημιουργούν συναθροίσεις (συπυκνώσεις) που προσκολλώνται μέσω της έκφρασης μορίων προσκόλλησης⁶⁶ (Εικόνα 1.12).



Εικόνα 1.12: Επιμήκης τομή του αρχικού κέντρου οστεοποίησης βραχιονίου σε 14 εβδομάδων έμβρυο παρουσιάζει πληθώρα οστεοβλαστών στο μαλακό φλοιό του περιοστέου καθώς και νεοσχηματιζόμενο οστό

Το οστό πρέπει να είναι δύσκαμπτο αλλά ταυτόχρονα και τόσο εύκαμπτο ώστε να αλλάζει σχήμα για την απορρόφηση ενέργειας. Επιπρόσθετα πρέπει να είναι ελαφρύ τόσο ώστε επιτρέπει την ευκινησία⁶⁵⁻⁶⁷. Η επιμήκης οστική ανάπτυξη είναι επιζήμια όσον αφορά τη σταθερότητα του οστού, γεγονός το οποίο αντιρροπείται την ταυτόχρονη οστική ανάπτυξη σε πλάτος⁶⁸. Παρ' όλ αυτά η οστική ανάπτυξη σε πλάτος δεν έχει μελετηθεί τόσο εκτενώς όσο η επιμήκης οστική ανάπτυξη⁶⁹.

Η οστική ανάπτυξη και εμφάνιση αποτελούν πολυπαραγοντικές διαδικασίες που είναι αποτέλεσμα σύνθετων αλληλεπιδράσεων γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων συμπεριλαμβανομένων της δίαιτας, των ορμονών και των μηχανικών ερεθισμάτων⁷⁰⁻⁷³. Η οστική ανάπτυξη κατά μήκος ελέγχεται τόσο από συστηματικούς και τοπικούς ορμονικούς παράγοντες όσο και από μηχανικούς. Έχουν προταθεί δύο μοντέλα για τον έλεγχο της οστικής ανάπτυξης κατά πλάτος: η μηχανική θεωρία (όπου οι μηχανικές ανάγκες ελέγχουν ουσιαστικά την περιοστική εναπόθεση) και η θεωρία του προγραμματισμένου μεγέθους (κατά την οποία ένα κύριο γονίδια ή μία ομάδα γονιδίων ελέγχουν την κατά πλάτος οστική ανάπτυξη μέχρις ενός προκαθορισμένου σημείου, ανεξαρτήτως των μηχανικών αναγκών)⁶⁹.

Η κατανόηση της σύνθετης διαδικασίας της οστικής ανάπτυξης είναι μείζονος σημασίας τόσο για τη διάγνωση μεταβολικών και αναπτυξιακών ασθενειών των οστών⁷⁴ καθώς και για τον κίνδυνο πρόκλησης καταγμάτων^{75,76}.

1.4.2 ΣΥΖΕΥΚΤΙΚΟΣ ΧΟΝΔΡΟΣ

Ο συζευκτικός χόνδρος βρίσκεται μεταξύ της επίφυσης και της διάφυσης των οστών και είναι υπεύθυνος για την κατά μήκος ανάπτυξη των οστών. Αποτελείται κυρίως από ίνες κολλαγόνου, πρωτεογλυκάνες και νερό, ουσίες οι οποίες είναι δομημένες με τέτοιο τρόπο θυμίζοντας σφουγγάρι με πολύ μικρούς πόρους⁷⁷. Ο συζευκτικός χόνδρος βρίσκεται ανάμεσα στην επίφυση και τη μετάφυση στο περιφερικό άκρο των μακρών οστών⁷⁸ και εξαρτάται άμεσα από το βαθμό τάσης που δέχεται^{79,80}, πράγμα που σημαίνει ότι είναι σκληρή και άκαμπτη όταν πιέζεται γρήγορα αλλά πιο μαλακή όταν υπόκειται αργή παραμόρφωση. Ο συζευκτικός χόνδρος οστεοποιείται μετά την εφηβεία και τη σύγκλειση των επιφύσεων⁸¹.

Ιστολογικά ο συζευκτικός χόνδρος αποτελείται από οριζόντιες ζώνες χονδροκυττάρων σε διαφορετικά στάδια διαφοροποίησης⁶⁸. Η ζώνη ηρεμίας, η οποία βρίσκεται στο επιφυσιακό άκρο του συζευκτικού χόνδρου. Είναι σχετικά ανάγγεια ζώνη και λειτουργεί σα χώρος αναμονής και παραγωγής θεμέλιας ουσίας. Αποτελείται από χονδροκύταρρα σε ηρεμία τα οποία είναι μείζονος σημασίας για τον προσανατολισμό των υποκείμενων χονδροκυττάρων και ως εκ τούτου για την ομοιόμορφη κατεύθυνση της οστικής ανάπτυξης, εκκρίνοντας πιθανότατα έναν παράγοντα προσανατολισμού του συζευκτικού χόνδρου^{78,82}. Ακολουθεί η ζώνη πολλαπλασιασμού στην οποία αποπλατυσμένα χονδροκύτταρα υπόκεινται σε κυτταρική διαίρεση επιμήκως και ταξινομούνται σε τυπική διάταξη σε στήλες (Εικόνα 1.13). Σε κάποιο σημείο τα χονδροκύτταρα της ζώνης πολλαπλασιασμού χάνουν την ικανότητά τους να διαιρούνται. Αρχίζουν να διαφοροποιούνται και γίνονται προϋπερτροφικά, πράγμα που συμπίπτει με την αύξηση του μεγέθους⁶⁸. Τα χονδροκύτταρα αυτά βρίσκονται στην μεταβατική ζώνη (προϋπερτροφική ή ζώνη ωρίμανσης). Στην υπερτροφική ζώνη, ωοειδή χονδροκύτταρα εκκρίνουν πρωτεΐνες σε μεγάλες ποσότητες⁷⁸. Στο στάδιο αυτό χαρακτηρίζεται από ενδοκυττάρια συγκέντρωση ασβεστίου η οποία είναι υψίστης σημασίας για τη δημιουργία κυστιδίων. Τα κυστίδια αυτά αποτελούν ουσιαστικά μικρούς μεμβρανώδεις σχηματισμούς που απελευθερώνονται από τα χονδροκύτταρα^{83,84} και εκκρίνουν φωσφορικό ασβέστιο, υδροξυαπατίτη και μεταλλοπρωτεΐνες που έχουν ως αποτέλεσμα της μεταλλοποίησης των κυστιδίων καθώς και των στοιχείων που τα περιβάλλουν⁶⁸. Τα χονδροκύτταρα σε αυτή τη ζώνη μεταλλοποίησης υπόκεινται τελικά σε προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (απόπτωση), αφήνοντας πίσω ένα ικρίωμα για το σχηματισμό νέου οστού.



one of proliferation physis zone of hypertrophy zone of degeneration

Εικόνα 1.13: Ζώνες του συζευκτικού χόνδρου (Εικόνα από Human Pathology, humpath.com)

1.4.3. ΕΠΙΜΗΚΗΣ ΟΣΤΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ

Σε γενικές γραμμές τα οστά επιμηκύνονται καθώς νέο ουσία συμπιέζεται ανάμεσα στη ζώνη εναπόθεσης του συζευκτικού χόνδρου και στη ζώνη της προσωρινής ασβεστοποίησης⁶⁸.

Η μεταγεννετική γραμμική ανάπτυξη λαμβάνει χώρα σε τρεις φάσεις. Η πρώτη φάση χαρακτηρίζεται από αυξημένο ρυθμό ανάπτυξης στην έναρξη της εμβρυϊκής ζωής και εν συνεχεία αυξημένη επιβράδυνση μέχρι το τρίτο έτος της ζωής. Η δεύτερη φάση χαρακτηρίζεται από από χαμηλότερη και μικρότερη επιβράδυνση της ανάπτυξης μέχρι την εφηβεία, ενώ η Τρίτη φάση έχει ως χαρακτηριστικό τον αυξημένο ρυθμό επιμήκους ανάπτυξης μέχρι τη μέγιστη τιμή της^{78,85,86}.

Το 1964 σε μία μελέτη ο Park⁸⁷ πρότεινε ότι η δομή του επιφυσιακού αρθρικού χόνδρου μπορεί να καθορίζει τη μορφή της διάφυσης του αναπτυσσόμενου οστού. Οι αλλαγές στην υπερτροφική ζώνη είναι ευθέως συνδεδεμένες με την μεταλλοποίηση της θεμέλιας ουσίας, την αγγειακλη διήθηση και την υποκείμενη ανάπτυξη⁸⁸. Η ενδοκυττάρια συγκέντρωση ασβεστίου αυξάνει στα υπερτροφικά χονδροκύτταρα στην υπερτροφική ζώνη του συζευκτικού χόνδρου. Παράλληλα τα χονδροκύτταρα αρχίζουν να μεταλλοποιούν τα επιμήκη διαφράγματα στην περιβάλλουσα θεμέλια ουσία⁸⁹ (Εικόνα 1.14).



Εικόνα 1.14: Επιμήκης τομή μηριαίου ιστού ενηλίκου με επένδυση από αρθρικό χόνδρο. Το σημείο της παλίρροιας διαχωρίζει τον ανόργανο αρθρικό χόνδρο από τον μεταλλοποιημένο και το φλοιώδη οστό της υποχόνδριας πλάκας.

Στη ζώνη του αναπτυξιακού χόνδρου μονοπύρηνα κύτταρα απροσδιορίστου προελέυσεως απορροφούν τα μη μεταλλοποιημένα οριζόντια διαφράγματα του αναπτυξιακού χόνδρου. Υτά τα κύτταρα ονομάζονται διαφραγματοκλάστες ή χονδροκλάστες^{89,90}. Τα αγγεία εισχωρούν σ΄αυτήν την περιοχή και ετοιμάζουν κατά κάποιο τρόπο το «δρόμο» για τα πρόδρομμα οστικά κύτταρα⁹¹. Το 80% των επιμήκων διαφραγμάτων του αναπτυξιακού χόνδρου αποροφφάται γρήγορα στη μεταφυσιακή ζώνη ακριβώς πίσω από την εισχώρηση των αιμοφόρων αγγείων προετοιμάζοντας το χώρο για τα πρόδρομα οστικά κύτταρα. Σε μία μελέτη οι Fazzalari και συνεργάτες αναφέρουν ότι το 40% των μεταλλοποιημένων διαφραγμάτων λειτουργούν ως εκμαγεία για τη δημιουργία πρόδρομου σπογγώδους οστού. Το υπόλοιπο 60% απορροφάται από τους χονδροκλάστες (οστεοκλάστες) κοντά στην περιοχή της αγγειακής διεύσδυσης⁹².

1.4.4 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΜΗΚΟΥΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ

Η επιμήκης οστική ανάπτυξη ρυθμίζεται από γενετικούς, ορμονικούς, αναπτυξιακούς καθώς και περιβαλλοντικούς παράγοντες^{81,93-95} (Πίνακας 1.2).

Πρέπει γενικότερα να υπάρχει έλεγχος σε τρία διαφορέτικά επίπεδα⁶⁸. Το πρώτο επίπεδο είναι είναι ο συστημικός έλεγχος από παράγοντες όπως η αυξητική ορμόνη (GH), οι φυλετικές ορμόνες και τα γλυκοκορτικοειδή. Οι βασικές συστημικές ορμόνες που ρυθμίζουν την ανάπτυξη του οστού κατά μήκος κατά την παιδική ηλικία είναι η αυξητική ορμόνη, ο ινσουλινόμορφος αυξητικός παράγοντας (IFG-1), οι θυρεοειδικές ορμόνες τριωδοθυρονίνη (T3) και θυροξίνη (T4), και τα γλυκοκορτικοειδή. Κατά την εφηβεία οι φυλετικές ορμόνες παίζουν το σπουδαιότερο ρόλο⁷⁸. Το δεύτερο επίπεδο ελέγχου αφορά

την τοπική ρύθμιση της ανάπτυξης από παράγοντες όπως το Indian Hedgehog (InH), το πεπτίδιο της παραθορμόνης (PTHrP) και οι ινοβλαστικοί αυξητικοί παράγοντες^{78,95}. Στο τρίτο επίπεδο ανήκει η μηχανική λειτουργία της οστικής ανάπτυξης⁶⁸.

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ:					
ΕΠΙΜΗΚΗ ΟΣΤΙΚΗ Α	ΝΑΠΤΥΞΗ	ΟΣΤΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΤΑ ΠΛΑΤΟΣ			
ΘΕΤΙΚΑ APNHTIKA		ΘETIKA	APNHTIKA		
Αυξητική Ορμόνη (GH)	Γλυκοκορτικοειδή	Ανδρογόνα	Οιστρογόνα		
Ινσουλινόμορφος αυξητικός παράγοντας 1 (IGF-1)	Οιστρογόνα	Παραθορμόνη			
Τριιωδοθυρονίνη (Τ3)	Πεπτίδιο Παραθορμόνης (PTH rP)	Μηχανικές δυνάμεις			
Θυροξίνη (Τ4)	Φόρτιση (μετά από καποιο όριο)				
Ανδρογόνα					
Indian Hedgehog (InH)					
Ινοβλαστικοί αυξητικοί παράγοντες					
Μορφογενετικές Οστικές Πρωτεΐνες (BMPs)					
Αγγειακοί ενδοθηλιακοί αυξητικοί παράγοντες					
Τάση					
Φόρτιση (μέχρι ενός ορίου) Νεύοωση					
1.0000001					

Πίνακας 1.2: Παράγοντες που επηρεάζουν την οστική ανάπτυζη

1.4.4.1 Συστημικός Έλεγχος

Μετά τη γέννηση, η αυξητική ορμόνη γίνεται ένας σημαντικός ρυθμιστής της επιμήκους οστικής ανάπτυξης και, μαζί με τον ινσουλινόμορφο αυξητικό παράγοντα 1, φαίνεται να είναι οι κύριοι ρυθμιστικοί παράγοντες στον υποθάλαμο του συζευκτικού χόνδρου⁷⁸. Σύμfωνα με τη θεωρία της σωματομεδίνης⁹⁶, η αυξητική ορμόνη διεγείρει την ηπατική παραγωγή ινσουλινόμορφου αυηξτικού παράγοντα 1, ο οποίος με τη σειρά του προάγει απευθείς την ανάπτυξη στο συζευκτικό χόνδρο⁸¹. Η αυξητική ορμόνη δρα στα χονδροκύτταρα στη ζώνη ηρεμίας και είναι υπεύθυνη για την τοπική παραγωγή ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα 1, οποίος ενεργοποιεί την κλωνική επέκταση των πολλαπλασιαζόμενων γονδροκυττάρων με ένα αυτικρινή τρόπο⁹⁷. Η έγγυση αυξητικής ορμόνης ή ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα σε πειραματόζωα που υπέστησαν υποφυσεκτομή, έκανε συντομότερο τον κυτταρικό κύκλο των αρχέγονων κυττάρων και των πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων στην περιοχή του συζευκτικού χόνδρου.. Επίσης μείωσε τη διάρκεια της φάσης υπερτροφικής διαφοροποίησης, με την αυξητική ορμόνη να παρουσιάζεται πιο αποτελεσματική⁸¹. Σύμφωνα με την πειραματική μελέτη των Hunziker και συνεργατών⁹⁸, η θεραπεία με αυξητική ορμόνη ή με ινσουλινόμορφο αυξητικό παράγοντα αποκαθιστά τη μέσο όγκο και ύψος του κυττάρου, όμως ο ρυθμός ανάπτυξης δεν μπορεί να ομαλοποιηθεί από αυτούς τους παράγοντες.

Οι θυρεοειδικές ορμόνες κατέχουν βασικό ρόλο στην οστική ανάπτυξη. Η τριιωδοθυρονίνη και, σε μικρότερο βαθμό, η θυροξίνη είναι ζωτικής σημασίας στην ομαλή οστική ωρίμανση^{94,99}. Ο νεανικός υποθυρεοειδισμός προκαλεί διαταραχές στην ανάπτυξη. Η καθυστέρηση στην ανάπτυξη μπορεί να παρουσιαστεί με «ύπουλο» τρόπο αλλά από τη στιγμή που εγκαθίσταται αποτελεί σοβαρό πρόβλημα⁸¹. Από την άλλη ο υπερθυρεοειδισμός αυξάνει το ρυθμό ανάπτυξης στα παιδιά και οδηγεί παράλληλα σε πρόωρη σύγκλειση του συζευκτικού χόνδρου και μειωμένο ανάστημα^{100,101}. Η τριιωδοθυρονίνη φαίνεται να επάγει τη συγκέντρωση κυττάρων από τη ζώνη ηρεμίας στη ζώνη πολλαπλασιασμού και διευκολύνει τη διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων του συζευκτικού χόνδρου (πρόδρομος της τριωδοθυρονίνης) αύξησε τον αριθμό των [³H] στους πυρήνες των σημασένων με μεθυλθυμιδίνη χονδροκυττάρων και την ενσωμάτωση [³⁵S] στους συζευκτικούς χόνδρους πειραματοζώων συνιστώντας με αυτό τον τρόπο έναεν ερεθισματαγωγό ρόλο στον πολλαπλασιασμό και στη διαφοροποίηση των χουδροκυττάρων¹⁰⁵.

Τα γλυκοκορτικοειδή καταστέλλουν την οστική ανάπτυξη τροποιώντας το μονοπάτι αυξητικής ορμόνης/ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα σε διαφορετικά επίπεδα⁸¹. Οι Silvestrini και συνεργάτες¹⁰⁶ εντόπισαν τον υποδοχέα γλυκοκορτικοειδών σε οστικά κύτταρα επίμυος που περιελάμβαναν χονδροκύτταρα. Ο υποδοχέας γλυκοκορτικοειδών είχε επίσης εντοπιστεί από τους Abu και συνεργάτες¹⁰⁷ σε ανθρώπινους συζευκτικούς χόνδρους, ιδιαίτερα σε υπερτροφικά χονδροκύτταρα, πράγμα που συνιστά άμεση επίδραση των γλυκοκορτικοειδών στο συζευκτικό χόνδρο. Η υπερβολική παρουσία γλυκοκορτικοειδών προάγει την οστική επαναρρόφηση, αναστέλλει την δράση των οστεοβλαστών και μειώνει την παραγωγή οστικής θεμέλιας ουσίας καθυστερώντας την ανάπτυξη στα παιδιά^{108,109}. Επιπλέον η επάρκεια γλυκοκορτικοειδών προήγαγε την απόπτωση των οστεοβλαστών και των οστεοκυττάρων σε πειραματικές μελέτες που έγιναν σε κουνέλια¹¹⁰ και σε ποντίκια¹¹¹, έχοντας ως αποτέλεσμα σχεδόν πλήρη απουσία νεοσχηματιζόμενου οστού⁸¹. Εκτός των άλλων τα γλυκοκορτικοειδήεπάγουν τη δυσλειτουργία των φυλετικών ορμονών και διαταράσσουν το μεταβολισμό της βιταμίνης D, οδηγώντας σε επιβλαβή αποτελέσματα στην οστική ανάπτυξη και ακεραιότητα¹¹². Έλλειψη ή χαμηλά επίπεδα γλυκοκορτικοειδών από την άλλη, όπως στην οικογενή έλλειψη, έχουν ως αποτέλεσμα υψηλά αναστήματα¹¹³.

Η επιμήκης οστική ανάπτυξη βασίζεται και στις φυλετικές ορμόνες ιδιαιτέρως κατά την εφηβεία⁸¹. Σε πειράματα που έγιναν σε ποντίκια, φάνηκε ότι η έλλειψη οιστρογόνων προήγαγε την οστική ανάπτυξηενώ από την άλλη η επάρκειά τους την ανέστειλλε¹¹⁴⁻¹¹⁶. Οι Nilsson και συνεργάτες¹¹⁷ εξέτασαν ανώριμα οστικά κουνέλια όπου είχαν υποστεί αφαίρεση ωοθηκών τα οποία αντιμετωπίστηκαν είτε με οιστρογόνα είτε με τν εκλεκτικό ρυθμιστή υποδοχέων οιστρογόνων raloxifene. Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι μειώνεται ο πολλαπλασιαμός των χονδροκυττάρων, το ύψος του συζευκτικού χόνδρου καθώς επίσης και ότι προάγεται η γήρανσή του. Πολλές πειραματικές μελέτες καταλήγουν ότι τα οιστρογόνα αναστέλλουν την επιμήκη οστική ανάπτυξη στην απουσία αυξητικής ορμόνης^{115,118,119}.

