



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ

ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΩΝ ΜΗ ΣΤΕΡΟΕΙΔΩΝ ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΩΝ
ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΗ ΝΕΥΡΙΚΗ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ ΣΕ
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΤΕΛΙΚΟ-ΠΛΑΓΙΑΣ ΝΕΥΡΙΚΗΣ ΣΥΡΡΑΦΗΣ**

ΔΙΟΝΥΣΙΟΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΥ ΓΙΑΝΝΟΥΛΗΣ

ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΟΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2019



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ

ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΩΝ ΜΗ ΣΤΕΡΟΕΙΔΩΝ ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΩΝ
ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΗ ΝΕΥΡΙΚΗ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ ΣΕ
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΤΕΛΙΚΟ-ΠΛΑΓΙΑΣ ΝΕΥΡΙΚΗΣ ΣΥΡΡΑΦΗΣ**

ΔΙΟΝΥΣΙΟΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΥ ΓΙΑΝΝΟΥΛΗΣ

ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΟΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2019

«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)»

Ημερομηνία αίτησης του κ. Γιαννούλη Διονύσιου: 29-10-2012

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 747^α/31-1-2013

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Μπερής Αλέξανδρος, Καθηγητής Ορθοπαιδικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

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

Βεκρής Μάριος, Αναπληρωτής Καθηγητής Ορθοπαιδικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 8-2-2013

«Μελέτη του ρόλου των μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων στην περιφερική νευρική αναγέννηση σε πειραματικό μοντέλο τελικο-πλάγιας νευρικής συρραφής»

ΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ 878^α/29-1-2019

Βεκρής Μάριος	Καθηγητής Ορθοπαιδικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Κορομπίλιας Αναστάσιος	Καθηγητής Ορθοπαιδικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Λυκούδης Ευστάθιος	Καθηγητής Πλαστικής Χειρουργικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Μπατιστάτου Άννα	Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Μπερής Αλέξανδρος	ομότιμος Καθηγητής Ορθοπαιδικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Γελαλής Ιωάννης	Αναπληρωτής Καθηγητής Ορθοπαιδικής με Έμφαση στη Χειρουργική Σπονδυλικής Στήλης και Επανορθωτική Χειρουργική Ενηλίκων του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Πάκος Αιμίλιος	Επίκουρος Καθηγητής Ορθοπαιδικής-Βιολογικής Μηχανικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 28-5-2019

Ιωάννινα 4-6-2019

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Άννα Μπατιστάτου

Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας



Στην γυναίκα μου Μαρία, στους γονείς μου Κωνσταντίνο και Γεωργία, στους οποίους οφείλω ότι έχω καταφέρει μέχρι τώρα, και στους ανθρώπους που κατάφεραν να με βελτιώσουν σαν άνθρωπο και σαν επιστήμονα όλα αυτά τα χρόνια.
Και στον γιο μου που πρόσφατα ήρθε στη ζωή και την μετέτρεψε σε μια ατελείωτη γιορτή.

Ταξίδια και ονείρατα, οι πιο μεγάλοι ευεργέτες στη ζωή μου...

N. Καζαντζάκης

Πρόλογος

Η παρούσα διδακτορική διατριβή είναι προϊόν μακρόχρονης εργασίας στις εγκαταστάσεις του εργαστηρίου Μικροχειρουργικής της Ορθοπαιδικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Σκοπός της μελέτης αυτής είναι η διερεύνηση της δράσης των μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων στην περιφερική νευρική αναγέννηση δηλαδή στην ικανότητα αναγέννησης των περιφερικών νεύρων. Λόγω των ιδιοτεροτήτων του νευρικού ιστού στον τομέα της νευρικής αναγέννησης η διαχείριση τραυματισμών του κεντρικού και του περιφερικού νευρικού συστήματος είναι ιδιαίτερα δύσκολη. Με την μελέτη αυτή αναζητούνται νέοι τρόποι ευόδωσης της νευρικής αναγέννησης μέσα από την μελέτη του ρόλου των Μη Στεροειδών Αντιφλεγμονωδών Φαρμάκων- ΜΣΑΦ. Η ποιότητα ζωής των ασθενών μετά από βλάβη του κεντρικού και του περιφερικού νευρικού συστήματος υποβαθμίζεται σημαντικά, τομέα στον οποίο θα επιθυμούσα να βοηθήσουν τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής.

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου πρωτίστως στον Καθηγητή Ορθοπαιδικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Μπερή Αλέξανδρο, για την πολύτιμη καθοδήγηση και υποστήριξη που μου προσέφερε όλα αυτά τα χρόνια και χωρίς τον οποίο η παρούσα διατριβή δεν θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί. Πέρα από την αμέριστη συνεισφορά του στην εκπόνηση της παρούσας μελέτης, η συμβολή του υπήρξε καθοριστική στη διαμόρφωση της επιστημονικής μου ταυτότητας αλλά και της χειρουργικής μου προσωπικότητας.

Ευχαριστώ επίσης θερμά, τον Καθηγητή της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Κορομπύλια Αναστάσιο για την πολύτιμη επιστημονική, κλινική και πειραματική βοήθεια που μου παρείχε καθόλη τη διάρκεια της διατριβής μου αλλά και της ιατρικής μου εκπαίδευσης στην ειδικότητα της Ορθοπαιδικής και Τραυματολογίας καθώς και τον Καθηγητή της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Βεκρή Μάριο για την σημαντική βοήθεια τόσο στον επιστημονικό-πειραματικό τομέα αλλά και στην «ορθοπαιδική» μου γνώση και σκέψη.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επιμελητή Α΄ της Ορθοπαιδικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων κ. Ιωάννη Κώστα- Αγκάντη για την βοήθεια και στήριξή του στον πειραματικό τομέα της διατριβής αυτής αλλά και στην συμβολή του στην εκπαίδευσή μου κατά τη διάρκεια της ειδικότητάς μου στην Ορθοπαιδική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την καθηγήτρια της Ιατρικής Σχολής κ. Μπατιστάτου Άννα για την πολύτιμη βοήθεια της κατά τη διάρκεια της μελέτης αυτής. Θα ήθελα να ευχαριστήσω ακόμη όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Μικροχειρουργικής της Ορθοπαιδικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και ιδιαίτερα τους συναδέλφους κ. Γκιάτα Ιωάννη και κ. Παπαδόπουλο Δημήτριο για την βοήθεια τους στην διατριβή αυτή. Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω την Ελληνική Εταιρεία Χειρουργικής Ορθοπαιδικής και Τραυματολογίας (ΕΕΧΟΤ) για την υποστήριξή της στην πραγματοποίηση της παρούσας διατριβής.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω και την εταιρεία UNI-PHARMA για την βοήθεια της στην αποστολή υλικού για την πραγματοποίηση της διατριβής αυτής.

Περιεχόμενα

Εισαγωγή.....	14
Ιστορικά Στοιχεία.....	14
Λειτουργική κατηγοριοποίηση του Νευρικού Συστήματος.....	21
Γενικά στοιχεία.....	21
Βασικές λειτουργίες.....	21
Νευρικός ιστός.....	24
Γενικά στοιχεία.....	24
Συχνότητα της νευρικής βλάβης.....	25
Νευρώνες.....	28
Τμήματα του νευρώνα.....	29
Τύποι νευρώνων.....	33
Ταξινόμηση νευρώνων με βάση το σχήμα.....	34
Γλοιακά κύτταρα.....	37
Γλοιακά κύτταρα του ΠΝΣ.....	38
Γλοιακά κύτταρα του ΠΝΣ.....	39
Μυελίνη.....	40
Η διαδικασία της μυελίνωσης.....	41
Το Περιφερικό Νευρικό Σύστημα (ΠΝΣ).....	44
Γάγγλια.....	44
Γάγγλιο ραχιαίων νευρικών ριζών.....	46
Κόμβοι του Ranvier.....	48
Δομικές διαφορές μεταξύ κόμβων στο ΚΝΣ και στο ΠΝΣ.....	49
Νωτιαίος μυελός και Ρίζες γαγγλίων.....	50
Νεύρα.....	54
Δομή του νεύρου.....	55
Φυσιολογία του περιφερικού νευρικού συστήματος.....	57
Ταξινόμηση των νευρικών ινών.....	57
Δυναμικά ηρεμίας και δυναμικά ενέργειας.....	59
Δυναμικά ηρεμίας.....	59
Δυναμικό ενέργειας.....	60
Διακοπή της αγωγιμότητας και αναισθησία.....	62

Οξεία μηχανική συμπίεση:.....	62
Η νευρομυϊκή σύναψη.....	64
Αγγείωση των περιφερικών νεύρων.....	66
Νευροπαθολογία της περιφερικής νευρικής βλάβης.....	71
Βαλλεριανή εκφύλιση.....	78
Ο ρόλος των κυττάρων Schwann.....	82
Φαινοτυπικές αλλαγές που σχετίζονται με τον τραυματισμό.....	82
Η περιοχή της βλάβης.....	83
Εκφύλιση του περιφερικού νευράξονα.....	85
Growth Cone- Αυξητικός κώνος.....	86
Νευρική αναγέννηση σε ΚΝΣ και ΠΝΣ.....	90
Μέθοδοι ευόδωσης της περιφερικής νευρικής αναγέννησης.....	90
Στρατηγικές τεχνικές για την ενίσχυση της περιφερικής νευρικής αναγέννησης.....	92
Βελτίωση των ενδογενών παραγόντων της αξονικής αναγεννητικής ικανότητας.....	92
Πρόληψη της νευρωνικής απόπτωσης.....	96
Νευρική αναγέννηση.....	98
Νευροβιολογία της περιφερικής νευρικής αναγέννησης.....	99
Το κυτταρικό σώμα.....	99
Το όργανο στόχος.....	100
Πειραματικές στρατηγικές και μηχανική των ιστών.....	101
Οριοθετώντας την νευρική επιβίωση.....	101
Η περιοχή της βλάβης.....	102
Ικρίωματα νευρικής καθοδήγησης.....	102
Φαρμακοθεραπεία.....	104
Κυτταρική θεραπεία.....	106
Γονιδιακά στοιχεία νευρικής αναγέννησης.....	108
Rho GTPases.....	111
Rho GTPases και νευρική βλάβη.....	112
Αποκλεισμός της Rho από εκλεκτικούς αναστολείς.....	114
Αναστολή της RhoA και βασικές επιδράσεις των ΜΣΑΦ.....	115
Πειραματικές μελέτες για την νευρική αποκατάσταση.....	116
ΜΣΑΦ και νευρική αναγέννηση.....	117
ΜΣΑΦ και προστασία νευρικού ιστού.....	119
Τελικο-πλάγια νευροσυρραφή.....	120
COLLATERAL SPROUTING.....	122
Διπλή τελικο-πλάγια νευροσυρραφή.....	124

Επινευρικό ή Περινευρικό παράθυρο.....	127
Μελλοντικές κλινικές προοπτικές.....	129
Προβληματισμός-Ανάγκη ενίσχυσης περιφερικής νευρικής αναγέννησης.....	132
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	134
Πειραματόζωα.....	134
Χειρουργική τεχνική.....	138
Εκτίμηση των αποτελεσμάτων.....	146
Peroneal Functional Index (PFI) και Tibial Function Index (TFI).....	146
Ιστολογική μελέτη.....	156
Παρασκευή ιστοτεμαχίων.....	158
Μυϊκό βάρος.....	162
Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.....	163
Στατιστική ανάλυση.....	164
PFI.....	164
Αποτελέσματα.....	164
Σύγκριση ομάδας ελέγχου με ομάδα Β.....	174
Σύγκριση της ομάδας ελέγχου με την ομάδα Γ.....	176
Σύγκριση της ομάδας ελέγχου με την ομάδα Δ.....	177
Σύγκριση του δείκτη λειτουργικής ικανότητας του περνιαίου νεύρου μεταξύ των ομάδων.....	178
Εκτίμηση μυϊκού βάρους προσθίου κνημιαίου μυός.....	179
Σύγκριση ομάδων.....	182
Ομάδα Α.....	182
Ομάδα Β.....	183
Ομάδα Γ.....	185
Ομάδα Δ.....	186
Ιστολογική αξιολόγηση.....	189
Ιστολογική μελέτη.....	189
Αξιολόγηση του περνιαίου νεύρου.....	189
Σύγκριση των ομάδων.....	191
Συμπέρασμα από τα αποτελέσματα των ιστολογικών μελετών.....	207
Φωτογραφικό υλικό.....	198
Συζήτηση.....	203
Περίληψη.....	206
Abstract.....	208
Μελλοντική προσέγγιση.....	210
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	212

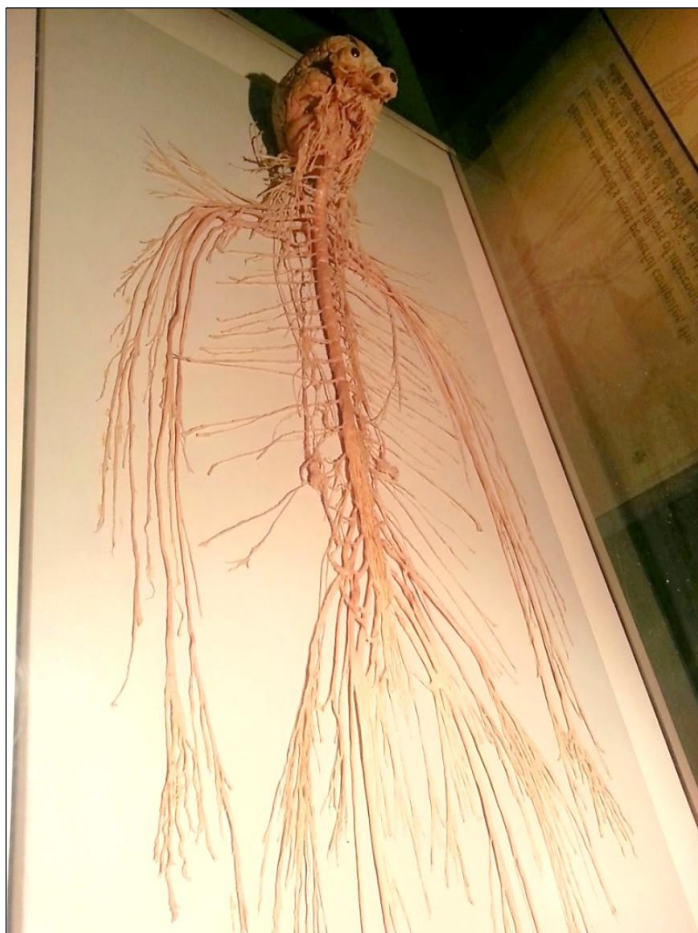
Εισαγωγή

Ιστορικά Στοιχεία

Οι νευρικές δομές αποτελούν βασικά στοιχεία για την εύρυθμη λειτουργία του ανθρώπινου σώματος. Χωρίς την ομαλή λειτουργία των νεύρων δεν είναι δυνατή η αντίληψη του περιβάλλοντος και η ομαλή ανάπτυξη του ανθρώπου μέσα σε αυτό.

Αναφορές για την νευρική λειτουργία εντοπίζονται ήδη από τα χρόνια του Ιπποκράτη αλλά και νωρίτερα. Σε τοιχογραφίες μέσα σε Αιγυπτιακούς τάφους καταγράφηκαν παραστάσεις κακώσεων ώμου και του χειρισμού ανάταξης αυτών με έναν τρόπο που θυμίζει την τεχνική Kocher, δίνοντας σημασία στον έλεγχο της νευρικής λειτουργίας του άνω άκρου μετά την ανάταξη με έλεγχο του εύρους κίνησης του (3000 π.Χ.). Μεταγενέστερα επίσης, ο Ιπποκράτης αναφέρει ότι μετά την επιτυχημένη ανάταξη των εξarthρημάτων ώμου στους στρατιώτες θα πρέπει πάντοτε να ελέγχεται η νευρική λειτουργία του άνω άκρου. Ο αρχικός διαχωρισμός των νεύρων από άλλες ανατομικές δομές φαίνεται να πραγματοποιήθηκε από τον

Galen περί το 200 μ.Χ. όπου διαχώρισε τα νεύρα από τους τένοντες (Terzis, Sun, & Thanos, 1997). Ο ίδιος επιστήμονας περιέγραψε προσπάθειες επιτυχημένης αποκατάστασης των νεύρων από άλλους επιστήμονες (χωρίς να παρέχει πληροφορίες για την χειρουργική ή συντηρητική φύση της αποκατάστασης) εισάγοντας την έννοια της νευρικής αναγέννησης στην επιστήμη.



Εικόνα 1. Εικόνα του νευρικού συστήματος του ανθρώπινου σώματος (Κεντρικό και Περιφερικό Νευρικό Σύστημα)

Η πρώτη προσπάθεια νευρικής συρραφής με τη χρήση ραμμάτων περιγράφεται κατά τον 7ο μ. Χ. αιώνα περίπου από τον Πάυλο τον Αιγινήτη που ήταν Βυζαντινός ιατρός υπεύθυνος για τη συγγραφή της 7τομης ιατρικής εγκυκλοπαίδειας «Έπιτομαί ιατρικάί» (Ramon Y Cayal 1905). Εν συνεχεία η πρώτη περιγραφή της τελικο-τελικής νευροσυρραφής των κολοβωμάτων μετά από νευρική βλάβη πραγματοποιήθηκε από τον Gabriele Ferrara (1543-1627 μ.Χ.) που ήταν από τους πρωτοπόρους στην συρραφή των περιφερικών νεύρων (Sunderland, 1945a, 1945b). Περιέγραψε τα βήματα για μια επιτυχημένη συρραφή περιφερικού νεύρου από την αναγνώριση και νεαροποίηση των

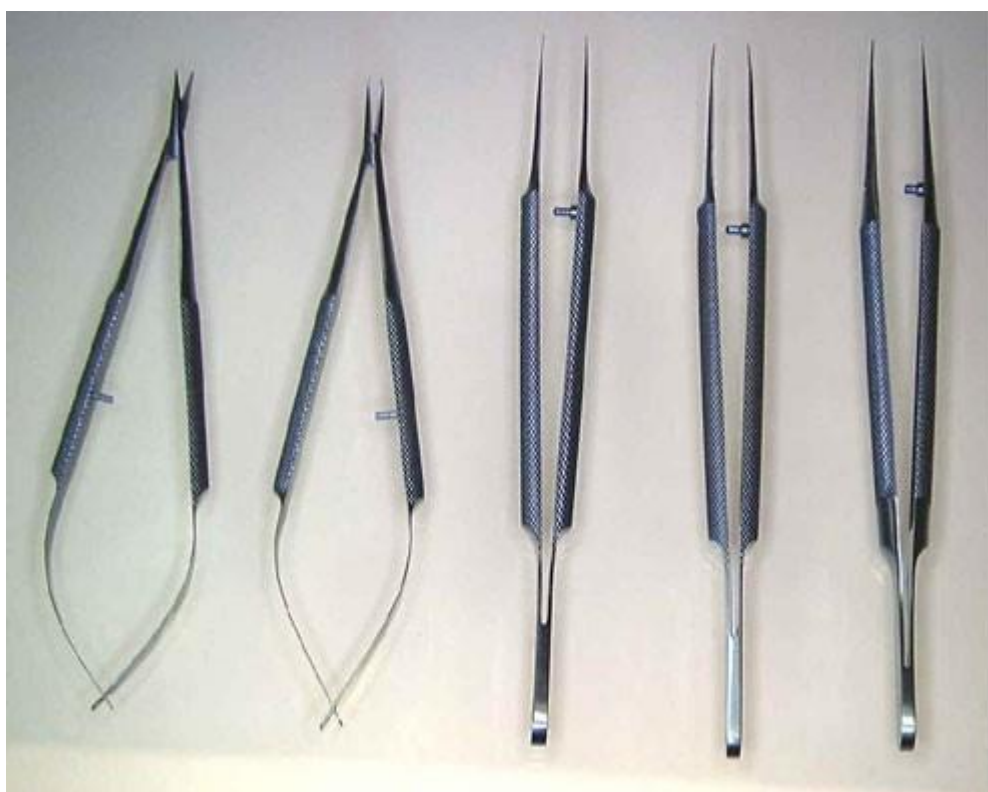
κολοβωμάτων, την εφαρμογή ήπιας έλξης για συμπλησίαση των κολοβωμάτων και την συρραφή με ήπια τεχνική για το καλύτερο δυνατό αποτέλεσμα.

Η προσπάθεια κατανόησης των μηχανισμών της νευρικής αναγέννησης καθυστέρησε σημαντικά μέχρι τον 19^ο αιώνα κυρίως λόγω της απουσίας του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου και των τεχνικών χρώσης από την επιστήμη, καταλήγοντας στην συντηρητική αντιμετώπιση ή ακόμα και στον ακρωτηριασμό του σκέλους σε περιπτώσεις ασθενών με τραυματισμό μεγάλων νευρικών δομών του άνω ή του κάτω άκρου (Dellon & Mackinnon, 1988).

Μετά την είσοδο του μικροσκοπίου στην ιατρική καθώς και την ανακάλυψη τεχνικών χρώσης των νευρών έγινε δυνατή η λεπτομερέστερη κατανόηση του νευρικού ιστού (Camillo Golgi, Ramón y Cajal 1905). Με τα νέα αυτά δεδομένα ήταν δυνατή η περιγραφή από τον Cruikshank των μεταβολών της νευρικής αναγέννησης και από τον Cajal το 1905 των μεταβολών της αξονικής αναγέννησης. Με τις ανακαλύψεις αυτές τέθηκαν οι βάσεις για τις σύγχρονες τεχνικές αποκατάστασης των νευρικών βλαβών (Cajal 1905).

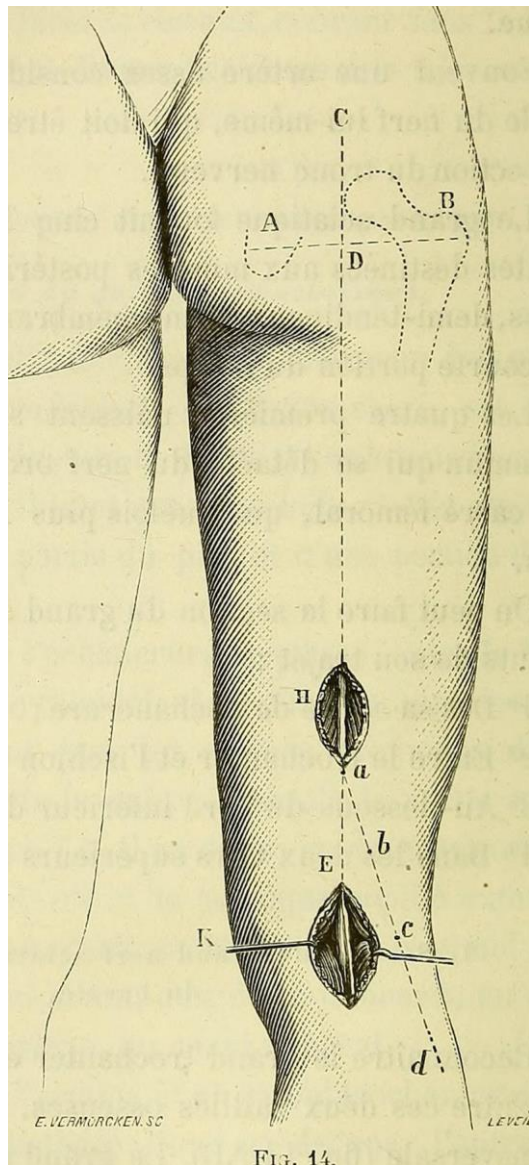
Οι νευροσυρραφές αρχικά αρκετές φορές πραγματοποιούνταν υπό τάση με αποτέλεσμα να μην παρατηρούνται ιδιαίτερα ικανοποιητικά αποτελέσματα όσον αφορά τη νευρική λειτουργία. Κατά τη διάρκεια του 2ου Παγκοσμίου Πολέμου ο Seddon και ο Woodhall, που εργάζονταν σε διαφορετικές χώρες, παρουσίασαν διαφορετικές μεθόδους αποκατάστασης των βλαβών των περιφερικών νευρών με την χρήση καλωδιακών μοσχευμάτων (cable grafts), μοσχευμάτων γεφύρωσης, καθώς και με πρωτογενή ή δευτερογενή συρραφή των νευρικών ελλειμμάτων. Τα είδη των νευρικών μοσχευμάτων μπορούν να ταξινομηθούν σε μονήρη, καλωδιακά (cable), κορμού (trunk), ενδοδεσμικά (interfascicular) και αγγειούμενα (vascularized) (Colen 2009). Αμέσως μετά τον 2ο Παγκόσμιο Πόλεμο, ο Sunderland δημοσίευσε τα ευρήματα του σχετικά με τον

τοπογραφική οργάνωση των νεύρων, που αποτέλεσε το έναυσμα για την ανάπτυξη νέων τεχνικών για την αποκατάσταση των νευρικών δεσμίδων (Sunderland, 1952). Βασισμένος στα νέα αυτά δεδομένα ο Millesi κατάφερε να συγκεράσει τα μικροχειρουργικά εργαλεία με τις μικροχειρουργικές τεχνικές συρραφής χωρίς τάση με αποτέλεσμα να έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος στο πεδίο αυτό. Μετά τον 2ο Παγκόσμιο Πόλεμο η αποκατάσταση της νευρικής βλάβης πραγματοποιούνταν με νευροσυρραφή χωρίς τάση και παρουσίαζε θετικά αποτελέσματα σε σχέση με την πραγματοποίηση νευροσυρραφών υπό τάση του παρελθόντος.



Εικόνα. Σετ μικροχειρουργικών εργαλείων.

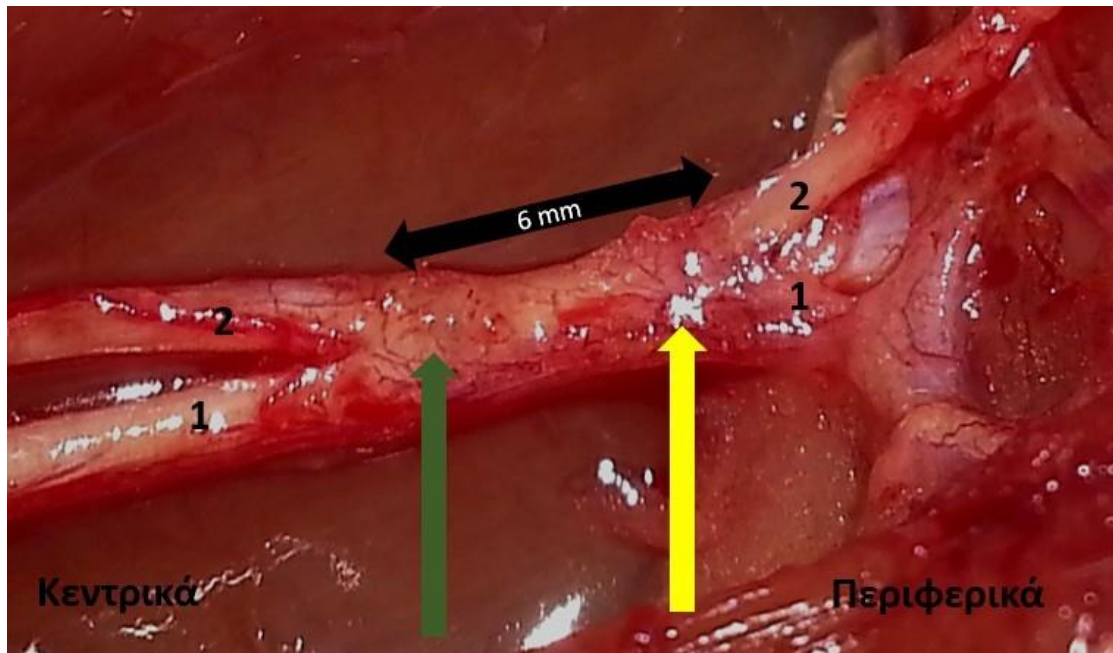
Η πρώτη αναφορά για την τελικο-πλάγια νευροσυρραφή (end-to-side neurorrhaphy), που περιγράφηκε μετά την τελικο-τελική νευροσυρραφή, γίνεται από τον Letievent το 1873 στο βιβλίο του *Traite des Sections Nerveuses*.



Εικόνα. Εικόνα από το βιβλίο του *Traite des Sections Nerveuses*.

Η πρώτη προσπάθεια κλινικής εφαρμογής της εν λόγω τεχνικής έγινε το 1876 από τον Despres, ο οποίος επιχείρησε την τελικο-πλάγια νευροσυρραφή του μέσου νεύρου στο υγιές ωλένιο νεύρο (Mackinnon 1988). Άλλες περιπτώσεις τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής που δημοσιεύτηκαν είναι η προσπάθεια του Kennedy το 1901 όπου επιχείρησε την τελικο-πλάγια νευροσυρραφή του προσωπικού νεύρου στο

παραπληρωματικό νεύρο στην περίπτωση ενός ασθενούς με παράλυση προσωπικού νεύρου, επιτυγχάνοντας μερική αποκατάσταση της νευρικής λειτουργίας του νεύρου. Μετέπειτα το 1903 ο Balance μαζί με τους συνεργάτες του επιχείρησε νευροσυρραφή του υγιούς προσωπικού νεύρου ενός ασθενή στο τραυματισμένο περιφερικό κολόβωμα του ετερόπλευρου προσωπικού νεύρου με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Παρόλο το γεγονός ότι η τελικο-πλάγια νευροσυρραφή εμφάνιζε θετικά αποτελέσματα στην νευρική αποκατάσταση παρατηρήθηκε μια τάση να μην χρησιμοποιείται ιδιαίτερα μετά τον 2ο Παγκόσμιο πόλεμο μέχρι περίπου την έναρξη της δεκαετίας του 90' όταν και ο Viterbo και ο Lundborg εφάρμοσαν την τεχνική σε πειραματικές μελέτες καθώς και σε ασθενείς με παράλυση προσωπικού νεύρου (Viterbo, Salvio, Griva, & Maciel, 2012; Viterbo, Trindade, Hoshino, & Mazzoni, 1994). Η τελικο-πλάγια νευροσυρραφή εφαρμόζεται μέχρι σήμερα σε πολλές πειραματικές μελέτες και σε περιπτώσεις κακώσεων του βραχιονίου πλέγματος και εξελίσσεται με την εφαρμογή νέων τεχνικών, νέων παρεμβατικών μεθόδων, με την χρήση νέων εργαλείων και με την χρήση παραγόντων που επιδρούν σε βασικές κυτταρικές διαδικασίες (Lykissas, 2011).



Εικόνα. Εικόνα διπλής τελικοπλάγιας νευροσυρραφής που λήφθηκε κατά την πειραματική μελέτη.

Λειτουργική κατηγοριοποίηση του Νευρικού Συστήματος

Γενικά στοιχεία

Το νευρικό σύστημα μπορεί να ταξινομηθεί με βάση λειτουργικά και ανατομικά κριτήρια. Αποτελείται από το Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ) και το Περιφερικό Νευρικό Σύστημα (ΠΝΣ). Διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αντίληψη των ερεθισμάτων, στην αξιολόγηση και επεξεργασία τους και στην απάντηση στα ερεθίσματα αυτά. Το ΚΝΣ και το ΠΝΣ και τα δυο συνεισφέρουν στις ίδιες λειτουργίες, αλλά οι λειτουργίες αυτές εκκινούν από διαφορετικές περιοχές του εγκεφάλου (όπως για παράδειγμα ο εγκεφαλικός φλοιός ή ο υποθάλαμος) ή από διαφορετικά γάγγλια στην περιφέρεια. Παρατηρείται επίσης το φαινόμενο κάποιες φορές μια ανατομική δομή να αποτελεί τμήμα διαφορετικών λειτουργιών καθιστώντας δύσκολη την άμεση συσχέτιση ανατομικών περιοχών με λειτουργικές αποκρίσεις (Nave 2014).

Βασικές λειτουργίες

Το ΝΣ είναι υπεύθυνο για την αποδοχή πληροφοριών από το περιβάλλον γύρω μας (αισθητικότητα) και την δημιουργία συγκεκριμένων αποκρίσεων στα ερεθίσματα αυτά (κινητική απόκριση). Το ΝΣ μπορεί να διαιρεθεί σε τομείς που είναι υπεύθυνοι για την αισθητικότητα (αισθητικές λειτουργίες) και για την απόκριση στα ερεθίσματα (κινητικές λειτουργίες). Υπάρχει και μια τρίτη λειτουργία που ονομάζεται γνωστική και σχετίζεται με την ενσωμάτωση των αισθητικών

λειτουργιών σε περιοχές σύζευξης (Nave 2014).

Αισθητικότητα. Η πρώτη βασική λειτουργία του ΝΣ είναι η αισθητικότητα- η λήψη πληροφοριών από το περιβάλλον για την αντίληψη των γεγονότων που συμβαίνουν εκτός του ανθρώπινου σώματος (ή και κάποιες φορές εντός του οργανισμού). Οι αισθητικές λειτουργίες του ΝΣ «ενημερώνουν» για την παρουσία μιας κατάστασης διαφορετικής από τις γνωστές διαδικασίες ομοιόστασης του ανθρώπινου σώματος ή ένα σημαντικό συμβάν του περιβάλλοντος, που είναι γνωστά σαν ερέθισμα.

Απόκριση. Το ΝΣ παράγει μια απόκριση στη βάση αντίδρασης σε ένα ερέθισμα που αντιλαμβάνονται τα αισθητήρια όργανα. Μια προφανής απόκριση μπορεί να είναι η κίνηση κάποιων μυικών ομάδων, όπως η απομάκρυνση του χεριού και των δακτύλων από μια ζεστή επιφάνεια, αλλά υπάρχουν και πιο ευρείες εκφράσεις των αντιδράσεων αυτών. Το ΝΣ μπορεί να προκαλέσει τη σύσπαση και των 3 τύπων μυϊκού ιστού. Για παράδειγμα ο σκελετικός μυς συσπάται για να κινήσει τον ανθρώπινο σκελετό, ο καρδιακός μυς επηρεάζεται όσο αυξάνεται η καρδιακή συχνότητα κατά τη διάρκεια της άσκησης, και οι λείες μυϊκές ίνες συσπώνται όσο το γαστρεντερικό σύστημα προχωρά στη διαδικασία της πέψης της τροφής κατά μήκος του πεπτικού σωλήνα. Η απόκριση επίσης περιλαμβάνει τον νευρικό έλεγχο του σώματος, όπως η παραγωγή και η έκκριση ιδρώτα από τους ιδρωτοποιούς αδένες για την ικανοποιητική θερμορύθμιση του σώματος.