Τα ανδρογόνα μπορούν απευθείας να επηρεάσουν τη λειτουργία του συζευκτικού χόνδρου και είναι υπεύθυνα για κάποιες οστικές διαφορές ανάμεσα στο αρσενικό και το θηλυκό είδος¹²⁰⁻¹²². Σε αντίθεση με τα οιστρογόνα τα ναδρογόνα προάγουν την επιμήκη οστική ανάπτυξη όπως έχει τονιστεί και απο διάφορες μελέτες οι οποίες εκτίμησαν την επίδραση των ανδρογόνων σε αγόρια με καθυστερημένη ανάπτυξη^{123,124}.

1.4.4.2 Τοπικός Έλεγχος

Το Indian Hedgehog αποτελεί ένα ρυθμιστή θεμελιώδους σημασίας για την οστική ανάπτυξη, που συντάσσει τον πολλαπλασιασμό των χονδροκυττάρων, τη διαφοροποίησή τους, καθώς και τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών⁹⁵. Ανήκει στην οικογένεια των πρωτεϊνών hedgehog, η οποία είναι θεμελιώδους σημασίας στην εμβρυϊκή σχηματομορφή και ανάπτυξη⁶⁸. Η πολλαπλασιαστική επίδραση του Indian Hedgehog είναι πολύ πιθανό να έχει απευθείας δράση στα χονδροκύτταρα⁹⁵. Το 1996 οι Vortkamp και συνεργάτες¹²⁵ παρατήρησαν ότι η μειωμένη έκφραση του Indian Hedgehog στα μακρά οστά κοτόπουλων σταματούσε την διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων. Πιο πρόσφατα, οι St-Jacques και συνεργάτες¹²⁶ μελέτησαν μεταλλαγμένα πειραματόζωα (ποντίκια) στα οποία απουσίαζε το γονίδιο εκφρασης του Indian Hedgehog και βρήκαν αποτύχια τόσο στον πολλαπλασιαμό των χονδροκυττάρων. Το Indian Hedgehog θεωρείται ότι συντονίζει την ενδοχονδρική οστεοποίηση, ελέγχοντας παράλληλα τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων, τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών. Και τη διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων, τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και τη διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων, τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και τη σύνδεση χονδροκοτης και οστεογένεσης^{126,127}.

Το πεπτίδιο της παραθορμόνης (PTHrP) αρχικά συγκρατεί τα πολλαπλασιαζόμενα χονδροκύτταρα στη ζώνη πολλαπλασιασμού⁹⁵. Πειραματόζωα (ποντίκια) τα οποία δεν εξέφραζαν το πεπ΄τιδιο της παραθορμόνης παρουσίασαν επιτάχυνση ττης διαφοροποίησης των χονδροκυττάρων οδηγώντας σε νανισμό¹²⁸. Από την άλλη ετερότοπη έκφραση στο συζευκτικό χόνδρο αναστέλλει τη διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων με αποτέλεσμα μικρότερους χόνδρινους σκελετούς¹²⁹. Το πεπτίδιο της παραθορμόνης φαίνεται να ελέγχει την αναλογία τη προγραμματισμένης διαφοροποίησης των χονδροκυττάρων στο αναπτυσσόμενο ενδοχονδρικό οστούν και στο επίπεδο του συζευκτικού χόνδρου^{128,130-133}.

Οι ινοβλαστικοί αυξητικοί παράγοντες (FGFs) είναι βασικοί ρυθμιστές της εμβρυϊκής οστικής ανάπτυξης. Στο σύνολό τους είναι περίπου 22^{134,135}. Η αχονδροπλασία, η συχνότερη μορφή νανισμού, προκαλείται από μετάλλαξη στον υποδοχέα του ινοβλαστικών αυξητικών παραγόντων 3 (FGFR3)¹³⁶⁻¹³⁸. Η ανεπάρκεια του ινοβλαστικού αυξητικού παράγοντα 18 (FGF18) μπορεί επίσης να οδηγήσει σε καθυστερημένη οστεοποίηση και μειωμένη έκφραση οστεογονικών παραγόντων¹³⁹.

Οι Μορφογεννετικές Οστικές Πρωτεΐνες (BMPs) θεωρούνται σηματικοί ρυθμιστές της ανάπτυξης, της διαγοροποίησης και της μορφογένεσης κατά την εμβρυϊκή ηλικία¹⁴⁰. Το 2001 οι Minina και συνεργάτες¹⁴¹ έδειξαν ότι ο φυσιολογικός πολλαπλασιασμός των

χονδροκυττάρων απαιτεί παράλληλη ενεγοποίηση τόσο του Indian Hedgehog όσο και των Μορφογεννετικών Οστικών Πρωτεΐνων και ότι οι Μορφογεννετικές Οστικές Πρωτεΐνες μπορόυν να αναστείλλουν τη διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων ανεξάρτητα από το μονοπάτι Indian Hedgehog/Πεπτίδιο της Παραθορμόνης.

Ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF), ένας χημειοελκτικός παράγοντας για ενδοθηλιακά κύτταρα, είναι από του σημαντικότερους αυξητικούς παράγοντες για τα ενδοθηλιακά κύτταρα¹⁴². Έχει καίριο ρόλο στις ενέργειες που γίνονται στο τέλος του σταδίου του ενδοχονδρικού οστικού σχηματισμού. Αυτές οι ενέργειες περιλαμβάνουν τελική διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων, αγγειακή διήθηση, απόπτωση των χονδροκυττάρων και αντικατάστασή τους με οστίτη ιστό^{91,143,144}. Σε ποντίκια που απενεργοποιήθηκε ο αγγειακός ενδοθηλιακός παράγοντας παρατηρήθηκε καταστολή της διήθησης με αιμοφόρα αγγεία και της δημιουργίας σπογγώδους οστού παράλληλα με αυξημένο πάχος της υπερτροφικής ζώνης⁹¹.

1.4.4.3 Μηχανικός Έλεγχος

Οι μηχανικές δυνάμεις επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό το σχηματισμό και προσαρμογή του οστού¹⁴⁵. Η οστική ανάπτυξη από την πρώιμη νηπιακή ηλικία μέχρι την προχωρημένη εφηβεία σχετίζεται άμεσα με την αναλογία της μηχανικής φόρτισης (βάρος σώματος) και τη «δύναμης» του οστού (αξιολογείται από μέτρο ενότητας ή section modulus)¹⁴⁶. Η παρατήρηση ότι η συμπίεση αναστέλλει την οστική ανάπτυξη ήταν γνωστό από τη Ρωμαϊκή εποχή¹⁴⁷. Το 19° αιώνα παρουσιάστηκε ο κανόνας των Hueter-Volkmann. Ο κανόνας αυτός είναι γνωστός στους παιδοορθοπαιδικούς και είναι η βάση της οστικής διαμόρφωσης για τη διόρθωση γωνιωδών ανωμαλιών των κάτω άκρων καθώς και παραμορφώσεις της σπονδυλικής στήλης^{68,148}.

Αν η συμπίεση ανέστειλλε πάντα την οστική ανάπτυξη όπως θεωρούνταν, ο συζευκτικός χόνδρος θα ήταν τελείως ασταθής καθώς κάθε μικρή απόκλιση από την ευθυγράμμιση των μακρών οστών των κάτω άκρων θα οδηγούσε σε φαύλο κύκλο θετικής ανάδρασης με αποτέλεσαμ καταστροφικές παραμορφώσεις. Ήπια συμπίεση επηρεάζει θετικά, και όχι αρνητικά, την οστική ανάπτυξη. Παρ' όλ' αυτά όταν η συμπίεση στη μία πλευρά του συζευκτικού χόνδρου ξεπεράσει ένα συγκεκριμένο επίπεδο, η οστική ανάπτυξη καταστέλλεται και η βλάβη επιδεινώνεται⁶⁸. Το 1997 ο Frost¹⁴⁹, χρησιμοποιώντας ένα απλό γράφημα πρότεινε την κλινική παρακολούθηση των μηχανικών δυνάμεων που επηρεάζουν στην επιμήκη οστική ανάπτυξη. Η ήπια τάση καθώς και η ήπια συμπίεση επάγουν την οστική ανάπτυξη, ενώ μεγάλη συμπίεση την αναστέλλει (Εικόνα 1.15).



Τρεις κανόνες περιγράφουν την οστική προσαρμογή με μαθηματικούς όρους. Αρχικά η οστική προσαρμογή καθοδηγείται από δυναμική και όχι στατική φόρτιση. Επίσης χρειάζεται μόνο μια μικρή περίοδος μηχανικής φόρτισης για την έναρξη μιας προσαρμοστικής απάντησης (επιμηκύνοντας την περίοδο φόρτισης έχει αρνητική δράση στην περαιτέρω οστική προσαρμογή). Τέλος τα οστικά κύτταρα εγκαθίστανται σε ένα προσαρμοσμένο μηχανικό περιβάλλον φόρτισης, κάνοντάς τα να ανταποκρίνονται λιγότερο σε τακτικά ερεθίσματα φόρτισης¹⁴⁵.

Σημαντικό ρόλο στη φυσιολογία του οστού διαδραματίζει επίσης το νευρικό σύστημα με τον εξαρτώμενο από τη λεπτίνη κεντρικό έλεγχο της οστικής διαμόρφωσης μέσω του συμπαθητικού συστήματος¹⁵⁰. Διάφοροι ερευνητές προσπάθησαν να καθορίσουν την επίδραση της μυϊκής ενέργειας στην επιμήκη οστική ανάπτυξη¹⁵¹. Ο Pottorf¹⁵² το 1916 και οι Allison και Brooks¹⁵³ το 1921 ήταν ανάμεσα στους πρώτους που μελέτησαν αυτή τη σχέση. Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα οστά αναπτύσσονται λιγότερο μετά από απονεύρωση. Από την άλλη ο Ring το 1961¹⁵⁴ υποστήριζε ότι παρά τη νεύρωση η οστική ανάπτυξη αυξήθηκε. Σε πιο πρόσφατες μελέτες υποστηρίζουν ότι το νευρικό σύστημα παίζει αρνητικό ρόλο στην οστική ανάπτυξη. Ο Dysart και οι συνεργάτες¹⁵¹ έδειξαν ότι η έλξη των μυών επηρεάζουν την περιοστική τάση και κατά συνέπεια την οστική διαμόρφωση και την επιμήκη οστική ανάπτυξη. Σε μία κλινική μελέτη πο συμπεριλάμβανε 32 παιδιά με τραυματική πάρεση του βραχιονίου πλέγματος¹⁵⁵ υπολογίστηκε η αναλογία ασυμμετρίας ανάμεσα στην επογομένη κεφαλή του βραχιονίου οστού και της

σύστοιχης. Η ασυμμετρία καθορίστηκε διαιρώντας την πρόσθια περιοχή της κεφαλής του βραχιονίου με την οπίσθια. Βρέθηκε σημαντική διαφορά προεγχειρητικά μεταξύ των δύο πλευρών αλλά η αναλογία ασυμμετρίας βελτιώθηκε σημαντικά μετά την επέμβαση.

1.4.5 ΟΣΤΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΤΑ ΠΛΑΤΟΣ

Η οστική ανάπτυξη κατά πλάτος δεν έχει μελετηθεί σε τόσο βαθμό όσο η επιμήκης οστική ανάπτυξη. Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι μάζα σώματος και η μυϊκή δύναμη έχουν σημαντική επιρροή στην οστική δύναμη σε παιδιά και εφήβους¹⁵⁶⁻¹⁶¹. Καθώς η οστική ανάπτυξη σε πλάτος μεταβάλλεται αργά μετά την περίοδο ανάπτυξης, αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους καθοριστικούς παράγοντες της οστικής δύναμης καά τη διάρκεια της ζωής. Είναι σαφές ότι αν τα οστά αναπτύσσονταν μόνο επιμήκως και όχι κατά πλάτος, θα γινόντουσαν ασταθή και εύθραυστα⁶⁸.

Ιστολογικά οι οστεοβλάστες προσθέτουν ανόργανα ιστικά στοιχεία στο περιόστεο. Η διαδικασία αυτή ονιμάζεται περιστική εναπόθεση¹⁶². Το περιόστεο έχει ένα εξωτερικό στρώμα που αποτελείται κυρίως από ινώδη ιστό και ένα εσωτερικό στρώμα μαλακού φλοιού, το οποίο φιλοξενεί οστεογενετικά κύτταρα⁶⁸. Στα παιδιά η οστική διαμόρφωση είναι συνεχής, πράγμα το οποίο αποτελεί εγγύηση της διαμόρφωσης^{163,164}. Στους ενήλικες το περιόστεο μπορεί να υποστεί κυκλική επαναρρόφηση και μορφοποίηση, το οποίο είναι χαρακτηριστικό της επαναδιαμόρφωσης^{165,166}.

Μακροσκοπικά, το οστό αναπτύσσεται ταχέως στα πρώτα στάδια της ζωή. Μετέπειτα η ανάπτυξη συνεχώς μειώνεται φτάνοντας στο ναδίρ κατά την πρώιμη σχολική ηλικία⁶⁸. Είναι ξεκάθαρο ότι τα παχύτερα οστά πρέπει να έχουν υψηλότερη περιοστική εναπόθεση στη μεσότητα καθώς με αυτόν τον τρόπο αναπτύσσονται κατά πλάτος^{68,167}.

1.4.6 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΚΑΤΑ ΠΛΑΤΟΣ (Πίνακας 1.2)

1.4.6.1 Συστημικός Έλεγχος

Η περιοστική εναπόθεση στο διαφυσιακό τμήμα του οστού διεγείρεται από τα ανδρογόνα και την αυξητική ορμόνη και αναστέλλεται από τα ανδρογόνα¹⁶⁸⁻¹⁷⁰. Σε μία πειραματική μελέτη, ο Turner και οι συνεργάτες¹⁶⁸ υποστήριξαν ότι η θεραπεία με ανδρογόνα διεγείρει το σχηματισμό οστού σε πειραματόζωα (ποντίκια) τα οποία είχαν υποστεί ορχεκτομή και κατέστειλε το σχηματισμό οστού σε πειραματόζωα σε πειραματόζωα με ωοθηκεκτομή.

διαιθυλστιλβεστρόλης κατέστείλε επίσης τον οστικό σχηματισμό σε ποντίκια με ωοθηκεκτομή. Σύμφωνα με τον Parfitt¹⁷¹ η παραθυρεοειδής ορμόνη σχετίζεται με ταχύτερη περιοστική επέκταση σε ενήλικες. Επιπλέον διατροφή πλούσια σε ασβέστιο έχει παρόμοια αποτελέσματα σε παιδιά κυρίως όταν συνδυάζεται και με έντονη φυσική άσκηση¹⁷².

1.4.6.2 Τοπικός Έλεγχος

Με δεδομένο ότι η περιοστική ανάπτυξη είναι συγκεκριμένης θέσης ενώ οι ορμόνες και η διατροφή δεν έχουν συγκεκριμένη τοποθεσία δράσης στη δόμηση⁶⁸, είναι ξεκάθαρο ότι ο τοπικός έλεγχος είναι το «κλειδί» στην οστική ανάπτυξη κατά πλάτος. Η γενετική κληρονομιά φαίνεται ότι έχει σημαντική επίδραση στην περιοστική ανάπτυξη. Οι Volkmann και συνεργάτες¹⁷³, οι οποίοι πειραματίστηκαν με διάφορους γενετικούς δείκτες, κατέληξαν ότι ο γενετικός έλεγχος της γεωμετρίας του φλοιώδους οστού είναι σύνθετος και ότι το μέγεθος και το σχήμα του μηριαίου οστού μπορεί να επηρεάζεται από διαφορετικές αλλά επικαλυπτόμενες ομάδες γενετικών παραγόντων.

1.4.6.3 Μηχανικός Έλεγχος

Οι μηχανικές δυνάμεις, όπως και στην επιμήκη οστική ανάπτυξη φαίνεται ότι κατέχουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του οστού κατά πλάτος. Για παράδειγμα η διαφορά στο πλαχος μεταξύ του μηριαίου και του βραχιονίου οστού μπορεί να εξηγηθεί από τη διαφορά των μηχανικών δυνάμεων που δέχεται το κάθε οστό. Η άποψη αυτή υποστηρίχτηκε από τον Ruff (82), οποίος ότι η σχέση μεταξύ μεγέθους του σώματος (βάρος και ύψος) και οστικής αντοχής είναι μεγαλύτερη στη μηρό παρά στο βραχίονα.

Ο καίριος ρόλος των μηχανικών δυνάμεων στην οστική ανάπτυξη κατά πλάτος υποστηρίζεται επίσης από την μελέτη των Goodship και συνεργατών¹⁷⁴ οι οποίοι υπερφόρτωσαν την κερκίδα πειραματοζώων (χοίρων) αφαιρώντας μερικώς την ωλένη. Απέδειξαν ότι η κερκίδα ενδυναμώνεται με ταχεία περιοστική εναπόθεση. Το φαινόμενο αυτό παρατηρείται επίσης και σε κλινικό επίπεδο όταν η κνήμη αντικαθίσταται για διαφόρους λόγους από την περόνη.

1.5 ANATOMIA

1.5.1 ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΟΣΤΙΚΗΣ ΝΕΥΡΩΣΗΣ

Τα οστά νευρώνονται σύμφωνα με τον κανόνα του Hilton, πράγμα που σημαίνει ότι η νεύρωση των υπερκείμενων του οστού μυών καθώς και του δέρματος προέρχεται από τα ίδια νεύρα. Τα νεύρα τροφοδοτούν τα μακρά οστά εισερχόμενα σε αυτά σε πολλαπλές περιοχές. Το μεγαλύτερο νεύρο εισέρχεται στη διάφυση μέσω τροφοφόρων τρημμάτων και νευρώνει τον ενδομυελικό χώρο. Άλλα εισέρχονται από τις αρθρικές επιφάνειες και στις δύο πλευρές των επιφυσεων¹⁷⁵. Αισθητικές όπως και αυτόνομες νευρικές δεσμίδες βρίσκονται στα αγγεία στο περιόστεο, στα κανάλια του Volkmann, στο μυελό των οστών, στην οστεοχόνδρινη περιοχή του συζευκτικού χόνδρου και στην προσκόλληση της αρθρικής μεμβράνης¹⁷⁶⁻¹⁷⁹. Αντιθέτως υπάρχουν μελέτες οι οποίες υποστηρίζουν ότι υπάρχει ένα εκτενές δίκτυο αισθητικών αλλά και συμπαθητικών νευρικών δεσμίδων βρίσκονται περισσότερο στη σπογγώδη μοίρα των οστών παρά στο φλοιώδες οστούν, στο μυελό και στο συζευκτικό χόνδρο^{180,181}.

1.5.2 ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΒΡΑΧΙΟΝΙΟΥ ΠΛΕΓΜΑΤΟΣ

Το βραχιόνιο πλέγμα σχηματίζεται από τους πρόσθιους κλάδους των A5 έως Θ1 νωτιαίων νεύρων (Εικόνα 1.16) και πορεύεται κάτω από την κλείδα μεταξύ του πρόσθιου και του σκαληνού μυός. Οι ραχιαίοι πρωτεύοντες κλάδοι των νωτιαίων νεύρων από A5 έως Θ1 νευρώνουν τους μυς και τη ραχιαία επιφάνεια του τραχήλου. Το βραχιόνιο πλέγμα αποτελείται από ρίζες, πρωτεύοντα στελέχη, κλάδους των πρωτευόντων στελεχών, δευτερεύοντα στελέχη και κύρια νεύρα (Εικόνα 1.17).

- i. Πέντε ρίζες (A5-Θ1, αν και μπορεί να έχουν μικρή συνεισφορά οι A4 και Θ2 ρίζες)
- ii. Τρία πρωτεύοντα στελέχη (άνω, μέσο και κάτω)
- iii. Έξι κλάδοι (δύο από κάθε πρωτεύον στέλεχος)
- iv. Τρία δευτερέυοντα στελέχη (που λαμβάνουν την ονομασία τους από την ανατομική σχέση τους με τη μασχαλιαία αρτηρία (οπίσθιο, έξω και έσω). Η συνέχεια κάθε δευτερεύοντος στελέχους αναγράγονται στον πίνακα 1.3.
- Ν. Πολλαπλά κύρια νεύρα (τελικοί κλάδοι)- Οι τέσσερις τελικοί κλάδοι (κύρια νεύρα)
 που εκφύονται πριν την κλείδα (από τις ρίζες και τα πρωτεύοντα στελέχη) είναι:
 - Το ραχιαίο νεύτρο της ωμοπλάτης (A5)

- Το μακρό θωρακικό νεύρο (Α5-Α7) •
- Το υπερπλάτιο νεύρο (Α5-Α6) •
- Το υποκλείδιο (Α5-Α6) •



B

Εικόνα 1.16: Νωτιαίες ρίζες που αποτελούν το βραχιόνιο πλέγμα (Α5-Θ1). Α. Πλάγια άποψη Β. Πρόσθια άποψη

Πίνακας	1.3.	Τελικοί	κλάδοι	δευτε	ερερόντων	στελεγών	τ_{OD}	Boaylo	ง่อก	πλένμ	ατος
miranas.	1.J.	10/11/01	κλιασσι	00000	<i>pcoortwr</i>	010/02/07	100	ρρωχιο	100	ππωγμ	αιος

ΤΕΛΙΚΟΙ	ΚΛΑΔΟΙ	ΔΕΥΤΕΡΕΥΟΝΤΩΝ	ΣΤΕΛΕΧΩΝ	ΤΟΥ	BPAXIONIOY	
ΠΛΕΓΜΑΤΟΣ						
ΔΕΥΤΕΡΕΥΩΝ ΣΤΕΛΕΧΟΣ			ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΑ ΝΕΥΡΑ			
Έξω			Μυοδερματικό νεύρο			
Έξω θωρακικό νεύρο						
Οπίσθιο			Κερκιδικό και μασχαλιαίο νεύρο			
			Άνω και κάτω υποπλάτιο νέυρο			
		Θα	υρακοραχιαίο νεί	όρο		
Έσω		Ωλ	ιένιο νεύρο			
		Έc	σω θωρακικό νεύ	ро		
	Έσω βραχιονοδερματικό νεύρο				εύρο	
		Έc	σω αντιβραχιοδερ	ματικό	νεύρο	
Έσω και έξ	ω	М	έσο νεύρο			

Η νεύρωση των στροφέων του ώμου προέρχεται από τις ρίζες A5 και A6 ρίζες του βραχιονίου πλέγματος (Πίνακας 1.3 και 1.4).

Νεύρο	Μύες
Μυοδερματικό (έζω δευτερεύον στέλεχος)	Κορακοβραχιόνιος, δικέφαλος βραχιόνιος, πρόσθιος
	βραχιόνιος μυς
Μασχαλιαίο (ραχιαίο δευτερεύον στέλεχος)	Τρικέφαλος βραχιόνιος, βραχιονοκερκιδικός, μακρός
	και βραχύς κερκιδικός εκτείνων τον καρπό μυς
Οπίσθιο μεσόστεο	Υπτιαστής, ωλένιος εκτείνων τον καρπό, εκτείνων τους
	δακτύλους, ίδιος εκτείνων του μικρού δακτύλου,
	μακρός απαγωγός του αντίχειρα, μακρός και βραχύς
	εκτέινων τον αντίχειρα, ίδιος εκτέινων το δείκτη
Μέσο (έσω και έζω δευτερεύον στέλεχος)	Στρογγύλος πρηνιστής, κερκιδικός καμπτήρας του
	καρπού, μακρός παλαμικός, επιπολής καμπτήρας των
	δακτύλων, επιπολής κεφαλή του βραχέος καμπτήρα του
	αντίχειρα, αντιθετικός του αντίχειρα, πρώτος και
	δεύτερος ελμινδοειδής μυς
Πρόσθιο ή παλαμιαίο μεσόστεο	Εν τω βάθει καμπτήρας των δακτύλων (κερκιδική
	μοίρα), μακρός καμπτήρας του αντίχειρα, τετράγωνος
	πρηνιστής μυς
Ωλένιο (έσω δευτερεύον)	Ωλένιος καμπτήρας του καρπού, εν τω βάθει
	καμπτήρας των δακτύλων (ωλένια μοίρα), βραχύς
	παλαμικός, απαγωγός του μικρού δακτύλου, καμπτήρας
	του μικρού δακτύλου, τρίτος και τέταρτος ελμινθοειδής,
	μεσόστεοι, προσαγωγός του αντίχειρα, εν τω βάθει
	κεφαλή του βραχέος καμπτήρα του αντίχειρα μυός

Πίνακας 1.4. Νεύρωση του άνω άκρου από τους κλάδου του βραχιονίου πλέγματος

Τελικά νεύρα (περιφερικοί κλάδοι)	Δευτερεύ- οντα στελέχη	Υποδιαρέσεις (κύριοι κλάδοι) των πρωτευόντων στελεχών	Πρωτευοντα στελέχη	Ρίζες (κύριοι πρόσθιοι κλάδοι των νωτιαίων νεύρων) Α5
	Έξω	Πρόσθιος	Άνω	<
		10900 201800 -		A6
1	Οπίσθιος	Οπίσθιος	Μέσο) A7
		Dillogog		A8
	Έσω	Πρόσθιος	Κάτω	\leq
в	Τοποθετημέν γύρω από τη δεύτερη μοίρ της μασχαλιαίο			01

Εικόνα 1.17: Βραχιόνιο πλέγμα

1.5.3 ΤΡΑΥΜΑΤΙΣΜΟΣ ΒΡΑΧΙΟΝΙΟΥ ΠΛΕΓΜΑΤΟΣ

Δεν είναι γνωστό ακριβως πόσοι τραυματισμοί του βραχιονίου πλέγματος συμβαίνουν κάθε χρόνο παγκοσμίως, φαίνεται όμως ότι η επίπτωσή τους αυξάνεται. Οι ήπιοι τραυματισμοί του βραχιονίου πλέγματος μπορεί να αυτοϊαθούν. Αντιθέτως πιο σοβαρές βλάβες απαιτούν χειρουργικές επεμβάσεις για την αποκατάσταση της λειτυργικότητας του άνω άκρου.

Οι περισσότεροι τραυματισμοί του βραχιονίου πλέγματος λαμβάνουν χώρα όταν το άκρο έλκεται με δύναμη και διατείνεται. Τέτοιοι τραυματισμοί μπορούν να προκληθούν μετά από πτώση από μοτοσυκλέτα, τραυματισμό με αιχμηρό αντικείμενο ή πυροβόλο όπλο.

Οι τραυματισμοί του βραχιονίου πλέγματος μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως εξής:

- Εζελκυσμός: Ο πιο σοβαρός τραυματισμός. Η νευρική ρίζα έχει εξελκυστεί από το νωτιαίο μυελό. Οι συγκεκριμένες βλάβες δεν επιδέχονται θεραπείας
- Διάταση: Μπορεί αν αυτοϊαθεί και χωρίς χειρουργική αντιμετώπιση
- Διατομή: Μπορεί να προκληθεί λόγω ισχυρότερης διάτασης του νεύρου. Αυτού του τύπου οι βλάβες μπορούν να αποκατασταθούν σε κάποιο βαθμό με χειρουργική επέμβαση (Εικόνα 1.18)



Εικόνα 1.18: Τύποι βλάβης των ριζών του βραχιονίου πλέγματος (Εικόνα από Mayo Clinic)

Οι βλάβες του βραχιονίου πλέγματος μπορούν να διακριθούν σεανωτέρου και κατωτέρου τύπου. Οι ανωτέρου τύπυ βλάβες: Συνήθως συμβαίνει όταν η γωνία μεταξύ του ώμου και του αυχένα διατείνεται με δύναμη, όπως σε μία πτώση κατά την οποία ο ώμος πιέζεται προς τα κάτω και ο αυχένας προς την αντίθετη πλευρά (Εικόνα 1.19). Οι ασθενείς με παράλυση ανωτερου τύπου δεν είναι σε θέση να χρησιμοποιήσουν τον ώμο και να κάνουν απαγωγή. Παρουσιάζουν αδυναμία στο άκρο και μπορεί να μην είναι σε θέση να κάμψουν τον αγκώνα. Μπορεί να συνυπάρχει απώλεια αίσθησης στον ώμο, στην έξω επιφάνεα του άκρου και στον αντίχειρα.



Εικόνα 1.19: Βλάβη ανωτέρου τύπου του βραχιονίου πλέγματος (Εικόνα από Mayo Clinic)

Οι κατωτέρου τύπου βλάβες συμβαίνουν όταν η γωνία μεταξύ του άκρου και του θώρακα αυξάνεται με δύναμη (Εικόνα 1.20). Οι ασθένεις με τέτοιου τύπυ βλάβη διαυηρούν τη δύναμη του ώμου και του αγκώνα αλλά χάνουν τη λειτουργικότητα της άκρας χείρας. Μ ετο χρόνο θα δημιουργηθεί γαμψοδατυλία. Υπαισθησία υπάρχει τουλάχιστον στον παράμεσο και στο μικρό δάκτυλο.



Εικόνα 1.20: Κατωτέρου τύπου βλάβη του βραχιονίου πλέγματος (Εικόνα από Mayo Clinic)

1.5.4 ΠΕΡΙΓΕΝΝΗΤΙΚΗ ΠΑΡΑΛΥΣΗ ΒΡΑΧΙΟΝΙΟΥ ΠΛΕΓΜΑΤΟΣ

Οι παραλύσεις του βραχιονίου πλέγματος στα νεογνά προκαλούνται από την έλξη η οποία εφαρμόζεται κατά τον τοκετό στις ρίζες του πλέγματος, με τη συνδυασμένη κατάσπαση του ώμου και απόκλιση της αυχενικής μοίρας της σπονδυλικής στήλης προς την αντίθετη πλευρά. Αν και η συχνότητα της νεογνικής παράλυσης κυμαίνεται μεταξύ 0,4 και 1,6 ανά 1.000 γεννήσεις ζώντων, το ποσοστό αυτόματης αποκατάστασης κυμαίνεται μεταξύ 80 και 90%. Η συχνότητα έχει μειωθεί τις τελευταίες δεκαετίες, λόγω της εξέλιξης του προγενετικού ελέγχου και της ακρίβειας στην πρόβλεψη του βάρους γέννησης, όσο και λόγω της αύξησης των ενδείξεων καισαρικής τομής. Εντούτοις, αναφέρονται και περιπτώσεις παράλυσης του βραχιονίου πλέγματος σε συνάρτηση με καισαρική τομή, με συχνότητα 0,0042% έως 0,095%¹⁸².

Η παράλυση του βραχιονίου πλέγματος συνδέεται συνήθως με τις παρακάτω μαιευτικές καταστάσεις:

 Υπέρβαρα νεογνά (> 4 kg), συχνά σε περιπτώσεις ΣΔ της κύησης της μητέρας. Σε περιπτώσειςκεφαλικής προβολής η ωμική δυστοκία οδηγεί σε υπερέκταση της κεφαλής, αύξηση της απόστασηςκεφαλής-ώμου και έλξη κατά μήκος του πλέγματος.

Ισχιακή προβολή, συνήθως σε συνδυασμό με χαμηλό βάρος γέννησης, όπου συνήθωςπροσβάλλονται οι ανώτερες ρίζες.

3. Χρήση εργαλείων κατά τον τοκετό, όπως ο εμβρυουλκός.

Οι βασικοί κλινικοί τύποι της περιγεννητικής παράλυσης του βραχιονίου πλέγματος είναι:

Παράλυση ανωτέρου τύπου (Erb-Duchenne)

Είναι ο συχνότερος τύπος και προκαλείται από βλάβη των ριζών A5, A6 ± A7, με συνέπεια την παράλυση των απαγωγών και έξω στροφέων του ώμου και των καμπτήρων του αγκώνα. Το άνω άκρο βρίσκεται σε εσωτερική στροφή με προσαγωγή του ώμου, έκταση του αγκώνα και πρηνισμό του αντιβραχίου. Ο αγκώνας βρίσκεται σε πλήρη έκταση (παράλυση A5, A6) ή ελαφρά κάμψη (παράλυση A5, A6 και A7) και ο καρπός, και κάποιες φορές και τα δάκτυλα, βρίσκονται σε κάμψη (Εικόνα 1.21).

Παράλυση ολικού τύπου

Το άνω άκρο κρέμεται χαλαρό (χωρίς μυϊκό τόνο) στο πλάι του κορμού και αναίσθητο, ενώ απουσιάζουν τα αντανακλαστικά (Moro και σύλληψης). Η πάρεση του φρενικού και το σύνδρομο Claude-Bernard-Horner υποδεικνύουν μια βαρύτατη βλάβη (εξελκυσμός ριζών).



Εικόνα 1.21: Μαιευτική παράλυση ανωτέρου τύπου (Εικόνα από ηλεκτρονικό βιβλίο «Μικροχειρουργική Βασικές αρχές, Εφαρμογές & Τεχνικές)

1.6 ΣΚΟΠΟΣ

Αν και υπάρχουν μελέτες που έχουν ασχοληθεί με την επίδραση του περιφερικού νευρικού στις αναπτυσσόμενες σκελετικές δομές, εν τούτοις είναι διάσπαρτες ανά τις τελευταίες δεκαετίες^{151,155,183}. Επιπρόσθετα, δεν υπέπεσε στην αντίληψή μας κάποια μελέτη η οποία να αναδεικνύει την μεταβολή στην εμβιομηχανική συμπεριφορα των απονευρωμένων οστών. Έχοντας αυτά τα δεδομένα υπ' όψιν, σκοπός μας είναι να μελετήσουμε συνδυαστικά την επίδραση του περιφερικού νευρικού συστήματος στην οστική ανάπτυξη, στην οστική πυκνότητα αλλά και στην εμβιομηχανική συμπεριφορά των οστών.

2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.0 ΥΛΙΚΟ & ΜΕΘΟΔΟΙ

2.0.1 ΠΡΟΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ

Η πειραματική μελέτη εγκρίθηκε από την επιτροπή αξιολόγησης πρωτοκόλλων του εργαστηρίου μικροχειρουργικής του πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Η επιτροπή αξιολόγησης είχε προηγουμένως εγκριθεί από την κτηνιατρική υπηρεσία της περιφέρειας Ηπείρου με αριθμό πρωτοκόλλου 13649. Η πειραματική μελέτη πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο μικροχειρουργικής του πανεπιστημίου Ιωαννίνων, το οποίο διαθέτει ISO 9001/2000 στην έρευνα και στην εκπαίδευση. Χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 59 συνολικά αρσενικοί επίμυες στης φυλής Wistar. Η ηλικία των πειραματόζωων ήταν 3 εβδομάδες και το βάρος τους από 70-95 gr (μ.ο. 82gr). Τα πειραματόζωα τόσο πριν όσο και μετά την επέμβαση τοποθετήθηκαν ανά δύο σε ξεχωριστό ειδικό πλαστικό κλουβί. Ειδική ξηρά τροφή και νερό παρέχονταν συστηματικά στα ζώα. Η θερμοκρασία του δωματίου διατηρούνταν σταθερή στους 24°C με ελεγχόμενη υγρασία ενώ η εναλλαγή φωτός και σκότους ήταν κυκλική με ρυθμό 12h/12h.

Τα ζώα χωρίστηκαν τυχαία σε 3 ομάδες (A, B, C) (n=59), οι οποίες και αποτέλεσαν τις πειραματικές ομάδες. Οι ομάδες Α και Β αποτελούνταν από 2 υποομάδες ενώ η ομάδα C από τρεις. Οι 6 από τις 7 υποομάδες αποτελούνταν από 9 επίμυες και η μία από 5 (Πίνακας 2.1). Σε όλες τις ομάδες έγινε παρασκευή και διατόμή των ριζών του βραχιονίου πλέγματος αριστερά (A5-Θ1 ρίζες).



Εικόνα 2.1: Η φιλοξενία των πειραματόζωων στο εργαστήριο Μικροχειρουργικής

Ομάδες	Ν	Χειρ/κή Τεχνική	Χρόνος εκτίμησης μετά την πρώτη επέμβαση (σε μήνες)	Εκτίμηση αποτελεσμάτων
A1	9	Παρασκευή και διατομή των ριζών του βραχιονίου πλέγματος αριστερά	6	Εμβιομηχανική ανάλυση
A2	9	Παρασκευή και διατομή των ριζών του βραχιονίου πλέγματος αριστερά	6	Παθολογοανατομική ανάλυση
B1	9	Παρασκευή και διατομή των ριζών του βραχιονίου πλέγματος αριστερά	9	Εμβιομηχανική ανάλυση
B2	9	Παρασκευή και διατομή των ριζών του βραχιονίου πλέγματος αριστερά	9	Παθολογοανατομική ανάλυση
C1	9	Παρασκευή και διατομή των ριζών του βραχιονίου πλέγματος αριστερά	12	Εμβιομηχανική ανάλυση
C2	9	Παρασκευή και διατομή των ριζών του βραχιονίου πλέγματος αριστερά	12	Παθολογοανατομική ανάλυση
C3	5	Παρασκευή και διατομή των ριζών του βραχιονίου πλέγματος αριστερά	12	Micro-CT

Πίνακας 2.1: Οι πειραματικές ομάδες και υποομάδες

2.0.2 ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΕΧΝΙΚΗ

Η εκτροφή των πειραματόζωων πραγματοποιήθηκε στο εκτροφείο του πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Η επεμβάσεις και η φιλοξενία τους στο εργαστήριο μικροχειρουργικής του πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Όλα τα ζώα ανααισθητοποιούνταν και κατόπιν ζυγίζονταν. Για την αναισθησία χρησιμοποιήθηκε κεταμίνη (Narketan 10, 100 mg/ml, Vetoquinolag, Switzerland), η χορήγηση της οποίας έγινε ενδοπεριτοναϊκά (100 mg/kg βάρους σώματος). Όλοι οι πειραματικοί χειρισμοί έγιναν στο αριστερό άνω άκρο των επίμυων ενώ το δεξί παρέμεινε ανέπαφο για να χρησιμοποιηθεί ως σημείο ελέγχου συγκριτικά με το ετερόπλευρο άκρο.

Η χειρουργική επέμβαση ελάμβανε χώρα αφού προηγουμένως είχε γίνει ευπρεπισμός του χειρουργικού πεδίου και αντισηψία αυτού με διάλυμα ιωδιούχου ποβιδόνης 20%. Η χειρουργική προσπέλαση για την αποκάλυψη και παρασκευή των ριζών του αριστερού βραχιονίου πλέγματος γινόταν με τομή από τη μεσότητα του στερνοκλειδομαστειδούς μέχρι ουσιαστικά το κάτω όριο της θωρακοδελτοειδούς αύλακας (Εικόνα 2.1). Ανεγείρονται οι δερματικοί κρημνοί, ο στερνοκλειδομαστοειδής απάγεται προς τα έσω ενώ ο πρόσθιος σκαληνός διατέμνεται για να αποκαλυφθεί το βραχιόνιο πλέγμα. Όλοι οι χειρισμοί πραγματοποιούνται με τη βοήθεια οπτικού μικροσκοπίου (OP16-S; Zeiss, Munich, Germany). Κατόπιν, αναγνωρίζονται και παρασκευάζονται προσεκτικά οι ρίζες του αριστερού βραχιονίου πλέγματος(A5-Θ1) (Εικόνα 2.2).