Η απόκριση στο ερέθισμα μπορεί να διαχωριστεί στην ηθελημένη απόκριση ή συνειδητή (όπως η σύσπαση σκελετικού μυ) και στην μη συνειδητή που λαμβάνει χώρα χωρίς την θέληση του οργανισμού (όπως η σύσπαση των λείων μυϊκών ινών, η ρύθμιση της δράσης του καρδιακού μυός, η λειτουργία των αδένων του σώματος). Οι συνειδητές αποκρίσεις

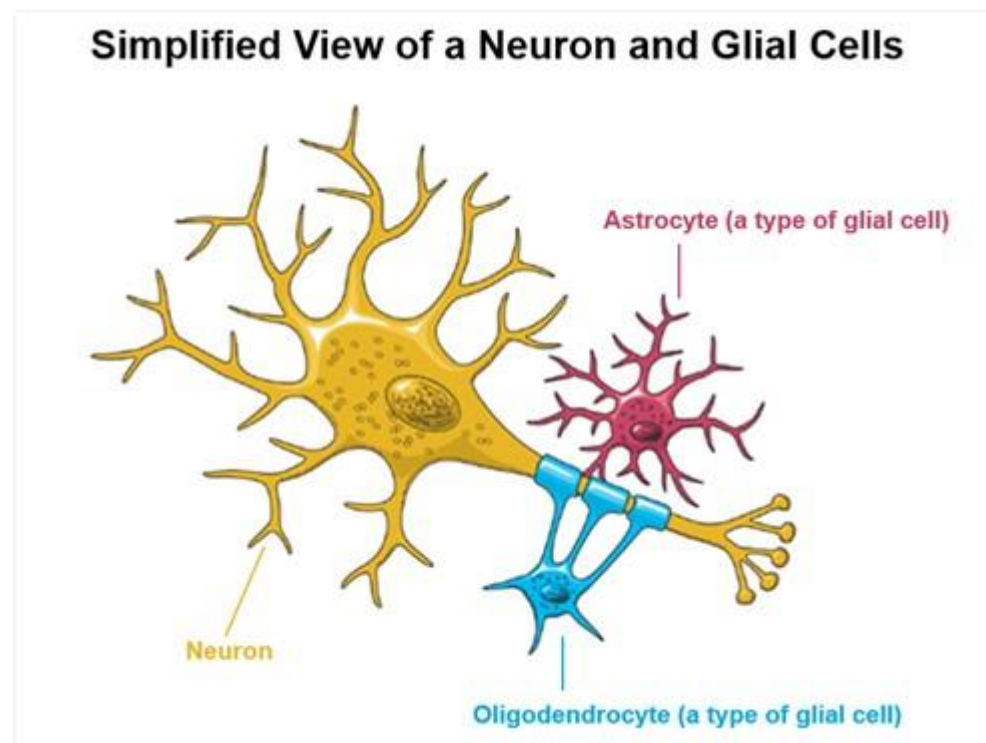
ελέγχονται από το σωματικό νευρικό σύστημα και οι μη συνειδητές αποκρίσεις ελέγχονται από το αυτόνομο νευρικό σύστημα.

Ενσωμάτωση. Τα ερεθίσματα που γίνονται αντιληπτά από περιφερικούς αισθητήρες μεταβιβάζονται στο ΚΝΣ όπου οι πληροφορίες επεξεργάζονται. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται ενσωμάτωση. Τα ερεθίσματα αυτά συγκρίνονται με άλλα ερεθίσματα του παρελθόντος, αναμνήσεις ή και την κατάσταση του ατόμου τη συγκεκριμένη χρονική στιγμή (Nave 2014).

Νευρικός ιστός

Γενικά στοιχεία

Ο νευρικός ιστός αποτελείται από 2 τύπους κυττάρων, τους νευρώνες και τα γλοιακά κύτταρα. Οι νευρώνες είναι ο κύριος τύπος κυττάρων (Nave 2014). Είναι υπεύθυνα για τις βασικές λειτουργίες και την επικοινωνία διαφορετικών συστημάτων που το ΝΣ. Είναι κύτταρα που παρουσιάζουν αλλαγές στα ηλεκτρικά δυναμικά της μεμβράνης τους και απελευθερώνουν χημικά σήματα προς τα όργανα στόχους. Τα γλοιακά κύτταρα ή γλοία, φαίνεται ότι παίζουν σημαντικό υποστηρικτικό ρόλο για τον νευρικό ιστό. Συνεχιζόμενες έρευνες προσπαθούν να αποδείξουν τον διευρυσμένο ρόλο των γλοιακών κυττάρων στην επεξεργασία των σημάτων, με τους νευρώνες ωστόσο να αποτελούν τα κύρια στοιχεία του ΝΣ που διαχειρίζονται τις πληροφορίες αυτές. Οι νευρώνες είναι ιδιαίτερα σημαντικοί,



αλλά χωρίς
την
υποστήριξη
των
γλοιακών
κυττάρων
δεν θα ήταν
σε θέση να

πραγματοποιήσουν το έργο τους (Catala 2013).

Εικόνα 2. Εικόνα νευρώνα (neuron) και γλοιακών κυττάρων (oligodendrocyte, astrocyte).

Συχνότητα της νευρικής βλάβης

Η περιφερική νευρική βλάβη που σχετίζεται με τραυματισμό εμφανίζει μια συχνότητα γύρω στο 1,3-2,8 % περίπου των ασθενών με τραύμα επιπέδου I (Saadat, Eslami, & Rahimi-Monvaghari, 2011). Η πλειοψηφία των τραυμάτων αυτών συμβαίνουν κατά την παραγωγική ηλικία των ασθενών, με αποτέλεσμα μεγάλη οικονομική επιβάρυνση για την κοινωνία. Σημαντική είναι και η παρατεταμένη απουσία από την εργασία καθώς και οι μόνιμες

νευρολογικές βλάβες που ο ασθενής αντιμετωπίζει και η σοβαρή υποβάθμιση της καθημερινής ποιότητας ζωής (Ristic, Strauch, & Rosenwasser, 2000).



Εικόνα 3. Απεικόνιση τραυματικής διατομής δακτυλικού νεύρου.

Στα πλαίσια της αποκατάστασης των νευρικών βλαβών περιγράφεται η δυνατότητα της χειρουργικής αντιμετώπισης των νευρικών κακώσεων με ποσοστά επιτυχίας που ποικίλλουν στην βιβλιογραφία. Στις ΗΠΑ ετησίως πραγματοποιούνται περί τις 50.000 χειρουργικές αποκαταστάσεις περιφερικών νευρικών βλαβών με ένα ετήσιο κόστος περί τα 7 δις USD (Kehoe, Zhang, & Boyd, 2012). Η εντόπιση της περιφερικής νευρικής βλάβης σχετίζεται με το επάγγελμα και τον τρόπο ζωής, ενώ ο μηχανισμός της βλάβης σχετίζεται με την κοινωνικο-οικονομική κατάσταση της κάθε περιοχής. Στις ΗΠΑ και στον Καναδά, η αρχικά αιτία της βλάβης του ΠΝΣ είναι τα τροχαία ατυχήματα με ποσοστό που κυμαίνεται από 26-46% (Noble, Munro, Prasad, & Midha, 1998; Taylor, Braza, Rice, & Dillingham,

2008). Σε άλλες χώρες οι επιθέσεις με τέμνοντα όργανα αποτελούν την κύρια αιτία των τραυματισμών αυτών (Saadat et al., 2011).

Το ΠΝΣ είναι πιο ευάλωτο σε τραυματισμούς με τον τραυματισμό του νεύρου να είναι αποτέλεσμα είτε βλάβης από τέμνον ή νύσσον όργανο είτε βλάβης μετά από έκρηξη από μεταλλικά αντικείμενα που μεταφέρουν μεγάλες ποσότητες κινητικής ενέργειας (βλήματα, πολεμικά όπλα) (Saadat et al., 2011).

Βλάβες περιφερικών νεύρων περιγράφονται μετά από κατάγματα ή εξαρθρήματα.

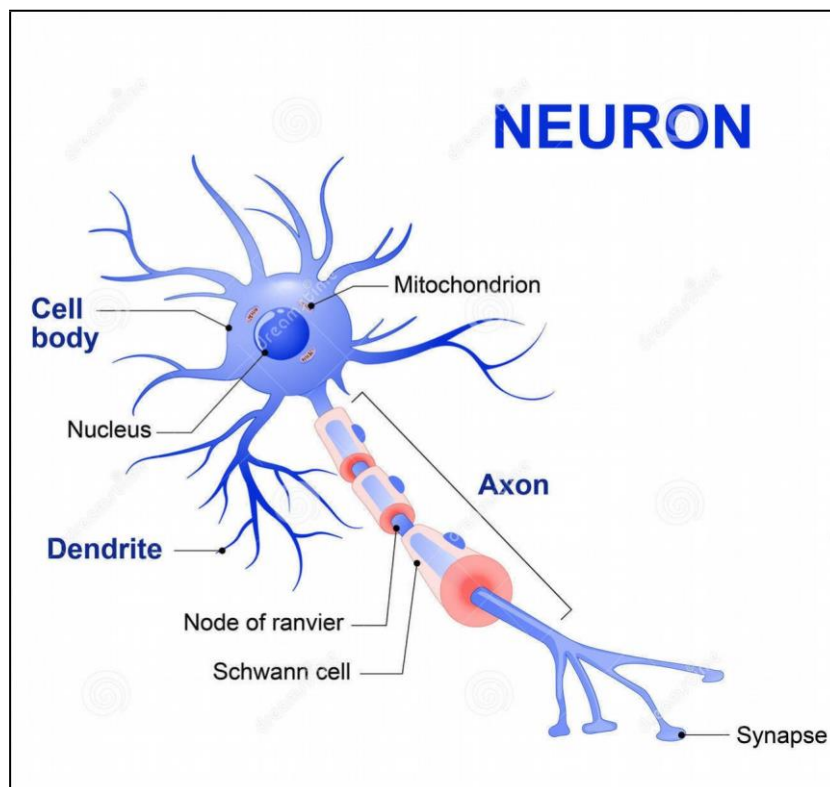
Οι κακώσεις αυτές μπορεί να είναι το αποτέλεσμα τραυματισμών υψηλής ενέργειας (νέοι ασθενείς, πτώσεις από ύψος ή τροχαία ατυχήματα ή εργατικά ατυχήματα από βιομηχανικά μηχανήματα) ή και τραυματισμών χαμηλής ενέργειας (ηλικιωμένοι ασθενείς). Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων που μια οστική κάκωση συνδέεται με νευρική βλάβη αυτή αφορά τα άνω άκρα. Μια τέτοια περίπτωση αποτελεί ο τραυματισμός του κερκιδικού νεύρου σε κατάγματα του βραχιονίου οστού (περιφερικού τριτημορίου ή μεσότητας βραχιονίου) που εκδηλώνονται κλινικά με διαταραχές της αισθητικότητας αλλά και της κινητικότητας του κερκιδικού νεύρου (αδυναμία έκτασης του καρπού και των δακτύλων). Άλλη περίπτωση νευρικής βλάβης που παρατηρείται μετά από κάταγμα του άνω άκρου είναι οι νευρολογικές εκδηλώσεις που παρατηρούνται αρκετές φορές σε περιπτώσεις υπερκονδυλίων καταγμάτων σε παιδιά (Ristic et al., 2000).

Νευρικές βλάβες έχουν παρατηρηθεί επίσης σε τραυματισμούς των κάτω άκρων όπως για παράδειγμα μετά από κατάγματα-εξαρθρήματα ισχίου όπου παρατηρείται βλάβη του ισχιακού νεύρου καθώς και σε περιπτώσεις ανοικτών καταγμάτων κνήμης μετά από τροχαία ατυχήματα ή πτώσεις (Miranda & Torres, 2016).

Βλάβες περιφερικών νεύρων μπορούν να προκληθούν επίσης ιατρογενώς μετά από χειρισμούς για την ανάταξη εξάρθρημάτων ή καταγμάτων (βλάβη μασχαλιαίου νεύρου μετά από ανάταξη εξάρθρηματος ώμου) ή μετά από χειρουργική επέμβαση (Antoniadis et al., 2014). Το 25% των βλαβών του ισχιακού νεύρου που χρήζουν αποκατάστασης είναι ιατρογενείς, όπως και το 60% των βλαβών του μηριαίου νεύρου. Η οστεοσύνθεση καταγμάτων, οι διορθωτικές οστεοτομίες, οι αρθροδέσεις, οι βιοψίες λεμφαδένων, οι αποσυμπιέσεις του καρπιαίου σωλήνα και οι επεμβάσεις γύρω από τις περιοχές του ισχίου, του γόνατος και του καρπού εμφανίζουν πιο συχνά βλάβες περιφερικών νεύρων (Antoniadis et al., 2014).

Νευρώνες

Οι νευρώνες είναι τα κύτταρα που αποτελούν τη βασική δομική και λειτουργική μονάδα του ΝΣ. Είναι υπεύθυνοι για την μετάδοση των ηλεκτρικών σημάτων που μεταφέρουν αισθητικές πληροφορίες, καθώς και για την απόκριση στα ερεθίσματα αυτά. Το σχήμα και η δομή των νευρώνων παίζουν σημαντικό ρόλο στην λειτουργία τους. Η τρισδιάστατη δομή των κυττάρων αυτών καθιστά δυνατή τη δημιουργία τεράστιου αριθμού συνδέσεων των κυττάρων αυτών με το ΝΣ, γεγονός απαραίτητο για τις πολύπλοκες λειτουργίες που το ΝΣ επιτελεί.

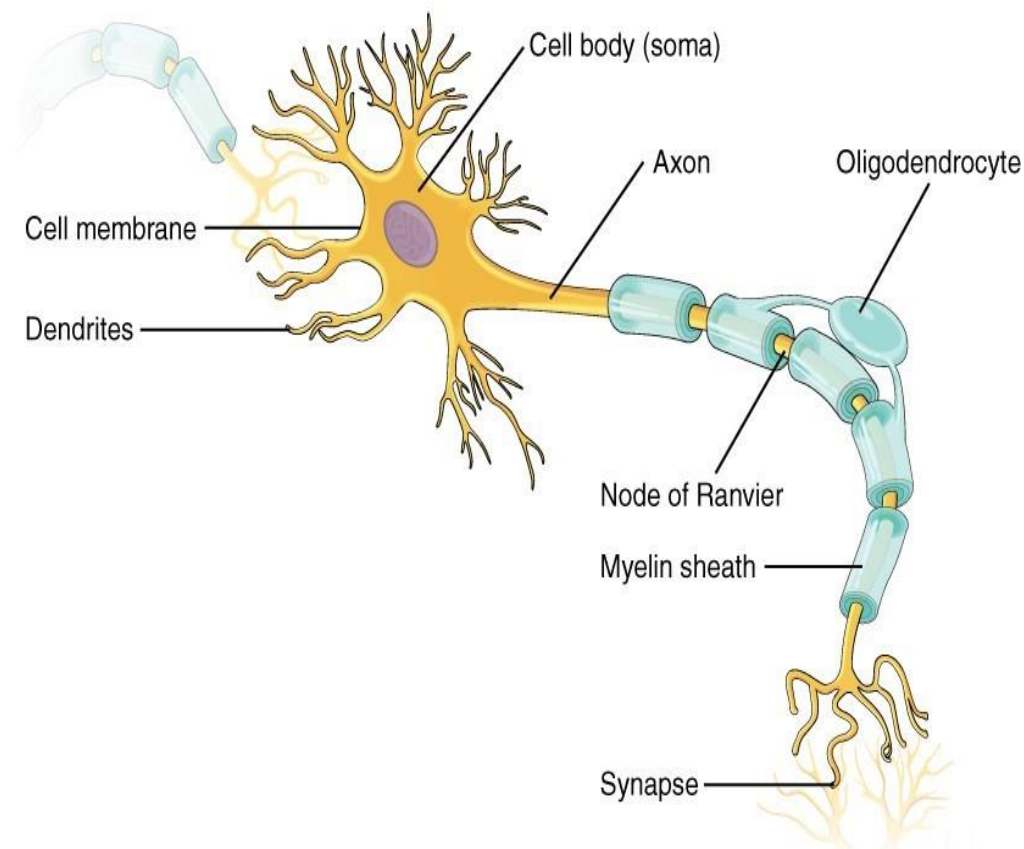


Εικόνα 4. Εικόνα νευρώνα όπου απεικονίζεται το κυτταρικό σώμα (cell body), οι δενδρίτες (dendrite) και ο νευράξονας (axon).

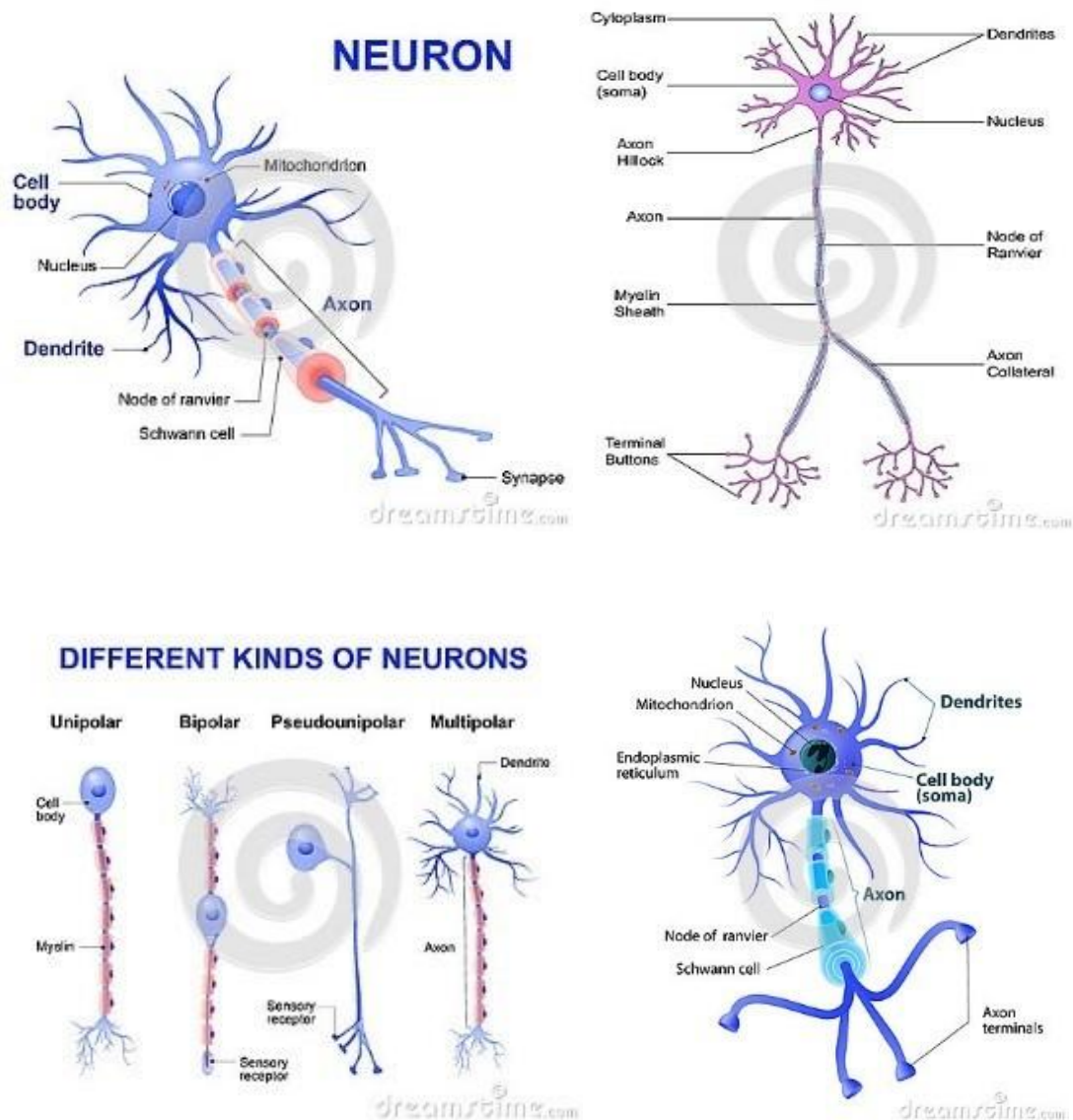
Τμήματα του νευρώνα

Το βασικό κομμάτι του νευρώνα είναι το κυτταρικό σώμα. Το κυτταρικό σώμα περιλαμβάνει τον πυρήνα και τα περισσότερα από τα κυτταρικά οργανίδια. Το χαρακτηριστικό που καθιστά τους νευρώνες ιδιαίτερους είναι οι πολλαπλές επεκτάσεις που εμφανίζουν στην κυτταρική τους μεμβράνη που αποτελούν τις αποφύσεις. Οι νευρώνες περιγράφονται να έχουν έναν και μόνο ένα νευράξονα, που είναι μια ίνα που άρχεται από το κυτταρικό σώμα και καταλήγει στο κύτταρο στόχο. Ο μονήρης αυτός νευράξονας μπορεί να διακλαδωθεί πολλές φορές για την επικοινωνία με πολλά κύτταρα στόχους. Ο νευράξονας μεταφέρει την νευρική ώση που είναι απαραίτητη για την

επικοινωνία 2 ή περισσότερων κυττάρων μεταξύ τους. Οι άλλες αποφύσεις του νευρώνα είναι οι δενδρίτες, που προσλαμβάνουν πληροφορίες από άλλους νευρώνες σε ειδικές περιοχές επαφής που ονομάζονται συνάψεις. Οι δενδρίτες είναι συνήθως αποφύσεις με πολλαπλές διακλαδώσεις, παρέχοντας πολλαπλές θέσεις επικοινωνίας με το κυτταρικό σώμα. Οι πληροφορίες μεταφέρονται διαμέσου ενός νευρώνα από τους δενδρίτες, κατά μήκος του κυτταρικού σώματος και κατά μήκος του νευράξονα. Το γεγονός αυτό προσδίδει στον νευρώνα μια πολικότητα, το γεγονός δηλαδή ότι η πληροφορία μεταδίδεται προς μια κατεύθυνση μόνο (Catala 2013).

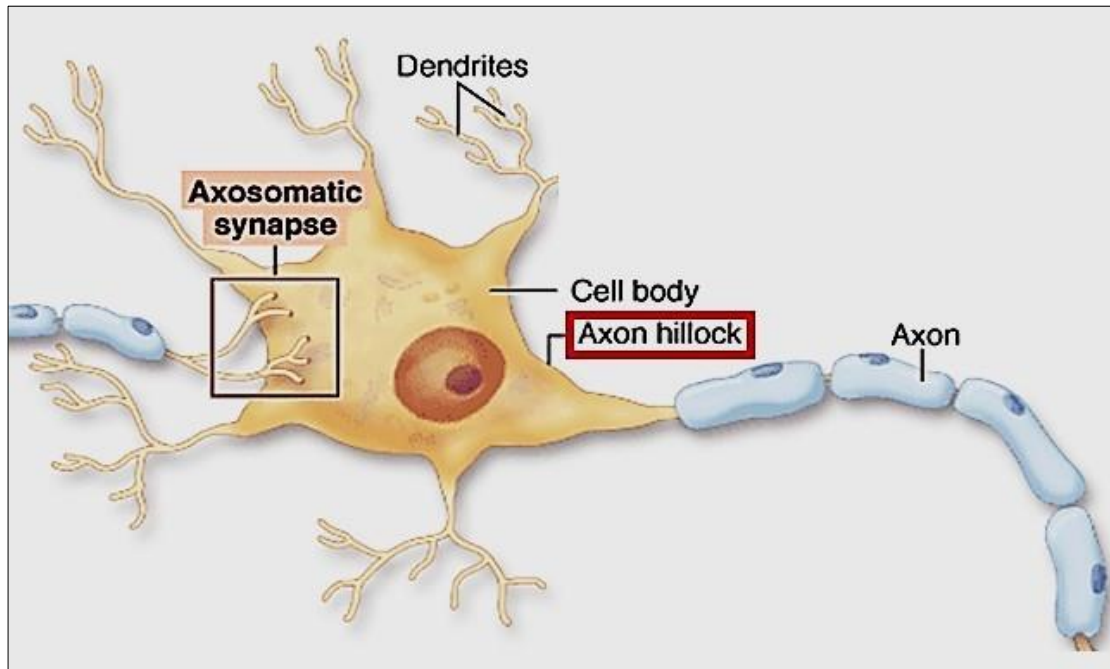


Εικόνα 5. Σχηματική απεικόνιση νευρώνα. Απεικονίζεται το κυτταρικό σώμα (cell body), με την κυτταρική μεμβράνη (cell membrane), τους δενδρίτες (dendrites), τον νευράξονα (axon), τα ολιγοδενδροκύτταρα (oligodendrocyte), τους κόμβους του Ranvier (Ranvier Nodes), τα έλυτρα μυελίνης (myelin sheath) και την σύναψη (synapse).



Εικόνα 6. Εικόνα όπου απεικονίζεται η δομή των νευρώνων καθώς και διάφορες κατηγορίες νευρώνων (μονοπολικοί-unipolar, διπολικοί-bipolar, ψευδομονοπολικοί-pseudounipolar, πολυπολικοί-multipolar).

Το σημείο που ο νευράξονας αναδύεται από το κυτταρικό σώμα, υπάρχει μια ειδική περιοχή που αναφέρεται ως **axon hillock**. Αυτή είναι μια εκλέπτυνση του κυτταρικού σώματος προς την ίνα του νευράξονα. Μέσα στο axon hillock, το κυτταρόπλασμα αλλάζει σε ένα διάλυμα με περιορισμένα συστατικά και ονομάζεται αξονόπλασμα. Επειδή το axon hillock αποτελεί την έναρξη του νευράξονα, αναφέρεται επίσης ως το αρχικό τμήμα (Catala 2013).



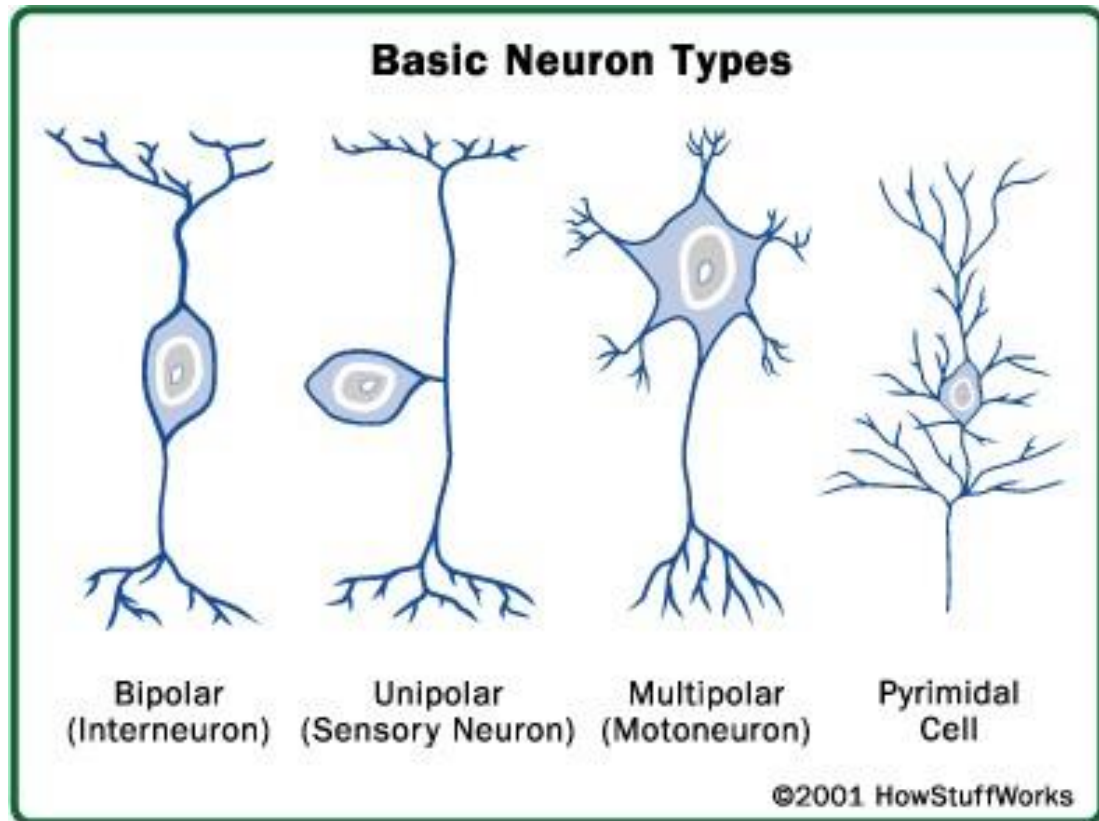
Εικόνα 7. Εικόνα όπου απεικονίζεται το σημείο από το οποίο ξεκινά η ανάπτυξη του νευράξονα (axon hillock).

Πολλοί νευράξονες βρίσκονται τυλιγμένοι από μια μονωτική ουσία που ονομάζεται μυελίνη, που στην ουσία αποτελείται από γλοιακά κύτταρα. Η μυελίνη δρα σαν μονωτικό όπως δρα το πλαστικό που χρησιμοποιείται για τα ηλεκτρικά καλώδια. Μια βασική διαφορά μεταξύ της μυελίνης και της μόνωσης που παρέχεται σε ένα ηλεκτρικό καλώδιο είναι το γεγονός ότι στην περίπτωση της μυελίνης παρατηρούνται κενά κατά μήκος του νευράξονα. Κάθε ένα από τα κενά αυτά ονομάζεται κόμβος του Ranvier και είναι ιδιαίτερα σημαντικός για τα ηλεκτρικά σήματα που ταξιδεύουν κατά μήκος του νευράξονα. Το μήκος του νευράξονα μεταξύ των κενών, που είναι καλυμμένο με μυελίνη, αναφέρεται ως αξονικό τμήμα. Στο τέλος του νευράξονα βρίσκεται το αξονικό τέρμα-axon terminal, που συνήθως υπάρχουν διάφορες διακλαδώσεις που εκτείνονται ως τα κύτταρα στόχους, κάθε ένα από τα οποία καταλήγει σε μια διεύρυνση που ονομάζεται synaptic end bulb, όπου και γίνεται η σύνδεση με τα κύτταρα στόχους (Catala 2013).

Τύποι νευρώνων

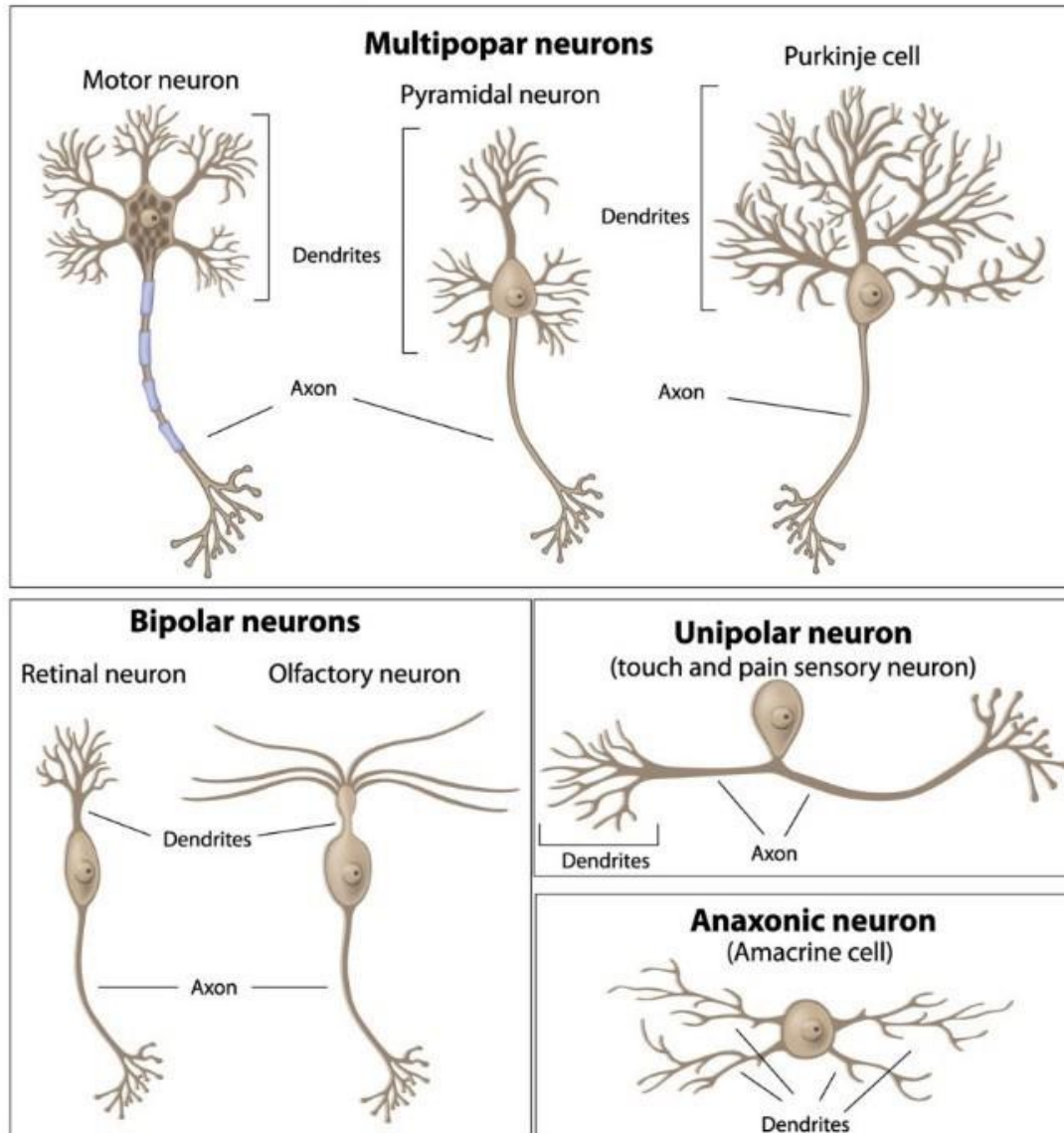
Έχουν περιγραφεί τρισεκατομμύρια νευρώνων στο ΝΣ και η ταξινόμησή τους μπορεί να γίνει με πολλά και διάφορα κριτήρια. Ο πρώτος τρόπος κατηγοριοποίησης είναι με βάση των αριθμό των αποφύσεων που είναι προσαρτημένες στο κυτταρικό σώμα. Με βάση το κλασσικό μοντέλο των νευρώνων, η μία από τις αποφύσεις αυτές είναι ο νευράξονας και οι υπόλοιπες είναι οι δενδρίτες. Επειδή το ερέθισμα μεταφέρεται διαμέσου του νευρώνα από τους δενδρίτες ή τα κυτταρικά σώματα κατά μήκος του νευράξονα, οι όροι αυτοί σχετίζονται με την πολικότητα του νευρώνα.