Εικόνα 2.1: Η τομή για την προσπέλαση του βραχιονίου πλέγματος στον επίμυ





Εικόνα 2.2: Παρασκευή των ριζών του αριστερού βραχιονίου πλέγματος

Ακολούθησε διατομή και των πέντε ριζών του βραχιονίου πλέγματος (Εικόνες 2.3 & 2.4)



Εικόνα 2.3. Διατομή των ριζών του βραχιονίου πλέγματος



Εικόνα 2.4: Οι διατεμηνμένς ριζες του βραχιονίου πλέγματος

Μετά τη διατομή των ριζών του αριτερού βραχιονίου πλέγματος ακολουθεί σύγκλειση του τραύματος ανά στρώματα.

Σε όλες τις πειραματικές ομάδες ακολουθήθηκε ακριβώς η ίδια χειρουργικη τεχνική. Επίσης σε όλες τις πειραματκές ομάδες ακολούησε δεύτερη χειρουργική επέμβαση όπου πραγματοποιήθηκε λήψη και των δύο βραχιονίων οστών μετά από ευθανασία των πειραματόζωων. Η ευθανασία πραγματοποίθηκε με ενδοκαρδιακή έγχυση Dolethal.

2.0.3 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Στην πρώτη ομάδα(υποομάδες A1 & A2) η δεύτερη επέμβαση για τη λήψη και των δύο βραχιονίων οστών έγινε έξι μήνες μετά το πρώτο χειρουργείο. Τα οστικα παρασκευάσματα (βραχιόνια οστά) της υποομάδας A1 στάλθηκαν για εμβιομηχανική ανάλυση, ενώ της πειραματικής υποομάδας A2 εστάλησαν για παθολογοανατομική μελέτη.

Στη δεύτερη ομάδα (πειραματικές ομάδες B1 & B2) η δεύτερη χειρουργική επέμβαση πραγματοποίθηκε εννέα μήνες μετά την απονεύρωση του αριστερού άνω άκρου και τα βραχιόνια οστά της υποομάδας B1 στάλθηκαν για εμβιομηχανική μελέτη και της υποομάδας B2 για παθολογοανατομική μελέτη.

Αντίστοιχα στην τρίτη ομάδα (πειραματικές υποομάδες C1, C2 & C3) η δεύτερη χειρουργική επέμβαση πραγματοποίθηκε 12 μήνες μετά την πρώτη επέμβαση και, όπως και στις προηγούμενες ομάδες, τα βραχιόνια οστά της υποομάδας C1 στάλθηκαν για εμβιομηχανική μελέτη ενώ τα βραχιόνια οστά της ομάδας C2 στάλθηκαν για ιστολογική ανάλυση στο παθολογοανατομικό εργαστήριο.

Η υποομάδα C3 που αποτελούταν από 5 επίμυες. Στα πειραματόζωα αυτής της ομάδας πραγματοποιήθηκε ευθανασία 12 μήνες μετά την πρώτη επέμβαση απονεύρωσης του αριστερού άνω άκρου, ενώ και τα δύο βραχιόνια οστά μετά τη λήψη τους εστάλησαν στο ακτινολογικό εργαστήριο ScancoMedical (www.scanco.ch) και υπεβλήθησαν σε εξέταση microCT.

Σε όλα τα πειραματόζωα η εκτίμηση των αποτελεσμάτων εκφράστηκαν ως ο λόγος της πειραματικής προς την υγιή πλευρά. Τα οστά καθαρίστηκαν πλήρως από του περιβάλλοντες ιστούς (Εικόνα 2.5).



Εικόνα 2.5: Τα βραχιόνια οστά αμέσως μετά την αφαίρεση τους από τα πειραματόζωα

2.0.3.1 Εμβιομηχανική Μελέτη

Η εμβιομηχανική μελέτη πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο κεραμικών και συνθετων υλικών του πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Τα πειράματα έγιναν σε συσκευή εφελκυσμού θλίψης (δηλαδή τύπου Instron) Shimadzu Autograph tester (AGS-500NJ standard unit, Shimadzu Corporation, Tokyo, Japan) (Εικόνα 2.6). Η ακρίβεια των τιμών εισαγωγής (δηλαδή των settings) ήταν <1%. Η απόσταση μεταξύ των σημείων στήριξης στη βάση του jig ήταν 16.7 χιλιοστά. Λόγω της υψηλής ευθραυστότητας των οστών και του μικρού μήκους τους, η ταχύτητα μετακίνησης της κεφαλής της συσκευής ήταν 1 mm/min. Η δύναμη της αντίστασης που ανέπτυσσε το οστό έναντι της επιβαλλόμενης, από τη συσκευή, καμπτικής τάσης, με άλλα λόγια η επιβαλλόμενη δύναμη στο οστό, καθώς και οι αντίστοιχες τιμές της μετατόπισης της κεφαλής καταγ ραγονταν συνεχώς από λογισμικό AGS-J data processing software (Trapezium Lite software 345-47147, Shimadzu Corporation, Tokyo, Japan). Η μετατόπιση της κεφαλής και η καταγραφή σταματούσαν αυτόματα μόλις γινόταν η θραύση του οστού. Η συμπεριφορά του οστού κατά την αύξηση της επιβαλλόμενης δύναμης και κάμψης παρατηρούνταν οπτικά συνεχώς. Μετά τη θραύση, το οστό εξετάζονταν μακροσκοπικά οπτικά για να διαπιστωθεί ο τρόπος θραύσης του.



Εικόνα 2.6: Η τοποθέτηση του βραχιονίου οστού στη συσκευή κάμψης τριών σημείων (τύπου Instron) για την πραγματοποίηση της εμβιομηχανικής μελέτης

2.0.3.2 Παθολογοανατομική Μελέτη

Η παθολογοανατομική μελέτη πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο παθολογικής ανατομικής του πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Τα οστά αφαλατώθηκαν για 1 ημέρα, ενώ εν συνεχεία αφυδατώθηκαν μέσω διαδοχικών διαλυμάτων οινοπνεύματος το οποίο κατέληξε σε ξυλόλη. Κατόπιν πραγματοποιήθηκε εμβύθισή τους σε κύβο παραφίνης και τα οστά κόπηκαν εγκαρσίως με τομές πάχους 5μm με τη βοήθεια μικροτόμου. Ακολούθως τα δείγματα βάφτηκαν με χρώση αιματοξυλίνη-ηωσίνη και τα πλακάκια εκτιμήθηκαν με τη βοήθεια μικροσκοπίου (Axioscop, Zeiss, Inc, Munich, Germany).

2.0.3.3 Απεικονιστική Μελέτη

Όσον αφορά την απεικονιστική μελέτη τα δείγματα υπεβλήθησαν σε εξέταση micro CT σε τομογράφο (μCT 100, SCANCO Medial AG, Brutisselen, Switzerland) με επιτόπιο εστιακό σωλήνα κωνικής δέσμης ακτίνων X από 5 μm. Τα φωτόνια ανιχνεύονται από ανιχνευτή διάταξης συζευγμένου φορτίου (Charge Coupled Device, CCD) κκαι τα δεδομένα προβολής ανακατασκευάστηκαν σε μήτρα εικόνας με ανάλυση (FOV) 2516x2516. Το επιλεγμένο μέγεθος ογκοστοιχείου (voxel) ήταν 20 μm και στις τρεις διαστάσεις. Η τάση του ρεύματος ήταν 70 kVp, ενώ η ηλεκτρική ένταση 200 mA. Οι ρυθμίσεις της απεικονιστικής ανάλυσης συνοψίζονται στον πίνακα 2.2.

Η εκτίμηση της σπογγώδους μοίρας του περιφερικού τμήματος του βραχιονίου έγινε με αυτοματοποιημένη διάτμηση του οστού, με βάση την κλίμακα του γκρι στις αξονικές τομές. Η περιοχή ενδιαφέροντος (δηλαδή η σπογγώδης μοίρα) επιλέχθηκε από περίγραμμα (Εικόνα 2.7). Κατόπιν ανακατασκευάστηκε τρισδιάστατη εικόνα της περιοχής ενδιαφέροντος (Εικόνα 2.8).



Εικόνα 2.7: Τομή σε κλιμάκα του γκρι σε δείγμα βραχιονίου οστού, απεικονίζοντας το περίγραμμα που καθοριζει τη σπογγώδη μοίρα του οστού

Πίνακας 2.2: Ρυθμίσεις σάρωσης

Σαρωτής	μCT 100
Μέγεθος voxel	20.0 µm
FOV	2516x2516
Αριθμός τομών που μετρήθηκαν	400
Περιοχή σάρωσης	8.0 mm
Αριθμός τομών που εκτιμήθηκαν (σπογγώδη μοίρα)	198
Περιοχή που εκτιμήθηκε	3.96 mm
Τάση ακτίνων Χ	70kVp
Ένταση	200 μA, 14W
Προβολές/180°	1000
Χρόνος ενσωμάτωσης	900 ms
Φίλτρο	0.5 mm Al

ΡΥΘΜΙΣΕΙΣ ΣΑΡΩΣΗΣ



Εικόνα 2.8: Τρισδιάστατη απεικόνηση της διατετμημένης περιοχής ενδιαφέροντος (σπογγώδης μοίρα).

Η ακτινολογική εκτίμηση ολόκληρου του βραχιονίου οστού έγινε με την ίδια μεθοδολογία που ακλουθήθηκε και για την εκτίμης της σπογγώδους μοίρας. Στόχος ήταν η εκτίμηση της συνολικής ουσιαστικά οστικής πυκνότητας των δειγμάτων. Τρισδιάστατες εικόνες δημιουργήθηκαν και για ολόκληρα τα βραχιόνια οστά (Εικόνα 2.9).



Εικόνα 2.9: Τρισδιάστατη απεικόνιση ολόκληρου του βραχιονίου οστού
2.0.3.4 Μελέτη με πεπερασμένα στοιχεία

Η μέθοδος των πεπερασμένων στοιχείων είναι μια αριθμητική μέθοδος (δηλ. μέθοδος υπολογισμού με χρήση Η/Υ) για τον υπολογισμό προσεγγιστικών λύσεων μερικών διαφορικών εξισώσεων.

Η αναλυτική λύση των εξισώσεων με τις οποίες περιγράφονται τα διάφορα τεχνικά προβλήματα είναι δυνατή μόνο σε ειδικές περιπτώσεις, όπου οι καταπονήσεις και τα γεωμετρικά σχήματα είναι πάρα πολύ απλά. Όμως, υπήρχε η ανάγκη να λυθούν και πιο σύνθετα προβλήματα και γι' αυτό το λόγο αναπτύχθηκαν διάφορες προσεγγιστικές μέθοδοι.

Μία τέτοια μέθοδος είναι και η μέθοδος των πεπερασμένων στοιχείων. Αυτή η μέθοδος είναι μεν προσεγγιστική, αλλά μπορεί να δώσει αξιόπιστα αποτελέσματα και έχει το πλεονέκτημα ότι μπορεί να εφαρμοστεί σε όλα τα προβλήματα. Το μειονέκτημά της είναι οι αυξημένες απαιτήσεις σε υπολογιστική ισχύ, ιδίως όταν εφαρμόζεται σε σύνθετα μοντέλα. Αυτό όμως το μειονέκτημα ξεπεράστηκε τα τελευταία χρόνια χάρη στη ραγδαία ανάπτυξη των υπολογιστών. Η επιτυχία αυτής της μεθόδου ήταν τόσο μεγάλη, που ακόμα και σήμερα χρησιμοποιείται στην έρευνα και στη βιομηχανία για τον υπολογισμό και τη μελέτη διάφορων κατασκευών.

Η επίλυση ενός γενικότερου προβλήματος συνεχούς μέσου με τη μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων ακολουθεί πάντα μια βηματική διαδικασία. Αναφορικά με τα προβλήματα στατικής των κατασκευών, η διαδικασία μπορεί να διατυπωθεί με τα εξής ακόλουθα βήματα:

Διακριτοποίηση της δομής. Το πρώτο βήμα στη μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων είναι να διαιρεθεί η δομή σε υποδιαιρέσεις ή στοιχεία. Με αυτόν τον τρόπο, η δομή θα μοντελοποιηθεί με κατάλληλα πεπερασμένα στοιχεία. Ο αριθμός, ο τύπος, το μέγεθος και η διάταξη των στοιχείων θα αποφασιστεί.

Επιλογή κατάλληλου μοντέλου παρεμβολής ή μετατόπισης. Επειδή η επίλυση της μετατόπισης μιας περίπλοκης κατασκευής, κάτω από κάποιες συνθήκες φόρτισης, δεν μπορεί να προβλεφθεί αναλυτικά, υποθέτουμε κάποια κατάλληλη λύση μέσα σε ένα στοιχείο, για να προσεγγιστεί η άγνωστη λύση. Η υποθετική λύση πρέπει να είναι απλή υπολογιστικά και ταυτόχρονα να πληροί ορισμένες προϋποθέσεις σύγκλισης. Γενικά, η λύση ή το μοντέλο παρεμβολής έχει μορφή πολυωνύμου.

Παραγωγή των μητρώων στιβαρότητας και των διανυσμάτων φορτίου του στοιχείου.
 Από το θεωρητικό μοντέλο μετατόπισης, τη μήτρα στιβαρότητας Κ και το διάνυσμα φορτίου P του στοιχείου μπορούν να υπολογισθούν είτε με τη χρήση των συνθηκών ισορροπίας είτε με την εφαρμογή μιας κατάλληλης αρχής μεταβολών.

 Συγκέντρωση των εξισώσεων των στοιχείων για τη λήψη των συνολικών εξισώσεων ισορροπίας. Δεδομένου ότι η δομή αποτελείται από αρκετά πεπερασμένα στοιχεία, τα μεμονωμένα μητρώα στιβαρότητας καθώς και τα διανύσματα φορτίου πρέπει να συγκεντρωθούν με κατάλληλο τρόπο και το σύνολο των εξισώσεων ισορροπίας να διαμορφωθεί ως εξής:

$$[\underline{K}]\vec{\Phi} = \vec{\underline{P}}$$

όπου [K] είναι το ολικό μητρώο στιβαρότητας, Φ το διάνυσμα των κομβικών μετατοπίσεων και P το διάνυσμα των κομβικών δυνάμεων για όλη τη δομή.

 Επίλυση ως προς τις άγνωστες μετατοπίσεις κόμβων. Οι ολικές εξισώσεις ισορροπίας πρέπει να τροποποιηθούν για να λάβουν υπόψη και τις οριακές συνθήκες του προβλήματος.
 Μετά την ενσωμάτωση των οριακών συνθηκών, οι εξισώσεις ισορροπίας εκφράζονται ως:

$$[K]\vec{\Phi} = \vec{P}$$

Για γραμμικά προβλήματα, το διάνυσμα Φ μπορεί να λυθεί αρκετά εύκολα. Στα μη γραμμικά προβλήματα η λύση λαμβάνεται με μία σειρά βημάτων, με κάθε βήμα να περιλαμβάνει την τροποποίηση του μητρώου στιβαρότητας [K] ή και το διάνυσμα φόρτισης.

 Υπολογισμός παραμορφώσεων και τάσεων των στοιχείων. Από τις γνωστές κομβικές μετατοπίσεις κόμβων, μπορούν να υπολογισθούν οι παραμορφώσεις και οι τάσεις του στοιχείου με τη χρήση των απαραίτητων εξισώσεων μηχανικής κατασκευών.

Μεθοδολογία για τα μοντέλα της παρούσας εργασίας:

Τα ανατομικά μοντέλα προσομοίωσης πεπερασμένων στοιχείων έχουν συνδράμει ουσιαστικά στην εξέλιξη της σύγχρονης εμβιομηχανική. Η διαφοροποίηση των αναλυτικών αυτών μεθόδων συγκριτικά με υφιστάμενες πειραματικές τεχνικές, έγκειται στην δυνατότητα αποτίμησης της επίδραση μεμονωμένων παραγόντων στην μηχανική τους συμπεριφορά, κάτι που θα ήταν αδύνατο με συμβατικές πειραματικές μεθόδους που υπόκεινται σε περιορισμούς/διαφοροποιήσεις του στατιστικού δείγματος. Η αξιοπιστία ωστόσο των μοντέλων αυτών βασίζεται σε τρεις βασικές παραμέτρους:

- Την ακριβή απόδοση των γεωμετρικών χαρακτηριστικών των μοντέλων,
- Την ορθή προσέγγιση των μηχανικών ιδιοτήτων των μοντέλων καθώς και
- Την επαλήθευση του αναλυτικού μοντέλου

Απόδοση των γεωμετρικών χαρακτηριστικών των μοντέλων. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφορες μέθοδοι για την απόκτηση μιας ακριβούς τρισδιάστατης γεωμετρικής απεικόνισης των εξεταζόμενων δομών. Η επικρατέστερη μεταξύ αυτών (για την μοντελοποίηση οτικών δομών) είναι η χρήση Αξονικής Τομογραφίας (CT).

Η μέθοδος CT, βασιζόμενη στην ικανότητά του προς σάρρωση υλικού να ανθίσταται στην εκπεμπόμενη ακτινοβολία Χ. Καθώς το ανθρώπινο οστό έχει ένα μοναδικό, ανθρώπινο σώμα, εύρος διαπερατότητας ακτινών Χ (κυμαινόμενο από 200 έως 2000), απεικονίζεται λευκό εντός των ακτινογραφιών αυτών, επιτρέποντας έτσι τη σχετικά απρόσκοπτη διαχώριση του από τον περιβαλλόμενο μαλακό ιστό. Αυτό οδηγεί σε ένα δισδιάστατο περίγραμμα του σαρωμένου οστού σε κάθε ακτινογραφία, με τα τρισδιάστατα δεδομένα να παράγεται από διαδοχικές μετρήσεις.

Οι σύγχρονες μέθοδοι CT διευκολύνουν την κατάτμηση σε λεπτά τεμάχια, με απόσταση 0,5mm ή μικρότερη (σε περίπτωση μίκρο-τομογράφου μCT), ενώ η συλλογή και μετατροπή των δεδομένων γίνεται σύμφωνα με το πρωτόκολλο DICOM (Digital Imagining and Communications in Medicine). Το πρωτόκολλο DICOM είναι το πρότυπο επικοινωνίας για τη δόμηση και την κωδικοποίηση των ιατρικών υποθέσεων που χρησιμοποιείται από εμπορικό λογισμικό επεξεργασίας της εικόνας, που απαιτείται για τη μετατροπή πολλαπλών εικόνων 2D σε 3D.

Καθώς τα προαναφερθέντα χαρακτηριστικά πολυ-τομικής απεικόνισης από τις περισσότερες ιατρικές επιστήμες είναι ανεπαρκή να ανακατασκευάσουν έναν ισοτροπικό όγκο δεδομένων από την εξεταζόμενη ανατομία, απαιτείται παρεμβολή στα δεδομένα της εικόνας για να βεβαιωθεί η ακριβής αναπαράσταση. Παρόλο που η εν λόγω μέθοδος δεν οδηγεί σε υψλότερη ανάλυση της ανακατασκευασμένης γεωμετρίας, οδηγεί σε καλύτερη απεικόνηση που διευκολύνει τη διακριτή μετακίνηση του εναπομείναντος μαλακού ιστού σε άμεση γειτνίαση με το οστό. Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι κατάτμησης βασιζόμενες σε εξολοκλήρου αυτοματοποιημένες διαδικασίες ανακατασκευής όπως της στερεολιθογραφίας (.stl files- triangle surface models-μοντέλα τριγωνικών επιφανειών) του περιγράμματος του οστού μέσω λογισμικών όπως η Amira από το Mercury Computer Systems Inc., Chelmsford, MA, USA. Υψηλής ακρίβειας μοντέλα ωστόσο, απαιτούν ημιαυτόματη κατάτμηση, υποστηριζόμενη από τη χειροκίνητη διόρθωση των αποτελεσμάτων από έμπειρους χειριστές. Τέτοιες τεχνικές πολλαπλών κατατμήσεων υπολογίζουν τις κύριες αποχρώσεις του γκρι εντός της εικόνας.