Ταξινόμηση νευρώνων με βάση το σχήμα



Εικόνα 8. Κατηγορίες νευρώνων (διπολικοί, μονοπολικοί, πολυπολικοί, πυραμδικά κύτταρα).

Types of Neurons



Εικόνα 9. Είδη νευρώνων με βάση την πολικότητά τους.

Τα μονοπολικά κύτταρα έχουν μία μόνο απόφυση που περιλαμβάνει και τον νευράξονα και τον δενδρίτη. Τα διπολικά κύτταρα έχουν 2 αποφύσεις, η μία είναι ο νευράξονας και η άλλη ο δενδρίτης. Τα πολυπολικά κύτταρα έχουν περισσότερες από 2 αποφύσεις, τον νευράξονα και 2 ή περισσότερους δενδρίτες.

Τα μονοπολικά κύτταρα έχουν μόνο μια απόφυση που αναδύεται από το κύτταρο. Τα ανθρώπινα μονοπολικά κύτταρα έχουν ένα νευράξονα που αναδύεται από το κυτταρικό

σώμα, αλλά διχάζεται ώστε ο νευράξονας να μπορεί να καλύψει μεγαλύτερη απόσταση. Στο ένα άκρο του νευράξονα υπάρχουν δενδρίτες και στο άλλο άκρο οι νευράξονες σχηματίζουν συναπτικές συνδέσεις με τον στόχο. Τα μονοπολικά κύτταρα είναι αποκλειστικά αισθητικοί νευρώνες.

Τα διπολικά κύτταρα εμφανίζουν 2 αποφύσεις που εκτείνονται από τα 2 άκρα του κυτταρικού σώματος, απέναντι η μια από την άλλη. Το ένα είναι ο νευράξονας και το άλλο είναι ο δενδρίτης. Τα διπολικά κύτταρα δεν είναι πολύ συχνά. Ανευρίσκονται συχνότερα στο οσφρητικό επιθήλιο και σε τμήματα του αμφιβληστροειδούς.

Πολυπολικοί νευρώνες είναι όλοι οι νευρώνες που δεν είναι μονοπολικοί ή διπολικοί. Αποτελούνται από έναν νευράξονα και 2 ή περισσότερους δενδρίτες. Με την εξαίρεση των μονοπολικών αισθητικών κυτταρικών γαγγλίων, και των 2 ειδών διπολικών κυττάρων, όλοι οι υπόλοιποι νευρώνες είναι πολυπολικοί. Αποτελέσματα από έρευνες αναφέρουν ότι συγκεκριμένοι νευρώνες στο ΚΝΣ δεν ακολουθούν το καθιερωμένο μοντέλο του ενός και μοναδικού νευράξονα.

Κάποιες πηγές περιγράφουν και μια τέταρτη κατηγορία νευρώνων που ονομάζεται anaxonic νευρώνας. Η ονομασία υποδηλώνει την απουσία νευράξονα αλλά αυτό δεν είναι αληθές. Παρουσιάζουν μικρό μέγεθος αλλά με την κατάλληλη μεγέθυνση μπορούν να αναγνωριστούν σαφής ανατομικά δομές δενδρίτη και νευράξονα καθιστώντας τους νευρώνες αυτούς πολυπολικούς.

Γλοιακά κύτταρα

Τα γλοιακά κύτταρα ή νευρογλοία ή απλά γλοία, αποτελούν τον δεύτερο τύπο κυττάρων του νευρικού ιστού. Θεωρούνται υποστηρικτικά κύτταρα και πολλές από τις λειτουργίες τους σχετίζονται με την υποβοήθηση των νευρώνων να πραγματοποιήσουν την λειτουργία της διασύνδεσης. Το όνομα γλοία προέρχεται από την ελληνική λέξη που σημαίνει «κολλώδης ουσία» και αποδόθηκε από τον Γερμανό παθολογοανατόμο Rudolph Virchow, που έγραψε το 1856: “Ο συνδετικός αυτός ιστός, που βρίσκεται στον εγκέφαλο, στο νωτιαίο μυελό και στα αισθητικά νεύρα, είναι ένα είδος κολλώδους ιστού (νευρογλοία) μέσα στην οποία οι νευρικές δομές είναι τοποθετημένες.”

Υπάρχουν 6 τύποι γλοιακών κυττάρων. 4 από αυτούς εντοπίζονται στο ΚΝΣ και 2 εντοπίζονται στο ΠΝΣ.

Γλοιακά κύτταρα με βάση την εντόπιση και τη βασική λειτουργία		
Γλοιακά Κύτταρα του ΚΝΣ	Γλοιακά Κύτταρα του ΠΝΣ	Βασική Λειτουργία
Αστροκύτταρα	Δορυφόρα κύτταρα	Υποστήριξη
Ολιγοδενδροκύτταρα	Κύτταρα Schwann	Μόνωση, Μυελίνωση
Μικρογλοιακά κύτταρα	-	Ανοσοεπιτήρηση και φαγοκυττάρωση
Επενδυματικά κύτταρα	-	Παραγωγή ΕΝΥ

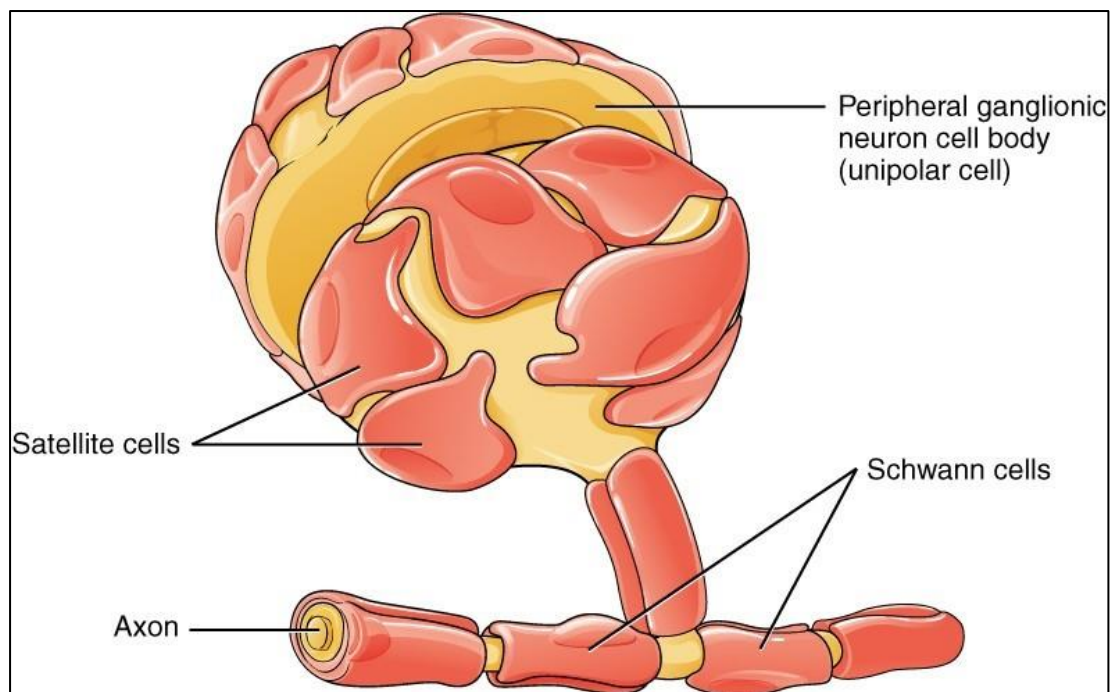
Γλοιακά κύτταρα του ΠΝΣ

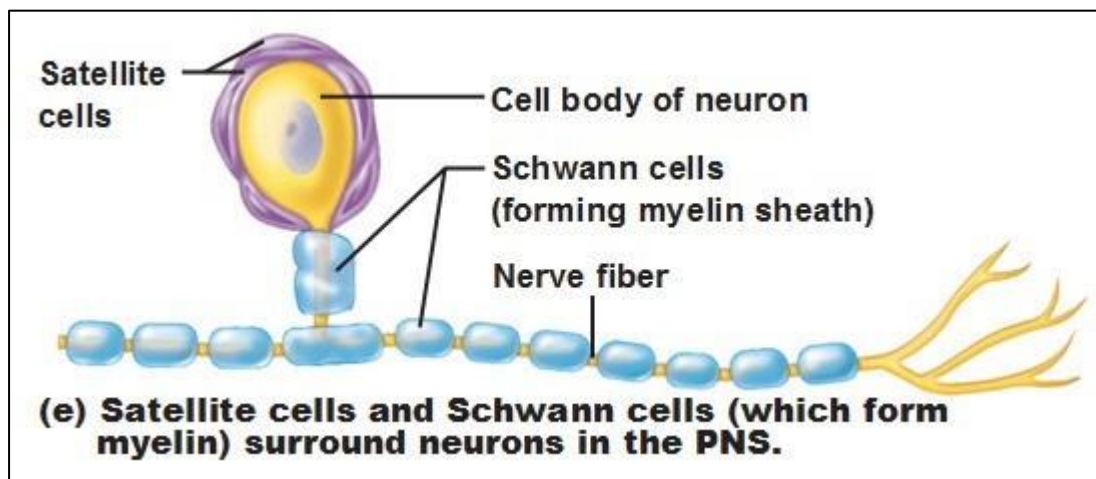
Ο ένας από τους 2 τύπους γλοιακών κυττάρων που εντοπίζονται στο ΠΝΣ είναι τα δορυφορικά κύτταρα-satellite cells. Τα κύτταρα αυτά βρίσκονται σε αισθητικά και

αυτόνομα γάγγλια, περιβάλλοντας τα κυτταρικά σώματα των νευρώνων δικαιολογώντας έτσι την ονομασία τους σαν δορυφόρα κύτταρα. Παρέχουν υποστήριξη, πραγματοποιώντας στην περιφέρεια λειτουργίες παρόμοιες με αυτές των αστροκυττάρων του ΚΝΣ (Christie et al 2015).

Ο δεύτερος τύπος γλοιακών κυττάρων είναι τα κύτταρα Schwann, που επενδύουν τους νευράξονες με μυελίνη στην περιφέρεια. Τα κύτταρα Schwann είναι διαφορετικά από τα ολιγοδενδροκύτταρα, στο γεγονός ότι ένα κύτταρο Schwann τυλίγει ένα τμήμα ενός μόνο νευράξονα και όχι περισσότερων. Τα ολιγοδενδροκύτταρα έχουν αποφύσεις που φθάνουν σε πολλαπλά τμήματα νευραξόνων, όταν ολόκληρο το κύτταρο Schwann περικλύει μόνο ένα νευραξονικό τμήμα. Ο πυρήνας και το κυτταρόπλασμα του κυττάρου Schwann βρίσκονται στο τέλος του ελύτρου μυελίνης (Christie et al 2015).

Γλοιακά κύτταρα του ΠΝΣ





Εικόνα 10. Νευρογλοιακά κύτταρα του ΠΝΣ. Δορυφόρα κύτταρα- Satellite cells και κύτταρα Schwann.

Μυελίνη

Η επένδυση των νευραξόνων στο ΝΣ παρέχεται από τα γλοιακά κύτταρα και συγκεκριμένα από τα ολιγοδενδροκύτταρα στο ΚΝΣ και τα κύτταρα Schwann στο ΠΝΣ. Παρότι ο τρόπος με τον οποίο το κάθε κύτταρο σχετίζεται με το αξονικό τμήμα ή τα τμήματα είναι διαφορετικός, η λογική της επένδυσης των νευραξόνων είναι η ίδια σε όλες τις περιπτώσεις (Landon DL & S, 1976). Η μυελίνη είναι ένα πλούσιο σε λιπίδια έλυτρο που περιβάλλει τους νευράξονες δημιουργώντας έτσι ένα έλυτρο που υποβοηθά την μετάδοση των ηλεκτρικών σημάτων κατά μήκος του νευράξονα. Τα λιπίδια είναι κυρίως τα φωσφολιπίδια της μεμβράνης των γλοιακών κυττάρων (Billings-Gagliardi, 1977; Landon DL & S, 1976).

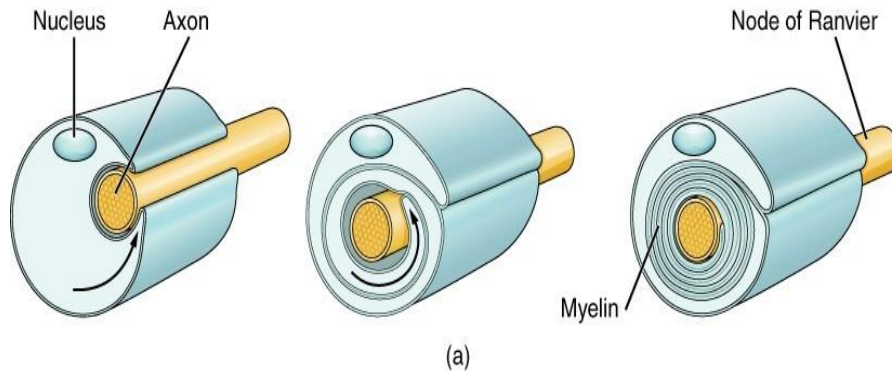
Για τα κύτταρα Schwann, το εξωτερικό στρώμα της κυτταρικής μεμβράνης περιέχει κυτταρόπλασμα και τον πυρήνα του κυττάρου σαν μια διόγκωση στην μια πλευρά του ελύτρου της μυελίνης. Κατά την ανάπτυξη, το γλοιακό κύτταρο είναι χαλαρά ή ατελώς

συνδεδεμένο με τον νευράξονα. Τα άκρα αυτής της χαλαρής σύνδεσης επεκτείνονται μεταξύ των κυττάρων, με τα άκρα να συνδέονται μεταξύ τους. Το εσωτερικό τμήμα τυλίγεται γύρω από τον νευράξονα, δημιουργώντας πολλά στρώματα ενώ το άλλο άκρο συνδέεται με την εξωτερική επιφάνεια ώστε ο νευράξονας να συμπεριληφθεί πλήρως (Landon DL & S, 1976; Peters, 2002).

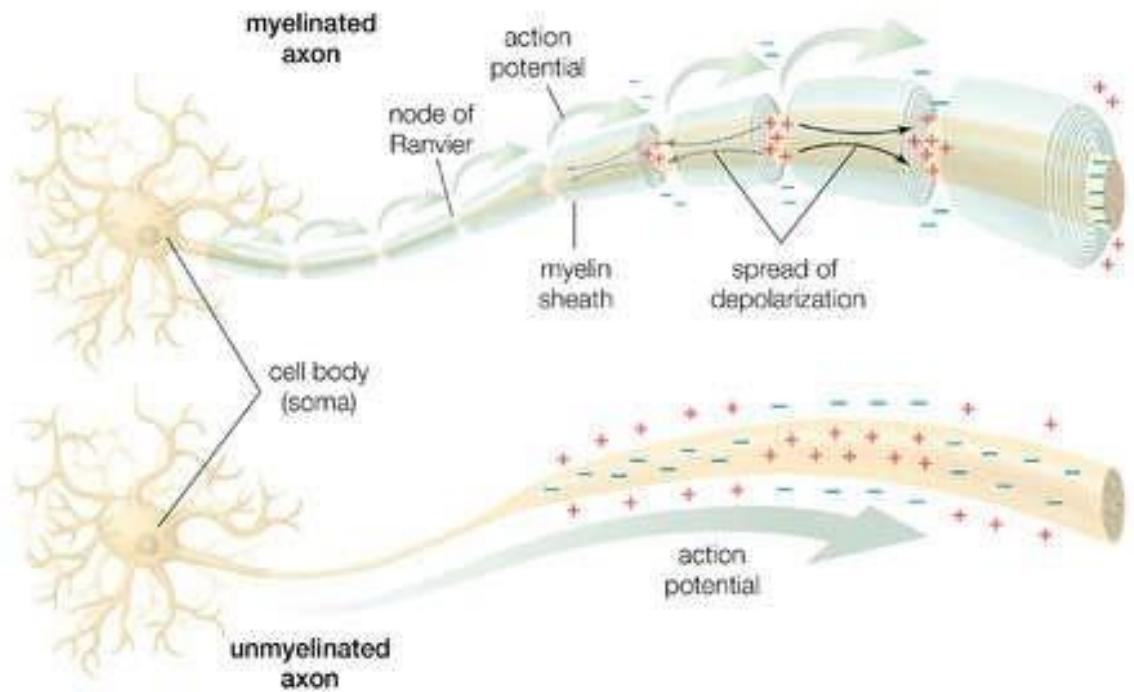
Ο νευράξονας περιλαμβάνει μικροσωληνίσκους και νευρονημάτια που συνδέονται με μια πλασματική μεμβράνη που είναι γνωστή ως αξονόλημμα. Εξωτερικά της πλασματικής μεμβράνης βρίσκεται το έλυτρο της μυελίνης, που αποτελείται από τη στενά τυλιγμένη πλασματική μεμβράνη των κυττάρων Schwann (Dyck, 2005).

Τα έλυτρα μυελίνης μπορούν να εκτείνονται για 1 ή 2 mm, ανάλογα με τη διάμετρο του νευράξονα. Η διάμετρος του νευράξονα μπορεί να είναι από 1 μέχρι 20 μm . Συνεπώς το μήκος ενός ελύτρου μυελίνης μπορεί να είναι 100-1000 φορές μεγαλύτερο από τη διάμετρο του νευράξονα.

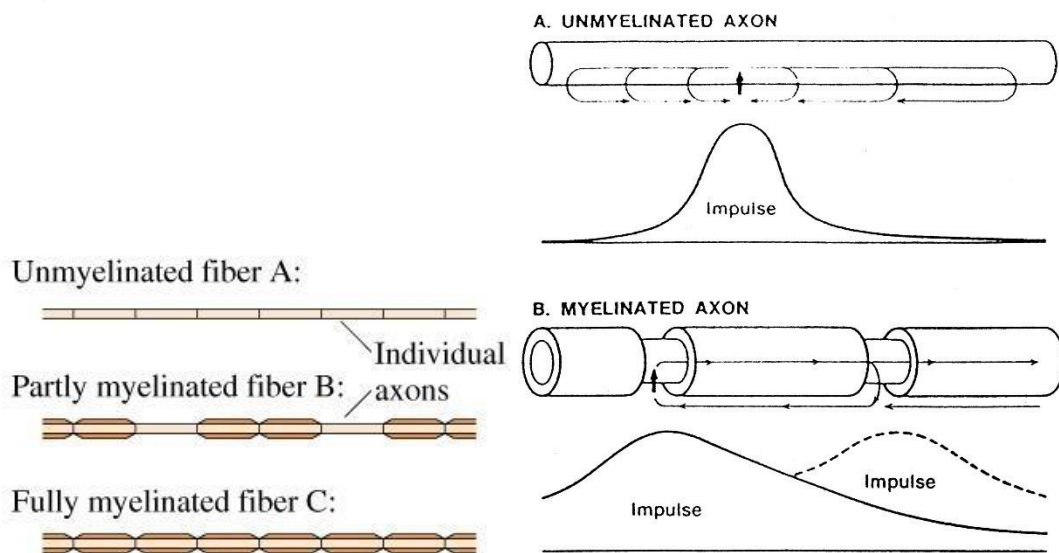
Η διαδικασία της μυελίνωσης



Εικόνα 11. Εικόνα εμμέλης ίνας περιφερικού νεύρου. Εμμέλα γλοιακά κύτταρα τυλίγουν πολλαπλά στρώματα κυτταρικής μεμβράνης ενός αξονικού τμήματος. Ένα μεμονωμένο κύτταρο Schwann επενδύει ένα τμήμα του περιφερικού νεύρου, ενώ στο ΚΝΣ ένα ολιγοδενδροκύτταρο μπορεί να παρέχει επένδυση για αρκετά ξεχωριστά αξονικά τμήματα. EM $\times 1,460,000$. (Micrograph provided by the Regents of University of Michigan Medical School © 2012).



Εικόνα 12. Απεικόνιση εμμύελης (myelinated) και αμύελης (unmyelinated) νευρικής ίνας. Παρατηρείται η ταχύτερη μετάδοση των ερεθισμάτων στην περίπτωση της εμμύελης νευρικής ίνας.



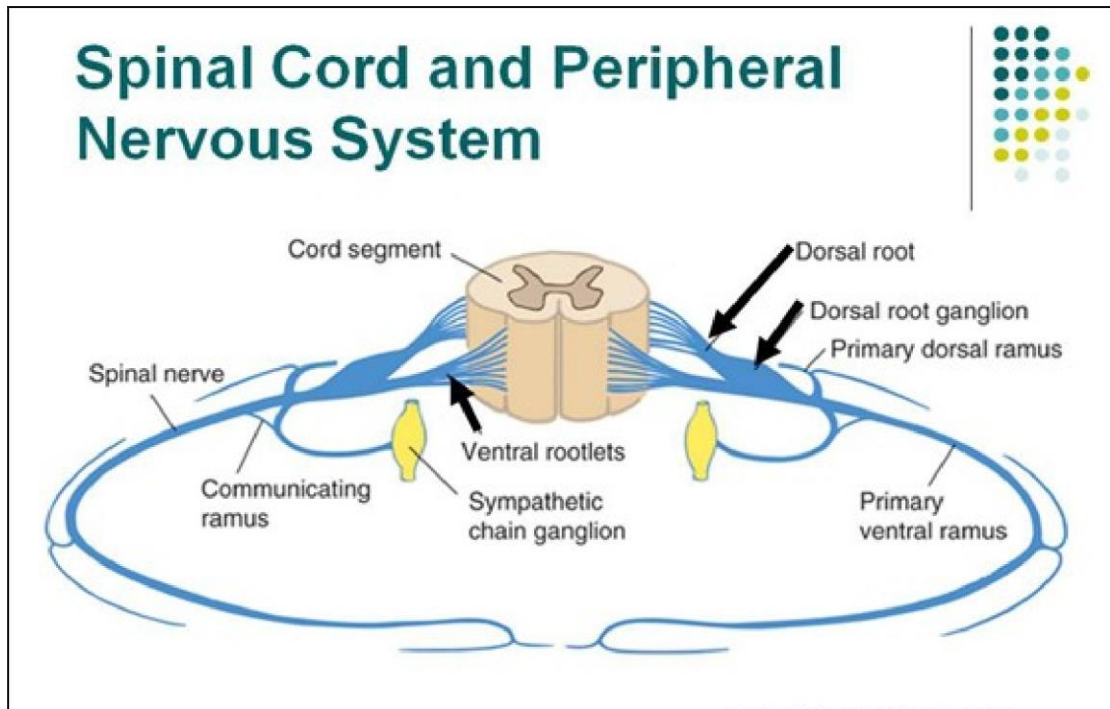
Εικόνα 13. Σχηματική απεικόνιση εμμύελων και αμμύελων νευρικών ινών καθώς και των διαφορών στην μετάδοση των δυναμικών κατά την μεταβίβαση των ερεθισμάτων.

Το Περιφερικό Νευρικό Σύστημα (ΠΝΣ)

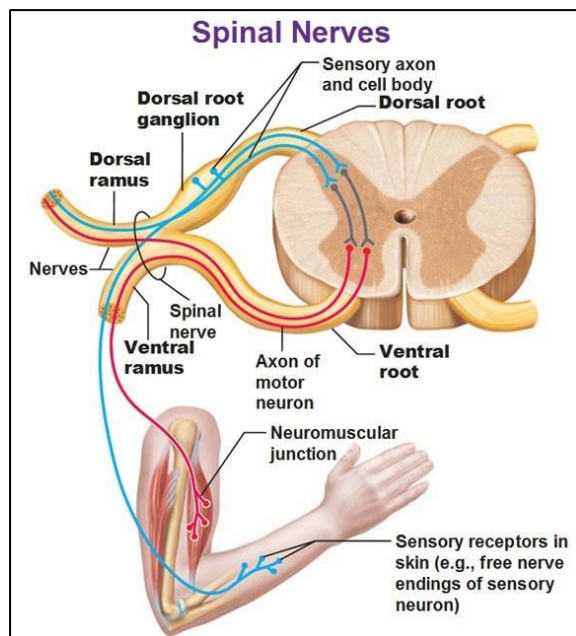
Το ΠΝΣ αποτελεί εκτενέστερη δομή σε σχέση με το Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ). Κάποιες περιφερικές νευρικές δομές βρίσκονται σε στενή σχέση και γειτνίαση με όργανα του ανθρώπινου σώματος. Τα ανατομικά στοιχεία που περιγράφονται στο ΠΝΣ είναι τα περιφερικά νεύρα και τα γάγγλια.

Γάγγλια

Σαν γάγγλιο ορίζεται μια ομάδα νευρωνικών κυτταρικών σωμάτων στην περιφέρεια. Τα γάγγλια γενικά μπορούν να κατηγοριοποιηθούν είτε σαν αισθητικά γάγγλια είτε σαν γάγγλια του ΑΝΣ, αναφερόμενα στις πρωταρχικές τους λειτουργίες. Ο πιο κοινός τύπος αισθητικών γαγγλίων είναι τα ραχιαία (οπίσθια) ριζικά γάγγλια. Τα γάγγλια αυτά είναι κυτταρικά σώματα νευρώνων με νευράξονες που αποτελούν αισθητικές καταλήξεις στην περιφέρεια, όπως στο δέρμα, και που εκτείνονται στο ΚΝΣ μέσα από τις ραχιαίες νευρικές ρίζες. Το γάγγλιο αποτελεί μια διόγκωση της νευρικής ρίζας. Σε μικροσκοπική παρατήρηση, φαίνεται να περιλαμβάνει κυτταρικά σώματα των νευρώνων, καθώς και θυσάνους ινών που αποτελούν την οπίσθια νευρική ρίζα.

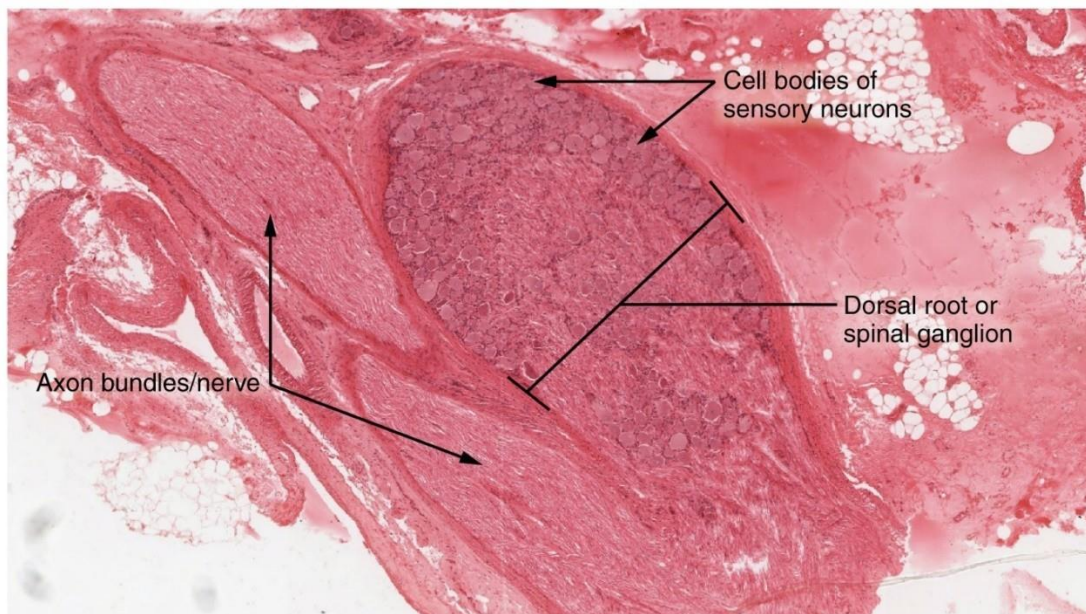


Εικόνα 14. Σχηματική απεικόνιση της δομής του ΠΝΣ. Εικόνα των ραχιαίων ριζών (dorsal root), των γαγγλίων τους (dorsal root gagglion), των σπονδυλικών νεύρων (spinal nerve) και των συμπαθητικών γαγγλίων (sympathetic chain gagglion).



Εικόνα 15. Σχηματική απεικόνιση των νωτιαίων νεύρων (κινητικής και αισθητικής μοίρας).

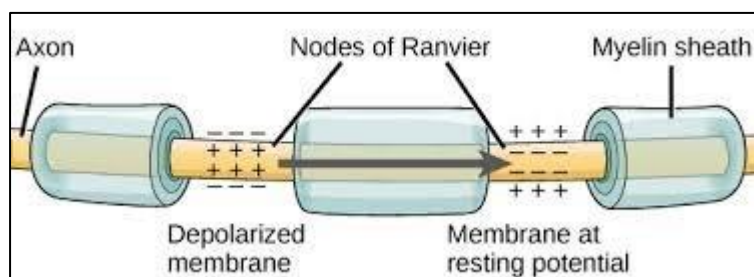
Γάγγλιο ραχιαίων νευρικών ριζών



Εικόνα 16. Τα κυτταρικά σώματα των αισθητικών νευρώνων (cell bodies of sensory neurons), που είναι μονοπολικοί νευρώνες με βάση το σχήμα τους, εμφανίζονται στη φωτομικρογραφία. Επίσης, η ινώδης δομή περιλαμβάνει τους νευράξονες των νευρώνων αυτών που διέρχονται από τα γάγγλια ώστε να αποτελέσουν τμήμα των ραχιαίων νευρικών ριζών (dorsal root or spinal ganglion)(πηγή ιστού: σκύλος). LM ×

40. (Micrograph provided by the Regents of University of Michigan Medical School © 2012).

Κόμβοι του Ranvier



Εικόνα 17. Σχηματική παράσταση του κόμβου του Ranvier.

Οι κόμβοι του Ranvier, που είναι επίσης γνωστοί ως χάσματα μεταξύ των ελύτρων της μυελίνης είναι ουσιαστικά διαδοχικά ελλείμματα στην κάλυψη των νευραξόνων από μυελίνη όπου η αξονική μεμβράνη είναι εκτεθειμένη στο εξωκυττάριο περιβάλλον. Δεν αποτελούν μονωμένα τμήματα των νευραξόνων και είναι πλούσιοι σε διαύλους ιόντων, επιτρέποντας με τον τρόπο αυτό τη συμμετοχή στην ανταλλαγή ιόντων και στη δημιουργία των δυναμικών ενεργείας. Η μετάδοση των νευρικών ερεθισμάτων στους εμμύελουν νευράξονες περιγράφεται με τον όρο «αλματώδης» μετάδοση- saltatory conduction, καθώς περιγράφει τον τρόπο με τον οποίο το δυναμικό ενέργειας μεταφέρεται από τον ένα κόμβο στον άλλο κατά μήκος του νευράξονα, καταλήγοντας με τον τρόπο αυτό σε ταχύτερη μετάδοση των ερεθισμάτων.

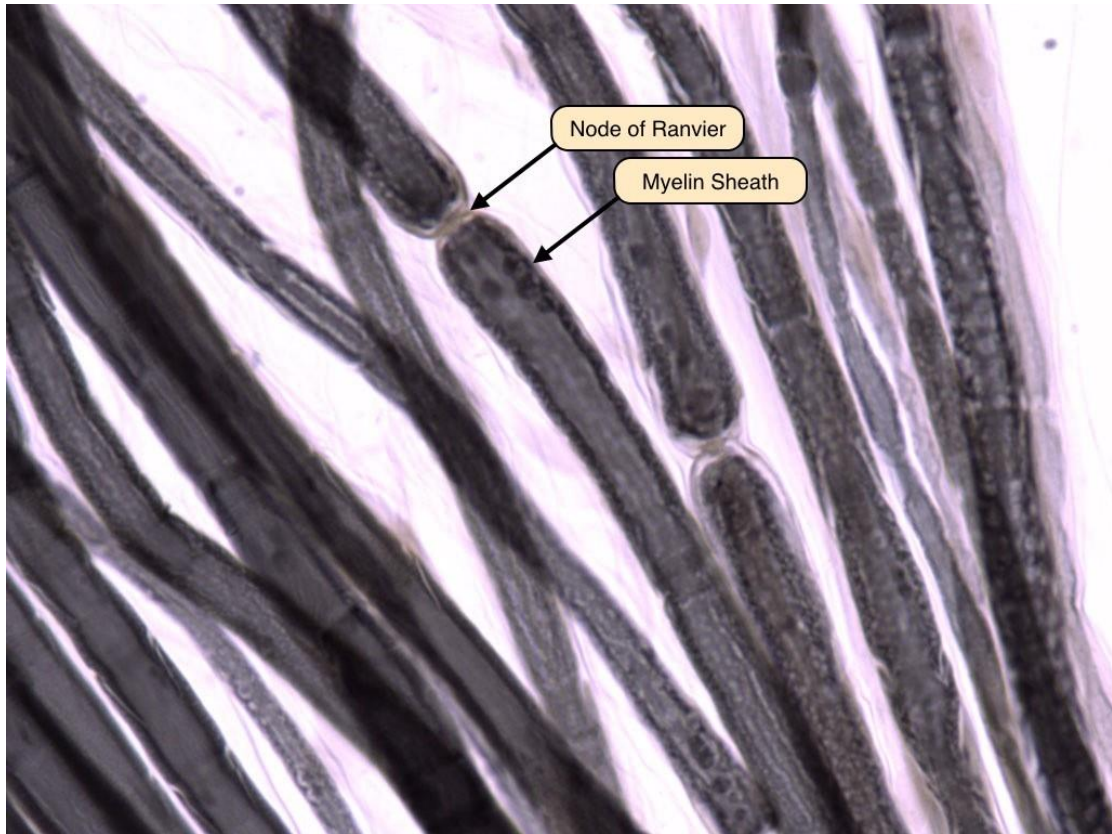
Μεταξύ των κόμβων παρεμβάλλονται τμήματα μυελίνης. Το μέγεθος και η απόσταση των διαστημάτων μυελίνης διαφέρει ανάλογα με τον τύπο και τη διάμετρο της νευρικής ίνας με τέτοιο τρόπο ώστε να μεγιστοποιείται η ταχύτητα αγωγής (Salzer 1997). Το μέγεθος των κόμβων είναι περίπου 1–2 μm ενώ το μήκος των διαστημάτων μυελίνης μπορεί να είναι έως ή και κάποιες φορές περισσότερο από 1.5 millimetres ανάλογα με την νευρική ίνα στην οποία αναφερόμαστε.

Δομικές διαφορές μεταξύ κόμβων στο ΚΝΣ και στο ΠΝΣ

Το κομβικό αξονόλημμα και στο ΚΝΣ και στο ΠΝΣ είναι εμπλουτισμένα με ενδομεμβρανικά σωματίδια (IMPs) σε σχέση με το ενδοκομβικό τμήμα, μετα κυτταρικά αυτά σωματίδια να εμφανίζουν διαφορές μεταξύ τους (Salzer 1997). Στο ΠΝΣ, ειδικές μικρολάχνες

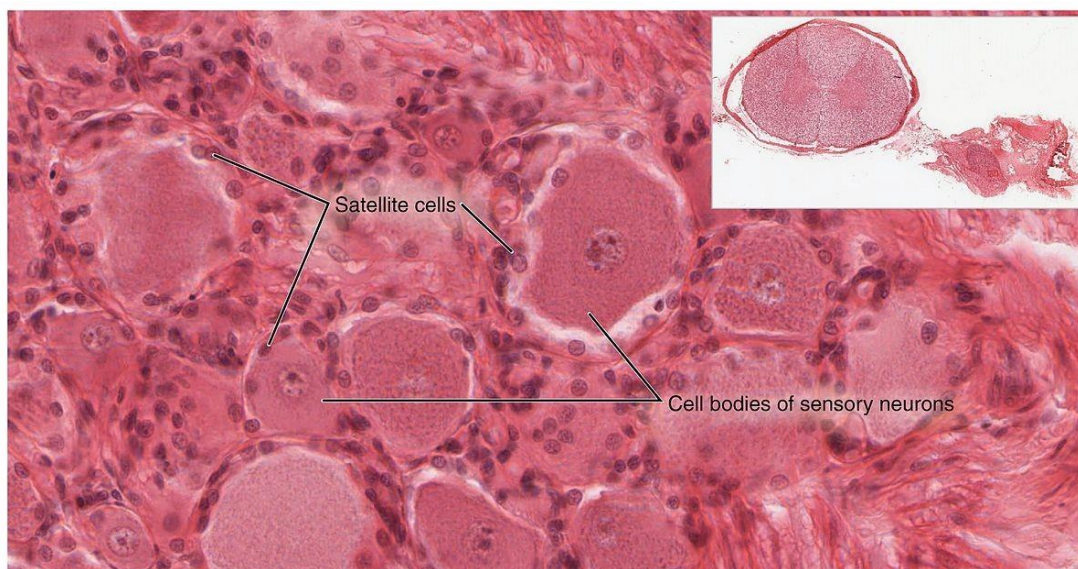
προβάλλουν από την εξωτερική επιφάνεια των κυττάρων Schwann και έρχονται πολύ κοντά στο κομβικό αξονόλημμα των μακρών ινών. Η προεκβολή των κυττάρων Schwann είναι κάθετες στον κόμβο και εκκινούν από τους κεντρικούς νευράξονες.

Οι κόμβοι του Ranvier περιέχουν Na^+/K^+ ATPases, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchangers και υψηλή πυκνότητα από δυναμικό-εξαρτώμενα κανάλια Na^+ που δημιουργούν δυναμικά ενέργειας. Ένας διάυλος Na αποτελείται από μια pore-forming α υπομονάδα και 2 επικουρικές β υπομονάδες, που σταθεροποιούν τον διάυλο σε εξωκυττάρια και ενδοκυττάρια τμήματα. Οι κόμβοι του Ranvier στο ΚΝΣ και στο ΠΝΣ αποτελούνται κυρίως από $\alpha\text{NaV1.6}$ and $\beta 1$ υπομονάδες (Karlan 2001). Η εξωκυττάρια περιοχή των β υπομονάδων μπορεί να συνδέεται με άλλες πρωτεΐνες, όπως η tenascin R και τα κυτταροπροσκολλητικά μόρια neurofascin and contactin. Ένα άλλο μόριο, η αγκυρίνη έχει βρεθεί ότι συνδέεται με την $\beta\text{IV spectrin}$, μια ισομορφή της spectrin που βρίσκεται εμπλουτισμένη στους κόμβους του Ranvier. Οι κόμβοι του ΠΝΣ περιβάλλονται από κύτταρα Schwann, που περιέχουν ERM's and EBP50 που φαίνεται ότι παρέχουν σύνδεση με τα μικροινίδια ακτίνης. Πολλές εξωκυττάρια πρωτεΐνες matrix είναι εμπλουτισμένες στους κόμβους του Ranvier, όπως η tenascin-R, Bral-1, και η πρωτεογλυκάνη NG2, και η phosphacan and versican V2.



Εικόνα 18. Εικόνα από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο όπου απεικονίζονται κόμβοι του Ranvier και τα έλυτρα μυελίνης που επενδύουν τους νευράξονες.

Νωτιαίος μυελός και Ρίζες γαγγλίων



Εικόνα 19. Η εικόνα παρουσιάζει μια διατομή του νωτιαίου μυελού στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης και μια διατομή στην ραχιαία νευρική γαγγλιακή ρίζα, LM $\times$ 1600. (Micrograph provided by the Regents of University of Michigan Medical School © 2012)

Μια άλλη μεγάλη κατηγορία γαγγλίων είναι αυτά του ΑΝΣ, που χωρίζεται στο συμπαθητικό και στο παρασυμπαθητικό σύστημα. Η συμπαθητική αλυσίδα των γαγγλίων αποτελείται από μια σειρά γαγγλίων κατά μήκος της κολώνας των σπονδυλικών σωμάτων που λαμβάνουν κεντρικά ερεθίσματα από το πλευρικό τμήμα της θωρακικής και ανώτερης οσφυϊκής μοίρας του νωτιαίου μυελού. Άνωθεν της αλυσίδας των γαγγλίων είναι 3 παρασπονδυλικά γάγγλια στην αυχενική περιοχή. Οι νευρώνες αυτών των γαγγλίων του ΑΝΣ είναι πολυπολικοί στο σχήμα, με δενδρίτες να εξέρχονται από το κυτταρικό σώμα δημιουργώντας συνάψεις με τον νωτιαίο μυελό. Οι νευρώνες των αλυσίδων, των παρασπονδυλικών και των προσπονδυλικών γαγγλίων, αντιστοιχούν σε όργανα στην κεφαλή, στον αυχένα, στην θωρακική, κοιλιακή και πυελική κοιλότητα, ώστε να ρυθμίζουν την συμπαθητική συνιστώσα των ομοιοστατικών μηχανισμών.

Μια άλλη κατηγορία γαγγλίων του ΑΝΣ είναι τα τελικά γάγγλια που λαμβάνουν σήματα από τα κρανιακά νεύρα ή τα ιερά σπονδυλικά νεύρα που είναι υπεύθυνα για τη ρύθμιση του παρασυμπαθητικού τμήματος των ομοιοστατικών μηχανισμών. Αυτές οι δύο ομάδες των γαγγλίων, συμπαθητικά και παρασυμπαθητικά, συχνά καταλήγουν στα ίδια όργανα, με μια κατάληξη από την αλυσίδα των γαγγλίων και μια άλλη κατάληξη από τα τελικά γάγγλια, ώστε να ρυθμίζουν την συνολική λειτουργία του οργάνου.

Τα τελικά γάγγλια κάτω από την κεφαλή και τον τράχηλο συχνά περιλαμβάνονται μέσα στο τείχος ενός οργάνου στόχου με τον όρο πλέγμα. Το πλέγμα σε μια γενικότερη θεώρηση είναι ένα δίκτυο ινών ή αγγείων. Για παράδειγμα το εντερικό πλέγμα είναι το εκτενές δίκτυο νευραξόνων και νευρώνων στα τοιχώματα του λεπτού και του παχέος εντέρου. Το εντερικό πλέγμα είναι τμήμα του εντερικού νευρικού συστήματος, μαζί με το γαστρικό πλέγμα και το οισοφαγικό πλέγμα. Παρόλο που το εντερικό νευρικό σύστημα λαμβάνει καταλήξεις από κεντρικούς νευρώνες του ΑΝΣ, δεν χρειάζεται απαραίτητα συμβολή από το ΚΝΣ για να λειτουργήσει. Στην πραγματικότητα λειτουργεί ανεξάρτητα για τη ρύθμιση του πεπτικού συστήματος.

Νεύρα

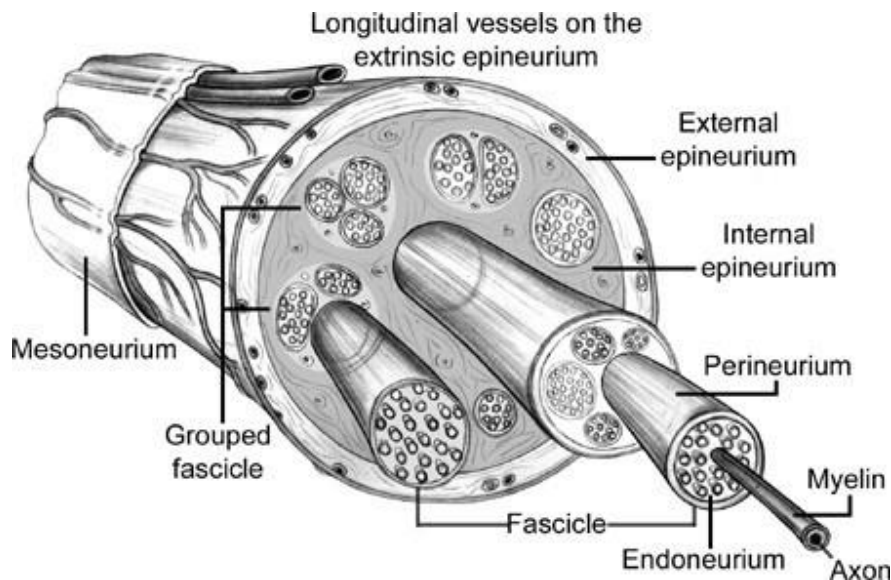
Ομάδες νευραξόνων στο ΠΝΣ αναφέρονται σαν νεύρα. Τα νεύρα αποτελούνται από περισσότερα στοιχεία εκτός από απλό νευρικό ιστό. Περιέχουν συνδετικό ιστό μέσα στις δομές τους καθώς και τροφοφόρα αιμοφόρα αγγεία που παρέχουν θρεπτικά συστατικά. Η εξωτερική επιφάνεια των νεύρων αποτελείται από διάφορα στρώματα

ινώδους συνδετικού ιστού που ονομάζεται επινεύριο. Μέσα στο νεύρο, οι νευράξονες ομαδοποιούνται περαιτέρω σε δεσμίδες, οι οποίες περιβάλλονται από δικά τους στρώματα ινώδους συνδετικού ιστού που ονομάζονται περινεύριο. Επίσης, μεμονωμένοι νευράξονες περιβάλλονται από χαλαρό συνδετικό ιστό που ονομάζεται ενδονεύριο. Τα νεύρα σχετίζονται με τις περιοχές του ΚΝΣ με τις οποίες συνδέονται, είτε σαν κρανιακά νεύρα που συνδέονται με τον εγκέφαλο είτε σαν σπονδυλικά νεύρα που συνδέονται με τον νωτιαίο μυελό.

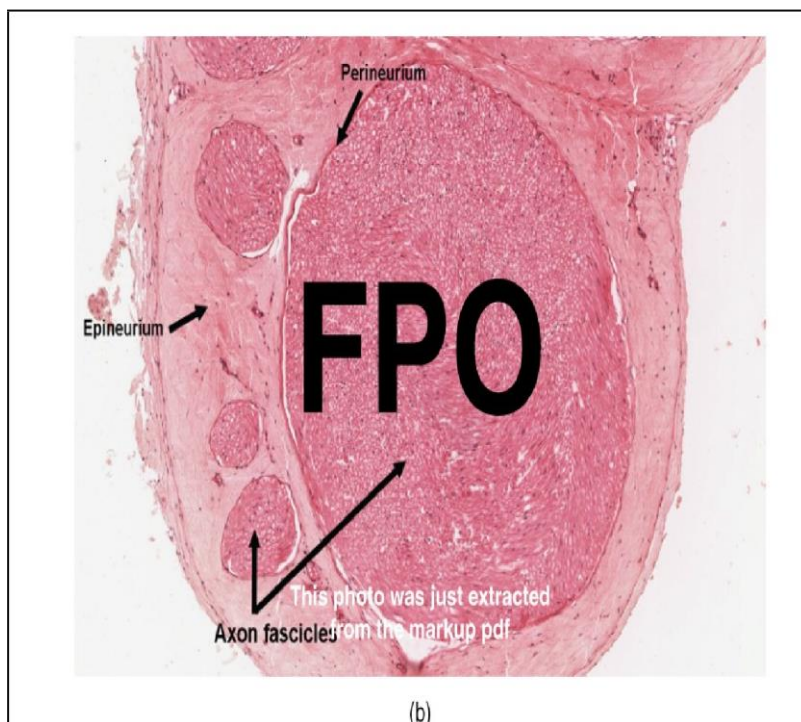


Εικόνα 20. Απεικόνιση του βραχιονίου πλέγματος στην περιοχή της μασχάλης.

Δομή του νεύρου

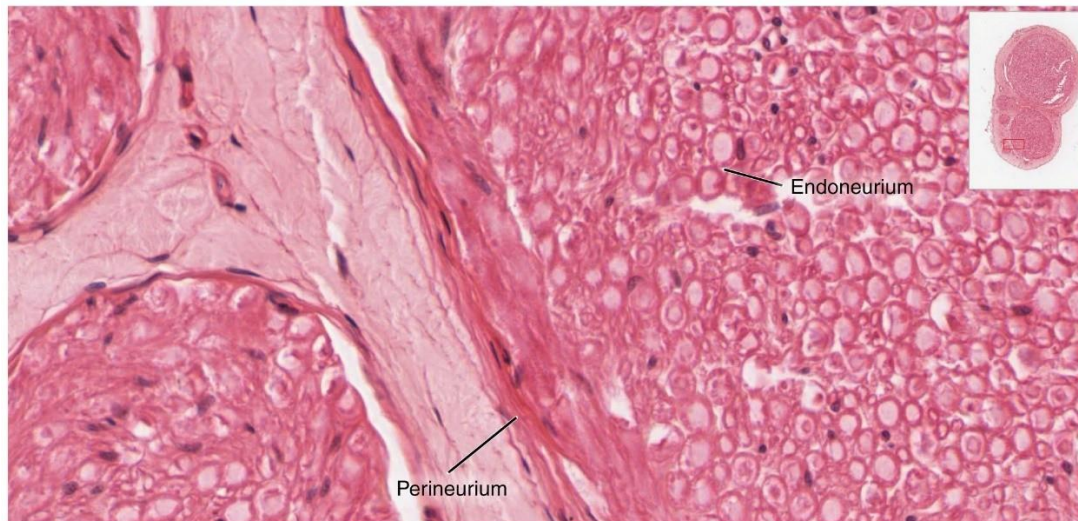


Εικόνα 21. Η δομή ενός νεύρου αποτελείται από τα στρώματα του συνδετικού ιστού στην εξωτερική επιφάνεια, γύρω από κάθε δεσμίδα και γύρω από μεμονωμένες νευρικές ίνες. Νευράξονας: axon, Μυελίνη: myelin, Ενδονεύριο: endoneurium, Περινεύριο: perineurium, Επινεύριο: epineurium, LM × 40. (Micrograph provided by the Regents of University of Michigan Medical School © 2012)



Εικόνα 22. Ιστολογική εικόνα όπου απεικονίζονται νευρικές δεσμίδες-axon fascicles, περινεύριο-perineurium και επινεύριο-epineurium.

Μεγεθυμένη εικόνα νευρικού κορμού



Εικόνα 23. Εικόνα νευρικού κορμού όπου απεικονίζονται δομές του ενδονευρίουendoneurium και του περινευρίου-perineurium. LM × 1600. (Micrograph provided by the Regents of University of Michigan Medical School © 2012)

Φυσιολογία του περιφερικού νευρικού συστήματος

Ταξινόμηση των νευρικών ινών

Οι νευρώνες, που αποτελούνται από κυτταρικό σώμα, νευράξονες και δενδρίτες, αποτελούν το βασικό στοιχείο του ΠΝΣ. Υπάρχουν 2 κύριοι λειτουργικοί τύποι νευρώνων: προσαγωγοί και απαγωγοί νευρώνες (Manzano et al 2008). Οι νευράξονές τους που είναι γνωστοί σαν περιφερικές νευρικές ίνες, οργανώνονται σε κορμούςθυσάνους ή δεμάτια με τη βοήθεια του συνδετικού ιστού. Πολλαπλές δέσμες σχηματίζουν περιφερικά νεύρα. Οι βασικοί τύποι των περιφερικών νευρών παρουσιάζονται στην παρακάτω εικόνα.

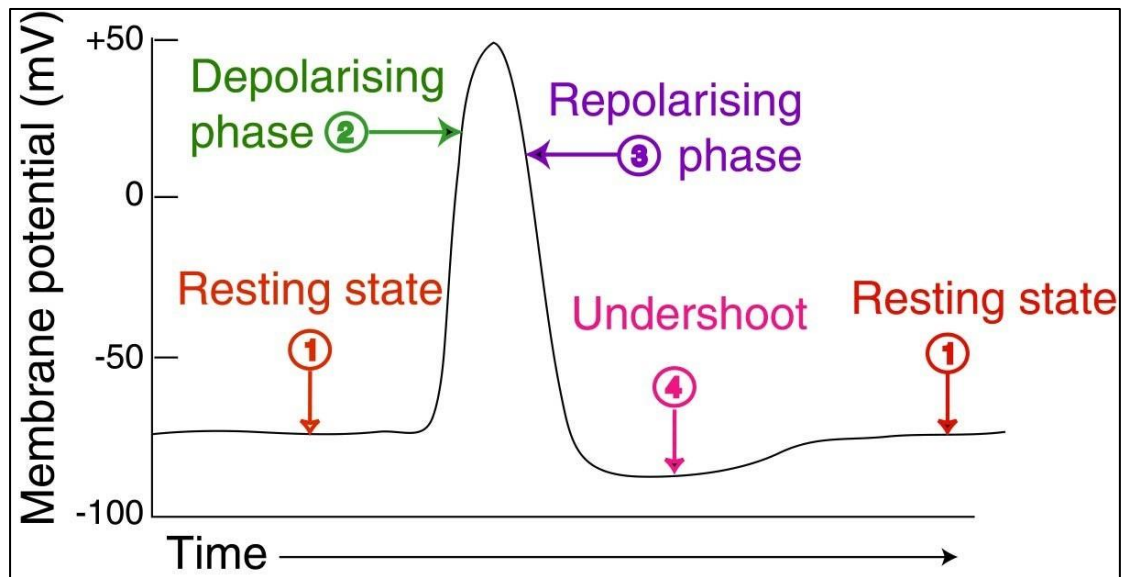
Classification of peripheral nerve fibres			
Fibre type	Name	Diameter (μm)	Conduction velocity (m/s)
Cutaneous afferent	Aβ	5–10	30–70
	Aδ	2–5	5–30
Muscle afferent (from muscle spindles, tendon organs)	Aα	15–20	70–120
	Aβ	5–10	30–70
	Aδ	1–5	5–30
Muscle efferent (anterior horn cells)	A (α, γ)	6–12	35–70
Autonomic preganglionic	B	3	3–15
Autonomic postganglionic (unmyelinated)	C	0.5–1	0.5–2
Afferent (pain) unmyelinated	C	0.5–1	0.5–2

Εικόνα 24. Ταξινόμηση των περιφερικών νευρικών ινών.

Οι προσαγωγές ίνες μεταφέρουν ερεθίσματα από υποδοχείς του δέρματος, των μυών και των τενόντων. Τα κυτταρικά τους σώματα εντοπίζονται στις ρίζες των ραχιαίων γαγγλίων. Αυτά είναι διπολικά κύτταρα και έχουν μια κεντρική σύνδεση με τον νωτιαίο μυελό μέσω των οπίσθιων σπονδυλικών νευρικών ριζών. Οι απαγωγές νευρικές ίνες έχουν κυτταρικά σώματα στον νωτιαίο μυελό (εκτός από τα αυτόνομα γάγγλια) και εξέρχονται μέσα από τις πρόσθιες σπονδυλικές νευρικές ρίζες. Ο Sherrington χρησιμοποίησε τον όρο «κινητική μονάδα» για να διαχωρίσει ένα μεμονωμένο απαγωγό κινητικό νευρώνα και την ομάδα των μυικών ινών που χορηγούνται από τους νευράξονές του (Manzano et al 2008).

Δυναμικά ηρεμίας και δυναμικά ενέργειας

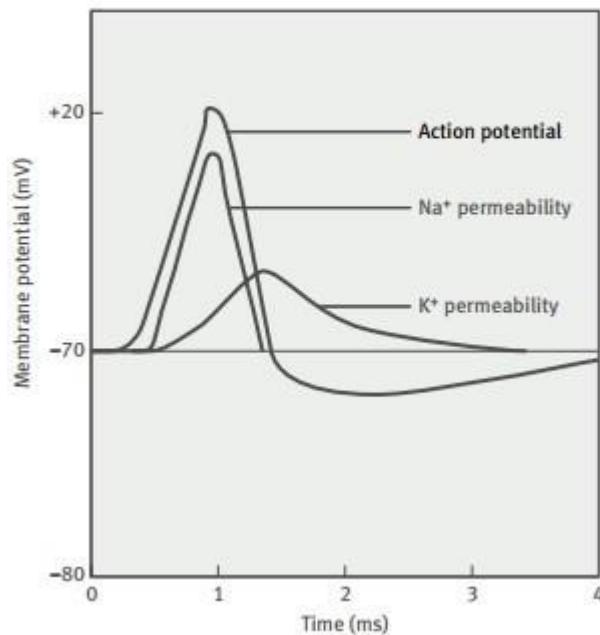
Δυναμικά ηρεμίας: Η νευρωνική κυτταρική μεμβράνη έχει μια διαφορά δυναμικού στην ηρεμία γύρω στα -70 millivolt (mV) που δημιουργείται από τις σχετικές συγκεντρώσεις των κατιόντων και των ανιόντων εντός κι εκτός του κυττάρου. Η διαφορά αυτή διατηρείται λόγω της εκλεκτικής διαπερατότητας της μεμβράνης και λόγω μιας ενεργειακά εξαρτώμενης αντλίας Νατρίου (Na^+) και Καλίου (K^+). Η εσωτερική κατάσταση μπορεί να γίνει περισσότερο αρνητική (υπερπόλωση) ή λιγότερο αρνητική (εκπόλωση). Οι αλλαγές αυτές προκαλούνται κυρίως από τις συναπτικές μεταβιβάσεις και ενεργοποιήσεις των υποδοχέων ή τεχνητά, όπως για παράδειγμα στις μελέτες νευρικής αγωγιμότητας (Malesy et al 2009).



Εικόνα 25. Γράφημα όπου απεικονίζεται το δυναμικό ηρεμίας της μεμβράνης του νευρικού κυττάρου (resting state).

Δυναμικό ενέργειας: Όταν ο βαθμός της εκπόλωσης είναι αρκετά μεγάλος ώστε να ξεπεράσει τον ρυθμιστικό ουδό (συνήθως γύρω στα 15 mV περισσότερο από το δυναμικό ηρεμίας), δημιουργείται ένα δυναμικό ενέργειας (εικόνα 26).

Generation of the nerve action potential (illustrating the changes in membrane potential and permeability to Na^+ and K^+)



Εικόνα 26. Γράφημα όπου απεικονίζεται το δυναμικό ενέργειας της μεμβράνης του νευρικού κυττάρου (action potential).

Αυτό περιλαμβάνει την είσοδο κατιόντων Νατρίου- Na^+ , με αποτέλεσμα το δυναμικό της μεμβράνης να παίρνει τιμή κοντά στα +30 mV. Παρατηρείται μια ξαφνική μείωση της εισόδου Na^+ και ταυτόχρονα έξοδος ιόντων Καλίου- K^+ , καταλήγοντας σε μια καθαρή απώλεια θετικής φόρτισης και διατήρησης του αρνητικού δυναμικού της μεμβράνης. Η χρονική διάρκεια του δυναμικού ενέργειας είναι περίπου 1 millisecond (ms). Κατά την διάρκεια της εκπόλωσης, παρατηρείται μια περίοδος ταχείας υπερπόλωσης, καταλήγοντας σε μια υπερπόλωση για περαιτέρω 15 mV για 2–3 (ms), προτού το δυναμικό της μεμβράνης και η σχετική διαπερατότητα των ιόντων να επιστρέψουν στα επίπεδα ηρεμίας. Τα δυναμικά ενέργειας ανήκουν στην κατηγορία της «όλου ή ουδέν απόκρισης»,

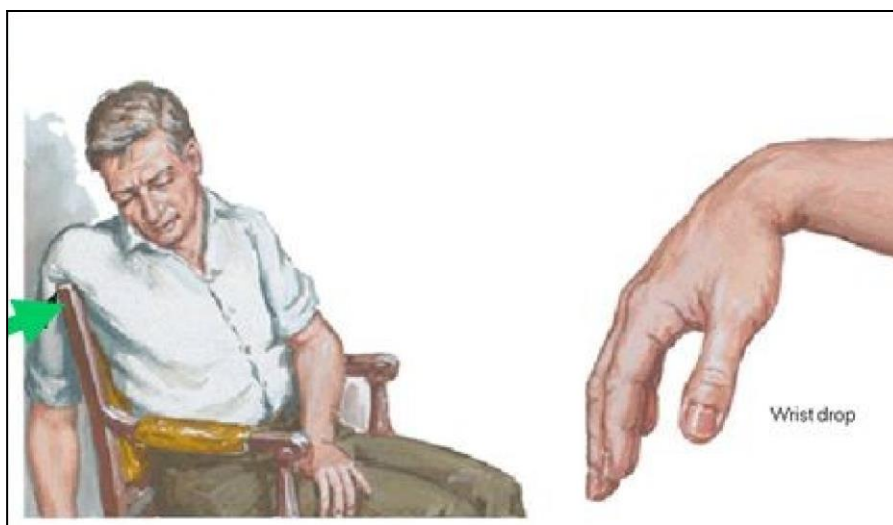
με την προϋπόθεση ότι το ερέθισμα προκαλεί εκπόλωση πάνω από τον ουδό, ένα δυναμικό ενέργειας συγκεκριμένου μεγέθους και κυματομορφής θα δημιουργηθεί (Malessy et al 2009).

Αμέσως μετά τη δημιουργία του δυναμικού ενέργειας, η νευρωνική μεμβράνη δεν είναι διαθέσιμη για την δημιουργία περισσότερων δυναμικών ενεργείας, λόγω της αύξησης του ουδού για το δυναμικό ενέργειας. Ο Hodgkin και Huxley, με τη βοήθεια τεχνικών σφικτήρων τάσης, παρουσίασαν ηλεκτροφυσιολογικά την δημιουργία του δυναμικού ενέργειας και την μετάδοσή του κατά μήκος του νευράξονα. Το δυναμικό ενέργειας μεταδίδεται με το σχηματισμό τοπικών σημάτων στην μεμβράνη του νευρώνα. Σε φυσιολογικές συνθήκες τα δυναμικά ενέργειας μεταδίδονται προς μια και μόνο κατεύθυνση (μονόδρομα), ανάλογα με το αν οι νευρικές ίνες είναι προσαγωγές ή απαγωγές. Η ταχύτητα της μετάδοσης του δυναμικού ενέργειας αποτελεί την ταχύτητα αγωγιμότητας της νευρικής ίνας και εξαρτάται από τη διάμετρο της νευρικής ίνας και την παρουσία ή απουσία μυελίνης. Η μετάδοση του ερεθίσματος είναι πιο γρήγορη στις μεγάλες εμμύελες νευρικές ίνες. Η μυελίνη χαρακτηρίζεται από μεγάλη ηλεκτρική αντοχή, παρέχοντας μόνωση. Στα κενά της μυελίνης (κόμβοι του Ranvier), ο νευράξονας είναι σχετικά εκτεθειμένος και πιεσμένος και η μεμβράνη του νευράξονα εκτεθειμένη. Όταν ένα δυναμικό ενέργειας διέρχεται από τους κόμβους του Ranvier, προκαλεί εκπόλωση, καθιστώντας δυνατή τη μεταπήδηση του δυναμικού ενεργείας από κόμβο σε κόμβο. Με τον περιορισμό της έκτασης της περιοχής της μεμβράνης που πρέπει να εκπολωθεί αυξάνεται σημαντικά η ταχύτητα αγωγής. Επειδή η απόσταση μεταξύ των κόμβων είναι συνήθως πολύ μικρή (λίγα mm) ένα μεμονωμένο δυναμικό ενέργειας θα εκπολώσει διαδοχικούς κόμβους την ίδια στιγμή (Malessy et al 2009).

Διακοπή της αγωγιμότητας και αναισθησία

Υπάρχουν διάφοροι τρόποι με τους οποίους η αγωγιμότητα των δυναμικών ενεργείας μπορεί να διακοπεί χωρίς την ουσιαστική αλλαγή της μορφής του νευράξονα.

Οξεία μηχανική συμπίεση: Ένα παράδειγμα του τρόπου αυτού διακοπής της νευρικής αγωγιμότητας είναι η «Νευρική Πάρεση του Σαββατόβραδου», κατά την οποία το κερκιδικό νεύρο πιέζεται σε περίπτωση που η μασχαλιαία κοιλότητα του ασθενούς αναπαύεται για μεγάλο χρονικό διάστημα στην ξύλινη επιφάνεια της καρέκλας ενώ ο ασθενής κοιμάται. Σε μέτριας βαρύτητας περιπτώσεις παρατηρείται πλήρης αποκατάσταση της βλάβης μέσα σε ημέρες. Πιο σοβαρές περιπτώσεις αντιπροσωπεύουν ένα βαθμό αξονικής βλάβης και η αποκατάσταση μπορεί να είναι αργή και μερική. Πειραματική παρατεταμένη εφαρμογή σφυγμομανομέτρου μπορεί να προκαλέσει διακοπή της νευρικής αγωγιμότητας μέσα σε 30 λεπτά, με τον χρόνο αποκατάστασης να ποικίλλει από λεπτά μέχρι και ώρες.



Εικόνα 27. Εικόνα νευρικής πάρεσης του Σαββατόβραδου μετά από παρατεταμένη πίεση του βραχιονίου πλέγματος στην περιοχή της μασχάλης.

Μείωση της θερμοκρασίας: Η εφαρμογή κρύων επιθεμάτων όπως για παράδειγμα πάγου προκαλεί διακοπή της μετάδοσης των νευρικών ώσεων.

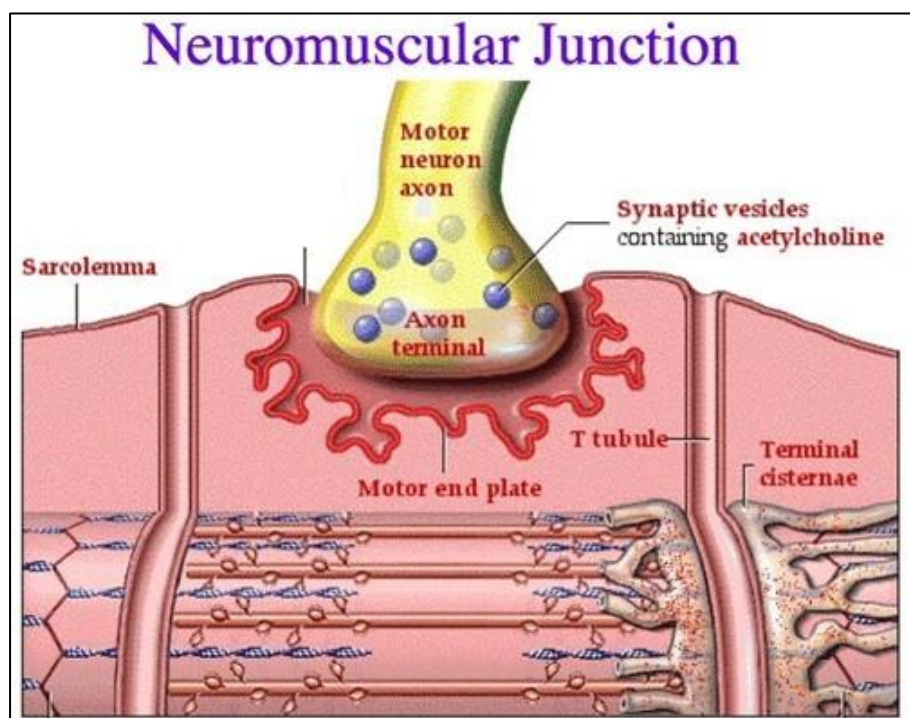
Τοπική εφαρμογή: Η εφαρμογή σταθερών αποπολωτικών ηλεκτρικών ρευμάτων σε ένα νευράξονα προκαλεί διακοπή της μεταβίβασης των ερεθισμάτων.

Φαρμακολογικά: Διακοπή της νευρικής αγωγιμότητας μπορεί να πραγματοποιηθεί με την έγχυση τοξινών (π.χ. τετροδοτοξίνη, τετρααιθυλοαμμώνιο), ή έγχυση φαρμάκων (τοπικά αναισθητικά).

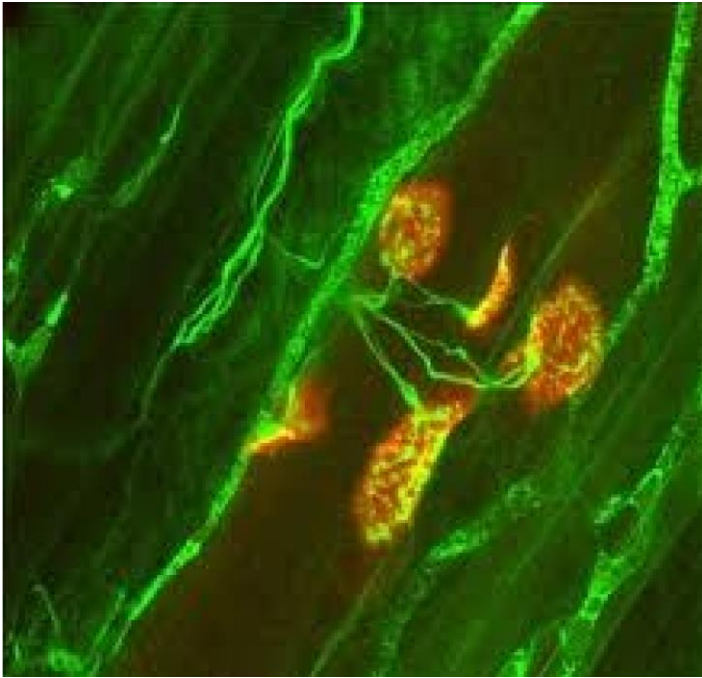
Η νευρομυική σύναψη

Ο Sherrington χρησιμοποίησε τον όρο σύναψη για να περιγράψει λειτουργικές συνδέσεις μεταξύ νευρώνων (Burk 2007). Η νευρομυική σύναψη είναι μια σύναψη μεταξύ ενός κινητικού νευρώνα και μιας σκελετικής μυικής ίνας. Ο νευράξονας του κινητικού νευρώνα νευρώνει μια συγκεκριμένη περιοχή της μυικής μεμβράνης που είναι γνωστή ως τελική κινητική πλάκα (Omar 2017). Όταν ένα δυναμικό ενέργειας μεταδίδεται κατά μήκος του νευράξονα ενός κινητικού νευρώνα και καταφθάνει στο προσυναπτικό τμήμα της νευρομυικής σύναψης, οι δίαυλοι ιόντων ασβεστίου ανοίγουν, προκαλώντας είσοδο ιόντων ασβεστίου και επακόλουθη απελευθέρωση μορίων ακετυλοχολίνης. Η ποσότητα της ακετυλοχολίνης που απελευθερώνεται είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του Ca^{++} . Η ακετυλοχολίνη διαχέεται στο συναπτικό χάσμα και δεσμεύεται στους υποδοχείς

ακετυλοχολίνης στην τελική κινητική πλάκα. Αυτό με τη σειρά του καταλήγει στην διάνοιξη των διαύλων Na^+ , K^+ και Ca^{2+} δημιουργώντας εκπόλωση της μεμβράνης της τελικής κινητικής πλάκας και σχηματισμό δυναμικού διέγερσης της τελικής κινητικής πλάκας. Το μέγεθος του δυναμικού διέγερσης σχετίζεται με την ποσότητα της ακετυλοχολίνης που δεσμεύεται στους υποδοχείς. Το δυναμικό διέγερσης μεταφέρεται σαν δυναμικό ενέργειας στην μυική ίνα και τελικά καταλήγει στην αλλαγή θέσης των ινιδίων ακτίνης και μυοσίνης, και άρα στη μείωση του μήκους του μυός και άρα στην παραγωγή δύναμης συστολής (Omar 2017).