Πρόσδοση μηχανικών ιδιοτήτων. Έπειτα από την αναπαράσταση της εξωτερικής επιφάνειας του οστού, σύμφωνα με την παραπάνω διαδικασία, δημιουργήθηκε το μοντέλο όγκων (φλοιώδες και σπογγώδες οστό) προσδόθηκαν οι ιδιότητες των επιμέρους ιστών με βάση βιβλιογραφικά δεδομένα και συσχέτιση αυτών με την μετρούμενη οστική πυκνότητα. Αυτές οι ιδιότητες είναι το μέτρο ελαστικότητας του Young (E), η πυκνότητα (ρ) και ο λόγος Poisson (v).

Οι μεταβολή των ιδιοτήτων του υγιούς-απονευρωμένου οστού, βασίστηκε στην μεταβολή της οστικής τους πυκνότητας (π.χ. οι μηχανικές ιδιότητες ενός απονευρωμένου οστού με 10% μικρότερη οστική πυκνότητα αυτής του υγιούς οστού, μειώθηκα κατά το ίδιο ποσοστό αναφορικά με της μηχανικές ιδιότητες του υγιούς οστού).

Επαλήθευση του αναλυτικού μοντέλου. Η επαλήθευση του μαθηματικού μοντέλου (Validation-verification) αποτελεί ουσιαστικά βελτιστοποίηση του πλέγματος των πεπερασμένων στοιχείων για τους σκοπούς την ανάλυσης.

Το πρώτο βήμα που περιλαμβάνει η διαδικασία αυτή, είναι η διακριτοποίηση των ακανόνιστων τομέων σε υποτομείς, γνωστοί και ως πεπερασμένα στοιχεία. Για τη διαμόρφωση ενός τομέα με πεπερασμένα στοιχεία μπορεί να χρησιμοποιηθούν διαφορετικές μέθοδοι. Διαφορετικές μέθοδοι συνεπάγονται και διαφορετικά ποσά υπολογιστικού χρόνου και κατά συνέπεια οδηγούν σε διαφορετικές προσεγγιστικές λύσεις.

Τα σχήματα, τα μεγέθη, ο αριθμός και οι διαμορφώσεις των στοιχείων πρέπει να επιλεγούν προσεκτικά προκειμένου η προσομοίωση του αρχικού σώματος να γίνει όσο το δυνατό καλύτερα, χωρίς αύξηση της υπολογιστικής προσπάθειας που απαιτείται για τη λύση. Τις περισσότερες φορές, η επιλογή του τύπου του στοιχείου καθορίζεται από τη γεωμετρία του σώματος καθώς και από τον αριθμό των ανεξάρτητων συντεταγμένων που είναι απαραίτητες για να περιγράψουν το σύστημα.

Για τον σκοπό της παρούσας εργασίας χρησιμοποιήθηκε μια ημιαυτόματη διαδικασία δημιουργία πλέγματος που επέτρεψε την πλεγματοποίηση περιοχών αυστηρά ορισμένες οριακές συνθήκες. Η διακριτοποίηση των εξεταζόμενων επιφανειών διεξήχθη στον προεπεξεργαστή ANSA pre-processor της BETA CAE Systems S.A. προκειμένου να εξασφαλιστεί ένα κατάλληλο μέγεθος για κάθε στοιχείο που οδηγεί σε μια ρεαλιστική και ισότροπη μετάβαση τάσης εντός του μοντέλου.

Επίλυση του μοντέλου

Το μοντέλο επιλύθηκε στο λογισμικό ANSYS 15 με στόχος την μελέτη των μετατοπίσεων αλλά και αναπτυσσόμενων ισοδύναμων κατά Von-Mises τάσεων που προκύπτουν κατά την προσομοίωση του πειράματος κάμψης. Για τον σκοπό αυτό, το μοντέλο πακτώθηκε αμφίπλευρα, ενώ εφαρμόστηκε στο κέντρο του μια βηματικά ελεγχόμενη μετατόπιση.

2.0.3.5 Στατιστική Ανάλυση

Οι στατιστικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για την τεκμηρίωση των συνπερασμάτων επιλέχθηκαν εφόσον τα δεδομένα που εισάγονταν σε αυτές πληρούσαν συγκεκριμένους μαθηματικούς περιορισμούς. Επειδή σε καμία περίπτωση η κατανομή των τμών δεν παρουσίαζε συμμετρία γύρω από το μδέν, μη παραμετρικές μέθοδοι χρησιμοποιήθηκαν για τη στατιστική ανάλυση των δεδδομένων. Οι μταβολές που παρατηρήθηκαν στην εμβιομηχανική μελέτη, οι ιστολογικές παράμετροι και οι απεικονιστικές διαφορές αξιολογήθηκαν με τις μη παραμετρικές μεθόδους για δύο ή διάφορα μη εξαρτημένα δείγματα κατά Kruskal-Walis και Mann-Whitney, καθώς και με τις μη παραμετρικές μεθόδους για δύο ή διάφορα μα εξαρτημένα δείγματα κατά διαφορά θεωρήθηκε σημαντική όταν η τιμή του p ήταν μικρότερη από 0.01. Όλα τα αποτελέσμτα εκφράστηκαν ως μέσος όρος ± SD. Για τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα IBM SPSS v.19.0 for Windows.

2.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 64 επίμυες για την ολοκλήρωση του συγκεκριμένου περιραματικού πρωτοκόλλου. Από το σύνολο των 64 πειραματοζώων υπήρξαν 3 αδιευκρίνιστοι θάνατοι μετά το πέρας της πρώτης χειρουργικής επέμβασης (οι δύο θάνατοι παρατηρήθηκαν τη δεύτερη μετεγχειρητική μέρα και ο τρίτος θάνατος την τρίτη μετεγχηρητική μέρα) και σε 2 επίμυες παρατηρήθηκε το φαινόμενο του αυτοκαννιβαλισμού.

2.1.1 ΟΜΑΔΑ Α1

Στην ομάδα Α κατά την εμβιομηχανική μελέτη παρατηρήθηκαν χαμηλότερες μέγιστες τιμές θραύσης στα απονευρωμένα οστά συγκριτικά με τα βραχιόνια οστά της υγιούς πλευράς. Επιπλέον στα απονευρωμένα οστά παρατηρήθηκε ελαφρώς μεγαλύτερη παραμόρφωση του οστού πριν την οριστική του θραύση (Εικόνα 2.9).





Εικόνα 2.10: Διαγράμματα δύναμης προς παραμόρφωση των βραχιονίων οστών («φυσιολογικού» και απονευρωμένου) των πειραματόζωων 6 μήνες μετά την απονεύρωση.

Με τη μπλε γραμμή απεικονίζονται τα «φυσιολογικά» βραχιόνια οστά των πειραματόζωων ενώ με την κόκκινη γραμμή απεικονίζονται τα ετερόπλευρα απονευρωμένα βραχιόνια οστά των ίδιων πειραματόζωων.

Παρατηρώντας προσεκτικότερα τις γραφικές παραστάσεις παρατηρείται ότι σε κάθε περίπτωση η κλίση των διαγραμμάτων των απονευρωμένων οστών είναι μικρότερη συγκριτικά με την κλίση των διαγραμμάτων των «φυσιολογικών οστών». Η κλίση στις συγκεκριμένες γραφικές παραστάσεις απεικονίζουν το βαθμό ακαμψίας του υλικού, πράγμα που σημαίνει ότι τα απονευρωμένα οστά παρουσιάζονται περισσότερα «ελαστικά» συγκρινόμενα με τα φυσιολογικά.

Η μέση διαφορά στη μέγιστη δύναμη θραύσης μεταξύ φυσιολογικών και απονευρωμένων οστών ήταν 20.50% ενώ η μέση διαφορά στην μετατοπιση ήταν 22.73%. Η διαφορά και στις δύο τιμές βρέθηκε ότι είναι στατιστικά σημαντική καθώς η τιμή του p και στις δύο περιπτώσεις ήταν μικρότερη από 0.05. Αναλυτικά οι τιμές της μεγιστης δύναμης θραύσης καθώς και της μέγιστης παραμόρφωσης παρουσιάζονται στον πίνακα 2.3.

ΟΜΑΔΑ Α				
Πειραματόζωο	Μέγιστη δύναμη θραύσης	Μέγιστη δύναμη	Μέγιστη	Μέγιστη
	«φυσιολογικού»	θραύσης	παραμόρφωση	παραμόρφωση
	βραχιονίου οστού	απονευρωμένου	«φυσιολογικού»	απονευρωμένου
		βραχιονίου οστού	βραχιονίου οστού	βραχιονίου οστού
<i>A6</i>	57N	37.75N	0.506mm	0.59mm
A7	61N	35.75N	0.642mm	0.805mm
A8	60.5N	47N	0.489mm	0.61mm
A9	48.75N	44N	0.51mm	0.697mm
A10	49.75N	37.5N	0.46mm	0.62mm
A11	43.55N	35.7N	0.47mm	0.72mm
A46	60.5N	59N	0.53mm	0.73mm
A49	65.7N	54.75N	0.64mm	0.71mm
A56	71.75N	60.75N	0.35mm	0.45mm

Πίνακας 2.3: Συνολικά αποτελέσματα εμβιομηχανικής μελέτης της ομάδας Α

2.1.2 ΟΜΑΔΑ Α2

Όσον αφορά την παθολογοανατομική μελέτη των βραχιονίων οστών της πειραματικής ομάδας όπου έγινε η λήψη των βραχιονίων οστών 6 μήνες μετά την απονεύρωση του άκρου, δεν προεκυψαν σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ της υγιούς και της απονευρωμένης πλευράς των πειραματόζωων (Εικόνες 2.11, 2.12, 2.13, 2.14).



Εικόνα 2.11 (A&B): Ιστολογική εικόνα οστίτη ιστού από το «φυσιολογικό» βραχιόνιο οστό του επίμυ (χρώση αιματοξυλίνη-ηωσίνη)



Εικόνα 2.12: Ιστολογική εικόνα του χόνδρου στο «φυσιολογικό» άκρο του πειραματόζωου (χρώση αιματοξυλίνη-ηωσίνη)



Εικόνα 2.13 (A&B): Ιστολογική εικόνα οστίτη ιστού από το απονευρωμένο βραχιόνιο οστό του επίμυ (χρώση αιματοξυλίνη-ηωσίνη)



Εικόνα 2.14: Ιστολογική εικόνα του χόνδρου του βραχιονίου οστού της απονευρωμένης πλευράς του πειραματόζωου (χρώση αιματοξυλίνη-ηωσίνη)

2.1.3. OMAΔA B1

Η ομάδα C περιλάμβανε εκείνα τα πειραματόζωα στα οποία έγινε η λήψη και των δύο βραχιονίων οστών 9 μήνες μετά το πρώτο χειρουργείο της απονεύρωσης και στα οποία πραγματοποιήθηκε εμβιομηχανική μελέτη σε συσκευή κάμψης τριών σημείων (τύπου instron). Και σε αυτή την ομάδα, η εμβιομηχανική μελέτη παρουσίασε παρόμοια αποτελέσματα με την ομαδα Α. Πιο συγκεκριμένα και σε αυτή την πειραματική ομάδα, σε όλα τα απονευρωμένα βραχιόνια οστά η μέγιστη δύναμη θραύσης ήταν μικρότερη σε σχέση με την «υγιή» πλευρά ενώ παράλληλα παρατηρήθηκε μεγαλύτερη παραμόρφωση σε όλα τα απονευρωμένα οστά πριν από τη θραύση τους. Τα διαγράμματα της εμβιομηχανικής μελέτης όλων των πειραματόζωων παρουσιάζονται στην εικόνα 2.15. Επιπρόσθετα η μέση διαφορά της μέγιστης δύναμης θραύσης μεταξύ των απονευρωμένων και των «φυσιολογικών» βραχιονίων οστών ήταν 19.79%, ενώ η μέση διαφορά της μέγιστης παραμόρφωσης ήταν 16.18%. Τα αποτελέσματα ήταν στατιστικά σημαντικά (p<0.05). Αναλυτικά οι τιμές της μέγιστης δύναμης και παραμόρφωσης των επίμυων της συγκεκριμένης πειραματικής ομάδας παρουσιάζονται στον πίνακα 2.3





Εικόνα 2.15: Διαγράμματα συγκριτικής εμβιομηχανικής μελέτης των βραχιονίων οστών 9 μήνες μετά την απονεύρωσή τους

Και σε αυτή την ομάδα η κλίση των διαγραμμάτων των απονευρωμένων οστών ήταν μικρότερη σε σχέση με τα «υγιή» οστά, πράγμα που σημαίνει ότι τα απονευρωμένα οστά γίνονται πιο ελαστικά

ΟΜΑΔΑ C				
Πειραματόζωο	Μέγιστη δύναμη θραύσης	Μέγιστη δύναμη	Μέγιστη	Μέγιστη
	«φυσιολογικού»	θραύσης	παραμόρφωση	παραμόρφωση
	βραχιονίου οστού	απονευρωμένου	«φυσιολογικού»	απονευρωμένου
		βραχιονίου οστού	βραχιονίου οστού	βραχιονίου οστού
<i>C6</i>	73.5N	53.75N	0.519mm	0.57mm
<i>C</i> 7	72N	47.25N	0.593mm	0.61mm
<i>C8</i>	68.5N	43N	0.55mm	0.66mm
С9	64.25N	59.5N	0.44mm	0.58mm
C10	73.75N	50.25N	0.66mm	0.73mm
C11	63N	52N	0.68mm	0.8mm
<i>C46</i>	100.25N	96N	0.5mm	0.72mm
<i>C49</i>	87.5N	74.5N	0.62mm	0.77mm
C56	89N	78.6N	0.51mm	0.65mm

Πίνακας 2.3: Συνολικά αποτελέσματα εμβιομηχανικής μελέτης της ομάδας C

2.1.4 OMADA B2

Σ' αυτήν την πειραματική ομάδα τόσο τα βραχιόνια οστά της απονευρωμένης όσο και της «φυσιολογικής» πλευράς των πειραματόζωων υπεβλήθησαν σε παθολογοανατομική ανάλυση. Και σε αυτή την πειραματική ομάδα όπως και στην πειραματική ομάδα Β δεν ανεδείχθησαν σημαντικές διαφορές μεταξύ «φυσιολογικών» και απονευρωμένων οστών όσον αφορά την ιστολογική ανάλυση. Ακολουθούν οι εικόνες της παθολογοανατομικής μελέτης και στα δύο βραχιόνια οστά των πειραματόζωων της πειραματικής ομάδας D.



A

Εικόνα 2.16: Παθολογοανατομική εικόνα αρθρικής επιφάνειας του απονευρωμένου βραχιονίου (A) και του ετερόπλευρου «φυσιολογικού» του ίδιου επίμυος (B). Δεν αναδεικνύονται διαφορές

B



A

B

Εικόνα 2.17: Φλοιός απονευρωμένου οστού x40 (A) και x200 (B)



B

Εικόνα 2.18: Φλοιός «φυσιολογικού» βραχιονίου x40 (A) και x100 (B)



A

А

B

Εικόνα 2.19: Οστικές δοκίδες απονευρωμένου βραχιονίου (Α) και ετερόπλευρου «φυσιολογικού» (Β). Δεν αναδεικνύονται παθολογοανατομικές διαφορές μεταξύ τους.

2.1.5 OMAAA C1

Η πειραματική ομάδα Ε περιλάμβανε επίμυες οι οποίοι υπεβλήθησαν σε δεύτερη χειρουργική επέμβαση για τη λήψη και των δύο βραχιονίων οστών 12 μήνες μετά την πρώτη επεμβαση για την απονεύρωση του αριστερού άνω άκρου. Σ' αυτή την ομάδα όπως και στις ομάδες Α και C πραγματοποιήθηκε συγκριτική εμβιομηχανική μελέτη κάμψης τριών σημείων σε συσκευή τύπου instron. Τα αποτελέσματα στη συγκεκριμένη ομάδα ανέδειξαν τις ίδιες εμβιομηχανικές διαφορές μεταξύ «φυσιολογικών» και απονευρωμένων οστών με τη διαφορά ότι παρατηρήθηκαν μεγαλύτερες ποσοστιαίες διαφορές τόσο στη μέγιστη δύναμη θραύσης του οστού όσο και στη μέγιστη παραμόρφωσή του πριν τη θραύση του. Τα διαγράμματα στην εικόνα 2.20 παρουσιάζουν αναλυτικά το κάθε διάγραμμα της συγκεκριμένης πειραματικής ομάδας. Επιπρόσθετα η μέση διαφορά της μέγιστης δύναμης θραύσης μεταξύ των απονευρωμένων και των «φυσιολογικών» βραχιονίων οστών ήταν 32,94%, ενώ η μέση διαφορά της μέγιστης παραμόρφωσης ήταν 31,1%. Αναλυτικά οι τιμές της μέγιστης δύναμης και παραμόρφωσης των επίμυων της συγκεκριμένης πειραματικής ομάδας παρουσιάζονται στον πίνακα 2.4





Εικόνα 2.20: Διαγράμματα συγκριτικής εμβιομηχανικής μελέτης των βραχιονίων οστών 12 μήνες μετά την απονεύρωσή τους

Όπως και στις προηγούμενες δύο ομάδες που πραγματοποιήθηκε εμβιομηχανική μελέτη, η κλίση των διαγραμματων των απονευρωμένων βραχιονίων, που μας δείχνει ουσιαστικά το βαθμό ακαμψίας, ήταν μικρότερη.

Ένα διαφορετικό στοιχείο που παρατηρήθηκε σε κάποια από τα πειραματόζωα αυτής της ομάδας παρατηρήθηκε πλαστική παραμόρφωση μετά το όριο διαρροής. Όριο διαρροής είναι εκεί που τελειώνει το πρώτο ευθύγραμμο τμήμα της καμπύλης. Στα υγιή οστά, μετά από αυτό το ευθύγραμμο τμήμα, το οστό ουσιαστικά σπάει. Αυτό λέγεται το ευθύγραμμο

76

τμήμα της καμπύλης λέγεται ελαστική περιοχή. Στην ελαστική περιοχή, το υλικό συμπεριφέρεται σαν ελατήριο, δηλαδή μπορεί να επανέρθει στην αρχική του κατάσταση εάν αποφορτιστεί (όπως ένα ελατήριο). Το σημείο που τελειώνει το ευθύγραμμο τμήμα της καμπύλης, λέγεται όριο διαρροής. Και μετά, αρχίζει ένα οριζόντιο τμήμα, που λέγεται πλαστική παραμόρφωση και το υλικό εκεί συμπεριφέρεται σαν ένα ξεχειλωμένο ελατήριο, που δεν μπορεί να επανέρθει στην αρχική του κατάσταση εάν αποφορτιστεί. Αν προσέξεις, σε μεγάλους χρόνους απονεύρωσης, οι κόκκινες καμπύλες δείχνουν όλο και πιο πολύ ότι έχουν τέτοια πλαστική περιοχή. Επίσης, πρόσεξε ότι στα υγιή οστά, απουσιάζει εμφανώς η πλαστική παραμόρφωση – θα έλεγε κανείς ότι δεν υπάρχει καν όριο διαρροής μιας και το υλικό σπάει πριν διαρρεύσει.