Εικόνα 28. Εικόνα νευρομυικής σύναψης όπου απεικονίζεται ο κινητικός νευράξονας (motor neuron axon) και η τελική κινητική πλάκα (motor end plate).



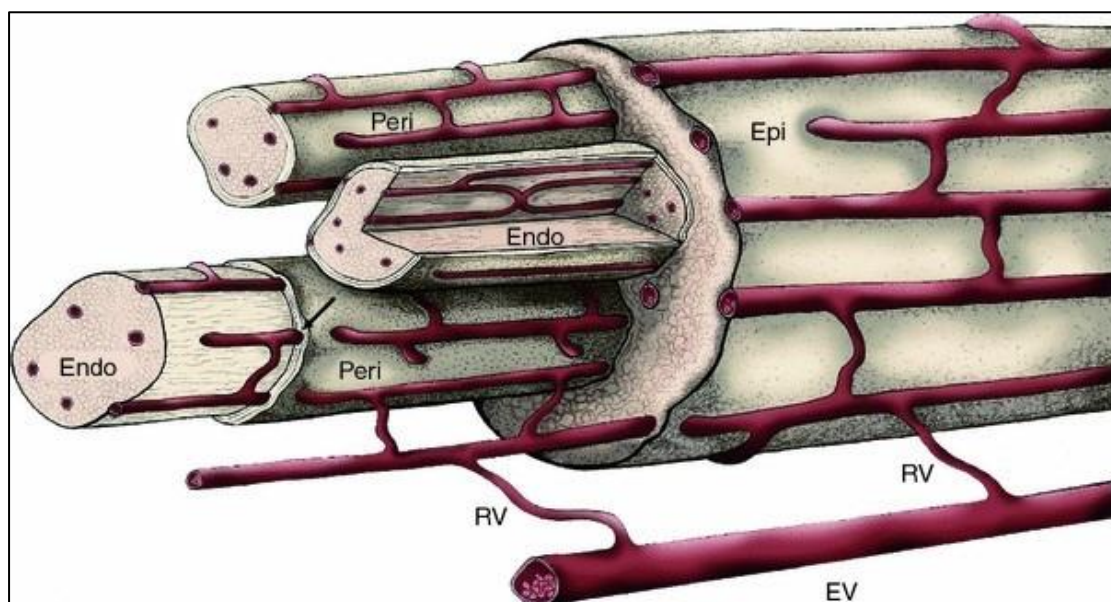
Εικόνα 29. Εικόνα με ανοσοφθορισμό όπου απεικονίζεται η νευρομυϊκή σύναψη (πορτοκαλί περιοχή εντός των πράσινων περιοχών ανοσοφθορισμού).

Αγγείωση των περιφερικών νεύρων

Η αιματική παροχή των περιφερικών νεύρων είναι ιδιαίτερα σημαντική λόγω των πολλαπλών και περίπλοκων λειτουργιών που αυτά επιτελούν. Λόγω της πολυπλοκότητας των λειτουργιών που ο νευρικός ιστός επιτελεί είναι απαραίτητη η παροχή επαρκών ποσοτήτων οξυγόνου για την εύρυθμη λειτουργία του. Για το λόγο αυτό οι περιφερικές νευρικές δομές θα πρέπει να λαμβάνουν μια συνεχόμενη και επαρκή ποσότητα οξυγόνου κα άλλων τροφικών παραγόντων από το ενδονευρικό αγγειακό δίκτυο. Αποδείχθηκε από τον Lundborg το 1975 ότι η πλήρης ισχαιμία ενός νεύρου ακολουθείται από σημαντική επιδείνωση της νευρικής λειτουργίας (Lundborg, 1975). Στη βιβλιογραφία υπάρχουν μόνο μεμονωμένες μελέτες για την νευρική αιματική

κυκλοφορία. Έχουν περιγραφεί η τεχνική intravital microscopy του Lundborg (1973) και η τεχνική hydrogen washout του Aukland το 1964 για τη μελέτη της επίδρασης της ανατομικής παρασκευής, της διάταξης και της συμπίεσης της αιματικής παροχής του ισχιακού νεύρου σε κουνέλια (Ogata 1986).

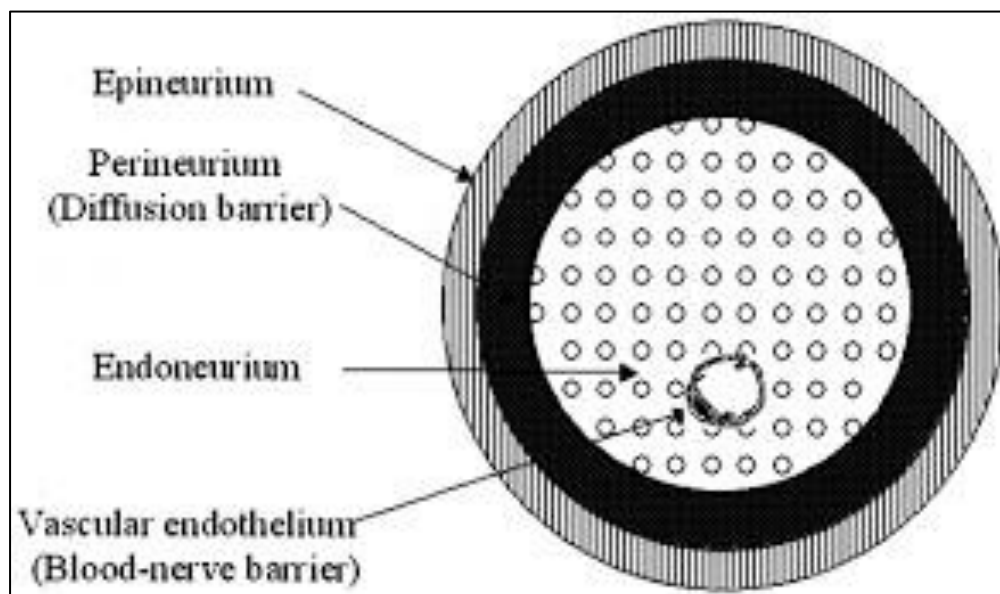
Η αιματική παροχή στα περιφερικά νεύρα πραγματοποιείται μέσα από τα εξωγενή και ενδογενή αγγεία (Lundborg 1973). Όσον αφορά τα ενδογενή αγγεία παρατηρούνται αναστομώσεις στο επινεύριο και στο περινεύριο. Στη συνέχεια τα αγγεία αυτά φθάνουν μέχρι και το ενδονεύριο με τη μορφή τριχοειδών για να μεταφέρουν τα θρεπτικά συστατικά. Εκτός από τα τριχοειδή αυτά υπάρχει και ένα δίκτυο ενδονευρικών αγγείων που παρέχουν την αιματική παροχή στους νευράξονες και αποτελούν τμήμα του αιματονευρικού φραγμού. Η διατήρηση της όσο δυνατόν φυσιολογικής ανατομίας των αγγειακών αυτών δομών είναι απαραίτητη κατά την χειρουργική αποκατάσταση των περιφερικών νευρικών βλαβών.



Εικόνα 30. Απεικόνιση της αιματικής παροχής των περιφερικών νεύρων-vasa nervosum.

Όσον αφορά τα εξωγενή αγγεία αυτά μπορεί να προέρχονται από γειτονικές οστικές, μυικές, περιτοναικές και δερματικές δομές.

Ο αιματο-νευρικός φραγμός καθορίζει τον φυσιολογικό χώρο μεταξύ των νευραξόνων, των κυττάρων Schwann και άλλων κυττάρων ενός περιφερικού νεύρου. Αποτελείται από ενδονευρικά μικροαγγεία μέσα στις νευρικές δεσμίδες και στο περινεύριο. Η περιορισμένη διαπερατότητα του φραγμού αυτού προστατεύει το ενδονευρικό μικροπεριβάλλον από ακραίες αλλαγές στη συγκέντρωση των θρεπτικών συστατικών. Αξιώνεται ότι οι ενδονευρικοί ομοιοστατικοί μηχανισμοί ρυθμίζουν το εσωτερικό περιβάλλον των περιφερικών νευραξόνων και των συνοδών κυττάρων Schwann. Από την μελέτη της διαπερατότητας των περινευρικών και ενδονευρικών τριχοειδών, προτείνεται ότι ο όρος αιματο-νευρική διεπαφή αντιπροσωπεύει καλύτερα τη σημασία των ανατομικών αυτών δομών (Weerasuriya A 2011). Σημαντικό ρόλο στον αιματο-νευρικό φραγμό (interface) φαίνεται να παίζουν οι στενές αποφρακτικές συνάψεις (tight junctions) μεταξύ περινευρίου και ενδονευρίου.



Εικόνα 31. Απεικόνιση του αιματονευρικού φραγμού (blood nerve barrier)

Η εύρυθμη λειτουργία του φραγμού εξασφαλίζει την προστασία των νευρικών δομών από φάρμακα και ουσίες που μπορεί να έχουν βλαπτική επίδραση (Weerasuriya 2011). Σε περιπτώσεις διαταραχής του αιματο-νευρικού φραγμού παρατηρείται διαταραχή στη διαπερατότητα στις 2 πλευρές του φραγμού με αποτέλεσμα την απελευθέρωση πρωτεασών που τελικά καταλήγουν στην καταστροφή της μυελίνης και άρα στη σημαντική διαταραχή της μεταβίβασης των νευρικών ερεθιμάτων (Weerasuriya 2011, Johnson 1988).

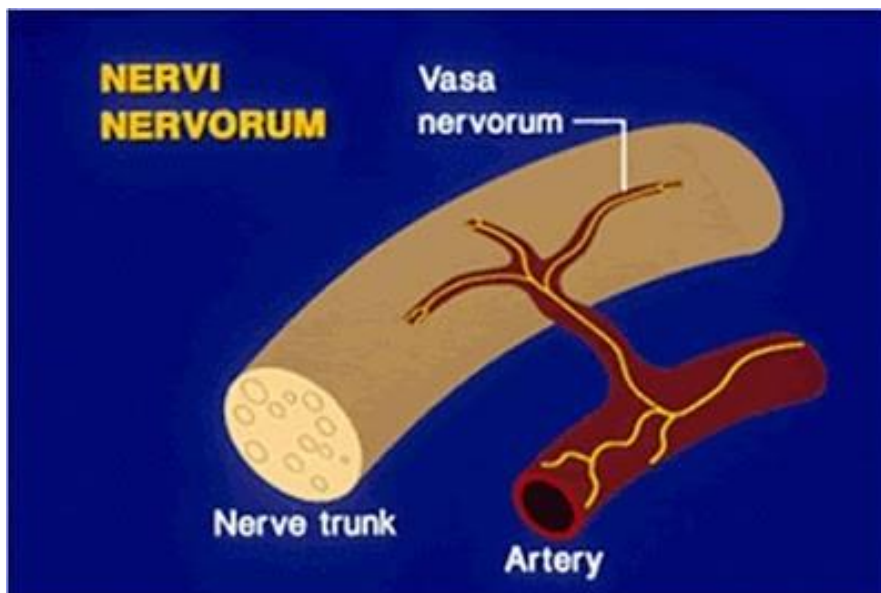
Στην κατηγορία των πρωτεϊνών που συμμετέχουν στις συνάψεις του φραγμού περιλαμβάνονται οι κλοδίνες (claudins) όπως έχει περιγραφεί από τον Tsukita το 2001. Η διαπερατότητα του φραγμού πιστεύεται ότι σχετίζεται με την αλληλεπίδραση των πρωτεϊνών αυτών μεταξύ τους (Huber 2001).

Μετά από νευρική βλάβη που προκαλείται από σύνθλιψη επέρχεται καταστροφή του αιματο-νευρικού φραγμού και διαταραχή της νευρικής λειτουργίας (Menorca 2013). Μετά από νευρική βλάβη έχει παρατηρηθεί στη βιβλιογραφία ότι οι συγκεντρώσεις διαφόρων μορίων όπως οι κονεξίνες -που αποτελούν πρωτεΐνες των χασματικών συνάψεων- μεταβάλλονται. Οι κονεξίνες αυτές συνδέονται με άλλες πρωτεΐνες όπως η οκλουδίνη στην προσπάθεια ρύθμισης των σχέσεων μεταξύ των συνάψεων (Tonkin et al 2014). Παρατηρούμε λοιπόν ότι στην δημιουργία και ομαλή λειτουργία του αιματονευρικού φραγμού συμμετέχουν σημαντικά μόρια όπως οι κονεξίνες, οι καδχερίνες και η οκλουδίνη χωρίς όμως η ακριβής σχέση μεταξύ τους να έχει καθοριστεί επακριβώς.

Η δομή και λειτουργία του αιματονευρικού φραγμού παρουσιάζει αρκετά όμοια στοιχεία με την δομή και λειτουργία του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Μάλιστα έχει θεωρηθεί ότι οι δυο φραγμοί συνδέονται στενά, με τον αιματονευρικό φραγμό να προστατεύει τα

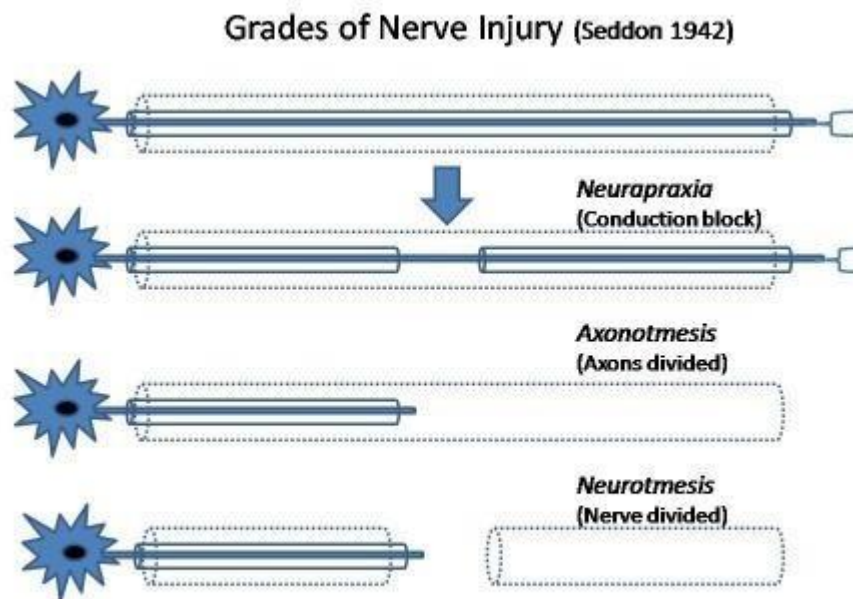
περιφερικά νεύρα από πιθανές τοξικές βλάβες από διάφορες ουσίες, μεταβάλλοντας ανάλογα την διαπερατότητά του. Στην κατεύθυνση αυτή σε περίπτωση νευρικής βλάβης παρατηρείται αύξηση της διαπερατότητας του περιφερικού νεύρου σε συγκεκριμένα μέρη ώστε να είναι δυνατή η ταχύτερη και πληρέστερη αποκατάσταση του νεύρου (Tonkin et al 2015).

Εκτός από την αιματική παροχή στα περιφερικά νεύρα παρατηρούνται και νευρικές απολήξεις που ονομάζονται *nervi nervorum* (Bove 1997). Αποτελούνται από υποδοχείς και νευρικές απολήξεις που μπορούν να φθάσουν μέχρι το επινεύριο, περινεύριο και ενδονεύριο. Οι υποδοχείς αυτοί με τη σειρά τους παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της ενδονευρικής κυκλοφορίας.

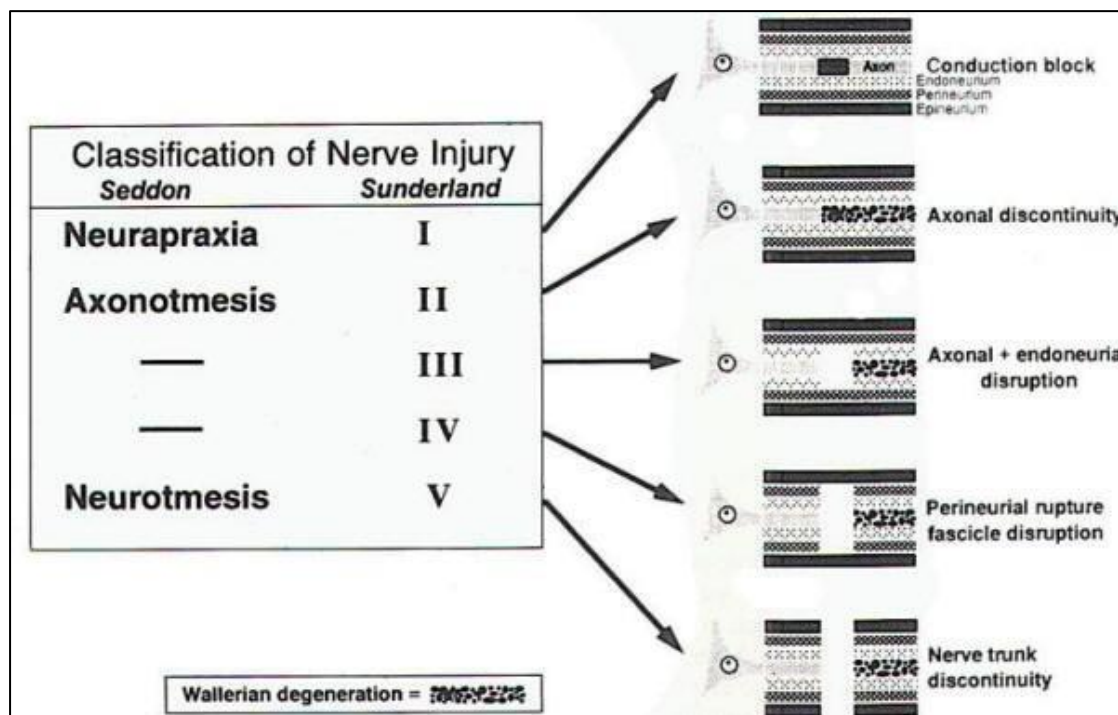


Εικόνα 32. Απεικόνιση των *nervi nervorum*.

Νευροπαθολογία της περιφερικής νευρικής βλάβης



Εικόνα 33. Ταξινόμησης της νευρικής βλάβης κατά Seddon: νευραπραξία (neurapraxia), αξονότμηση (axonotmesis) και νευρότμηση (neurotmesis).



	<i>Sunderland</i>	<i>Seddon</i>	<i>Description of Injury</i>	<i>Recovery Period</i>
Mildest	I	Neurapraxia	Conduction block, nerve is in-continuity, Wallerian degeneration does not take place	≤ 3 months
	II	Axonotmesis	Axon not continuous, nerve itself remains intact, axonal sprouting, Wallerian degeneration	1 inch per month
	III		During healing, excessive scarring of the endoneurium occurs that hinders axon regeneration	< 1 inch per month where it is slowed by the scar tissue; determined by degree of scarring and involved fascicles
	IV		Nerve is still in-continuity, scar build up blocks nerve regeneration	Surgical intervention required to re-establish nerve transduction by removing scar tissue and reconnecting nerve segments
Most Severe	V	Neurotmesis	Rupture of the nerve, it is no longer a continuous fiber	Recovery requires surgical intervention

Εικόνα 34. Σχηματικά αναπαράσταση της νευρικής βλάβης κατά Seddon και Sunderland.

Κατά τον Seddon περιγράφονται 3 κύριοι τύποι νευρικής βλάβης:

- Η νευραπραξία
- Η αξονότμηση
- Και η νευρότμηση

1) Νευραπραξία: παρατηρείται διακοπή της νευρικής αγωγής, το νεύρο βρίσκεται σε συνέχεια, δεν παρατηρείται το φαινόμενο της Βαλλεριανής εκφύλισης και παρατηρείται βλάβη στη μυελίνη. Η περίοδος αποκατάστασης της βλάβης υπολογίζεται μικρότερη των 3 μηνών.

2) Αξονότμηση: παρατηρείται διακοπή της συνέχειας του νευράξονα, το νεύρο παραμένει άθικτο, παρατηρείται το φαινόμενο του axonal sprouting και το φαινόμενο της Βαλλεριανής εκφύλισης. Παρατηρούνται βλάβες και στον νευράξονα και στην μυελίνη. Υπάρχουν διάφοροι βαθμοί αξονότμησης που σχετίζονται κυρίως με την δημιουργία ουλών στο ενδονεύριο μετά την νευρική βλάβη που εμποδίζουν σημαντικά την αναγέννηση των νευραξόνων. Η αποκατάσταση που παρατηρείται είναι περίπου 1 mm την ημέρα αλλά σχετίζεται και με την έκταση και την επιφάνεια του ουλώδους ιστού

και μπορεί να είναι σημαντικά μικρότερη ή και να χρειάζεται χειρουργική παρέμβαση για την επιτάχυνσή της.

3) Νευρότμηση: είναι η βαρύτερη βλάβη. Παρατηρείται διακοπή της συνέχειας του νευρώου που δεν είναι πλέον μια συνεχής δομή. Η βλάβη εντοπίζεται σε όλες τις δομές και συγκεκριμένα στην μυελίνη, στον νευράξονα, στο επινεύριο, στο περινεύριο και στο ενδονεύριο. Για την αποκατάσταση της βλάβης είναι απαραίτητη η χειρουργική παρέμβαση καθόσον διαφορετικά δεν είναι δυνατή η επούλωση.

Η κατανόηση της ανατομίας είναι ζωτικής σημασίας για την ερμηνεία των παθοφυσιολογικών παραμέτρων που πρέπει να ληφθούν υπόψη για την προσέγγιση ασθενών με περιφερική νευρική βλάβη (Maggi, Lowe, & Mackinnon, 2003). Το ενδονεύριο βρίσκεται γύρω από μεμονωμένους εμμύελους νευράξονες και ομάδες αμμύελων νευραξόνων. Οι νευρικές δεσμίδες αποτελούν συναθροίσεις νευραξόνων που περιβάλλονται από περινεύριο. Το εσωτερικό-internal επινεύριο παρεμβάλλεται μεταξύ των δεσμίδων (Maggi et al., 2003). Ο περιφερικός νευρικός κορμός αποτελεί μια συλλογή από δεσμίδες και το εξωτερικό-external επινεύριο περιβάλλει το νευρικό κορμό καταλλήλως. Το ενδονεύριο προσανατολίζεται επιμήκως ενώ το περινεύριο και επινεύριο προσανατολίζονται κυκλωτερώς (Sunderland, 1990). Ο νευρικός τραυματισμός αυξάνει την διαπερατότητα των αγγείων του επινευρίου, που είναι πιο επιρρεπή σε συνθλιπτικό τραύμα σε σχέση με τα αγγεία του ενδονευρίου. Υψηλότερα επίπεδα πίεσης ή περισσότερο παρατεταμένη συμπίεση μπορεί επίσης να προκαλέσουν τραυματισμό στα αγγεία του ενδονευρίου, καταλήγοντας σε ενδοδεσμιδικό οίδημα, που μπορεί να καταλήξει σε δευτερογενή βλάβη στο νεύρο (Rydevik & Lundborg, 1977). Στην περιφερική νευρική βλάβη έχουν περιγραφεί 2 βασικές ταξινομήσεις: η ταξινόμηση του Seddon και η ταξινόμηση του Sunderland όπως αναφέρθηκε ανωτέρω. Η ταξινόμηση του Sunderland

είναι πιο πολύπλοκη αλλά μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε περισσότερες περιπτώσεις. Ο Seddon ταξινόμησε τις κακώσεις αυτές σε νευραπραξία, αξονότμηση και νευρότμηση (Seddon, Medawar, & Smith, 1943).

Η νευραπραξία είναι το αποτέλεσμα της τμηματικής απομυελίνωσης και αντιστοιχεί στην 1^{ου} βαθμού νευρική βλάβη κατά Sunderland. Αποτελεί την πιο ήπια μορφή νευρικής βλάβης. Οι νευράξονες είναι ανατομικά ακέραιοι αλλά μη λειτουργικοί, τα νεύρα δεν μπορούν να μεταδώσουν ώσεις και το τμήμα του ανθρώπινου σώματος που νευρώνουν είναι παράλυτο. Παρατηρείται κινητική και αισθητική απώλεια λόγω της απομυελίνωσης, χωρίς διακοπή νευραξόνων ή Βαλεριανή εκφύλιση. Η διακοπή της μεταβίβασης των ερεθισμάτων λόγω νευραπραξίας συνήθως έχει μεγαλύτερη επίδραση στις κινητικές ίνες περισσότερο από τις αισθητικές. Κλινικά η μυική ατροφία δεν επέρχεται εκτός από ήπια ατροφία εξαιτίας της αχρησίας του μέλους. Ηλεκτροφυσιολογικά, φυσιολογικά το νεύρο μεταδίδει ώσεις περιφερικά αλλά παρατηρείται επηρεασμένη μετάδοση στην περιοχή της βλάβης εξαιτίας της περιοχικής απομυελίνωσης. Η απώλεια της λειτουργικότητας παραμένει μέχρι να επέλθει επαναμυελίνωση της βλάβης. Ο χρόνος αποκατάστασης ποικίλλει από ώρες έως και μήνες, πλήρης λειτουργική αποκατάσταση μπορεί να αναμένεται χωρίς παρέμβαση σε 9-12 εβδομάδες ή και νωρίτερα, με την προϋπόθεση να μην υπάρχει συνεχιζόμενη συμπίεση ή βλάβη. Η κινητική παράλυση μπορεί να διαρκέσει μέχρι 6 μήνες, αλλά οι περισσότερες βλάβες αποκαθίστανται εντός 3 μηνών (Dumitru, Diaz, & King, 2001). Λόγω του γεγονότος ότι η επαναμυελίνωση των νευραξόνων συμβαίνει σε διαφορετικό βαθμό και διαφορετική έκταση, η λειτουργικότητα μπορεί να επανακτηθεί άνισα. Τυικά παραδείγματα αποτελούν η νευραπραξία του Σαββατόβραδου καθώς και η νευραπραξία του περονιαίου νεύρου (Seddon et al., 1943). Η νευραπραξία χρησιμοποιήθηκε επίσης για να περιγράψει οξέως αναστρέψιμη διακοπή της

νευροφυσιολογικής λειτουργίας που διαρκεί μόνο λεπτά, που λόγω της παροδικότητας δεν μπορεί να καταλήξει σε απομυελίνωση, όπως σε περιπτώσεις παροδικής απώλειας του ελέγχου του κάτω άκρου λόγω παροδικής ισχαιμίας χωρίς δομικές αλλαγές στην μυελίνη (Wilbourn, 2002).

Περισσότερες βαριές περιπτώσεις περιφερικών νευρικών βλαβών, όπως θλαστικά τραύματα, θλάσεις και βλάβες εξαιτίας διάτασης, εκτεταμένης συμπίεσης και εγχύσεων, μπορούν να προκαλέσουν ανατομική διακοπή των νευραξόνων ή του νευρικού κορμού.

Η Βαλλεριανή εκφύλιση παρατηρείται όταν υπάρχει διακοπή των νευραξόνων (Koerppen, 2004; Stoll & Muller, 1999). Το περιφερικό τμήμα του νευράξονα εκφυλίζεται και αποκόπτεται. Η μυελίνη μετατρέπεται σε ουδέτερο λίπος και φαγοκυτταρώνεται από τα μακροφάγα. Απομείναντα τμήματα του νευράξονα και της μυελίνης διαμορφώνουν ωοειδής δομές που σταδιακά απορροφώνται (digestion chambers) (Chaudhry, Glass, & Griffin, 1992). Κεντρικά της βλάβης, η εκφύλιση σταματά στον πρώτο κόμβο σε περιπτώσεις ήπιων βλαβών, αλλά μπορεί να επεκταθεί και περισσότερο κεντρικά σε περιπτώσεις σοβαρότερων βλαβών. Εντός ωρών από την βλάβη τα άκρα των τραυματισμένων νευραξόνων καλύπτονται και στα καλυμμένα άκρα παρατηρείται οίδημα (Lunn, Brown, & Perry, 1990). Η επανακάλυψη αποτελεί απαραίτητο προάγγελμα της αξονικής αναγέννησης για το κεντρικό κολόβωμα. Η διαδικασία επανακάλυψης προυποθέτει την είσοδο ιόντων Ca^{++} μέσα στο αξονόπλασμα η οποία διαδραματίζεται ταχέως (Yawo, Kojima, & Kuno, 1985; Yawo & Kuno, 1985). Πιθανά αγγειοδραστικά πεπτίδια συσσωρεύονται στα άκρα των νευραξόνων, τα οποία μαζί με τοπικά mast cell αποκοκκίωση και αγγειογένεση προκαλούν υπεραιμία που επιμένει για αρκετές εβδομάδες μετά την βλάβη (S. Hall, 2005). Τελευταία δεδομένα από την βιβλιογραφία αποδεικνύουν ότι η αξονική εκφύλιση δεν αποτελεί παθητική διαδικασία αλλά μια

ενεργητική προγραμματισμένη διαδικασία που αποτελεί την απόκριση στην διακοπή της σύνδεσης μεταξύ του κυττάρου και του οργάνου στόχου (S. Hall, 2005). Η απώλεια του αξονοπλασματικού κυτοσκελετού ξεκινά μέσα σε 7 ημέρες στο ανθρώπινο είδος και συνοδεύεται από ένα πρόγραμμα αυτοκαταστροφής (Raff, Whitmore, & Finn, 2002). Η αξονική εκφύλιση εξαρτάται από μια τοπική αύξηση στη συγκέντρωση του ασβεστίου που ενεργοποιεί πρωτεολυτικά ένζυμα που εξαρτώνται από το ασβέστιο, όπως για παράδειγμα οι φωσφολιπάσες και οι καλπαίνες. Αυτές οι ενώσεις μετέπειτα επηρεάζουν την διάλυση του κυτταροσκελετού (S. Hall, 2005). Στο περιφερικό κολόβωμα, παρόλο που ο νευράξονας εκφυλίζεται και εξαφανίζεται, οι βασικές μεμβράνες του συνδετικού ιστού παραμένουν, δημιουργώντας ενδονευρικούς αγωγούς. Τα κύτταρα Schwann πολλαπλασιάζονται και προσανατολίζονται στους ενδονευρικούς αγωγούς (αγωγοί κυττάρων Schwann, ζώνες του Bungner). Αυτές οι συναθροίσεις των κυττάρων Schwann και των διαδικασιών με τις βασικές μεμβράνες παρέχουν το μονοπάτι και το ικρίωμα για την αξονική αναγέννηση. Η Βαλλεριανή εκφύλιση ξεκινά εντός ωρών από την νευρική βλάβη και ολοκληρώνεται σε 6-8 εβδομάδες, δημιουργώντας ένα περιφερικό κολόβωμα που αποτελείται από ενδονευρικούς αγωγούς που προσανατολίζονται με τη βοήθεια των κυττάρων Schwann (S. M. Hall, 1989; Kang, Tian, & Thompson, 2003). Τα κύτταρα Schwann δεν είναι μόνιμα, μετακινούνται και εξαφανίζονται εφόσον δεν πραγματοποιηθεί αξονική νευρική αναγέννηση (S. M. Hall, 1999). Πειραματικά, παρατηρείται μια προοδευτική ανικανότητα των χρονίως απονευρωμένων κυττάρων Schwann να υποστηρίξουν την αξονική αναγέννηση, αλλά μια οργανωμένη ικανότητα να επαναμυελινώσουν νευράξονες που τελικά θα αναγεννηθούν.

Η αξονική αλληλεπίδραση μπορεί να μετατρέψει επαρκώς τα ατροφικά κύτταρα Schwann σε ενεργά κύτταρα που μπορούν να ευοδώσουν την διαδικασία της μυελίνωσης (Sulaiman

& Gordon, 2000). Στην αξονότμηση ο νευράξονας διακόπτεται και η Βαλλεριανή εκφύλιση ξεκινά. Παρατηρείται ασυνέχεια νευραξόνων αλλά το περιβάλλον στρώμα είναι μερικώς άθικτο. Η αξονότμηση παρατηρείται συνήθως σε συνθλιπτικές και διατατικές κακώσεις. Η επανανεύρωση βασίζεται στο βαθμό της αρχικής διαταραχής της εσωτερικής αρχιτεκτονικής καθώς επίσης και από την απόσταση από την μυική ομάδα. Στην νευρότμηση το νεύρο έχει υποστεί τόσο εκτεταμένη βλάβη ή είναι τόσο εσωτερικά αποκομμένο που δεν αποκαθίσταται επαρκώς ώστε να οδηγήσει στην ικανοποιητική λειτουργικότητα. Η νευρότμηση παρατηρείται με οξείες αιχμηρές κακώσεις από τέμνοντα ή νύσσοντα όργανα, μαζικό τραύμα ή εκτεταμένη απόσχιση από βίαιη έλξη με τραυματισμό νευρικών δομών. Παρατηρείται απώλεια της συνέχειας των νευρικών κορμών με πλήρη διακοπή των συνοδών υποστηρικτικών ελλειμμάτων, η επανανεύρωση δεν παρατηρείται χωρίς χειρουργική παρέμβαση και η πρόγνωση είναι εξαιρετικά πτωχή. Η αποκατάσταση μετά από περιφερική νευρική βλάβη που συνδυάζεται με σημαντική απώλεια νευραξόνων και εσωτερική βλάβη, 3^{ου} βαθμού ή ανωτέρω κατά Sunderland, αναμένεται να είναι αργή και ατελής (Sunderland, 1990) με το τραυματισμένο άκρο να μην προσεγγίζει σχεδόν ποτέ το προηγούμενο λειτουργικό επίπεδο (Campbell, 2008).