ΟΜΑΔΑ Ε				
Πειραματόζωο	Μέγιστη δύναμη θραύσης	Μέγιστη δύναμη	Μέγιστη	Μέγιστη
	«φυσιολογικού»	θραύσης	παραμόρφωση	παραμόρφωση
	βραχιονίου οστού	απονευρωμένου	«φυσιολογικού»	απονευρωμένου
		βραχιονίου οστού	βραχιονίου οστού	βραχιονίου οστού
<i>E1</i>	88N	46.25N	0.64mm	0.97mm
<i>E2</i>	63N	52.75N	0.56mm	0.87mm
E3	68.5N	38.75N	0.49mm	0.87mm
<i>E4</i>	74N	39N	0.71mm	1.27mm
<i>E5</i>	72N	50N	0.53mm	0.62mm
<i>E6</i>	77.5N	50N	0.6mm	0.1.13mm
<i>E7</i>	82.25N	56N	0.58mm	0.66mm
<i>E8</i>	103N	93N	073mm	0.55mm
<i>E9</i>	73.25N	44.75N	0.66mm	1.12mm

Πίνακας 2.4: Συνολικά αποτελέσματα εμβιομηχανικής μελέτης της ομάδας Ε

2.1.6 OMAAA C2

Η πειραματική αυτή υποομάδα περιλάμβανε επίμυες των οποίοων και τα δύο βραχιόνια οστά, 12 μήνες μετά την απονεύρωση του αριστερού, στάλθηκαν για παθολογοανατομική μελέτη. Ενώ στις δύο προηγούμενες ομάδες δεν ανεδείχθησαν παθολογοανατομικές διαφορές μεταξύ «φυσιολογικού» και απονευρωμένου βραχιονίου του ίδιου πειραματόζωου, σ' αυτή την ομάδα παρατηρήθηκαν παθολογοανατομικές διαφορές τόσο στο φλοιώδες οστούν όσο και στο χόνδρο. Πιο συγκεκριμένα παρατηρήθηκε λέπτυνση του χόνδρου στην αρθρική επιφάνεια (Εικόνα 2.21) όσο λέπτυνση και αραίωση των οστικών δοκίδων (Εικόνα 2.22). Επιπρόσθετα στη ελήφθησαν και τομές που περιλάμβαναν τμήμα του νεύρου τόσο στην απονευρωμένη όσο και στη «φυσιολογική» πλευρά. Στην απονευρωμένη δηλαδή πλευρά παρατηρήθηκε στου μύες το λεγόμενο «retrogate», καθώς και εκφύλιση του νεύρου. Παρατηρήθηκε δηλαδή η απουσία νευραξόνων και η παρουσία μόνο μυελίνης (Εικόνα 2.23) σε αντίθεση με τη φυσιολογική πλευρά (Εικόνα 2.24).





A

B

Εικόνα 2.21: Παθολογοανατομική εικόνα χόνδρου από τη «φυσιολογική» πλευρά (A) και από την απονευρωμένη (B). Παρατηρείται ήπια λέπτυνση του χόνδρου στην αρθρική επιφάνεια της απονευρωμένης πλευράς



A

B

Εικόνα 2.22: Οστικές δοκίδες «φυσιολογικού» (Α) και απονευρωμένου (Β) βραχιονίου οστού. Στην απονευρωμένη πλευρά παρατηρείται ήπια λέπτυνση και αραίωση οστικών δοκίδων



Εικόνα 2.23: Εκφύλιση νεύρου. Φαίνεται μόνο η παρουσία μυελίνης και η απουσία νευραξόνων σε μεγέθυνση x200 (A) και x400 (B)



A

B

Εικόνα 2.24: Παθολογοανατομική εικόνα φυσιολογικού νεύρου σε μεγέθυνση x200 (A) και x400 (B)

2.1.7 OMAAA C3

Τα αποτελέσματα στην υποομάδα αυτή που περιλάμβανε 5 επίμυες ανέδειξαν μείωση της οστικής πυκνότητας στη σπογγώδη μοίρα των απονευρωμένων βραχιονίων σε σύγκριση με την υγιή πλευρά. Η μέση διαφορά οστικής πυκνότητας του σπογγώδους τμήματος και των περιεχομένων του μυελού ήταν 24,9% ενώ η μέση διαφορά της οστικής πυκνότητας σε ότι θεωρήθηκε αμιγώς οστό ήταν 2,75%. Και τα δύο αποτελέσματα ήταν στατιστικά σημαντικά (p<0,05). Στον πίνακα 2.5 φαίνονται αναλυτικά όλες οι τιμές τις οστικής πυκνότητας για κάθε βραχιόνιο, υγιές και απονευρωμένο, του κάθε πειραματόζωου της συγκεκριμένης πειραματικής υποομάδας. Όσον αφορά της συνολική οστική πυκνότητα δεν ανεδείχθησαν διαφορές μταξύ των βραχιονίων οστών. Παρουσιάζονται επίσης και οι εικόνες από τον τομογράφο microCT της σπογγώδους μοίρας και των δύο βραχιονίων κάθε πειραματόζωου, καθώς και ενεδικτικά οι εικόνες ολόκληρων των βραχιονίων ενός εξ αυτών.

Πίνακας 2.5: Συνολικά αποτελέσματα οστικής πυκνότητας μεταξύ υγιούς και απονευρωμένης πλευράς (Με Ν συμβολίζεται η υγιής πλευρά ενώ με D η απονευρωμένη)

Δείγμα	G1D	G1N	G2D	G2N	G3D	G3N	G4D	G4N	G5D	G5N	Διαφορά
Σπογγώδες οστό & περιεχόμενο μυελού	159.838	199.949	156.677	217.384	163.362	199.768	181.249	203.472	135.266	174.473	24.9%
Σπογγώδες οστό	~957.074	~958.971	~949.305	~953.190	~905.762	~952.557	~943.794	~949.847	~907.298	~977.039	2.75%







Εικόνα 2.25: Τρισδιάστατη απεικόνιση σπογγώδους μοίρα υγιών και απονευρωμένων βραχιονίων. Στην αριστερή στήλη εμφανίζονται τα υγιή και στη δεξιά τα απονευρωμένα





Εικόνα 2.26: Τρισδιάστατη εικόνα υγιούς (αριστερά) και απονευρωμένου βραχιονίου (δεξία) του ίδιου πειραματόζωου

Επιπρόσθετα μέσω της απεικονιστικής μελέτης με microCT πραγματοποιήθηκαν ακριβείς μετρήσεις όσον αφορά το συνολικό μήκος του βραχιονίου καθώς και το πάχος του. Η μέση διαφορά στο μήκος βρέθηκε 1,08% (Πίνακας 2.6). Ενώ η μέση διαφορά στο πλάτος βρέθηκε 11,76% (Πίνακας 2.7). Και τα δύο αποτελέσματα ήταν στατιστικά σημαντικά (p<0.05).

Πίνακας 2.6: Διαφορά μήκος μεταξύ «υγιούς» και απονευρωμένου βραχιονίου

Δείγμα	G1D	G1N	G2D	G2N	G3D	G3N	G4D	G4N	G5D	G5N	Μἑση διαφορἁ
Συνολικό μήκος (mm)	29.42	29.98	30.40	30.86	29.94	30.42	30.56	30.68	31.16	31.34	1. 08 %

Πίνακας 2.7: Διαφορά στο πάχος του οστού μεταξύ «υγιούς» και απονευρωμένου

Δείγμα	G1D	G1N	G2D	G2N	G3D	G3N	G4D	G4N	G5D	G5N	Μἑση διαφορἁ
Πἁχος (mm)	3.2	3.7	2.5	2.85	2.5	3	3.2	3.4	3.05	3.2	11. 76 %

2.1.8 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΕΠΕΡΑΣΜΕΝΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ

Βιβλιογραφικά, η μείωση οστικής πυκνότητας συνδέεται με την ψαθυροποίηση του οστού και την αύξηση κινδύνων θραύσης (fragility fractures). Πρέπει να σημειωθεί, ωστόσο, ότι στις περιπτώσεις αυτές η μείωση της οστικής ποιότητας συνδέεται άμεσα με οστεοπενία ή οστεοπόρωση και συνεπώς διαφορετική αιτιολογία από την απονεύρωση, στην οποία αποδίδεται η μείωση οστικής πυκνότητας στην παρούσα εργασία.

Προκειμένου να αξιολογηθεί η επίδραση των μηχανικών ιδιοτήτων στην εμβιομηχανική συμπεριφορά του οστού, προσομοιώθηκαν 4 διακριτά σενάρια:

- ενός υγιούς οστού (μοντέλο αναφοράς),
- ενός απονευρωμένου οστού με θεώρηση ψαθυροποίησης του σπογγώδους ιστού,
- ενός ισοδύναμης διατομής απονευρωμένου οστού με θεώρηση ψαθυροποίησης του σπογγώδους ιστού, και
- ενός απονευρωμένου οστού με θεώρηση ελαστικοποίησης του σπογγώδους ιστού.

Το τρίτο μοντέλο είχε σκοπό την αξιολόγηση των καθαυτών μηχανικών ιδιοτήτων του οστού, με αναγωγή σε γεωμετρία υγιούς οστού. Αυτό επιτρέπει την αποφυγή της παρερμηνείας μεταβολών των διαστάσεων του οστού που επιδρά στις μηχανικές του ιδιότητες.

Το τέταρτο μοντέλο συμπεριλήφθηκε στη μελέτη προκειμένου να αιτιολογηθεί η πειραματική συμπεριφορά των απονευρωμένων οστών που έδειξαν (πειραματικά) μεγαλύτερη ελαστικότητα.

Για την εκτίμηση των αποτελεσμάτων με τη μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων συνδυάστηκαν δύο πειραματικές ομάδες: η ομάδα Ε και G, δηλαδή η ομάδα της οποίας τα οστά των πειραματοζώων υπεβλήθησαν σε εμβιομηχανική μελέτη και αυτής της οποίας στα οστά διενεργήθηκε απεικονιστική μελέτη με micro CT 12 μήνες μετά την επέμβαση για την απονεύρωση του ενός άκρου.

Τα αποτελέσματα καταδεικνύουν, σε όλες τις περιπτώσεις, μια συγκέντρωση τάσεων ομοαξονικά του επιπέδου εφαρμογής της δύναμης. Οι τάσεις στο φλοιώδες οστό ήταν ανά περίπτωση έως και 600% αυξημένες σε σχέση με αυτές του σπογγώδους οστού (Εικόνα 2.27). Το αποτέλεσμα αυτό συμφωνεί με τα χαρακτηριστικά της αντοχής των συγκεκριμένων ιστών.



Εικόνα 2.27: Τρόπος φόρτισης, κατανομή τάσεων και υπολογιζόμενες μετατοπίσεις

Η αύξηση της μέγιστης κατά von Mises τάσης στο απονευρωμένο οστό (με θεώρηση ψαθυροποίησης του σπογγώδους ιστού) ήταν της τάξης του 22,64% (Εικόνα 2.28). Αναγωγή του απονευρωμένου οστού στις διαστάσεις του υγιούς, οδήγησε σε τάσεις αυξημένες κατά 9,47%. Το αποτέλεσμα αυτό δεικνύει ότι η ελάττωση των μηχανικών ιδιοτήτων του οστού είναι λιγότερο επώδυνη από την μεταβολή της γεωμετρίας του. Με απλά λόγια, η ελάττωση της αντοχής σε θραύση του απονευρωμένου οστού που παρατηρήθηκε πειραματικά επηρεάζεται πιο πολύ από τη μεταβολή της γεωμετρίας του οστού.

Στην περίπτωση του απονευρωμένου οστού με θεώρηση ελαστικοποίησης του σπογγώδους ιστού, η μέγιστη κατά von Mises τάση ήταν αυξημένη κατά 16,22% στο φλοιώδες οστό, ενώ στο σπογγώδες μόλις κατά 3.47%. Η «ευνοϊκή» μεταβολή των τάσεων στο σπογγώδες οστό μπορεί να αιτιολογηθεί με την «εκτόνωση» της φόρτισης του σε μετατόπιση (λόγο της αυξημένη ελαστικότητας), αύξηση μετατόπισης που ωστόσο επιβαρύνει με τάσεις το φλοιώδες οστό που θεωρήθηκε πως διατηρεί τις μηχανικές του ιδιότητες.

84



Εικόνα 2.28: Μέγιστες αναπτυσσόμενες κατά von Mises τάσεις

Η ανάλυση των αποτελεσμάτων των μέγιστων μετατοπίσεων (Σχήμα 3) έδειξε πως το απονευρωμένο οστό (με θεώρηση ψαθυροποίησης του σπογγώδους ιστού) είναι λιγότερο ελαστικό, με την επίδραση των μηχανικών ιδιοτήτων να είναι και πάλι λιγότερο σημαντική αυτής της μεταβολής του σχήματός τους (7,58% έναντι 15,06%).

Προσεκτική ανάλυση των μεταβολών τάσης/παραμόρφωσης δεικνύει ίδιο συνολικό ποσοστό μείωσης (-22,64%) στο απονευρωμένο οστό, κάτι που ωστόσο μεταβάλλεται κατά την αναγωγή σε διαστάσεις υγιούς οστού. Αυτό αποδίδεται στην ασύμμετρη μείωση φλοιώδους/σπογγώδους οστού με την επίδραση του φλοιώδους να είναι κυρίαρχη στις μέγιστες αναπτυσσόμενες τάσεις και το σπογγώδες οστό να είναι θεμελιώδους σημασίας για τις ελαστικές ιδιότητες του οστού (και συνεπώς να συμβάλλει περισσότερο στις υπολογιζόμενες μετατοπίσεις).

Στην περίπτωση, ωστόσο, του απονευρωμένου οστού (με θεώρηση ελαστικοποίησης του σπογγώδους ιστού) αυξάνεται κατά 60% η μετρούμενη παραμόρφωση, κάτι που υποστηρίζεται και από τα πειραματικά αποτελέσματα. Πρέπει να σημειωθεί, ωστόσο, πως η αναλογική μεταβολή του μέτρου ελαστικότητας σε ίδια ποσοστιαία μείωση αυτής της οστικής πυκνότητας αποτελεί μια χονδρική προσέγγιση.



Εικόνα 2.29: Μέγιστες αναπτυσσόμενες κατά von Mises τάσεις

3. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η οστική ανάπτυξη τόσο σε μήκος όσο και σε πλάτος, αποτελεί πολυπαραγοντική διαδικασία η οποία υπόκειται σε πολλαπλούς μηχανισμούς ελέγχου. Ένας από τους παράγοντες που επηρεάζει την ανάπτυξη του οστού είναι το περιφερικό νευρικό σύστημα, έχοντας θετική επίδραση στις οστικές δομές. Ωστόσο, ορισμένες φορές, η περιφερική νεύρωση δεν υφίσταται σε ολόκληρο το ερειστικό σύστημα, είτε λόγω τραυματικής αιτιολογίας είτε λόγω συγγενούς ανωμαλίας.

Γενικώς υπάρχουν κάποιες μελέτες οι οποίες έχουν ερευνήσει αναλυτικά σε μοριακό επίπεδο το κατά πόσο επηρεάζει το περιφερικό νευρικό σύστημα το μεταβολισμό των οστών. Σε μοριακό επίπεδο, σύμφωνα με τις περισσότερες μελέτες τα σημαντικότερα από τα πολυάριθμα νευροπεπτίδια που μετέχουν στο μεταβολισμό των οστών είναι το πεπτίδιο που σχετίζεται με το γονίδιο της καλσιτονίνης (CGRP), το αγγειοδραστικό εντερικό πεπτίδιο (VIP) και η ουσία P. Το CGRP σε γενικές γραμμές φαίνεται ότι ελέγχει τις κυτταρικές ενεργειες των οστεοβλαστών και πιο συγκεκριμένα ο κύριος ρόλος του είναι η δέσμευση της παραγωγής της κυκλικής αδενοσίνης (cAMP) από τους πρόδρομους οστεοβλάστες. Από την άλλη φαίνεται ότι αναστέλλει την οστεοκλαστική απορρόφηση in vitro¹⁸⁴. Το αγγειοδραστικό εντερικό πεπτίδιο που απομονώθηκε από το έντερο χοίρων φαίνεται ότι είναι ένας ισχυρός ενεργοποιητής τηε αδενυλικής κυκλάσης σε πολλά όργανα¹⁸⁵. Έχει αποδειχθεί ότι κύτταρα οστεοβλαστικών οστεοσαρκωμάτων ανταποκρίνονται σε μικρές συγκεντρώσεις VIP με αύξηση του cAMP¹⁸⁶. Ο βασικός ρόλος της ουσίας Ρ, η οποία βρίσκεται σε λιγότερο ποσοστό των νευρικών ινών σε σχέση με το CGRP, είναι να δώσει ουσιαστικά το ερέθισμα για την παραγωγή cAMP από τα οστεοβλαστικά κύτταρα¹⁸⁷.

Σύμφωνα με την παρούσα μελέτη η απουσία νεύρωσης των οστών επηρεάζει όχι μόνο την ανάπτυξη των οστικών δομών αλλά και την οστική πυκνότητα της σπογγώδους τουλάχιστον μοίρας τους όπως επίσης επηρεάζει και τις εμβιομηχανικές ιδιότητές τους. Επιπλέον η απουσία νεύρωσης του οστού προκαλεί μείωση των διαστάσεων του οστού. Πέραν τούτου μειώνει σημαντικά και την οστική πυκνότητα στη σπογγώδη μοίρα του οστού, πιθανώς λόγω της παρατεταμένης αχρησίας του άκρου συγκριτικά με το ετερόπλευρο άκρο. Όσον αφορά τη συνολική οστική πυκνότητα των οστών δεν ανεδείχθη στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ απονευρωμένου και «φυσιολογικού» άκρου. Όσον αφορά τις εμβιομηχανικές ιδιότητες παρατηρήθηκαν σημαντικές αλλαγές πέραν τις μειωμένης μέγιστης δύναμης θραύσης που ήταν αναμενόμενη λόγω της μειωμένης οστικής πυκνότητας. Μία σημαντική διαφοροποίηση του απονευρωμένου οστού σε σχέση με το «υγιές» ήταν η μεγαλύτερη παραμόρφωσή του πριν από τη θραύση του καθώς και από την κλίση των διαγραμμάτων «δύναμης προς παραμόρφωση» το απονευρωμένο οστό αποδείχθηκε περισσότερο ελαστικό σε σχέση με το «υγιές». Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι οι μεγαλύτερες διαφορές παρατηρήθηκαν 12 μήνες μετά την απονεύρωση του αριστερού βραχιονίου οστού, όπου επισης ήταν και τα μόνα απονευρωμένα οστά στα οποία παρατηρήθηκε πλαστική παραμόρφωση μετά το όριο διαρροής.

Στην παθολογοανατομική μελέτη των βραχιονίων οι διαφορές δεν ήταν τόσο εμφανείς όσο και στις υπόλοιπες αναλύσεις που πργματοποιήθηκαν (εμβιομηχανική μελέτη και απεικονιστική μελέτη με micro CT). Ωστόσο σε παρατεταμένους χρόνους απονεύρωσης (12 μήνες) παρατηρήθηκαν αλλαγές στην παθολογοανατομική ανάλυση τόσο του οστού όσο και του χόνδρου σε οριακό παρ' όλ' αυτά επίπεδο.

Συγκριτικά με διάφορες μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί διεθνώς, υπάρχουν αρκετές, τόσο πειραματικές όσο και κλινικές, που έχουν ασχοληθεί με την επίδραση του περιφερικού συστήματος στις σκελετικές δομές^{151,155,188}, πολύ λίγες έως ελάχιστες έχουν ασχοληθεί με την επίδραση του περιφερικού συστήματος στην εμβιομηχανική των οστών. Μία πρόσφατη ερευνητική μελέτη¹⁸³ αναφέρει ότι η μηχανική φόρτιση μπορεί να βελτιώσει την μικροαρχιτεκτονική των οστεοπενικών λόγω απονεύρωσης οστών, όμως δεν αναφέρει της επιδράσεις της απονεύρωσης στις μηχανικές ιδιότητες των οστών.

Παρά λοιπόν τις πολλές ανά τον κόσμο δημοσιευμένες εργασίες πάνω στο συγκεκριμένο ζήτημα φαίνεται ότι περαιτέρω έρευνα χρειάζεται έτσι ώστε να μπορεί να διευκρινιστεί η πλήρης σχέση του περιφερικού νευρικού συστήματος στη μορφολογία, την δομή αλλά και τη βιολογική συμπεριφορά των οστών, όχι μόνο σε μοριακό επίπεδο που φαίνεται να έχει μελετηθεί εκετενέστερα, αλλά και σε μακροσκοπικό.

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπερασματικά φαίνεται ότι ο μεταβολισμός των οστών επηρεάζεται από πολυάριθμους παράγοντες ένας εκ τον οποίων είναι και το περιφερικό νευρικό σύστημα. Από τις μέχρι τώρα μελέτες φαίνεται ότι σε μοριακό επίπεδο είναι πολυάριθμοί οι παράγοντες που επηρεάζουν την οστική ανάπτυξη. Σε μακροσκοπικό επίπεδο, το περιφερικό νευρικό σύστημα φαίνεται από την παρούσα μελέτη ότι επηρεάζει τη φυσιολογική ανάπτυξη των οστών καθώς το απονευρωμένο βραχιόνιο οστό ήταν μικρότερο σε διαστάσεις από το φυσιολογικό. Επιπρόσθετα διαταράσσεται η δομή του οστού κυρίως στο σπογγώδες τμήμα των οστικών δομών. Ένα σημαντικό στοιχείο που προσδίδει η συγκεκριμένη μελέτη είναι οι εμβιομηχανικές μεταβολές που υπόκεινται οι απονευρωμένες οστικές δομές. Πέραν των αναμενόμενων μειωμένων αντοχών σε δυνάμεις κάμψεις του απονευρωμένου οστού, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι τα απονευρώμενα οστά πριν τη θραύση τους υπόκεινται μεγαλύτερη παραμόρφωση συγκριτικά με τα απονευρωμένα, ενώ σε μεγάλους χρόνους απονεύρωσης παρατηρείται πλαστική παραμόρφωση (παραμόρφωση δηλαδή η οποία δεν επιτρέπει την επαναφορά στην αρχική κατάσταση) μετά το όριο διαρροής. Όλα τα ανωτέρω εμβιομηχανικά δεδομένα επαληθεύτηκαν από τŋ μοντελοποίηση των δειγμάτων με τη μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων.

Λαμβάνοντας υπόψιν όλα τα ανωτέρω πειραματικά αποτελέσματα, θεωρείται απαραίτητη η νεύρωση των οστικών δομών όχι μόνο για τη φυσιολογική ανάπτυξή τους αλλά και για τη διατήρηση των ιδιοτήτων τους καθώς τα εμβιομηχανικά χαρακτηριστικά των οστών σε συνδυασμό με την εσωτερική αρχιτεκτονική τους είναι αυτά που παίζουν ίσως το σημαντικότερο ρόλο κυρίως για τα οστά που επιφορτίζονται και με το στηρικτικό ρόλο ενός οργανισμού.

5. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός: Η παρούσα πειραματική μελε΄ τη απποσκοπούσε να αναδείξει την επίδραση του περιφερικού νευρικού συστήματος στις αναπτυσόμενες οστικές δομές, όχι μόνο ως προς το μεγεθος των οστών αλλά και ως προς τη σύστασή τους και την εμβιομηχανική τους συμπεριφορά.

Υλικά και Μέθοδοι: Χρησιμποποιήθηκαν 59 αρσενικοί επίμυες ηλικίας 3 εβδομάδων οιοποίοι υπεβλήθησαν σε χειρουργική επέμβαση διατομής των ριζών του αριστερού βραχιονίου πλέγματος. Ακολούθησε ευθανασια και λήψη και των δύο βραχιονίων (φυσιολογικού και απονευρωμένου) και πραγματοποιήθηκε συγκριτική εμβιιομηχανική και παθολογοααντομικη μελέτη καθώς και απεικονιστική μελέτη με micro-CT. Τα πειραματόζωα χωρίστηκαν σε 3 κύριες ομάδες ανάλογα με το χρονικό διάστημα της απονεύρωσης. Έτσι είχαμε την ομάδα Α, η οποία μελετηθηκε 6 μήνες μετά την απονεύρωβση, την ομάδα Β που μελετήθηκε 9 μήνες μετά τη απονεύρωση και την ομάδα C η οποία μελετήθηκε 12 μήνες μετά την απονεύρωση.

Αποτελέσματα: Τα αποτελέσματα της ομάδας Α έδειξαν ότι τα απονεύρωμένα οστά συγκριτικά με τα φυσιολογικά είχαν μειωμένη αντοχή και ταυτόχρονα παραμορφώνονταν περισσότερο μεχρι τη θραύση τους. Ιστολογικα δεν ανεδείχθη διαφορά μεταξύ φυσιολογικού και απονευρωμένου οστού. Τα αποτελέσματα της ομάδας Β που εξετάστηκε εμβιομηχανικά και ιστολογικά 9 μήνες μετά την απονεύρωση ήταν παρόμοια με αυτά της ομάδας Α. Ένα χρόνο μετά την απονεύρωση οι πέρα από τις εμβιομηχανικές διαφορές που ήταν εμφανέστερες παρατηρήθηκαν ιστολογικά λεπτυνση και αράιωση των οστικών δοκίδων καθώς και λέπτυνση του χόνδρού. Απεικονιστικά 1 χρόνο μετά την απονεύρωση παρατηρήθηκε μείωση της οστικης πυκνότητας στη σπογγώδη μοίρα του οστού.

Συμπεράσματα: Η οστική ανάπτυξη αποτελεί πολυπαραγοντική διαδικασία. Το περιφερικό νευρικό σύστημα επηρεάζει την ανάπτυξη των οστών με θετικό τρόπο. Εκτός από το μέγεθος επηρεάζεται και η δομή του οστού καθώς και ι εμβιομηχανικές του ιδιότητες μετά την απονεύρωση.

6. SUMMARY

THE EFFECT OF PERIPHERAL NERVOUS SYSTEM IN THE GROWING BONES OF THE UPPER LIMB

IOANNIS GKIATAS

Purpose: The aim of the present experimental study is to determine the effect of the peripheral nervous system on the growing bones of the upper limb not only concerning the size of the bones but also the bone density and the biomechanical behavior of the bone.

Materials & Methods: 59 male Wistar rats were used. The age of the aniimals was 3 weeks old. In all animals the roots of the left brachial plexus were dissected. The animals were separated into three major groups according to the denervation. In group A, the animals were sacrificed 6 months after denervation and both humerus underwent comparative biomachanic and histological examination. In group B these examinations took place 9 months after denervation and in group C 12 months after denervation. Additionally, in group C there was a subgroup of animals which underwent micro-CT examination.

Results: In group A, six months after denervation, the biomechanical study showed reduced maximum breaking force compared to the contralateral normal limb. Moreover, the displacement of the denervated bones was bigger before the fracture of the bone. On the other hand, there wre no differences between the normal and denervated bones I the histological study. The same results were noticed 9 months after denervation. In the experimental which was examined 12 months after denervation the biomechanical differences were even bigger between the normal and the denervated bones. In addition, the histologic examination revealed thinning of the cartilage as well as thinning and dilution of the bone trabeculae. In the micro-CT it was found diminished bone density of the trabecular site of the denervated humerus.

Conclusion: The bone growth is a multifactorial procedure. The peripheral nervous system affects bone growth positively. Apart from the size it affects also the bone density as well as the biomechanical behavior of the bone.

7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ramón S. Mecanismo de la regeneración de los nervios: Real Academia Nac. Medicina; 1905.
- Sunderland S. The intraneural topography of the radial, median and ulnar nerves. Brain 1945;68:243-98.
- 3. Dellon AL, Jabaley ME. Reeducation of sensation in the hand following nerve suture. Clinical orthopaedics and related research 1982:75-9.
- 4. Mackinnon SE, Dellon AL. Surgery of the peripheral nerve. New York 1988.
- Berkow R, Lock S. The Merck Manual of Medical Information--Home Edition. Nature Medicine 1998;4:242-.
- Duchen L, Corselliue J, Adams J. Greenfield's neuropathology. John Wile}'& Sons, Ne~ York, NY 1992:27.
- Colohan A, Pitts L, Rosegay H. Injury to the peripheral nerves. Trauma 1996;3:853-62.
- 8. Grant GA, Goodkin R, Kliot M. Evaluation and surgical management of peripheral nerve problems. Neurosurgery 1999;44:825-39.
- 9. Cornwall R, Radomisli TE. Nerve injury in traumatic dislocation of the hip. Clinical orthopaedics and related research 2000:84-91.
- Ristic S, Strauch RJ, Rosenwasser MP. The assessment and treatment of nerve dysfunction after trauma around the elbow. Clinical orthopaedics and related research 2000:138-53.
- 11. Landon D, Hall S. The myelinated nerve fibre. The peripheral nerve 1976:1-105.
- Billings-Gagliardi S. Mode of locomotion of Schwann cells migrating in vivo. American Journal of Anatomy 1977;150:73-87.
- Aguayo A. Cell interactions studied in the peripheral nerves of experimental animals. Peripheral neuropathy 1984:360-77.
- Charnas L, Trapp B, Griffin J. Congenital absence of peripheral myelin Abnormal Schwann cell development causes lethal arthrogryposis multiplex congenita. Neurology 1988;38:966-.
- Ortiz-Hidalgo C, Weller R. Peripheral nervous system. Sternberg SS Histology for Pathologists 2nd ed Philadelphia, PA: Lippincott-Raven 1997:285-314.

- 16. Weller RO. Pathology of peripheral nerves. 1977.
- 17. Thomas P, Ochoa J. Microscopic anatomy of peripheral nerve fibers. Peripheral neuropathy 1984;1:39-96.
- Asbury AK, Johnson PC. Pathology of peripheral nerve. Major problems in pathology 1977;9:1-311.
- Isaacson P. Mast cells in benign nerve sheath tumours. The Journal of pathology 1976;119:193-6.
- 20. Gamble H. Spinal and cranial nerve roots. The Peripheral Nerve: Chapman and Hall London; 1976:330-54.
- 21. Low F. The perineurium and connective tissue of peripheral nerve. The peripheral nerve 1976:159-87.
- 22. Ferreira Jr J, Caldini E, Montes G. Distribution of elastic system fibers in the peripheral nerves of mammals. Cells Tissues Organs 1987;130:168-73.
- 23. Millesi H. The nerve gap. Theory and clinical practice. Hand clinics 1986;2:651-63.
- 24. Lundborg G, Branemark P. Microvascular structure and function of peripheral nerves. Vital microscopic studies of the tibial nerve in the rabbit. Adv Microcirc 1968;1:66-88.
- 25. Lundborg G, Rydevik B. Effects of stretching the tibial nerve of the rabbit. Bone & Joint Journal 1973;55:390-401.
- 26. Breidenbach WC, Terzis JK. The blood supply of vascularized nerve grafts. Journal of reconstructive microsurgery 1986;3:43-58.
- Johnson D, Seeldrayers PA, Weiner HL. The role of mast cells in demyelination. 1.
 Myelin proteins are degraded by mast cell proteases and myelin basic protein and
 P2 can stimulate mast cell degranulation. Brain research 1988;444:195-8.
- 28. Zahraoui A, Louvard D, Galli T. Tight junction, a platform for trafficking and signaling protein complexes. The Journal of cell biology 2000;151:F31-F6.
- 29. Tsukita S, Furuse M, Itoh M. Multifunctional strands in tight junctions. Nature reviews Molecular cell biology 2001;2:285-93.
- Balda MS, Matter K. Transmembrane proteins of tight junctions. Seminars in cell & developmental biology 2000;11:281-9.
- 31. Huber JD, Egleton RD, Davis TP. Molecular physiology and pathophysiology of tight junctions in the blood-brain barrier. Trends in neurosciences 2001;24:719-25.
- 32. De la Motte D, Allt G. Crush injury to peripheral nerve. Acta neuropathologica 1976;36:9-19.
- 33. Nagaoka T, Oyamada M, Okajima S, Takamatsu T. Differential expression of gap junction proteins connexin26, 32, and 43 in normal and crush-injured rat sciatic nerves. Close relationship between connexin43 and occludin in the perineurium. The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society 1999;47:937-48.
- Bazzoni G, Dejana E. Pores in the sieve and channels in the wall: control of paracellular permeability by junctional proteins in endothelial cells.
 Microcirculation 2001;8:143-52.
- Seitz RJ, Reiners K, Himmelmann F, Heininger K, Hartung HP, Toyka KV. The blood–nerve barrier in Wallerian degeneration: A sequential long-term study. Muscle & nerve 1989;12:627-35.
- Bush M, Reid A, Allt G. Blood-nerve barrier: ultrastructural and endothelial surface charge alterations following nerve crush. Neuropathology and applied neurobiology 1993;19:31-40.
- 37. Smith CE, Atchabahian A, Mackinnon SE, Hunter DA. Development of the blood-nerve barrier in neonatal rats. Microsurgery 2001;21:290-7.
- Kiernan J. Axonal and vascular changes following injury to the rat's optic nerve. Journal of anatomy 1985;141:139.
- Sappey M. Recherches sur les nerfs du névrilème ou nervi nervorum. CR Acad Sci 1867;65:2.
- 40. Sigalevich DA. [Apropos of the Innervation of Peripheral Nerves]. Arkhiv anatomii, gistologii i embriologii 1964;46:66-76.
- 41. Smoliar E, Smoliar A, Belkin VS. Innervation of human trigeminal nerve blood vessels. Cells tissues organs 1999;165:40-4.
- 42. Smoliar E, Smoliar A, Sorkin L, Belkin V. Microcirculatory bed of the human trigeminal nerve. The Anatomical Record 1998;250:245-9.
- 43. Vassilakis D, Phylaktakis M, Selviaridis P, Karavelis A, Sirmos C, Vlaikidis N.Symptomatic trigeminal neuralgia. Journal of neurosurgical sciences 1987;32:117-20.
- 44. Barrett AP, Schifter M. Trigeminal neuralgia. Australian dental journal 1993;38:198-203.

- 45. Simoes S. An anatomical study of the laterotrigeminal venous system. Annals of anatomy = Anatomischer Anzeiger : official organ of the Anatomische Gesellschaft 1993;175:115-8.
- Sunderland S, Williams HB. Nerve injuries and their repair: a critical appraisal.
 Plastic and Reconstructive Surgery 1992;89:1170.
- 47. Williams H, Jabaley M. The importance of internal anatomy of the peripheral nerves to nerve repair in the forearm and hand. Hand clinics 1986;2:689-707.
- Diao E, Vannuyen T. Techniques for primary nerve repair. Hand clinics 2000;16:53-66, viii.
- 49. Chow JA, Van Beek AL, Meyer DL, Johnson MC. Surgical significance of the motor fascicular group of the ulnar nerve in the forearm. The Journal of hand surgery 1985;10:867-72.
- 50. Millesi H. Techniques for nerve grafting. Hand clinics 2000;16:73-91, viii.
- 51. Scott F. On the relation of nerve cells to fatigue of their nerve fibres. The Journal of physiology 1906;34:145.
- 52. Brimijoin S, Capek P, Dyck PJ. Axonal transport of dopamine-β-hydroxylase by human sural nerves in vitro. Science 1973;180:1295-7.
- Smith BH, Kornblith PL. Axoplasmic transport and neurological surgery. Neurosurgery 1982;10:268-76.
- 54. Lasek R, Shelanski M, Brinkley B, et al. Cytoskeletons and the architecture of nervous systems. Neurosci Res Program Bull 1981;19:1-153.
- 55. Droz B, Rambourg A, Koenig HL. The smooth endoplasmic reticulum: structure and role in the renewal of axonal membrane and synaptic vesicles by fast axonal tranport. Brain research 1975;93:1-13.
- Allen RD. The microtubule as an intracellular engine. Scientific American 1987;256:42-9.
- 57. Stoeckel K, Schwab M, Thoenen H. Specificity of retrograde transport of nerve growth factor (NGF) in sensory neurons: a biochemical and morphological study. Brain research 1975;89:1-14.
- Price D, Griffin J, Hoffman P. Axonal transport, disorders of. Encyclopedia of Neuroscience;1:102.

- 59. Lasek R, McQuarrie I, Wujek J. The central nervous system regeneration problem: neuron and environment. Posttraumatic Peripheral Nerve Regeneration: Experimental Basis and Clinical Implications: Raven Press New York; 1981:59-70.
- 60. Knox CA, Kokmen E, Dyck PJ. Morphometric alteration of rat myelinated fibers with aging. Journal of Neuropathology & Experimental Neurology 1989;48:119-39.
- 61. Stevens A, Lowe JS, Wheater PR. Histology: Gower Medical Pub.; 1992.
- 62. Young B, Woodford P, O'Dowd G. Wheater's functional histology: a text and colour atlas: Elsevier Health Sciences; 2013.
- 63. Athanasou NA. Cellular biology of bone-resorbing cells. The Journal of bone and joint surgery American volume 1996;78:1096-112.
- 64. Miller MD, Thompson SR, Hart JA. Review of orthopaedics: Elsevier Health Sciences; 2012.
- 65. Seeman E. Structural basis of growth-related gain and age-related loss of bone strength. Rheumatology 2008;47 Suppl 4:iv2-8.
- 66. Hall BK, Miyake T. All for one and one for all: condensations and the initiation of skeletal development. Bioessays 2000;22:138-47.
- 67. Currey JD. Bones: structure and mechanics: Princeton University Press; 2002.
- Rauch F. Bone growth in length and width: the Yin and Yang of bone stability. Journal of musculoskeletal & neuronal interactions 2005;5:194-201.
- 69. Seeman E. Periosteal bone formation--a neglected determinant of bone strength. The New England journal of medicine 2003;349:320-3.
- 70. Arden NK, Spector TD. Genetic influences on muscle strength, lean body mass, and bone mineral density: a twin study. Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research 1997;12:2076-81.
- Biewener A, Bertram J. Mechanical loading and bone growth in vivo. Bone 1993;7:1-36.
- 72. McGuigan FE, Murray L, Gallagher A, et al. Genetic and environmental determinants of peak bone mass in young men and women. Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research 2002;17:1273-9.
- 73. Slemenda CW, Reister TK, Hui SL, Miller JZ, Christian JC, Johnston CC.Influences on skeletal mineralization in children and adolescents: evidence for

varying effects of sexual maturation and physical activity. The Journal of pediatrics 1994;125:201-7.

- 74. Schoenau E, Neu CM, Beck B, Manz F, Rauch F. Bone mineral content per muscle cross-sectional area as an index of the functional muscle-bone unit. Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research 2002;17:1095-101.
- 75. Rauch F, Neu C, Manz F, Schoenau E. The development of metaphyseal cortex implications for distal radius fractures during growth. Journal of Bone and Mineral Research 2001;16:1547-55.
- 76. Skaggs DL, Loro ML, Pitukcheewanont P, Tolo V, Gilsanz V. Increased body weight and decreased radial cross-sectional dimensions in girls with forearm fractures. Journal of Bone and Mineral Research 2001;16:1337-42.
- 77. Allen DM, Mao JJ. Heterogeneous nanostructural and nanoelastic properties of pericellular and interterritorial matrices of chondrocytes by atomic force microscopy. Journal of structural biology 2004;145:196-204.
- 78. Van der Eerden B, Karperien M, Wit J. Systemic and local regulation of the growth plate. Endocrine reviews 2003;24:782-801.
- 79. Li LP, Herzog W. Strain-rate dependence of cartilage stiffness in unconfined compression: the role of fibril reinforcement versus tissue volume change in fluid pressurization. Journal of biomechanics 2004;37:375-82.
- 80. Cohen B, Chorney GS, Phillips DP, Dick HM, Mow VC. Compressive stressrelaxation behavior of bovine growth plate may be described by the nonlinear biphasic theory. Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society 1994;12:804-13.
- Robson H, Siebler T, Shalet SM, Williams GR. Interactions between GH, IGF-I, glucocorticoids, and thyroid hormones during skeletal growth. Pediatric Research 2002;52:137-47.
- 82. Abad V, Meyers JL, Weise M, et al. The role of the resting zone in growth plate chondrogenesis. Endocrinology 2002;143:1851-7.
- 83. Wang W, Kirsch T. Retinoic acid stimulates annexin-mediated growth plate chondrocyte mineralization. The Journal of cell biology 2002;157:1061-70.
- 84. Anderson HC. Matrix vesicles and calcification. Current rheumatology reports 2003;5:222-6.