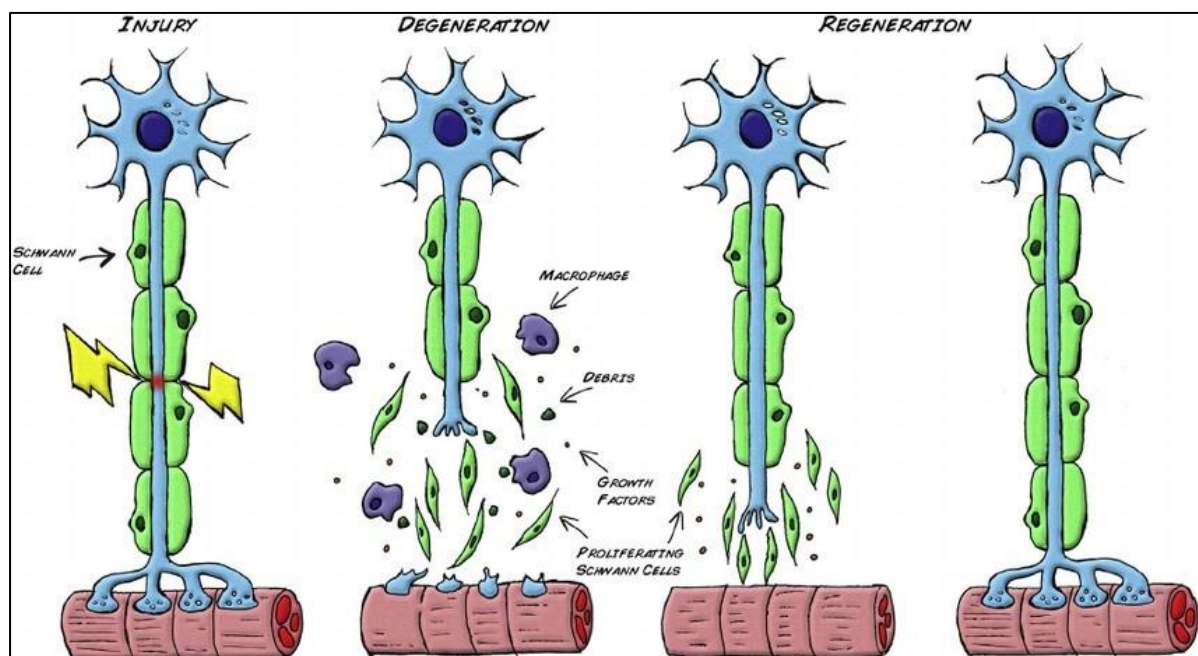
Seddon and Sunderland Classification of Nerve Injury		
Seddon	Sunderland	Injury
Neurapraxia	Grade I	Focal segmental demyelination
Axonotmesis	Grade II	Axon damaged with intact endoneurium
Axonotmesis	Grade III	Axon and endoneurium damaged with intact perineurium
Axonotmesis	Grade IV	Axon, endoneurium, and perineurium damaged with intact epineurium
Neurotmesis	Grade V	Complete nerve transection.
	Grade VI (MacKinnon & Dellon)	Mixed levels of injury along the nerve

Εικόνα 35. Περιγραφή των 2 ταξινομήσεων των νευρικών βλαβών (Campbell, 2008).

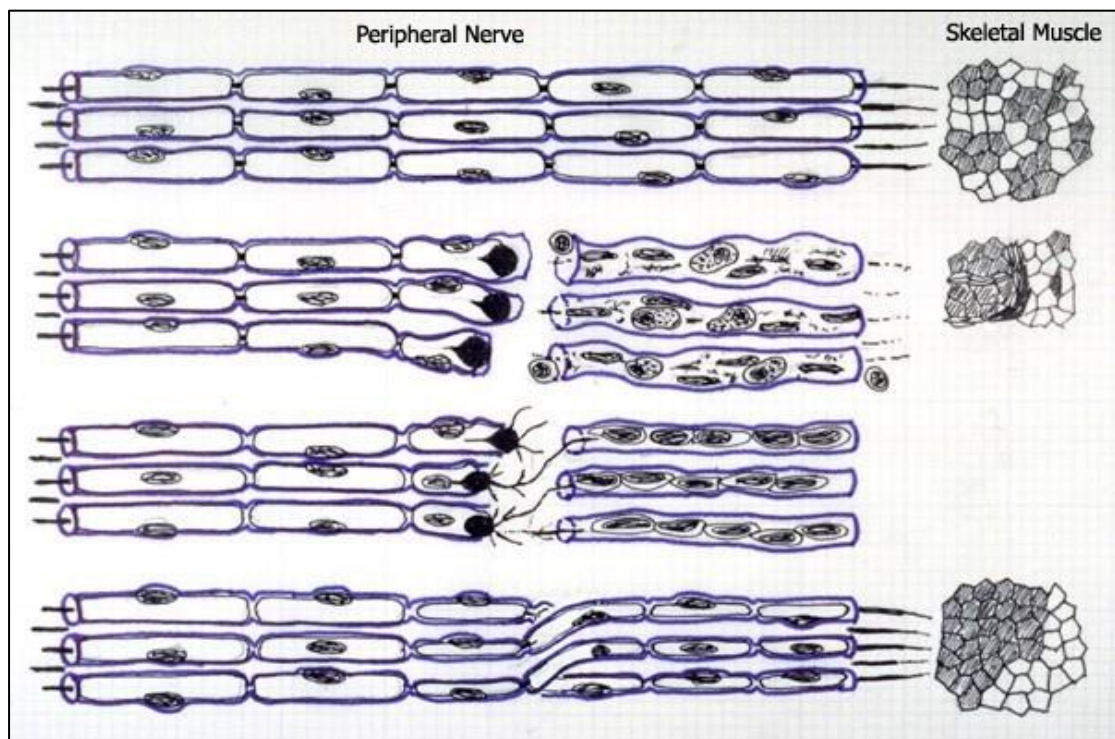
Βαλλεριανή εκφύλιση

Η Βαλλεριανή εκφύλιση είναι το αποτέλεσμα νευρικής βλάβης τύπου διατομής ή σύνθλιψης, κατά την οποία το τμήμα του νευράξονα που έχει διαχωριστεί από τα κύτταρα του νευρώνα εκφυλίζεται περιφερικά της βλάβης. Η εκφύλιση αυτή είναι επίσης γνωστή ως ορθόδρομη ή ανάδρομη εκφύλιση. Φαινόμενα παρόμοια με αυτά της Βαλλεριανής εκφύλισης παρατηρούνται και σε πολλές νευρο-εκφυλιστικές παθήσεις και αρκετές φορές περιγράφονται σαν «Βαλλεριανού τύπου εκφύλιση» (Coleman & Freeman, 2010).

Η Βαλλεριανή εκφύλιση έλαβε το όνομα της από τον Augustus Volney Waller, ο οποίος πραγματοποίησε πειράματα σε βατράχους το 1850, μετά από διατομή του γλωσσοφαρυγγικού και υπογλωσσίου νεύρου. Με τη μελέτη των περιφερικών τμημάτων των νεύρων αυτών ο Waller παρατήρησε την αποδόμηση της μυελίνης (Waller, 1850).



Εικόνα 36. Απεικόνιση της Βαλλεριανής εκφύλισης μετά από νευρική βλάβη στο περιφερικό νευρικό σύστημα (degeneration).



Εικόνα 37. Αναπαράσταση της νευρικής βλάβης, της Βαλλεριανής εκφύλισης και της προσπάθειας νευρικής αναγέννησης.

Το φαινόμενο της Βαλλεριανής εκφύλισης παρατηρείται τόσο στο ΚΝΣ όσο και στο ΠΝΣ. Συνήθως άρχεται μέσα σε 24-36 ώρες μετά την αρχική νευρική βλάβη και παρατηρείται στο περιφερικό τη βλάβης κολόβωμα. Μετά την νευρική βλάβη, ο αξονικός σκελετός αποσυντίθεται και η αξονική μεμβράνη διασπάται. Η αξονική εκφύλιση εν συνεχεία ακολουθείται από αλλοίωση των ελύτρων μυελίνης και από συγκέντρωση μακροφάγων στην περιοχή. Ο κύριος ρόλος των μακροφάγων που καταφθάνουν στην περιοχή είναι η απομάκρυνση των παραπροϊόντων της εκφύλισης (Coleman et al., 1998).

Μέσα σε 4 ημέρες από την βλάβη, το άπω τμήμα της νευρικής ίνας εμφανίζει εκβλαστήσεις-ψευδοπόδια προς τους αγωγούς αυτούς και οι εκβλαστήσεις αυτές έλκονται κοντά στους αγωγούς από αυξητικούς παράγοντες που εκλύονται από τα κύτταρα Schwann. Αν μια εκβλάστηση φθάσει στον αγωγό, αναπτύσσεται εντός αυτού με

ρυθμό περίπου 1 mm για κάθε ημέρα, προσπαθώντας να προσεγγίσει το όργανο στόχο και να το επανανευρώσει.

Ιδιαίτερο στοιχείο των αξονικών βλαβών είναι το γεγονός ότι οδηγούν σε άμεση αξονική εκφύλιση, που χαρακτηρίζεται από διαχωρισμό του κεντρικού και του άπω τμήματος μέσα σε 30 λεπτά από την βλάβη (Kerschensteiner, Schwab, Lichtman, & Misgeld, 2005). Η εκφύλιση συνεχίζεται μετά με το οίδημα που παρατηρείται στο αξονόλημμα, με τις διαδικασίες στο ΠΝΣ να διαρκούν γύρω στις 24 ώρες σε αντίθεση με το ΚΝΣ όπου οι διαδικασίες είναι πιο βραδείες (Vargas & Barres, 2007).

Η αξονική εκφύλιση περιλαμβάνει την σταδιακή αποδόμηση του αξονικού κυτταροσκελετού και των εσωτερικών οργανιδίων. Οι διαδικασίες αποδόμησης που παρατηρούνται εξαρτώνται από πρωτεάσες (που σχετίζονται με αλλαγές στην συγκέντρωση των ιόντων ασβεστίου), καθιστώντας σαφές ότι η αξονική εκφύλιση είναι μια ενεργή διαδικασία και όχι μια παθητική διαδικασία όπως είχε θεωρηθεί στο παρελθόν (Zimmerman & Schlaepfer, 1984). Η διάμετρος των νευρικών ινών επίσης παίζει ρόλο στην διαδικασία αποδόμησης με τους μεγάλης διαμέτρου νευράξονες να απαιτούν μεγαλύτερο χρονικό διάστημα για τον κυτταροσκελετό να αποδομηθεί και άρα χρειάζεται μεγαλύτερο χρονικό διάστημα να εκφυλιστεί.

Μετά την αξονική καταστροφή λαμβάνει χώρα η καταστροφή των ελύτρων μυελίνης που συμμετέχει ενεργά στην ταχύτερη και αποτελεσματικότερη μετάδοση των ερεθισμάτων. Η εκκαθάριση της μυελίνης είναι το επόμενο στάδιο στη Βαλλεριανή εκφύλιση μετά την αξονική εκφύλιση. Η απομάκρυνση των παραπροϊόντων της καταστροφής της μυελίνης είναι πολύ πιο γρήγορη διαδικασία στο ΠΝΣ σε σχέση με το ΚΝΣ. Η διαφορά αυτή παρατηρείται κυρίως λόγω των κυττάρων Schwann. Ένας άλλος λόγος είναι η

διαπερατότητα του αιματο-νευρικού φραγμού στα δυο συστήματα. Στο ΠΝΣ η διαπερατότητα αυξάνεται στο περιφερικό κολόβωμα ενώ στο ΚΝΣ η αλλαγή στη διαπερατότητα περιορίζεται μόνο στην περιοχή της βλάβης (Vargas & Barres, 2007).

Μετά την νευρική βλάβη λαμβάνουν χώρα διαδικασίες για την επίτευξη της νευρικής αναγέννησης. Τα κύτταρα Schwann πολλαπλασιάζονται και συντάσσονται κατά μήκος της βασικής μεμβράνης βοηθώντας έτσι στον καλύτερο προσανατολισμό των αναγεννούμενων νευραξόνων και στην μεγαλύτερη δυνατότητα παραγωγής μυελίνης (Stoll & Muller, 1999). Όσον αφορά τη διαδικασία της φαγοκυττάρωσης αυτή πραγματοποιείται κυρίως από μακροφάγα τα οποία έχουν μεταφερθεί στην περιοχή με την αιματική κυκλοφορία (Beuche & Friede, 1984).

Ο ρόλος των κυττάρων Schwann

Φαινοτυπικές αλλαγές που σχετίζονται με τον τραυματισμό

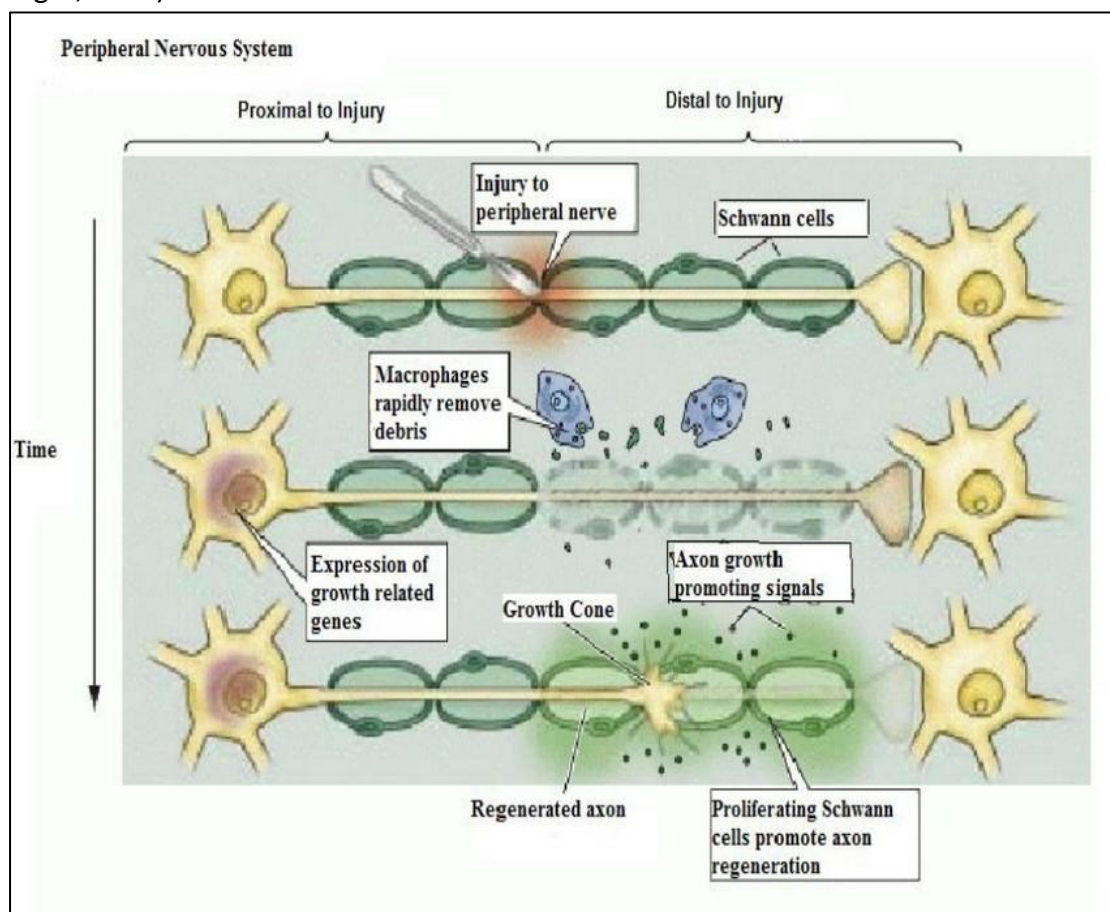
Το περιβάλλον στο περιφερικό τμήμα του νεύρου είναι ιδιαίτερα σημαντικό για την χρονική αποκατάσταση μετά από βλάβη (S. Y. Fu & Gordon, 1995). Στο περιφερικό νευρικό κολόβωμα, τα κύτταρα Schwann υπόκεινται σε αλλαγές που είναι απαραίτητες για την υποστήριξη της αξονικής ανάπτυξης. Αρχικά τα κύτταρα Schwann διαφοροποιούνται, χάνουν τον μυελινικό φαινότυπο και μετατρέπονται σε κύτταρα αποκατάστασης. Η έκφραση των πρωτεϊνών μυελίνης ελέγχεται από διάφορους παράγοντες, και γονίδια που ελέγχουν την αύξηση, συμπεριλαμβανομένων και αυτών που ρυθμίζουν τα μόρια προσκόλλησης των κυττάρων, τους αυξητικούς παράγοντες και τους υποδοχείς τους (Chen, Yu, & Strickland, 2007; Hoke, Gordon, Zochodne, & Sulaiman, 2002; Rahmatullah et

al., 1998; You, Petrov, Chung, & Gordon, 1997). Οι αλλαγές αυτές στα κύτταρα Schwann μετά από τη βλάβη μπορούν να εκλυθούν από τραυματισμό ή μπορεί να είναι το αποτέλεσμα της απώλειας των αξονικών σημάτων (Murinson, Archer, Li, & Griffin, 2005). Ένα από τα περισσότερο μελετημένο αξονικό σήμα είναι η νεορεγκουλίνη-neuregulin 1 (που κωδικοποιείται από το Nrg1). Στους νευράξονες των ποντικών, η ισομορφή III της νεορεγκουλίνης 1 έχει διασπαστεί από την β -secretase και μέσα από την οικογένεια ErbB των υποδοχέων των μεμβρανών των κυττάρων Schwann, επιφέρει πολλαπλασιασμό και παραγωγή μυελίνης (Hu et al., 2006; Mei & Xiong, 2008; Willem et al., 2006). Ένας άλλος καλά μελετημένος παράγοντας που επηρεάζει τη λειτουργία των κυττάρων Schwann είναι ο διαμεμβρανικός υποδοχέας Notch (Woodhoo et al., 2009)(Jessen & Mirsky, 2008; Scheib & Hoke, 2013).

Η περιοχή της βλάβης

Το περιφερικό κολόβωμα του τραυματισμένου νεύρου παρουσιάζει μια σειρά μοριακών και κυτταρικών αλλαγών που είναι γνωστές με τον όρο βαλλεριανή εκφύλιση (Burnett & Zager, 2004). Μέσα σε μόλις λίγες ώρες, ο νευράξονας και η μυελίνη του περιφερικού κολοβώματος εκφυλίζονται και μακροφάγα συγκεντρώνονται στην περιοχή του τραυματισμού και συμμετέχουν στον καθαρισμό και αποβολή των παραπροϊόντων (Chen et al., 2007; Ide, 1996). Μέσα τις πρώτες 24 ώρες, αρχέγονα μεσεγχυματικά κύτταρα πολλαπλασιάζονται και μετατρέπονται από έναν εμμύελο σε ένα αναγεννησιακό φαινότυπο και εκθέτουν την έκφραση και ρύθμιση διαφορετικών μορίων που συνεπικουρούν στην παράλληλη εκφυλιστική και αναγεννησιακή διαδικασία (Burnett &

Zager, 2004).



Εικόνα 38. Απεικόνιση των αλλαγών που παρατηρούνται μετά από περιφερική νευρική βλάβη κατά την Βαλλεριανή εκφύλιση, την ανάπτυξη του αυξητικού κώνου και την νευρική αναγέννηση.

Συγκεκριμένα, τα αρχέγονα μεσεγχυματικά κύτταρα ρυθμίζουν δομικές πρωτείνες όπως η protein zero, η βασική πρωτεΐνη της μυελίνης και η σχετιζόμενη με τη μυελίνη γλυκοπρωτεΐνη, καθώς επίσης παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση μορίων προσκόλλησης κυττάρων (CAM), το μόριο L1, το νευρικό CAM (NCAM), και η γλοιακή ινώδης acidic πρωτεΐνη, μαζί με αυξητικούς παράγοντες- αυξητικός παράγοντας των νευρικών δομών (NGF), ο νευροτροφικός αυξητικός παράγοντας που παράγεται από το κεντρικό νευρικό σύστημα (BDNF), ο νευροτροφικός παράγοντας που προέρχεται από τα

γλοιακά κύτταρα (GDNF), ο βασικός αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών (bFGF) και η νευροτροφίνη 3 (NT-3). (Griffin, Hogan, Chhabra, & Deal, 2013; Jessen & Mirsky, 2008)

Μετά την απομάκρυνση των παραπροϊόντων μεταβολισμού από τη συνδυασμένη δράση των AMK και των μακροφάγων, τα AMK διατάσσονται με τέτοιο τρόπο ώστε να δημιουργούν στήλες που ονομάζονται ζώνες του Büngner. Με τον τρόπο αυτό δημιουργείται ένα κατάλληλο περιβάλλον πλούσιο σε τροφικούς παράγοντες, που επιτρέπει και ευοδώνει την καθοδηγούμενη αξονική νευρική αναγέννηση. (Faroni, Mobasser, Kingham, & Reid, 2015; Scheib & Hoke, 2013)

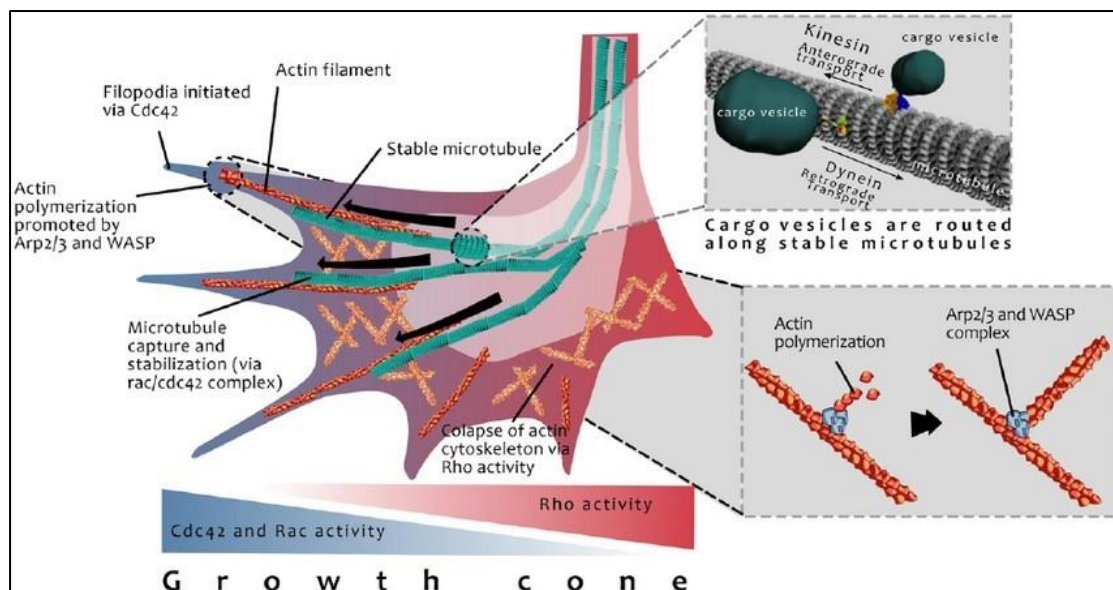
Εκφύλιση του περιφερικού νευράξονα

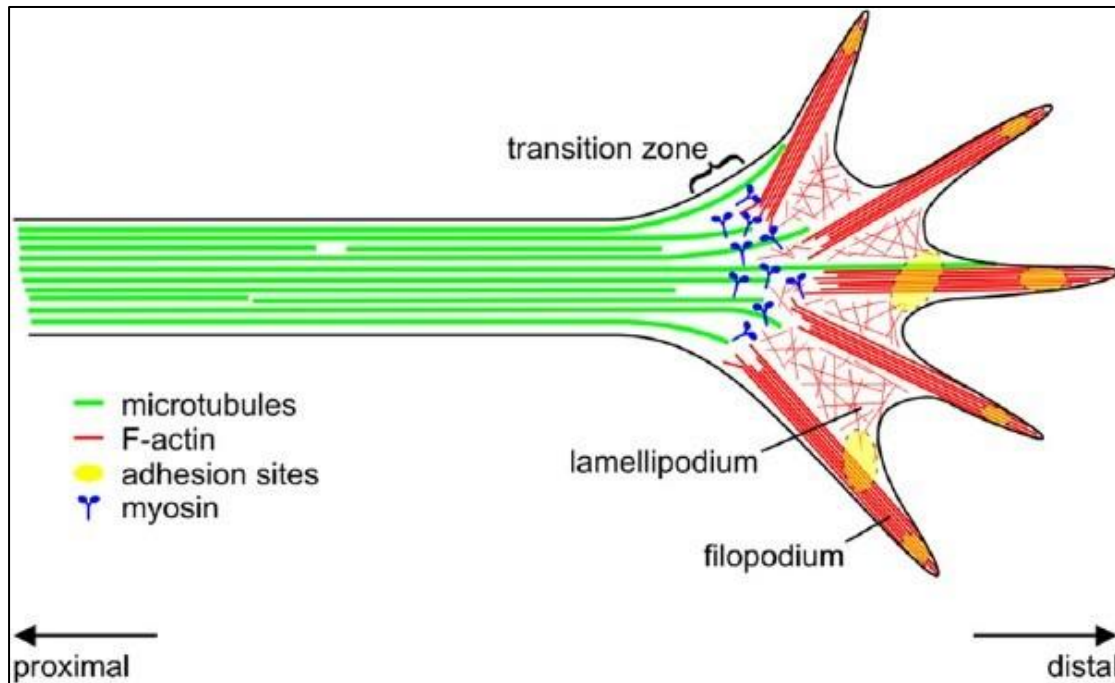
Κατά τη διάρκεια της αρχικής μετα-τραυματικής φάσης, όταν τα σώματα των νευρώνων και οι κεντρικοί νευράξονες ετοιμάζονται για ανάπτυξη, οι περιφερικοί νευράξονες υπόκεινται σε μοριακές μεταβολές. Η προοδευτική αποδόμηση και αποβολή των περιφερικών ινών είναι γνωστή ως βαλλεριανή εκφύλιση. Πειραματικά μοντέλα ζώων καθυστερημένης βαλλεριανής εκφύλισης—όπως για παράδειγμα τα ποντίκια WldS, που εμφανίζουν μια αυτόματη μετάλλαξη που εμποδίζει τους περιφερικούς νευράξονες από την απόπτωση, τους επιτρέπει να επιμένουν για εβδομάδες μετά από τη βλάβη—είναι ιδιαίτερα χρήσιμη στην κατανόηση των μηχανισμών της αξονικής απώλειας μετά από την νευρική βλάβη (Conforti et al., 2000; Perry, Brown, Lunn, Tree, & Gordon, 1990) .

Επιπρόσθετα το πειραματικό αυτό μοντέλο απέδειξε ότι η μετατραυματική εκφύλιση των

νευραξόνων είναι σημαντική για την αποκατάσταση γιατί η παραμονή των περιφερικών νευραξόνων στα ποντίκια WldS επηρεάζει την αναγέννηση (Benavides & Alvarez, 1998). Η μετάλλαξη που φαίνεται να είναι υπεύθυνη για την αλλαγή αυτή σχετίζεται με την αλλαγή των συγκεντρώσεων ασβεστίου στο αξονόπλασμα που παίζει σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη της βαλλεριανής εκφύλιση (Adalbert et al., 2012; Avery et al., 2012). Παρόλο που ο μοριακός μηχανισμός δεν έχει ακόμα περιγραφεί με λεπτομέρεια τα δεδομένα αναφέρουν ότι η εκφύλιση είναι μια ενεργητική διαδικασία ώστε να δημιουργηθεί ένα περιβάλλον που είναι συμβατό με την εκφύλιση και την αναγέννηση (Scheib & Hoke, 2013).

Growth Cone - Αυξητικός κώνος





Εικόνα 39. Σχηματική αναπαράσταση του αυξητικού κώνου (growth cone), της ζώνης μετάβασης (transition zone), των λαμελιποδίων (lamellipodium) και των φιλοποδίων (filopodium).

Μετά τη νευρική βλάβη στο περιφερικό τμήμα του κεντρικού κολοβώματος δημιουργείται μια δομή που ονομάζεται αυξητικός κώνος-Growth Cone. Σημαντική συμβολή για την δημιουργία του αυξητικού κώνου διαδραματίζει το ασβέστιο (Geraldo 2009). Ώρες μετά την νευρική βλάβη, από τον αυξητικό κώνο εκκινούν φιλοπόδια για τον έλεγχο του μικροπεριβάλλοντος. Αρχικά κατά την πορεία τους στο περιφερικό κολόβωμα τα φιλοπόδια διατάσσονται άναρχα άλλα αποκτούν προσανατολισμό με την μετέπειτα έκφραση της ακτίνης και της μυοσίνης στο κυτταρικό σώμα (Jin 2009; Costigan 2005).

Η κινητικότητα του αυξητικού κώνου καθορίζει τον νευροτροφισμό του και ρυθμίζεται από την παρουσία υποδοχέων στην μεμβράνη του (Tuttle 1998). Ο βαθμός της νευρικής αναγέννησης ξαρτάται και από την εντόπιση του νευρώνα με τα

κεντρικά τμήματα να εμφανίζουν μια ανάπτυξη των 2-3mm/ημέρα ενώ τα πιο περιφερικά τμήματα αναπτύσσονται με ένα ρυθμό 1-2mm/ημέρα. Η διαδρομή του αυξητικού κώνου στην πορεία της νευρικής αναγέννησης διαταράσσεται από ουλώδη ιστό, τον οποίο ο αυξητικός κώνος προσπαθεί να διασπάσει με την απελευθέρωση πρωτεασών ώστε τα νευρωνικά κύτταρα να μπορούν να αλληλεπιδράσουν με νευρωνικά κύτταρα (Geraldo 2009).

Τα κύτταρα Schwann διαδραματίζουν έναν σημαντικό ρόλο στην νευρική αναγέννηση διότι αποτελούν την κύρια πηγή νευροτροφικών παραγόντων που είναι απαραίτητοι για την νευρική αναγέννηση (Hall 1997). Το μόριο NGF αποτελεί βασικό στοιχείο για την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων Schwann και την μετέπειτα νευρική αναγέννηση. Διάφοροι νευροτροφικοί παράγοντες έχουν ανακαλυφθεί με λειτουργίες που κυμαίνονται από την βελτίωση της κυτταρικής επιβίωσης, τον περιορισμό της κυτταρικής απόπτωσης, την ενίσχυση της νευρικής αναγέννησης στα νευρωνικά κύτταρα και στα κύτταρα Schwann (Davis 1990). Ο αυξητικός κώνος χρησιμοποιεί τους παράγοντες αυτοαυτούς την προσκόλληση στη βασική μεμβράνη των αγωγών του ενδονευρίου (Guenard 1991).

Τα μακροφάγα που συγκεντρώνονται στην περιοχή μετά την φαγοκυττάρωση της μυελίνης ευοδώνουν την νευρική αναγέννηση με την έκκριση IL-1, καταλήγοντας στην περαιτέρω αύξηση του αριθμού των κυττάρων Schwann (Battison 2009).

Σκοπός του αυξητικού κώνου είναι να προσεγγίσει τον ενδονευρικό αγωγό ώστε να καταστεί η δυνατή η επανανεύρωση του οργάνου στόχου. Πριν την ολοκλήρωση της λειτουργικής αποκατάστασης είναι απαραίτητη η διαδικασία της ωρίμανσης που περιλαμβάνει την επαναμυελίνωση των νευραξόνων, την αύξηση των νευραξόνων

και τελικά τη λειτουργική επανανεύρωση. Maturation must occur before the functional connection is complete. Η αξονική ανάπτυξη παράγει ATP και ακετυλοχολίνη που είναι απαραίτητα στοιχεία για την φαινοτυπική αλλαγή των κυττάρων Schwann από αμμύελα σε εμμύελα (Stoll 1989).

Νευρική αναγέννηση σε ΚΝΣ και ΠΝΣ

3 βασικοί αναστολείς της νευρικής αναγέννησης στις εμμύελες νευρικές ίνες που έχουν περιγραφεί είναι: η γλυκοπρωτεΐνη που σχετίζεται με τη μυελίνη (MAG), η Nogo και η γλυκοπρωτεΐνη που σχετίζεται με μυελίνη και ολιγοδενδροκύτταρα (McKerracher & Winton, 2002). Πειραματικές μελέτες έχουν αποδείξει ότι η ανάπτυξη των νευριτών αναστέλλεται κυρίως από την ενεργοποίηση της Rho και των Rho-κινασών που ενεργοποιούνται μετά από κακώσεις. Συνεπώς, με μεθόδους αναστολής της RhoA η νευρική αναγέννηση μπορεί να επιτευχθεί για το ΚΝΣ και το ΠΝΣ μέσω της αύξησης της πυκνότητας των μεγάλων εμμύελων νευρικών ινών (Hiraga et al., 2006; Yamauchi, Chan, & Shooter, 2004).