- 85. Tanner JM. Growth at adolescence. 1962.
- Drop SL, De Waal WJ, De Muinck Keizer-Schrama SM. Sex steroid treatment of constitutionally tall stature. Endocr Rev 1998;19:540-58.
- 87. Park EA. The imprinting of nutritional disturbances on the growing bone. Pediatrics 1964;33:815-61.
- Buckwalter JA, Mower D, Ungar R, Schaeffer J, Ginsberg B. Morphometric analysis of chondrocyte hypertrophy. The Journal of bone and joint surgery American volume 1986;68:243-55.
- Sawae Y, Sahara T, Sasaki T. Osteoclast differentiation at growth plate cartilage– trabecular bone junction in newborn rat femur. Journal of electron microscopy 2003;52:493-502.
- 90. Lee ER, Lamplugh L, Shepard NL, Mort JS. The septoclast, a cathepsin B-rich cell involved in the resorption of growth plate cartilage. The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society 1995;43:525-36.
- 91. Gerber HP, Vu TH, Ryan AM, Kowalski J, Werb Z, Ferrara N. VEGF couples hypertrophic cartilage remodeling, ossification and angiogenesis during endochondral bone formation. Nat Med 1999;5:623-8.
- 92. Fazzalari NL, Moore AJ, Byers S, Byard RW. Quantitative analysis of trabecular morphogenesis in the human costochondral junction during the postnatal period in normal subjects. Anat Rec 1997;248:1-12.
- Cancedda R, Descalzi Cancedda F, Castagnola P. Chondrocyte differentiation. International review of cytology 1995;159:265-358.
- Stevens DA, Williams GR. Hormone regulation of chondrocyte differentiation and endochondral bone formation. Molecular and cellular endocrinology 1999;151:195-204.
- 95. Kronenberg HM. Developmental regulation of the growth plate. Nature 2003;423:332-6.
- Daughaday WH, Hall K, Raben MS, Salmon WD, Jr., van den Brande JL, van Wyk
 JJ. Somatomedin: proposed designation for sulphation factor. Nature 1972;235:107.
- 97. Isaksson OG, Lindahl A, Nilsson A, Isgaard J. Mechanism of the stimulatory effect of growth hormone on longitudinal bone growth. Endocr Rev 1987;8:426-38.

- 98. Hunziker EB, Wagner J, Zapf J. Differential effects of insulin-like growth factor I and growth hormone on developmental stages of rat growth plate chondrocytes in vivo. The Journal of clinical investigation 1994;93:1078-86.
- 99. Underwood LE, Van Wyk JJ. Normal and aberrant growth. Williams textbook of endocrinology 1992;7:1096-106.
- 100. Rivkees SA, Bode HH, Crawford JD. Long-term growth in juvenile acquired hypothyroidism: the failure to achieve normal adult stature. The New England journal of medicine 1988;318:599-602.
- 101. Segni M, Leonardi E, Mazzoncini B, Pucarelli I, Pasquino AM. Special features of Graves' disease in early childhood. Thyroid : official journal of the American Thyroid Association 1999;9:871-7.
- 102. Burch WM, Van Wyk JJ. Triiodothyronine stimulates cartilage growth and maturation by different mechanisms. The American journal of physiology 1987;252:E176-82.
- 103. Lewinson D, Bialik G, Hochberg Z. Differential effects of hypothyroidism on the cartilage and the osteogenic process in the mandibular condyle: recovery by growth hormone and thyroxine. Endocrinology 1994;135:1504-10.
- 104. Wakita R, Izumi T, Itoman M. Thyroid hormone-induced chondrocyte terminal differentiation in rat femur organ culture. Cell and tissue research 1998;293:357-64.
- 105. Smeets T, van Buul-Offers S. Influence of growth hormone and thyroxine on cell kinetics in the proximal tibial growth plate of Snell dwarf mice. Cell and tissue kinetics 1986;19:161-70.
- 106. Silvestrini G, Mocetti P, Ballanti P, Di Grezia R, Bonucci E. Cytochemical demonstration of the glucocorticoid receptor in skeletal cells of the rat. Endocrine research 1999;25:117-28.
- 107. Abu EO, Horner A, Kusec V, Triffitt JT, Compston JE. The localization of the functional glucocorticoid receptor alpha in human bone. The Journal of clinical endocrinology and metabolism 2000;85:883-9.
- Magiakou MA, Mastorakos G, Chrousos GP. Final stature in patients with endogenous Cushing's syndrome. The Journal of clinical endocrinology and metabolism 1994;79:1082-5.
- Avioli LV. Glucocorticoid effects on statural growth. British journal of rheumatology 1993;32 Suppl 2:27-30.

- Eberhardt AW, Yeager-Jones A, Blair HC. Regional Trabecular Bone Matrix
 Degeneration and Osteocyte Death in Femora of Glucocorticoid-Treated Rabbits 1.
 Endocrinology 2001;142:1333-40.
- 111. Silvestrini G, Ballanti P, Patacchioli FR, et al. Evaluation of apoptosis and the glucocorticoid receptor in the cartilage growth plate and metaphyseal bone cells of rats after high-dose treatment with corticosterone. Bone 2000;26:33-42.
- 112. Montecucco C, Caporali R, Caprotti P, Caprotti M, Notario A. Sex hormones and bone metabolism in postmenopausal rheumatoid arthritis treated with two different glucocorticoids. The Journal of rheumatology 1992;19:1895-900.
- 113. Bello C, Garrett S. Therapeutic issues in oral glucocorticoid use. Lippincott's primary care practice 1998;3:333-41; quiz 42-4.
- Turner RT, Riggs BL, Spelsberg TC. Skeletal Effects of Estrogen*. Endocrine reviews 1994;15:275-300.
- 115. Gevers EF, Wit JM, Robinson IC. Effect of gonadectomy on growth and GH responsiveness in dwarf rats. The Journal of endocrinology 1995;145:69-79.
- 116. Van der Eerden B, Emons J, Ahmed S, et al. Evidence for genomic and nongenomic actions of estrogen in growth plate regulation in female and male rats at the onset of sexual maturation. Journal of endocrinology 2002;175:277-88.
- 117. Nilsson O, Falk J, Ritzén EM, Baron J, Sävendahl L. Raloxifene acts as an estrogen agonist on the rabbit growth plate. Endocrinology 2003;144:1481-5.
- 118. Strickland AL, Sprinz H. Studies of the influence of estradiol and growth hormone on the hypophysectomized immature rat epiphyseal cartilage growth plate. American journal of obstetrics and gynecology 1973;115:471-7.
- Jansson JO, Eden S, Isaksson O. Sites of action of testosterone and estradiol on longitudinal bone growth. The American journal of physiology 1983;244:E135-40.
- Abu EO, Horner A, Kusec V, Triffitt JT, Compston JE. The localization of androgen receptors in human bone. The Journal of clinical endocrinology and metabolism 1997;82:3493-7.
- Noble B, Routledge J, Stevens H, Hughes I, Jacobson W. Androgen receptors in bone-forming tissue. Hormone research 1999;51:31-6.
- 122. Van der Eerden B, Van Til N, Brinkmann A, Lowik C, Wit J, Karperien M. Gender differences in expression of androgen receptor in tibial growth plate and metaphyseal bone of the rat. Bone 2002;30:891-6.

- 123. Cassorla FG, Skerda MC, Valk IM, Hung W, Cutler GB, Jr., Loriaux DL. The effects of sex steroids on ulnar growth during adolescence. The Journal of clinical endocrinology and metabolism 1984;58:717-20.
- 124. Zung A, Phillip M, Chalew S, Palese T, Kowarski A, Zadik Z. Testosterone effect on growth and growth mediators of the GH-IGF-I axis in the liver and epiphyseal growth plate of juvenile rats. Journal of molecular endocrinology 1999;23:209-21.
- 125. Vortkamp A, Lee K, Lanske B, Segre GV, Kronenberg HM, Tabin CJ. Regulation of rate of cartilage differentiation by Indian hedgehog and PTH-related protein. Science 1996;273:613-22.
- 126. St-Jacques B, Hammerschmidt M, McMahon AP. Indian hedgehog signaling regulates proliferation and differentiation of chondrocytes and is essential for bone formation. Genes & development 1999;13:2072-86.
- 127. Karp SJ, Schipani E, St-Jacques B, Hunzelman J, Kronenberg H, McMahon AP. Indian hedgehog coordinates endochondral bone growth and morphogenesis via parathyroid hormone related-protein-dependent and -independent pathways. Development 2000;127:543-8.
- 128. Karaplis AC, Luz A, Glowacki J, et al. Lethal skeletal dysplasia from targeted disruption of the parathyroid hormone-related peptide gene. Genes & development 1994;8:277-89.
- 129. Weir EC, Philbrick WM, Amling M, Neff LA, Baron R, Broadus AE. Targeted overexpression of parathyroid hormone-related peptide in chondrocytes causes chondrodysplasia and delayed endochondral bone formation. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 1996;93:10240-5.
- Erlebacher A, Filvaroff EH, Gitelman SE, Derynck R. Toward a molecular understanding of skeletal development. Cell 1995;80:371-8.
- Iwamoto M, Jikko A, Murakami H, et al. Changes in parathyroid hormone receptors during chondrocyte cytodifferentiation. The Journal of biological chemistry 1994;269:17245-51.
- 132. Henderson JE, Amizuka N, Warshawsky H, et al. Nucleolar localization of parathyroid hormone-related peptide enhances survival of chondrocytes under conditions that promote apoptotic cell death. Molecular and cellular biology 1995;15:4064-75.

- 133. Amizuka N, Warshawsky H, Henderson JE, Goltzman D, Karaplis AC. Parathyroid hormone-related peptide-depleted mice show abnormal epiphyseal cartilage development and altered endochondral bone formation. J Cell Biol 1994;126:1611-23.
- Szebenyi G, Fallon JF. Fibroblast growth factors as multifunctional signaling factors. International review of cytology 1998;185:45-106.
- Ornitz DM, Marie PJ. FGF signaling pathways in endochondral and intramembranous bone development and human genetic disease. Genes & development 2002;16:1446-65.
- 136. Shiang R, Thompson LM, Zhu Y-Z, et al. Mutations in the transmembrane domain of FGFR3 cause the most common genetic form of dwarfism, achondroplasia. Cell 1994;78:335-42.
- Rousseau F, Bonaventure J, Legeai-Mallet L, et al. Mutations in the gene encoding fibroblast growth factor receptor-3 in achondroplasia. 1994.
- 138. Vajo Z, Francomano CA, Wilkin DJ. The molecular and genetic basis of fibroblast growth factor receptor 3 disorders: the achondroplasia family of skeletal dysplasias, Muenke craniosynostosis, and Crouzon syndrome with acanthosis nigricans. Endocr Rev 2000;21:23-39.
- Liu Z, Xu J, Colvin JS, Ornitz DM. Coordination of chondrogenesis and osteogenesis by fibroblast growth factor 18. Genes & development 2002;16:859-69.
- Reddi AH. Bone morphogenetic proteins: from basic science to clinical applications. The Journal of bone and joint surgery American volume 2001;83-A Suppl 1:S1-6.
- Minina E, Wenzel HM, Kreschel C, et al. BMP and Ihh/PTHrP signaling interact to coordinate chondrocyte proliferation and differentiation. Development 2001;128:4523-34.
- 142. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. Endocr Rev 1997;18:4-25.
- 143. Vu TH, Shipley JM, Bergers G, et al. MMP-9/gelatinase B is a key regulator of growth plate angiogenesis and apoptosis of hypertrophic chondrocytes. Cell 1998;93:411-22.
- Gerber HP, Ferrara N. Angiogenesis and bone growth. Trends in cardiovascular medicine 2000;10:223-8.

- Turner C. Three rules for bone adaptation to mechanical stimuli. Bone 1998;23:399-407.
- 146. Ruff C. Growth in bone strength, body size, and muscle size in a juvenile longitudinal sample. Bone 2003;33:317-29.
- 147. Arkin AM, Katz JF. The effects of pressure on epiphyseal growth; the mechanism of plasticity of growing bone. The Journal of bone and joint surgery American volume 1956;38-A:1056-76.
- Mehlman CT, Araghi A, Roy DR. Hyphenated history: the Hueter-Volkmann law. American journal of orthopedics 1997;26:798-800.
- Frost HM. Biomechanical Control of Knee Alignment Some Insights From a New Paradigm. Clinical orthopaedics and related research 1997;335:335.
- Chenu C. Role of innervation in the control of bone remodeling. Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions 2004;4:132.
- Dysart PS, Harkness EM, Herbison GP. Growth of the humerus after denervation.
 An experimental study in the rat. J Anat 1989;167:147-59.
- Pottorf J, Lyons K. An experimental study of bone growth in the dog. Anat Rec 1916;10:234.
- 153. Allison N, Brooks B. Bone atrophy: A clinical study of the changes in bone which result from nonuse. Archives of Surgery 1922;5:499-526.
- 154. Ring P. The influence of the nervous system upon the growth of bones. Bone & Joint Journal 1961;43:121-40.
- 155. Reading BD, Laor T, Salisbury SR, Lippert WC, Cornwall R. Quantification of humeral head deformity following neonatal brachial plexus palsy. The Journal of Bone & Joint Surgery 2012;94:e136.
- 156. Moro M, Van der Meulen M, Kiratli B, Marcus R, Bachrach L, Carter D. Body mass is the primary determinant of midfemoral bone acquisition during adolescent growth. Bone 1996;19:519-26.
- 157. Schoenau E, Neu C, Mokov E, Wassmer G, Manz F. Influence of puberty on muscle area and cortical bone area of the forearm in boys and girls. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 2000;85:1095-8.
- Schönau E. The development of the skeletal system in children and the influence of muscular strength. Hormone research in paediatrics 1997;49:27-31.

- Schönau E, Werhahn E, Schiedermaier U, et al. Influence of muscle strength on bone strength during childhood and adolescence. Hormone research in paediatrics 1996;45:63-6.
- 160. van der Meulen MC, Ashford MW, Jr., Kiratli BJ, Bachrach LK, Carter DR. Determinants of femoral geometry and structure during adolescent growth. Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society 1996;14:22-9.
- 161. van der Meulen MC, Moro M, Kiratli BJ, Marcus R, Bachrach LK. Mechanobiology of femoral neck structure during adolescence. Journal of rehabilitation research and development 2000;37:201-8.
- 162. Baron R. General principles of bone biology. Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism 2003;5:1-8.
- Parfitt AM, Travers R, Rauch F, Glorieux FH. Structural and cellular changes during bone growth in healthy children. Bone 2000;27:487-94.
- 164. Frost HM. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 2.Redefining Wolff's law: the remodeling problem. Anat Rec 1990;226:414-22.
- 165. Frost HM. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 1.Redefining Wolff's law: the bone modeling problem. Anat Rec 1990;226:403-13.
- 166. Balena R, Shih MS, Parfitt AM. Bone resorption and formation on the periosteal envelope of the ilium: a histomorphometric study in healthy women. Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research 1992;7:1475-82.
- 167. Tanner J, Hughes P, Whitehouse R. Radiographically determined widths of bone muscle and fat in the upper arm and calf from age 3–18 years. Annals of human biology 1981;8:495-517.
- 168. Turner RT, Wakley GK, Hannon KS. Differential effects of androgens on cortical bone histomorphometry in gonadectomized male and female rats. Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society 1990;8:612-7.
- Yeh J, Chen M-M, Aloia J. Ovariectomy-induced high turnover in cortical bone is dependent on pituitary hormone in rats. Bone 1996;18:443-50.

- 170. Kim BT, Mosekilde L, Duan Y, et al. The structural and hormonal basis of sex differences in peak appendicular bone strength in rats. Journal of Bone and Mineral Research 2003;18:150-5.
- 171. Parfitt AM. Parathyroid hormone and periosteal bone expansion. Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research 2002;17:1741-3.
- 172. Specker B, Binkley T. Randomized trial of physical activity and calcium supplementation on bone mineral content in 3- to 5-year-old children. Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research 2003;18:885-92.
- 173. Volkman SK, Galecki AT, Burke DT, et al. Quantitative trait loci for femoral size and shape in a genetically heterogeneous mouse population. Journal of Bone and Mineral Research 2003;18:1497-505.
- 174. Goodship AE, Lanyon LE, McFie H. Functional adaptation of bone to increased stress. An experimental study. The Journal of bone and joint surgery American volume 1979;61:539-46.
- 175. Elefteriou F, Campbell P, Ma Y. Control of bone remodeling by the peripheral sympathetic nervous system. Calcified tissue international 2014;94:140-51.
- 176. Bjurholm A, Kreicbergs A, Brodin E, Schultzberg M. Substance P-and CGRPimmunoreactive nerves in bone. Peptides 1988;9:165-71.
- 177. Cooper RR. Nerves in cortical bone. Science 1968;160:327-8.
- 178. Hill EL, Elde R. Distribution of CGRP-, VIP-, D beta H-, SP-, and NPYimmunoreactive nerves in the periosteum of the rat. Cell and tissue research 1991;264:469-80.
- 179. Hukkanen M, Konttinen YT, Rees RG, Gibson SJ, Santavirta S, Polak JM. Innervation of bone from healthy and arthritic rats by substance P and calcitonin gene related peptide containing sensory fibers. The Journal of rheumatology 1992;19:1252-9.
- 180. Lerner UH, Persson E. Osteotropic effects by the neuropeptides calcitonin generelated peptide, substance P and vasoactive intestinal peptide. Journal of musculoskeletal & neuronal interactions 2008;8:154-65.

- 181. Hara-Irie F, Amizuka N, Ozawa H. Immunohistochemical and ultrastructural localization of CGRP-positive nerve fibers at the epiphyseal trabecules facing the growth plate of rat femurs. Bone 1996;18:29-39.
- 182. Hankins GD, Clark SM, Munn MB. Cesarean section on request at 39 weeks: impact on shoulder dystocia, fetal trauma, neonatal encephalopathy, and intrauterine fetal demise. Seminars in perinatology; 2006: Elsevier. p. 276-87.
- 183. Zamarioli A, Maranho DA, Butezloff MM, Moura PA, Volpon JB, Shimano AC. Anatomic changes in the macroscopic morphology and microarchitecture of denervated long bone tissue after spinal cord injury in rats. BioMed research international 2014;2014.
- 184. Zaidi M, Datta HK, Chambers T, MacIntyre I. Production and characterisation of immunoreactive calcitonin gene-related peptide (CGRP) from a CGRP receptorpositive cloned osteosarcoma cell line (UMR 106.01). Biochemical and biophysical research communications 1989;158:214-9.
- Konttinen Y, Imai S, Suda A. Neuropeptides and the puzzle of bone remodeling. State of the art. Acta orthopaedica Scandinavica 1996;67:632-9.
- 186. Hohmann EL, Levine L, Tashjian AH, Jr. Vasoactive intestinal peptide stimulates bone resorption via a cyclic adenosine 3',5'-monophosphate-dependent mechanism. Endocrinology 1983;112:1233-9.
- 187. Bjurholm A, Kreicbergs A, Schultzberg M, Lerner UH. Neuroendocrine regulation of cyclic AMP formation in osteoblastic cell lines (UMR-106-01, ROS 17/2.8, MC3T3-E1, and Saos-2) and primary bone cells. Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research 1992;7:1011-9.
- 188. Edoff K, Hellman J, Persliden J, Hildebrand C. The developmental skeletal growth in the rat foot is reduced after denervation. Anatomy and embryology 1997;195:531-8.