Μέθοδοι ευόδωσης της περιφερικής νευρικής αναγέννησης

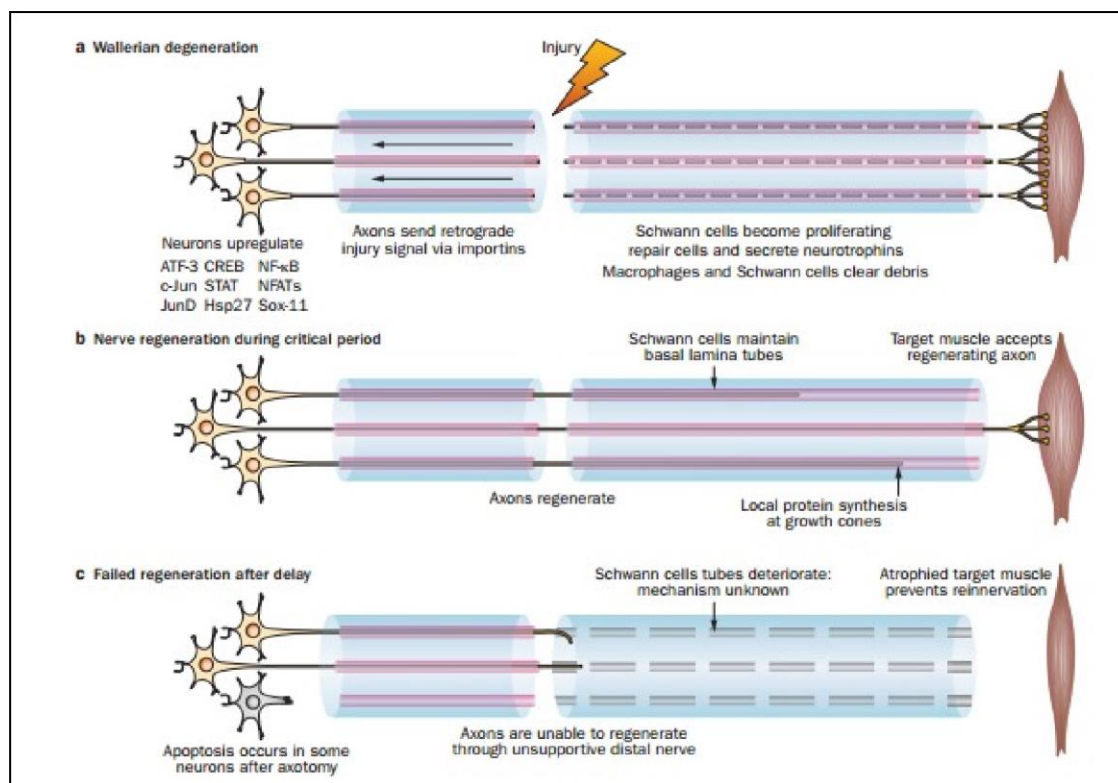
Διάφορα μόρια και μέθοδοι έχουν περιγραφεί για την ενίσχυση της περιφερικής νευρικής αναγέννησης, κυρίως στις περιπτώσεις νευρικών ελλειμμάτων ή σε περιπτώσεις παραμελημένων νευρικών βλαβών (Isaacs, Loveland, Mallu, Adams, & Wodicka, 2011). Ο αναβολικός παράγοντας ναδρολόνη έχει περιγραφεί ότι βελτιώνει την λειτουργική

αποκατάσταση μέσω της αναστροφής της ατροφίας των χρονίως απονευρωμένων μυϊκών ομάδων (Isaacs et al., 2011). Η χορήγηση αυξητικού παράγοντα β (TGF-β) για την αντιμετώπιση των ατροφικών κυττάρων Schwan σε νευρικά κολοβώματα μιας χρόνιας βλάβης μπορεί να καταλήξει σε επιτυχημένη νευρική αναγέννηση (Sulaiman & Gordon, 2002). Ενθαρρυντικά αποτελέσματα στην περιφερική νευρική αναγέννηση έχουν παρατηρηθεί μετά από χορήγηση χαμηλών δόσεων νευροτροφικών παραγόντων, που περιλαμβάνουν brain-derived neurotrophic factor (BDNF) και νευροτροφικούς παράγοντες που προέρχονται από γλοιακά κύτταρα (GDNF) (Boyd & Gordon, 2002; Gordon, Sulaiman, & Boyd, 2003). Επίσης μια immunophilin, η FK506, έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει τον αριθμό των κινητικών νευρώνων που αναγεννούν τους νευράξονές τους στις νευροσυρραφές (Sulaiman & Gordon, 2002). Όπως περιγράφηκε από τον Al-Majed et al., η ηλεκτρική διέγερση αποδείχτηκε ευεργετική για την νευρική αναγέννηση σε πειραματικά μοντέλα πειραματοζώων με βλάβες σύνθλιψης και νευρικά ελλείμματα μέσω της ευόδωσης της αξονικής αναγέννησης και της επαναμυελίνωσης (Al-Majed, Tam, & Gordon, 2004). Σε μια άλλη μελέτη από τον Lykissas και συνεργάτες περιγράφεται η ευόδωση της περιφερικής νευρικής αναγέννησης σε μια πειραματική μελέτη τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής σε επίμυες με τη χρήση ερυθροποιητινής κατά τη διάρκεια της χορήγησής της (Lykissas et al., 2007).

Στρατηγικές τεχνικές για την ενίσχυση της περιφερικής νευρικής αναγέννησης

Βελτίωση των ενδογενών παραγόντων της αξονικής αναγεννητικής ικανότητας

Πολλές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί στοχεύουν στην αύξηση της ικανότητας των νευραξόνων να επιβιώνουν και να αναπτύσσονται στο ανασταλτικό περιβάλλον. Σε πειραματικές μελέτες όπου αποκλείστηκαν τα PTEN και τα SOCS3 γονίδια σε νευρώνες σε ποντίκια παρατηρήθηκαν εξαιρετικά αποτελέσματα σε *in vivo* μελέτες (K. Park et al., 2008). Συγκεκριμένα στο πειραματικό αυτό διπλό μοντέλο παρατηρήθηκαν καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με το μεμονωμένο μπλοκάρισμα ενός από τα 2 γονίδια στο οπτικό νεύρο (K. Park et al., 2008; Smith et al., 2009). Στις μελέτες αυτές η προσπάθεια γενετικής μετατροπής πραγματοποιήθηκε μόνο σε νευρώνες οπτικών γαγγλίων και όχι σε γλοιακά κύτταρα. Η αναστολή του PTEN επίσης ευόδωσε την περιφερική νευρική αναγέννηση σε ένα πειραματικό μοντέλο οξείας νευρικής βλάβης, αλλά η συσχέτιση και η κλινική σημασία του αποτελέσματος αυτού πρέπει να μελετηθούν περαιτέρω (Christie, Martinez, & Zochodne, 2012; Christie, Webber, Martinez, Singh, & Zochodne, 2010). Μετά την αξονική βλάβη, οι νευρώνες υπόκεινται μοριακές αλλαγές που δημιουργούν έναν αναγεννούμενο φαινότυπο.



Εικόνα 40. Απεικόνιση της νευρικής βλάβης, της Βαλλεριανής εκφύλισης, της προσπάθειας νευρικής αναγέννησης και της αποτυχίας της νευρικής αναγέννησης.

Σε ανάλυση νευρώνων από γάγγλια ραχιαίων ριζών (DRG), παρατηρούνται περισσότερες από 1000 μεταφραστικές μετατροπές γονιδίων μετά από νευρική βλάβη (Hanz et al., 2003). Από τη μελέτη των γονιδιακών αυτών μεταβολών προκύπτουν χρήσιμα συμπεράσματα σχετικά με την κατανόηση και εκμετάλλευση των πειραματικών μονοπατιών για την περιφερική νευρική αναγέννηση.

Πολλαπλοί μεταφραστικοί παράγοντες θεωρούνται σημαντικοί μετά από νευρική βλάβη στο περιφερικό νευρικό σύστημα για την δημιουργία του νέου αυτού φαινότυπου, όπως το AP1, junD, cyclic AMP-dependent transcription factor ATF3, members of the cyclic AMP-responsive element-binding protein (CREB) family of transcription factors, signal transducer and activator of transcription (STAT) proteins, SOX11, NFκB, and nuclear factors

of activated T cells (NFATs) (Patodia & Raivich, 2012a, 2012b). Το ATF3 εκφράζεται σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις σε υγιείς DRG νευρώνες, αλλά γρήγορα αλλάζει μετά από νευρική βλάβη (Bloechlinger, Karchewski, & Woolf, 2004). Σε περιπτώσεις υπερέκφρασης του ATF3 σε καλλιέργειες DRG νευρώνων, παρατηρείται ενίσχυση της νευρικής αναγέννησης, υποδηλώνοντας τη σχέση του παράγοντα αυτού με την νευρική αναγέννηση (Seijffers, Mills, & Woolf, 2007).

Οι αλλαγές που παρατηρούνται στην ATF3 και σε άλλους μεταφραστικούς παράγοντες μετά από βλάβη πιθανόν επηρεάζουν ένα ευρύ δίκτυο μονοπατιών σηματοδότησης signalling pathways. Μια από τις πρωτείνες που ελέγχεται από την ATF3 είναι η Hsp27 (Nakagomi, Suzuki, Namikawa, Kiryu-Seo, & Kiyama, 2003). Σε διαγονιδιακά ποντίκια που υπερεκφράζουν την Hsp27, παρατηρείται αυξημένος αριθμός αναγεννούμενων νευραξόνων μετά από συνθλιπτική βλάβη του ισχιακού νεύρου, και η επανανεύρωση των απομακρυσμένων οργάνων στόχων είναι γρηγορότερη και οδηγεί σε καλύτερο λειτουργικό αποτέλεσμα.

Επίσης η μετάφραση πρωτεινών στον αυξητικό κώνο των νευρώνων αποτελεί μια αποτελεσματική μέθοδο για την παραγωγή των μορίων αυτών που είναι απαραίτητα για την νευρική ανάπτυξη. Ο ινσουλινο-μιμητικός αυξητικός παράγοντας 2 mRNA binding protein 1 (που είναι γνωστός και ως ZBP1) συνδέεται με την βactin mRNA70 και είναι σημαντικός για την τοπική μετάφραση της βactin και τον ορθό προσανατολισμό του αυξητικού κώνου (Welshhans & Bassell, 2011). Επιπρόσθετα, ο περιορισμός της διαθεσιμότητας του ZBP1 στον αυξητικό κώνο περιορίζει το αξονικό mRNA και την νευρική αναγέννηση, διαδραματίζοντας έναν σημαντικό ρόλο στην περιοχική πρωτεϊνική μετάφραση στην αρχική ενδογενή απόκριση των νευρώνων στην νευρική αναγέννηση (Donnelly et al., 2011). Για το λόγο αυτό η ταχύτητα της ανάπτυξης των νευραξόνων,

μπορεί να ευοδώνεται από τις μεταβολές στην μετάφραση στην περιοχή του αυξητικού κώνου.

Η απουσία αναγεννητικής ικανότητας από τα περιφερικά νεύρα μετά από μακρά περίοδο απονεύρωσης οφείλεται στη μερική απώλεια των αγωγών των κυττάρων Schwann και της βασικής μεμβράνης, καθώς και στην αυξημένη έκφραση των ανασταλτικών για την ανάπτυξη πρωτεογλυκανών chondroitin sulphate (Zuo, Ferguson, Hernandez, Stetler-Stevenson, & Muir, 1998). Η αποδόμηση των πρωτεογλυκανών αυτών μπορεί να γίνει από εξωγενή ένζυμα, αλλά οι επιπτώσεις της επίδρασης αυτής δεν έχουν αξιολογηθεί επαρκώς. (Zuo et al., 2002) Παρόλα αυτά σε πειραματικό μοντέλο με επίμυες η μεταμόσχευση νευρωνικών μεσεγχυματικών κυττάρων βελτίωσε την αναγεννητική ικανότητα των περονιαίων νευραξόνων μέσω ενός χρονίως απονευρωμένου κνημιαίου νεύρου όπου η έκφραση των πρωτεογλυκανών ήταν αυξημένη. Η βελτίωση αυτή οφείλεται μερικώς στην 72kDa type IV collagenase (also known as matrix metalloproteinase 2). Άλλες τεχνικές για την βελτίωση της νευρικής αναγέννησης περιλαμβάνουν τον χαμηλής-συχνότητας ηλεκτρικό ερεθισμό. Η τεχνική αυτή μπορεί να είναι ιδιαίτερα σημαντική στην υποβοήθηση των νευραξόνων να αναπτυχθούν κατά μήκος της περιοχής της βλάβης και άρα να προσεγγίσουν το περιφερικό κολόβωμα γρηγορότερα (Singh et al., 2012). Παρόλα αυτά η αποτελεσματικότητα της μεθόδου αυτής στην ανθρώπινη νευρική αναγέννηση δεν είναι πλήρως γνωστή.

Πρόληψη της νευρωνικής απόπτωσης

Η απώλεια των νευρώνων μετά από νευρική βλάβη μπορεί να περιορίσει το τελικό λειτουργικό αποτέλεσμα, καθιστώντας ιδιαίτερα σημαντική την πρόληψη της νευρωνικής απόπτωσης για την καλύτερη αποκατάσταση. Σε πειραματικά μοντέλα σε πειραματόζωα έχει παρατηρηθεί ότι αποπτωτικοί νευρώνες ανευρέθησαν 1 εβδομάδα μετά από νευρική βλάβη και οι περισσότεροι από τους DRG νευρώνες καθίστανται μη λειτουργικοί 2 μήνες μετά τη βλάβη. Η ρύθμιση του κυτταρικού θανάτου μετά από βλάβη απαιτεί ισορροπία μεταξύ της έκφρασης της Bcl2 και της Bax καθώς και της κασπάση-3 πρωτεϊνών. Ένα άλλο μόριο που συνδέεται με την νευρωνική επιβίωση είναι η πρωτεΐνη GADD45α. Η έκφραση του γονιδίου για την GADD45A, που αποτελεί ρυθμιστή για το μόριο αυτό, αυξάνεται στους DRG νευρώνες μετά από βλάβη και προστατεύει τα μόρια αυτά από κυτταρικό θάνατο, ενώ η μείωση της έκφρασης του GADD45A αυξάνει τον κυτταρικό θάνατο μετά από βλάβη. Για την διασφάλιση του καλύτερου δυνατού αποτελέσματος αποκατάστασης μετά από νευρική βλάβη, στρατηγικές για την διατήρηση υγιών νευρώνων που να είναι σε θέση να προκαλέσουν επανανεύρωση των οργάνων στόχων είναι ιδιαίτερα σημαντικές. Έως τώρα, η χειρουργική αποκατάσταση χρησιμοποιείται για την περαιτέρω πρόληψη του κυτταρικού θανάτου νευρώνων μετά από βλάβη, αλλά και φαρμακολογικοί παράγοντες μπορούν να αποδειχθούν ιδιαίτερα σημαντικοί στην κατεύθυνση αυτή. 2 από αυτούς τους παράγοντες, η ακετυλο-καρνιτίνη και η N-ακετυλοκυστεΐνη, έχουν εμφανίσει υποσχόμενα αποτελέσματα όσον αφορά τη νευροπροστασία σε πειραματικό μοντέλο με επίμυες, με τις 2 ουσίες να θεωρούνται κλινικά ασφαλείς. Μελέτες περιφερικής νευρικής αναγέννησης συχνά ποσοτικοποιούν τον αριθμό των αναγεννούμενων νευραξόνων, αλλά αρκετοί από αυτούς τους νευράξονες είναι νευράξονες που ουσιαστικά αντιπροσωπεύουν παράλληλες εκβλαστήσεις που εμφανίζονται κατά την αποκατάσταση. Λαμβάνοντας

υπόψιν το γεγονός ότι κάθε νευρώνας που επιβιώνει φέρει τουλάχιστον έναν μεμονωμένο νευράξονα που καταλήγει στο όργανο στόχο, οι μελέτες νευρικής αναγέννησης μπορούν να ποσοτικοποιήσουν τον αριθμό των νευρώνων που μπορούν να επιτύχουν σύνδεση με το όργανο στόχο. Η τροποποίηση της ανοσολογικής απόκρισης των κυττάρων Schwann αποτελεί ένα μόνο από τους σημαντικούς μηχανισμούς που σχετίζονται με την αναγέννηση στο ΠΝΣ. Εναπομείναντα τμήματα των νευραξόνων και παραπροϊόντα της μυελίνης απομακρύνονται από μακροφάγα που υπάρχουν στην περιοχή και από μακροφάγα που έχουν στρατολογηθεί για το σκοπό αυτό, προετοιμάζοντας με τον τρόπο αυτό τα περιφερικό κολόβωμα για την αναγέννηση. Η εισροή των μακροφάγων έχει αποδειχθεί ότι αποτελεί κριτικό βήμα στην νευρική αναγέννηση. Εκτός από την απομάκρυνση ανασταλτικών παραγόντων για την νευρική αναγέννηση, τα μακροφάγα παράγουν αυξητικούς παράγοντες και ρυθμίζουν τα συστατικά του εξωκυττάριου περιβάλλοντος. Τελευταία δεδομένα αναφέρουν ότι ο φαινότυπος των μακροφάγων επηρεάζει το αποτέλεσμα της αναγέννησης: τα ενεργοποιημένα (M1) μακροφάγα είναι προφλεγμονώδη, ενώ διαφορετικά ενεργοποιημένα (M2) μακροφάγα είναι αντι-φλεγμονώδη. Στο ΚΝΣ, τα περισσότερα μικρογλοιακά κύτταρα και στρατολογημένα μακροφάγα εμφανίζουν τον φαινότυπο M1 και για αυτό τα προ-φλεγμονώδη σήματα είναι περισσότερα στην περιοχή της βλάβης.

Εν αντιθέση, μακροφάγα που στρατολογούνται σε περιοχές περιφερικής νευρικής βλάβης εμφανίζουν περισσότερο τον φαινότυπο M2 και λειτουργούν για τον περιορισμό της φλεγμονής και την ευόδωση της αποκατάστασης. Η χρήση αντι-φλεγμονωδών κυτοκινών για την τροποποίηση του φαινοτύπου από M1 σε M2 μακροφάγα μπορεί να αποτελέσει ένα ιδιαίτερα σημαντικό εργαλείο για την ενίσχυση της περιφερικής νευρικής αναγέννησης.

Νευρική αναγέννηση

Η νευρική αναγέννηση είναι ιδιαίτερα πιο αποτελεσματική στο ΠΝΣ σε σχέση με το ΚΝΣ. Μελέτες που συνέκριναν τα 2 συστήματα κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το ανασταλτικό περιβάλλον του ΚΝΣ αποτελεί σημαντικό στοιχείο της αναγέννησης των νευραξόνων του ΚΝΣ και οδήγησε στην ανακάλυψη πολλαπλών παραγόντων που ευοδώνουν την νευρική αναγέννηση στο ΠΝΣ και αναστέλλουν την νευρική αναγέννηση στο ΚΝΣ. Για παράδειγμα, η μυελίνη που προέρχεται από ολιγοδενδροκύτταρα και από κύτταρα Schwann περιέχει ανασταλτικά μόρια, αλλά τα παραπροϊόντα της μυελίνης απομακρύνονται ευκολότερα στο ΠΝΣ σε σχέση με το ΚΝΣ μετά από βλάβη (Huebner & Strittmatter, 2009). Στο ΚΝΣ η αναγέννηση των νευραξόνων παρεμποδίζεται επίσης στην περιοχή της βλάβης από ουλώδη ιστό από γλοιακά κύτταρα, που δημιουργείται από αντιδρώντα αστροκύτταρα και μικρογλοιακά κύτταρα. Σε αντίθεση, στο ΠΝΣ δεν παρατηρείται ουλώδης ιστός από γλοιακά κύτταρα και οι σύνδεσμοι του Büngner που δημιουργούνται από τα κύτταρα Schwann ουσιαστικά βοηθούν στην καθοδήγηση των νευραξόνων και στην νευρική αναγέννηση. Η κατανόηση των βασικών αυτών διαφορών μεταξύ ΚΝΣ και ΠΝΣ στην νευρική αναγέννηση βοηθούν στον προγραμματισμό στρατηγικών για την βελτίωση της νευρικής αναγέννησης (Scheib & Hoke, 2013).

Νευροβιολογία της περιφερικής νευρικής αναγέννησης

Το ΠΝΣ έχει σαφώς μεγαλύτερη ικανότητα για αναγέννηση σε σχέση με το ΚΝΣ κυρίως εξαιτίας των διαφορών στην ανταπόκριση των γλοιακών κυττάρων στην νευρική βλάβη όπως αναφέρθηκε (Chen et al., 2007). Τα αστρογλοιακά κύτταρα του ΠΝΣ, τα κύτταρα Schwann (SCs), μετατρέπονται σε αναγεννησιακούς φαινοτύπους ευοδώνοντας τον σχηματισμό βασικής θεμέλιας ουσίας και παρέχοντας άφθονα σήματα για να τροποποιήσουν την ανταπόκριση στην νευρική αναγέννηση (Geuna et al., 2009). Μετά από περιφερική νευρική βλάβη, αρκετές μοριακές και κυτταρικές αλλαγές παρατηρούνται σε κυτταρικό επίπεδο (ραχιαία και κοιλιακή ρίζα), στο επίπεδο της βλάβης (κεντρικό και περιφερικό κολόβωμα) και στα όργανα στόχους (Faroni et al., 2015).

Το κυτταρικό σώμα

Ο κύριος ρυθμιστής της νευρωνικής επιβίωσης μετά από νευρική βλάβη φαίνεται να είναι η αφαίρεση της νευροτροφικής υποστήριξης του οργάνου στόχου. Αυτό οδηγεί σε μια προφανή ανταπόκριση στην γονιδιακή και πρωτεϊνική έκφραση, η ισορροπία αυτών καθορίζει την επιβίωση του νευρώνα και τις διαδικασίες αναγέννησης ή τον αποπτωτικό θάνατο. Οι πρωτογενείς αισθητικοί νευρώνες είναι σημαντικά πιο ευάλωτοι στην απόπτωση σε σχέση με τους κινητικούς νευρώνες της σπονδυλικής στήλης με το 40% των νευρώνων των γαγγλίων των ραχιαίων ριζών (DRG) να πεθαίνουν αμέσως μετά την κάκωση. Με έναν τυχαίο τρόπο, οι χρονικές διαδικασίες του νευρωνικού θανάτου παρέχουν ένα κλινικά σημαντικό παράθυρο για την εφαρμογή νευροπροστατευτικών

παρεμβάσεων (Faroni et al., 2015). Συγκεκριμένα στον τομέα της ουρολογίας, τα κύρια γάγγλια της πυέλου-the major pelvic ganglia (MPG) και τα σχετιζόμενα με αυτά περιφερικά νεύρα είναι επιρρεπή σε κακώσεις κατά τη διάρκεια επεμβάσεων στην πύελο. Η μελέτη του μοριακού προφίλ των MPG νευρώνων μετά από νευρική βλάβη παρουσιάζει μια αλλαγή σε διάφορα γονίδια που σχετίζονται με την απόπτωση, την νευροπροστασία και τη νευρική αναγέννηση. Η έκφραση αυτών των γονιδίων επηρεάζεται από τα χαρακτηριστικά της προσβολής και το μέλλον των νευρώνων θα καθοριστεί από την ισορροπία μεταξύ της απόπτωσης/νευροπροστασίας (Faroni et al., 2015).

Το όργανο στόχος

Περιφερικά της βλάβης παρατηρούνται διάφορα εμπόδια για τον αναγεννούμενο νευράξονα που πρέπει να ξεπεραστούν για την επιτυχημένη επανανεύρωση του οργάνου στόχου. Εσφαλμένος προσανατολισμός προς διαφορετικά όργανα στόχους μειώνει το λειτουργικό αποτέλεσμα ακόμα και με ικανοποιητικό αριθμό αναγεννημένων νευραξόνων. Παρόλα αυτά, το γεγονός αυτό ελέγχεται με το «κλάδεμα» αυξητικών κώνων που δεν καταφέρνουν να προσεγγίσουν τον επιθυμητό στόχο ή που χάνουν την υποστήριξη των ενδονευρικών αγωγών (Faroni et al 2015). Η έλλειψη νευρικής επαφής στο περιφερικό κολόβωμα οδηγεί σε χρονίως απονευρωμένα ΑΜΚ που ρυθμίζουν αυξητικούς παράγοντες και εισέρχονται σε μια αδρανή φάση, ανίκανοι να υποστηρίξουν

την αξονική ανάπτυξη. Παρομοίως, το απονευρωμένο όργανο στόχος εξαντλείται από τροφικούς παράγοντες, οι μυικές ίνες οδηγούνται σε ατροφία και τα δορυφόρα κύτταρα καταλήγουν σε απόπτωση [24]. Αυτές οι μεταβολές επιδρούν σημαντικά στην λειτουργική αποκατάσταση μετά από νευρικές βλάβες (Faroni et al 2015).

Πειραματικές στρατηγικές και μηχανική των ιστών

Οριοθετώντας την νευρική επιβίωση

Η χειρουργική αποκατάσταση του περιφερικού νεύρου είναι κυρίως μερικώς νευροπροστατευτική και εξαρτάται από την πρόιμη αποκατάσταση εντός 24 ωρών από

την βλάβη. Παρόλα αυτά αυτό δεν είναι σε πολλές περιπτώσεις κλινικά πραγματοποιήσιμο εξαιτίας συνοδών κακώσεων ή διαγνωστικών προσεγγίσεων, κυρίως σε περιπτώσεις με πτωχή πρόγνωση όπως συμβαίνει σε περιπτώσεις κλειστών κακώσεων του βραχιονίου πλέγματος. Για το λόγο αυτό μια διαφορετική προσέγγιση στην νευροπροστασία είναι απαραίτητη (Faroni et al 2015). Η εξωγενής αποκατάσταση των αυξητικών παραγόντων μπορεί να μειώσει την απώλεια νευρικού ιστού πειραματικά, παρόλα αυτά παρόμοια φαινόμενα στην κλινική πράξη είναι δύσκολα λόγω των αλληλεπιδράσεων μεταξύ διαφορετικών αυξητικών παραγόντων σε ετερογενείς δομές του νευρικού ιστού. Από πρόσφατες μελέτες, 2 φαρμακολογικοί παράγοντες, η Νακετυλοκυστεΐνη (NAC) και ακετυλο-L-καρνιτίνη (ALCAR), αποδείχθηκε ότι προσφέρουν σχεδόν πλήρη νευροπροστασία πειραματικά. Μια εναλλακτική και καινοτόμα προσέγγιση θεωρείται ότι περιλαμβάνει την ενσωμάτωση καλλιεργημένων κυττάρων σε βιολογικά ικρίωματα, συνδυάζοντας νευρική αποκατάσταση και ενισχυμένη αξονική αναγέννηση με νευροπροστατευτικές θεραπείες. Αυτόλογα AMK απαιτούν νευρική βιοψία και παρατεταμένες περιόδους καλλιέργειας, και για το λόγο αυτό η έρευνα έχει στραφεί στην εκμετάλλευση των AMK στο ρόλο της κλινικά εφικτής εναλλακτικής. AMK που συλλέγονται από τον λιπώδη ιστό (ASC) ενσωματωμένα σε ένα τεχνητό βιολογικά νευρικό αγωγό αλλάζουν σημαντικά την έκφραση των γονιδίων των μεσολαβητών απόπτωσης στην κατεύθυνση επιβίωσης του κυττάρου (Faroni et al 2015).

Η περιοχή της βλάβης

Ικριώματα νευρικής καθοδήγησης

Σε περίπτωση νευρικού ελλείμματος όταν η χωρίς τάση νευροσυρραφή δεν είναι εφικτή, η μεσολάβηση αυτόλογου νευρικού μοσχεύματος αποτελεί την προτεινόμενη μέθοδο αποκατάστασης από την βιβλιογραφία. Η μέθοδος αυτή προσφέρει δομική υποστήριξη στην καθοδήγηση της αξονικής αναγέννησης, αποτρέπει το σχηματισμό νευρώματος και την εισχώρηση ινώδους ιστού στην περιοχή της βλάβης, παρόλα αυτά εμπεριέχει περισσότερο πολύπλοκες χειρουργικές επεμβάσεις με μόνιμη απώλεια αισθητικότητας στην δότρια περιοχή, πιθανότητα δομικής ασυνέχειας και περιορισμένα αποθέματα νευρικών μοσχευμάτων. Εξαιτίας των περιορισμών αυτών έχει πραγματοποιηθεί σημαντική έρευνα στην δημιουργία ικριωμάτων νευρικής καθοδήγησης στην προσπάθεια ευόδωσης της νευρικής αναγέννησης με τον περιορισμό της διείσδυσης των μυοινοβλαστών, περιορισμό του σχηματισμού ουλώδους ιστού και συγκέντρωσης αυξητικών παραγόντων σε υψηλές συγκεντρώσεις (Faroni et al 2015). Παρόλα αυτά, τα διαθέσιμα προϊόντα (κυρίως βιοδιασπώμενοι αγωγοί πολυμερών ή βασιζόμενοι στο κολλαγόνο) απέτυχαν να προσεγγίσουν τα επίπεδα αναγέννησης των αυτόλογων νευρικών μοσχευμάτων και έτσι περιορίστηκε η χρήση τους σε μικρού μεγέθους βλάβες (<2 cm), παρουσιάζοντας περιορισμένη λειτουργική αποκατάσταση. Τελευταία δεδομένα της μηχανικής των ιστών έχουν τροποποιήσει την αρχή του αδρανούς ικριώματος που

απλά παρέχει ένα προστατευόμενο περιβάλλον για την νευρική αναγέννηση σε ένα ενεργητικό μοντέλο, που ευοδώνει την νευρική ανάπτυξη και επιταχύνει την νευρική αναγέννηση. Η ενδοαυλική τοπογραφική επιφάνεια των ικριωμάτων μπορεί να τροποποιηθεί ώστε να υποστηρίξει την κυτταρική προσκόλληση, την τροποποίηση της μορφολογίας και τον προσανατολισμό με κύριο στόχο την νευρική αναγέννηση (Faroni et al 2015). Διαφορετικά τοπογραφικά σήματα όπως αύλακες, τζελ και φιλμ έχουν μελετηθεί σχετικά με την ανάπτυξη των ΑΜΚ και των νευρικών κυττάρων. Επιπρόσθετα, η τεχνολογία των βιολικών μπορεί να βελτιστοποιήσει την κυτταρική συμπεριφορά με σύντομες αλληλουχίες πεπτιδίων (e.g. RGD) διευκολύνοντας την προσκόλληση των κυττάρων στην επιφάνεια των πολυμερών. Η τροποποίηση των πολυμερών με τη διαδικασία της υδρόλυσης και της αμινόλυσης ευοδώνουν τις διαδικασίες αναγέννησης μέσω επίδρασης στα ΑΜΚ και τα μόρια ECM υποστηρίζουν την προσκόλληση των SC και την εμφάνιση παραγόντων που ενισχύουν την νευρική αναγέννηση (Faroni et al 2015).

Φαρμακοθεραπεία

Δεν έχουν περιγραφεί έως τώρα κλινικά διαθέσιμα φαρμακολογικά μέσα για την αποτελεσματική αντιμετώπιση των νευρικών βλαβών. Παρόλα αυτά διαφορετικά μικρά μόρια, πεπτίδια, ορμόνες και αυξητικοί παράγοντες έχουν προταθεί σαν πιθανοί παράγοντες που μπορεί να βελτιώσουν την νευρική αναγέννηση μέσω του περιορισμού του νευρικού θανάτου μετά από νευρική βλάβη και μέσω της ευόδωσης της αναγέννησης

των νευραξόνων. Οι νευροτροφικοί αυξητικοί παράγοντες-NGF ενισχύουν την αξονική αναγέννηση όταν παρέχονται είτε τοπικά είτε συστηματικά. Με παρόμοιο τρόπο, ο BDNF και ο ακτινωτός νευροτροφικός παράγοντας- ciliary neurotrophic factor (CNTF) βελτιώνουν την απόσταση αναγέννησης, την επαναμυελίνωση και την λειτουργική αποκατάσταση (Faroni et al 2015). Η ταχύτητα αξονικής αναγέννησης και η λειτουργική αποκατάσταση μπορούν επίσης να ενισχυθούν με την τοπική παροχή του αυξητικού παράγοντα της ινσουλίνης τύπου 1 (IGF-1), του FGF or GDNF. Τα σήματα για την επεξεργασία της νεουρεγκιουλίνης τύπου 1 (NRG1) επίσης διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην μυελίνωση των νευραξόνων κατά την ανάπτυξη, καθιστώντας την πιθανό στόχο των θεραπειών επαναμυελίνωσης μετά από νευρική βλάβη. Η κλινική εφαρμογή αυξητικών παραγόντων στην νευρική επιβίωση και την αξονική αναγέννηση εμφανίζει δυσκολίες όσον αφορά τη χρονική διάρκεια χορήγησης και τη δόση χορήγησης, την οδό χορήγησης καθώς και τις αλληλεπιδράσεις με άλλους αυξητικούς παράγοντες. Συγκεκριμένα σε περιπτώσεις που η συγκέντρωση του BDNF είναι ιδιαίτερα υψηλή ή σε χρονική στιγμή που δεν είναι η κατάλληλη, αυτό μπορεί να οδηγήσει στην αναστολή της αξονικής ανάπτυξης ή ακόμα και σε αυξημένο κυτταρικό θάνατο. Μια πιθανή λύση στην περίπτωση αυτή μπορεί να αποτελεί η εξωγενής διαχείριση των ενδογενών αυξητικών παραγόντων με άλλα φαρμακολογικά μέσα, η παροχή αυξητικών παραγόντων με ελεγχόμενα συστήματα αποδέσμευσης και η μεταφύτευση αυξητικών παραγόντων που εκφράζουν κυτταρικά στοιχεία. Οι ορμόνες αποτελούν μια υποσχόμενη εναλλακτική της φαρμακολογικής προσέγγισης στην αντιμετώπιση των νευρικών βλαβών. Νευροενεργά στεροειδή όπως η προγεστερόνη ή η αλλοπρεγναλόνη, τροποποιούν την φυσιολογία του SC μέσα από διαδικασίες έκφρασης πρωτεϊνών μυελίνης. Θυρεοειδικές ορμόνες και αυξητικές ορμόνες εμφανίζονται να βελτιώνουν την μυελίνωση των νευραξόνων, το πάχος

της μυελίνης και την λειτουργική αποκατάσταση σε πειραματικά μοντέλα τραυματισμού του ισχιακού νεύρου σε επίμυες. Τελικά, νευροδιαβιβαστές όπως το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA), η τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP), το γλουταμινικό οξύ και η ακετυλοχολίνη παίζουν σημαντικό ρόλο στις νευρογλοιακές διαδικασίες, και οι υποδοχείς τους (σε νευρώνες ή SCs) φαίνεται να αποτελούν πιθανούς στόχους για την ανάπτυξη φαρμακοθεραπειών για την νευρική αποκατάσταση. Πιο συγκεκριμένα, οι μεταβοτροπικοί-metabotropic υποδοχείς γαμινοβουτυρικού οξέως-β και οι ιονοτροπικοί P2X7 υποδοχείς για το ATP, φαίνεται να είναι ρυθμιστικοί παράγοντες της τροποποίησης του SC και της διαφοροποίησης του SC στην διαδικασία της μυελίνωσης, καθιστώντας τα μόρια αυτά υποσχόμενους στόχους στη διαδικασία της αναγέννησης μετά από νευρική βλάβη (Faroni et al 2015).

Κυτταρική Θεραπεία

Τα πολύπλοκα γεγονότα που ακολουθούν την νευρική βλάβη και οδηγούν στην νευρική αναγέννηση και η αναγνώριση συγκεκριμένων μορίων ή μεμονωμένων στόχων στη διαδικασία αυτή αποδεικνύονται ιδιαίτερα απαιτητικά για την επιστήμη. Μια υποσχόμενη εναλλακτική στον τομέα της νευρικής αναγέννησης είναι η εξέλιξη των κυτταρικών θεραπειών. Λόγω της μεγάλης σημασίας των SCs στην ανάπτυξη του ΠΝΣ καθώς και μετά την νευρική βλάβη, έχουν χρησιμοποιηθεί σαν μεταμοσχεύσιμα κύτταρα σε πειραματικά μοντέλα νευρικής αναγέννησης, παρουσιάζοντας βελτιωμένα αποτελέσματα αναγέννησης. Με τον ίδιο τρόπο, μια άλλη πηγή εξειδικευμένων αισθητικών κυττάρων οσφρητικού επιθηλίου- specialised glia Olfactory Ensheathing Cells

(OECs) μπορεί να παρέχει τροφική υποστήριξη στην νευρική αναγέννηση και στην διαδικασία της μυελίνωσης. Δυστυχώς, η λήψη αλλογενών ή συγγενικών SCs περιλαμβάνει την θυσία ενός λειτουργικού νεύρου, και τα OECs and SCs έχουν περιορισμένες δυνατότητες διαστολής, που περιορίζει την χρήση τους στη μηχανική των νευρικών ιστών. Για το λόγο αυτό υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον στην μελέτη εναλλακτικών πηγών κυττάρων με τα Αρχέγονα Μεσεγχυματικά Κύτταρα-AMK να αποτελούν την πιο ελπιδοφόρα προσέγγιση για την ανάπτυξη των κυτταρικών θεραπειών για την αντιμετώπιση των νευρικών βλαβών. Εμβρυονικά AMK (ESC), νευρωνικά AMK (NSC), προκλητά πολυδύναμα AMK (iPSC), και AMK ενηλίκων (MSC) έχουν αποτελέσει το αντικείμενο πολλών *in vitro* και *in vivo* μελετών όσον αφορά την καταλληλότητά τους για την νευρική επιδιόρθωση. Εμβρυονικά AMK από επίμυεςπροερχόμενα από νευρικά προγονικά κύτταρα βελτίωσαν την νευρική αναγέννηση σε νευρικό έλλειμμα ισχιακού νεύρου 10 mm σε επίμυα, όπως αποδείχθηκε από ιστολογικές, μοριακές και ηλεκτροφυσιολογικές μελέτες. SC-like πρόδρομοι μπορούν να δημιουργηθούν από ανθρώπινα AMK και έχει αποδειχθεί ότι εκφράζουν πρωτείνες μυελίνης σε μοντέλα περιφερικής νευρικής αναγέννησης *in vitro*. Νευρωνικά MK-NSC παρουσίασαν αποτελέσματα συγκρίσιμα με αυτομοσχεύματα όταν συνδυάστηκαν με νευρικούς οδηγούς χιτοζάνης-chitosan στην αποκατάσταση νευρικού ελλείμματος 10 mm, και μπορούν να τροποποιηθούν γενετικά ώστε να υπερεκφράσουν GDNF ή NT-3, που μπορεί να βελτιώσει την αναγεννητική τους ικανότητα. Προκλητά πολυδύναμα AMK-iPSC μπορούν επαρκώς να δημιουργήσουν λειτουργικά νευρωνικά κύτταρα-crest cells και έχουν χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με FGF-incorporated gelatin microspheres, για την αποκατάσταση νευρικών ελλειμμάτων 10 mm με 50% poly l-lactide (PLA) και 50% poly ε-caprolactone πορώδεις νευρικούς αγωγούς . Τα AMK μπορούν να βρεθούν στα

περισσότερα όργανα του ανθρώπινου σώματος όπως ο μυελός των οστών, ο λιπώδης ιστός, το ήπαρ, ο οδοντικός πολφός, το δέρμα και οι σκελετικοί μύες, στα οποία συντελούν στην συντήρηση και αποκατάσταση μετά από βλάβη. Σε σύγκριση με τα ESC και iPSC, η χρήση των AMK στην αναγέννηση εμφανίζει λιγότερους ηθικούς περιορισμούς σχετικά με την προέλευση των κυττάρων και τον κίνδυνο σχηματισμού τερατώματος ή ανεπιθύμητης κυτταρικής διαφοροποίησης. AMK που προέρχονται από τον μυελό των οστών (BM-MSC) εμφάνισαν πολυδιάστατες ιδιότητες σχηματισμού κυττάρων από το μεσόδερμα, αλλά και από προδρόμους από το εξώδερμα και το ενδόδερμα. SC-like BM-MSC έχουν μελετηθεί εκτεταμένα σε *in vitro* και *in vivo* μοντέλα νευρικής αναγέννησης, εμφανίζοντας μοριακές και λειτουργικές ομοιότητες με έμφυτα SCs, αποτελώντας μια από τις πιο ελπιδοφόρες πηγές SC-εναλλακτικών για νευρική αναγέννηση. Ένα από τα προβλήματα που ενέχονται στα AMK που προέρχονται από το μυελό των οστών είναι η επώδυνη διαδικασία της καλλιέργειας των AMK μέσω της αναρρόφησης μυελού των οστών και η χαμηλή απόδοση των μονοπύρηνων αποικιακών μονάδων-mononucleated colony forming units (CFU). Τα BM-MSC είναι πολυδύναμα και μπορούν να δημιουργήσουν λειτουργικά SC-like cells που είναι ικανά να βελτιώσουν την νευρική αναγέννηση *in vitro* and *in vivo*. Η χρήση διαφοροποιημένων και αδιαφοροποίητων ASC για περιφερική νευρική αποκατάσταση έχει μελετηθεί πρόσφατα. Άλλες ελπιδοφόρες πηγές MSC για νευρική αποκατάσταση είναι το δέρμα, ο ομφάλιος λώρος και ο οδοντικός πολφός, που μπορούν να διαφοροποιηθούν σε SC-like cells και να ευοδώσουν την περιφερική νευρική αναγέννηση (Faroni et al 2015).

Γονιδιακά στοιχεία νευρικής αναγέννησης

Μετά από αξονότμηση, οι νευρώνες του ΠΝΣ πυροδοτούν σήματα για πολυάριθμα γονίδια που σχετίζονται με την νευρική αναγέννηση (RAGs). Μια ομάδα γονιδίων RAGs φαίνεται να είναι σημαντικά για την νευρική ανάπτυξη και αναγέννηση. Αυτά τα γονίδια περιλαμβάνουν το c-Jun (Raivich et al. 2004), τον ενεργοποιημένο παράγοντα μεταγραφής 3 (ATF-3) (Seijffers et al. 2006), το σύμπλεγμα-κουτί SRY-box που περιλαμβάνει το γονίδιο 11 (Sox11) (Jankowski et al. 2009), την μικρή proline-repeat πρωτεΐνη 1A (SPRR1A) (Bonilla et al. 2002), την αυξητική-πρωτεΐνη 43growth-associated protein-43 (GAP-43) and CAP-23 (Bomze et al. 2001).

Μία τεχνική για την αναγνώριση των γονιδίων RAGs περιλαμβάνει τον τραυματισμό περιφερικού νεύρου και την παρακολούθηση μετά τον τραυματισμό των αλλαγών της έκφρασης των γονιδίων στα συνδεδεμένα κυτταρικά σώματα (Bonilla et al. 2002; Tanabe et al. 2003; Costigan et al. 2002). Άλλες μελέτες έχουν χρησιμοποιήσει τεχνολογία αξιολόγησης ακολουθιών γονιδίων για την αξιολόγηση της έκφρασης των γονιδίων σε αισθητικούς νευρώνες μετά από αξονότμηση. Για παράδειγμα ο Bonilla et al. (2002) παρουσίασε ότι το SPRR1A παρατηρείται σε αυξημένες συγκεντρώσεις στα γάγγλια των ραχιαίων ριζών (DRG) σε νευρώνες 1 εβδομάδα μετά από διατομή του ισχιακού νεύρου.

Με τη χρήση μεθόδων ανοσοιστοχημείας αποδείχθηκε η έκφραση του SPRR1A στα DRG νευρωνικά κυτταρικά σώματα και στην αναγέννηση περιφερικών νευραξόνων. Η έκφραση του SPRR1A είναι αυξημένη μετά από βλάβη ισχιακού νεύρου στα πρόσθιακοιλιακά κινητικά κυτταρικά σώματα και στις αισθητικές ίνες εντός του νωτιαίου μυελού. Η συσχέτιση της έκφρασης του SPRR1A με την αναγέννηση και η ικανότητά του να ευοδώνει

την νευρική ανάπτυξη αποδεικνύει την πιθανή σύνδεσή του με την αναγέννηση των νευραξόνων.

Ο ATF-3 είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας που παρατηρείται σε αισθητικούς νευρώνες μετά από νευρική βλάβη (Tanabe et al. 2003; Boeshore et al. 2004). Η υπερέκφραση του ATF-3 ενισχύει την νευρική ανάπτυξη και αναγέννηση (Seijffers et al. 2006). Οι Sox11 και c-Jun είναι μεταγραφικοί παράγοντες που σχετίζονται με τον τραυματισμό και απαιτούνται για την επαρκή νευρική αναγέννηση (Jankowski et al. 2009; Raivich et al. 2004). Οι μεταγραφικοί παράγοντες που σχετίζονται με την νευρική αναγέννηση, όπως ο c-Jun, φαίνεται ότι παίζουν ρόλο στην έκφραση άλλων RAGs και για το λόγο αυτό μπορεί να ευοδώνουν την ανάπτυξη (Raivich et al. 2004).

Rho GTPases

Οι μικρές G πρωτείνες της Rho οικογένειας αποτελούν ένα βασικό ρυθμιστή του κυτταροσκελετού που επηρεάζει την λειτουργικότητα κατά τη διάρκεια των αρχικών σταδίων της εμβρυικής ανάπτυξης (Duce, Hollander, Jaffe, & Abraham, 2006). Οι πρωτείνες αυτές λειτουργούν σαν «μοριακοί διακόπτες» στην ενεργοποίηση και την απενεργοποίηση των διεργασιών δέσμησης της GTP και ελέγχουν τα λειτουργικά μονοπάτια των εκτελεστικών πρωτεϊνών (Duce et al., 2006). Σύμφωνα με τα κριτήρια της ομοιογένειας της αλληλουχίας οι πρωτείνες αυτές έχουν κατηγοριοποιηθεί σε πολλαπλές οικογένειες: Rho (RhoA-C), Cdc42, Rac, Rnd, RhoD, RhoBTB and RhoH (Vega, Fruhwirth, Ng, & Ridley, 2011). Σημαντικές ρυθμιστικές πρωτείνες περιλαμβάνονται στην αλληλουχία νουκλεοτιδίων της Rho GTPase με τα νουκλεοτίδια της γουανίνης να ανταλλάσσουν παράγοντες (GEFs) για να αυξήσουν την κατάσταση δέσμησης της GTP και τις πρωτείνες

που ενεργοποιούν τις GTPase (GAPs) να την μειώνουν (Tcherkezian & Lamarche-Vane, 2007; Zheng et al., 2003). Ένας επιπρόσθετος σημαντικός παράγοντας για τη λειτουργικότητα των Rho GTPases είναι η επίδραση των αναστολέων διάσπασης των νουκλεοτιδίων γουανίνης (GDIs) (Olofsson, 1999).

Από την οικογένεια των Rho GTPases οι πιο μελετημένες είναι η Rac1, Cdc42 και η RhoA, που έχει αποδειχτεί ότι παίζουν έναν σημαντικό ρόλο στις μεταβολές του κυτταροσκελετού με την RhoA να ελέγχει τις stress fibers και τον σχηματισμό τοπικών συμφύσεων, η Rac1 να ελέγχει τα ελασματοπόδια και τις πτυχές των μεμβρανών, και την Cdc42 να ελέγχει τα φιλοπόδια και τις πτυχές της ακτίνης. Ο μηχανισμός των Rhoκινασών, που είναι κινάσες σερίνης-θρεονίνης, περιγράφεται από την ευόδωση της φωσφορυλίωσης και την ενεργοποίηση της MLC (myosin-light-chain) και την απενεργοποίηση της MLC φωσφατάσης (Amano et al., 1996).

Πιθανοί ενεργοποιητές της RhoA στην περιοχή τραυματισμού είναι κυρίως ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων (TNF), το λυσοφωσφατικό οξύ (LPA) και η σχετιζόμενη με την μυελίνη γλυκοπρωτεΐνη (MAG) (Yamashita, Higuchi, & Tohyama, 2002).

Rho GTPases και νευρική βλάβη

Περιγράφεται στη βιβλιογραφία ότι οι Rho GTPases παίζουν έναν πολύ σημαντικό ρόλο στη λειτουργία των νευρικών κυττάρων καθώς και στον καθορισμό των νευρώνων και στην πόλωση της καθοδήγησης και του προσανατολισμού των νευραξόνων, της επιβίωσης

και της νευρικής ανάπτυξης (Govek, Newey, & Van Aelst, 2005). Η Rac1, Cdc42 και η RhoA αποτελούν βασικά μόρια για την μετατροπή των εξωκυτταρικών σημάτων σε αλλαγές του κυτταροσκελετού μέσα στο αυξητικό κώνο (Govek et al., 2005). Αυξημένα επίπεδα ενεργοποιημένης RhoA περιγράφονται κατά τη διάρκεια του αξονικού pruning (K. J. Park, Grosso, Aubert, Kaplan, & Miller, 2010). Εξαιτίας των διαφορετικών GTPases που ανταγωνίζονται για την σύνδεση με την p75NTR, μια διασύνδεση μεταξύ αυτών των ρυθμιστών των GTPases προτείνεται για την ανασταλτική λειτουργία των RhoA (K. J. Park et al., 2010). Έχει αποδειχθεί ότι η δράση της Rac1 κατά τη διάρκεια της νευρικής αναγέννησης αναστέλλεται από την ενεργοποίηση της RhoA που ελέγχεται από την

Nogo-A (K. J. Park et al., 2010).

Η RhoA ενεργοποιείται κατά την αξονική διακλάδωση και εκφύλιση, και η αναστολή των RhoA ρυθμιστών, όπως είναι η ROCK, έχει αποδειχθεί ότι ευοδώνει την νευρική ανάπτυξη σε ανασταλτικά υποστρώματα και αυξάνει την νευρική αναγέννηση και την κινητική αποκατάσταση in vivo (Fournier, Takizawa, & Strittmatter, 2003). Ο σημαντικός ρόλος των RhoA έχει αποδειχθεί επίσης στην περιφερική νευρική αναγέννηση με τον Schulz και συνεργάτες να αποδεικνύουν ότι η RhoA/ROCK επιδρούν στην πρωτεΐνη του κυτταροσκελετού merlin isoform 2 (merlin-iso2), που είναι εξαιρετικά σημαντική για τη διατήρηση της ακεραιότητας των περιφερικών νευραξόνων (Schulz et al., 2013). Η αξονική merlin-iso2 θεωρείται σημαντικός τοπικός ρυθμιστής για την RhoA (Schulz et al., 2013). Ο Cheng και συνεργάτες αναφέρει αξιοσημείωτη αύξηση στην έκφραση του mRNA για την RhoA σε περιπτώσεις περιφερικής νευρικής βλάβης και αυξημένα επίπεδα ενεργοποιημένης RhoA σε νευρώνες και νευράξονες (Cheng et al., 2008).

Μετά την περιφερική νευρική βλάβη, τα μακροφάγα συνθέτουν de novo NgR1 και NgR2 (υποδοχείς Nogo) με αποτέλεσμα την κάθαρση των μακροφάγων και τον τερματισμό του σήματος της φλεγμονής λόγω της εξαρτώμενης από την μυελίνη ενεργοποίησης της RhoA (Fry, Ho, & David, 2007). Επιπρόσθετα, με την διαφοροποίηση των κυττάρων Schwann, η μυελίνη διαχωρίζεται σε μικρότερα τμήματα, γεγονός που αποτελεί την αιτία της εξαρτώμενης από την Rac1 τροποποίησης της δυναμικής κατάστασης της ακτίνης στα κύτταρα Schwann (Jung et al., 2011).

Οι επιδράσεις των παρεμβάσεων σε διαφορετικά σημεία του RhoA/ ROCK μονοπατιού υποδηλώνουν ότι η αναστολή και παρεμπόδιση της ενεργοποίησης της RhoA από την C3ADP-ribosyltransferase είναι σημαντικά πιο αποτελεσματική από την δράση της φασουδίλης ή των αναστολέων της ROCK που επενεργούν αργότερα στο μονοπάτι.

Επιπρόσθετα, οι προσεγγίσεις σχετιζόμενες με την siRho είναι λιγότερο αποτελεσματικές, πιθανόν γιατί βασίζονται στην αναστολή της σύνθεσης της RhoA και δεν επηρεάζουν την ήδη υπάρχουσα ενδοκυττάρια RhoA.

Αποκλεισμός της Rho από εκλεκτικούς αναστολείς

Πειράματα in vivo απέδειξαν ευνοϊκά αποτελέσματα στην αξονική διακλάδωση μετά από νευρική βλάβη μετά από τοπική εφαρμογή της C3 τρανσφεράσης (ενός εξωενζύμου που παράγεται από το *Clostridium botulinum* και εκλεκτικά αναστέλλει την RhoA) (Mueller, Mack, & Teusch, 2005). Το ίδιο μόριο έχει αναφερθεί ότι ασκεί προστατευτικό ρόλο στην απόπτωση των νευρώνων από τη σχετιζόμενο με το p75NTR amyloid β (Aβ) τοξικότητα και ευοδώνει την ανάπτυξη των νευραξόνων (Chacon, Garcia-Mejias, & Rodriguez-Tebar,

2011; Julien et al., 2008) (Boato et al., 2010). Περαιτέρω μελέτες απέδειξαν βελτίωση στην αξονική ανάπτυξη και διακλάδωση των νευρικών ινών καθώς και αυξημένη κινητική λειτουργία με τον αποκλεισμό της RhoA (Boato et al., 2010).

Η αναστολή της έκφρασης της RhoA μέσω του short interfering RNA (siRNA) περιγράφει με μεγαλύτερη ακρίβεια την άμεση αναστολή της RhoA μετά από βλάβη του νωτιαίου μυελού (SCI- spinal cord injury). Ο Inoue et al. περιέγραψε αποκατάσταση στην αλλοδυνία και την υπεραλγησία επαγόμενη από έγχυση intrathecal λυσοφωσφατικού οξέος (LPA) injection μετά από νευρική βλάβη στο ισχιακό νεύρο. Στην ίδια μελέτη η χορήγηση LPA στα πειραματόζωα με νευρική βλάβη βελτίωσε τα μορφολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά που προσομοιάζουν με εκείνα που παρατηρούνται μετά από νευρική απολίνωση (Inoue et al., 2004).

Αναστολή της RhoA και βασικές επιδράσεις των ΜΣΑΦ

Η αναγεννημένη αξονική πλαστικότητα στις νευρικές οδούς σε περιοχές γειτονικές στις περιοχές της βλάβης περιγράφεται σαν την βασική νευροβιολογική επίδραση των ΜΣΑΦ λόγω της αναστολής της RhoA. Η αξονική διακλάδωση που παρατηρείται ενδέχεται να οδηγήσει σε μια αλλαγή της οργάνωσης των νευρικών κυκλωμάτων μέσα στις νευρικές οδούς από τους τραυματισμένους στους υγιείς νευράξονες με τον περιορισμό της αναγέννησης σε περιπτώσεις απομακρυσμένων βλαβών (Curt, Van Hedel, Klaus, & Dietz, 2008).

Ο περιορισμός της δευτερογενούς βλάβης αποτελεί έναν ακόμα μηχανισμό με τον οποίο τα ΜΣΑΦ εκδηλώνουν την νευροπροστατευτική τους δράση κυρίως μέσω της μείωσης της φλεγμονώδους απόκρισης μετά τη βλάβη (Schwab et al., 2004).

Ένας τρίτος μηχανισμός του ρόλου των ΜΣΑΦ στην νευρική αναγέννηση είναι ο έλεγχος του νευροπαθητικού πόνου (Detloff et al., 2008). Το βασικό χαρακτηριστικό των ΜΣΑΦ σαν αντι-φλεγμονώδεις παράγοντες οδηγεί σε μείωση του σχηματισμού ουλώδους ιστού

Πειραματικές μελέτες για την νευρική αποκατάσταση

από γλοιικά κύτταρα, σε αύξηση της προστασίας των ιστών και στον

αποτελεσματικότερο έλεγχο του πόνου.

Σε περιφερικές νευρικές βλάβες που σχετίζονται με διατομή ή αποτελούν κομμάτι σύνθετης και πολύπλοκης βλάβης, η τελικο-τελική νευροσυρραφή μπορεί να μην είναι δυνατό να πραγματοποιηθεί. Νευρικά ελλείμματα μεταξύ των κολοβωμάτων ενός τραυματισμένου νεύρου μπορούν να γεφυρωθούν με την χρήση νευρικού αυτομοσχεύματος από υγιή περιοχή. Στην βιβλιογραφία παρατηρείται εκτενής έρευνα στην προσπάθεια κατασκευής λειτουργικών υποκαταστάτων των νευρικών αυτομοσχευμάτων, όπως νευρικών αγωγών ποικίλης σύστασης που έχουν αποτελέσει υλικό μελέτης για τον επιτυχημένο προσανατολισμό των νευραξόνων και της ευόδωσης της νευρικής αναγέννησης, αλλά η κλινική σημασία των προϊόντων αυτών περιορίζεται από το γεγονός ότι δεν εμφανίζουν ικανοποιητικά αποτελέσματα στη γεφύρωση μεγάλων νευρικών ελλειμμάτων. Πολλαπλοί παράγοντες πιστεύεται ότι συμβάλλουν στην περιορισμένη επιτυχία των τεχνητών νευρικών αγωγών, αλλά η απουσία κυτταρικών

παραγόντων, η απουσία επαρκούς νεοαγγείωσης και η επαγωγή μιας προφλεγμονώδους ανοσολογικής απάντησης θεωρείται ότι αποτελούν τους κυριότερους από τους παράγοντες αυτούς. Σημαντικές μελέτες στην κατεύθυνση αυτή πραγματοποιούνται ώστε να βελτιωθούν οι ιδιότητες των αγωγών αυτών με την χρήση διαφόρων υλικών, κυττάρων και αυξητικών παραγόντων. Η στεγανοποίηση των αξονικών μεμβρανών μετά από νευρική βλάβη αποτελεί πεδίο μελετών για τη βελτιστοποίηση των αποτελεσμάτων της νευρικής αναγέννησης. Έχουν δημοσιευτεί θετικά αποτελέσματα με τη χρήση νευροπροστατευτικών παραγόντων πολυμερών στην μείωση της αξονικής διαπερατότητας σε πειραματόζωα με βλάβη νωτιαίου μυελού. Σε περίπτωση που η μέθοδος αυτή θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σε κλινικές περιπτώσεις ασθενών με νευρική βλάβη, θα εμφάνιζε σαφή κλινικά πλεονεκτήματα έναντι της βραδείας διαδικασίας της Βαλεριανής εκφύλισης και της μετέπειτα δημιουργίας αξονικών εκβλαστήσεων, κατά τις οποίες ο νευρικός ιστός καθίσταται λιγότερο αποτελεσματικός στην νευρική αναγέννηση. Παρόλα αυτά, η προσέγγιση αυτή απαιτεί άμεση παρέμβαση μετά την νευρική βλάβη, γεγονός που δεν είναι εφικτό στην πλειοψηφία των ασθενών. Αξίζει να σημειωθεί ότι για μια επιτυχημένη νευρική αναγέννηση απαιτούνται προσπάθειες πολλαπλών στρατηγικών και προσεγγίσεων. Παράδειγμα μιας τέτοιας πολύπλευρης προσέγγισης έχει εφαρμοστεί σε ένα πειραματικό μοντέλο βλάβης νωτιαίου μυελού, στο οποίο χρησιμοποιήθηκαν νευρικά αρχέγονα μεσεγχυματικά κύτταρα, εμβλαπτισμένα σε ένα ικρίωμα ινώδους ιστού που περιείχε πολλαπλούς νευροτροφικούς παράγοντες και αναστολείς καλπαίνης στην περιοχή της βλάβης. Με την προσέγγιση αυτή επιτεύχθηκε βελτίωση στην νευρική ανάπτυξη μεγάλης απόστασης και στην συναπτική βελτίωση των νευρώνων.

ΜΣΑΦ και νευρική αναγέννηση

Η αναλγητική και αντιφλεγμονώδης ιδιότητα των ΜΣΑΦ αποτελούν 2 από τις βασικές τους λειτουργίες. Ο βασικός μηχανισμός δράσης των ΜΣΑΦ έγκειται στην αναστολή των υποδοχέων της κυκλοοξυγενάσης-1 και κυκλοοξυγενάσης-2, παράγοντας μειωμένες ποσότητες προσταγλανδίνης που προκαλούν τις αναλγητικές, αντιφλεγμονώδεις, αντιπυρετικές και αντιρευματικές ιδιότητες των ουσιών αυτών. Επιπρόσθετα, έχει αποδειχθεί άλλη μια βασική ιδιότητα των ΜΣΑΦ, η αναστολή της ενεργοποίησης της RhoA καθώς και η αναστολή της συσώρευσης- συγκόλλησης των αιμοπεταλίων που προκαλείται από το ADP και το κολλαγόνο (Schafer et al., 2010)(Q. Fu, Hue, & Li, 2007; Wang et al., 2009; Zhou et al., 2003).

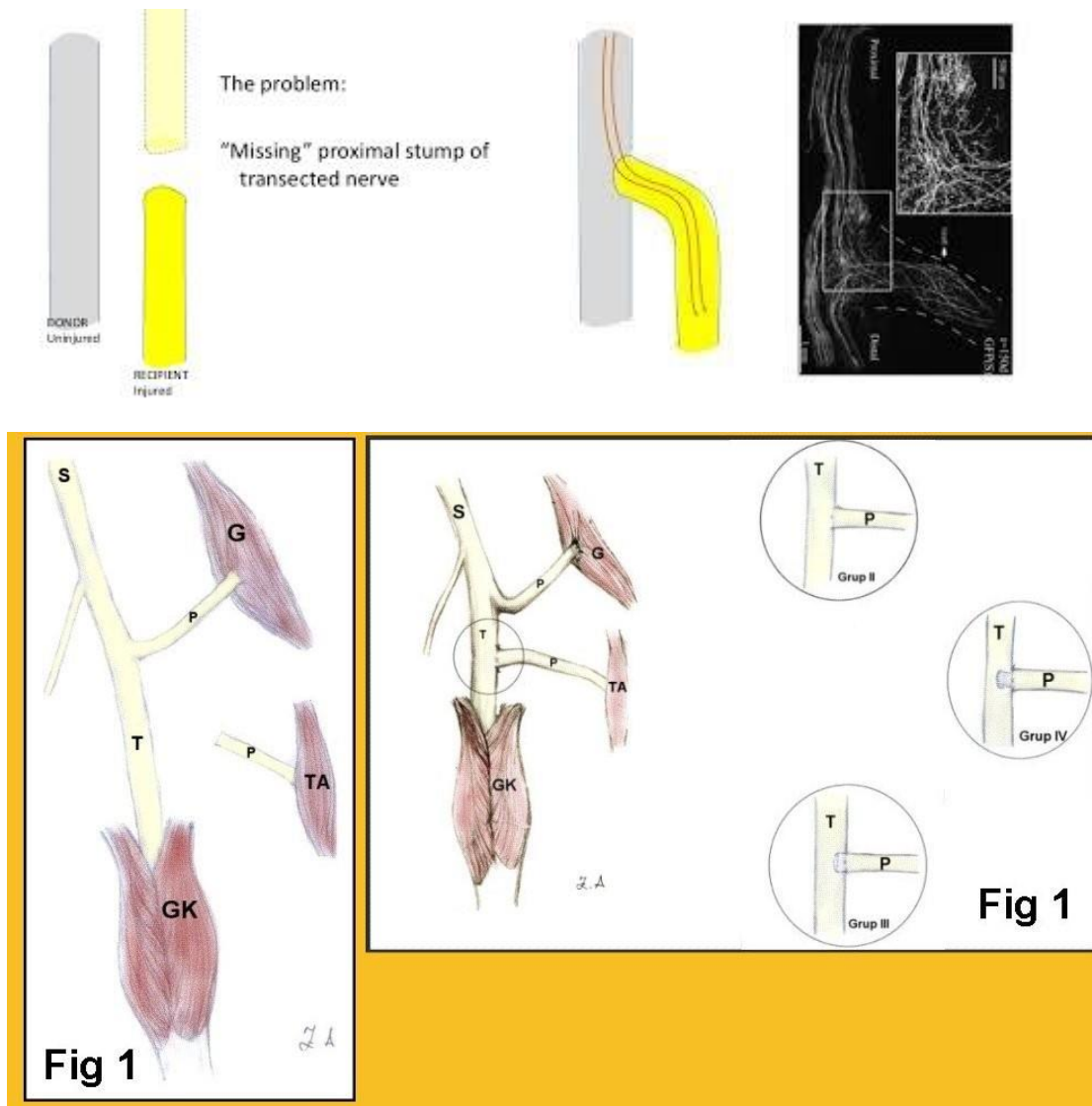
Η ιβουπροφαίνη έχει αποδειχθεί ότι μειώνει τα επίπεδα της ενεργοποιημένης RhoA (Dill et al., 2010; Fu et al., 2007; Madura et al., 2011; Wang et al., 2009; Zhou et al., 2003). Η ίδια ιδιότητα δεν έχει περιγραφεί σε όλες τις περιπτώσεις χρήσης της ινδομεθακίνης και του suldinac sulfide (Fu et al., 2007).

Η ιδιότητα της ιβουπροφαίνης σχετικά με την αναστολή της RhoA προέρχεται και από τα δύο εναντιομερή, την R-ιβουπροφαίνη και την S-ιβουπροφαίνη (Wang et al., 2009; Zhou et al., 2003). Σε πειραματική μελέτη, ο Fu et al. αναφέρουν ότι η ιβουπροφαίνη και η ινδομεθακίνη είχαν αποτελέσματα συγκρίσιμα με την C3 τρανσφεράση στην μείωση των ποσοτήτων των ανασταλτικών υποστρωμάτων για ανάπτυξη των νευραξόνων, όπως η CSPGs και η σχετιζόμενη με την μυελίνη MAG (Q. Fu et al., 2007). Άλλα φάρμακα της κατηγορίας των ΜΣΑΦ όπως η ναπροξένη, η πιροξικάμη, η μελοξικάμη και το SC-560 δεν έχει αποδειχθεί ότι εμφανίζουν την ίδια επίδραση στην αναστολή της ενεργοποιημένης RhoA (Wang et al., 2009; Zhou et al., 2003).

ΜΣΑΦ και προστασία νευρικού ιστού

Τις ίδιες νευροπροστατευτικές ιδιότητες με την C3 transferase και το Y-27632 φαίνεται να έχει και η ιβουπροφαίνη όπως έχει παρουσιαστεί στη βιβλιογραφία (Boato et al., 2010). Ο Sharma και συνεργάτες το 2002 δημοσίευσαν τις νευροπροστατευτικές ιδιότητες της ιβουπροφαίνης σε βλάβες του νωτιαίου μυελου σε ένα πειραματικό μοντέλο με σημαντική βελτίωση στα προκλητά δυναμικά του NM καθώς και μείωση στο οίδημα του NM και στην διαταραχή της αιμάτωσης του NM μετά από νευρική βλάβη (Sharma & Winkler, 2002). Σε περιπτώσεις χορήγησης ιβουπροφαίνης για 5 με 7 ημέρες μετά από βλάβη NM, παρατηρήθηκαν αυξημένος αριθμός ολιγοδενδροκυττάρων και μειωμένος αριθμός αποπτωτικών κυττάρων (Xing et al., 2011). Ένας επιπρόσθετος μηχανισμός είναι η ενεργοποίηση του PPAR γ μέσω της ιβουπροφαίνης που καταλήγει σε ενθαρρυντικά αποτελέσματα στην επιβίωση των κυττάρων και την μυελίνωση των νευραξόνων μετά από νευρική βλάβη. Στην περίπτωση των νευροεκφυλιστικών νοσημάτων, ο νευροπροστατευτικός ρόλος των ΜΣΑΦ είναι κυρίως δευτερογενής (Dill et al., 2010; Weggen et al., 2001; Zhou et al., 2003).

Τελικο-πλάγια νευροσυρραφή

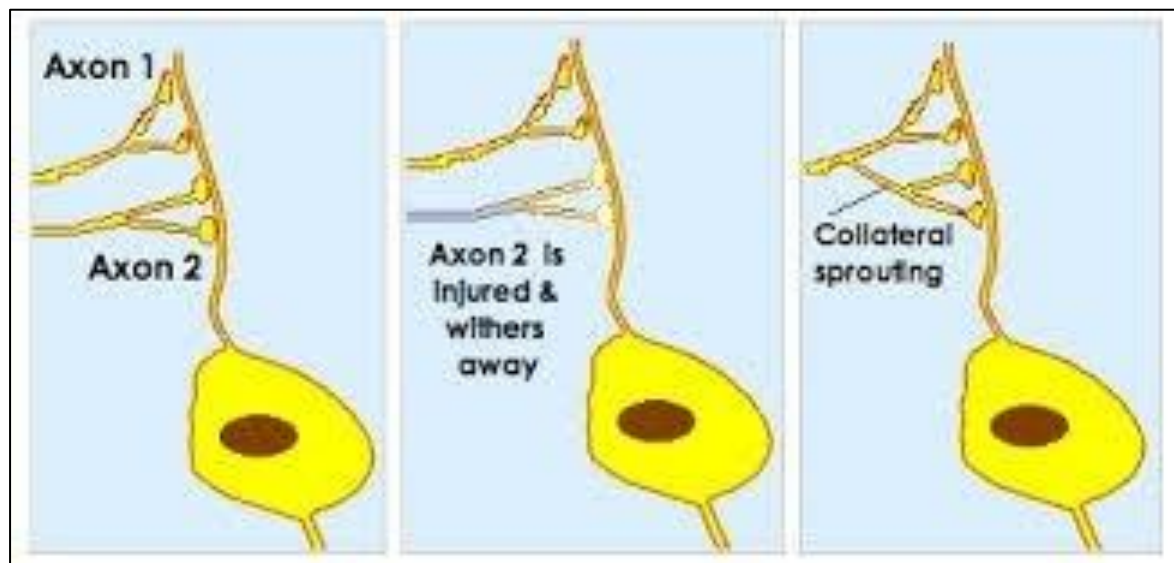
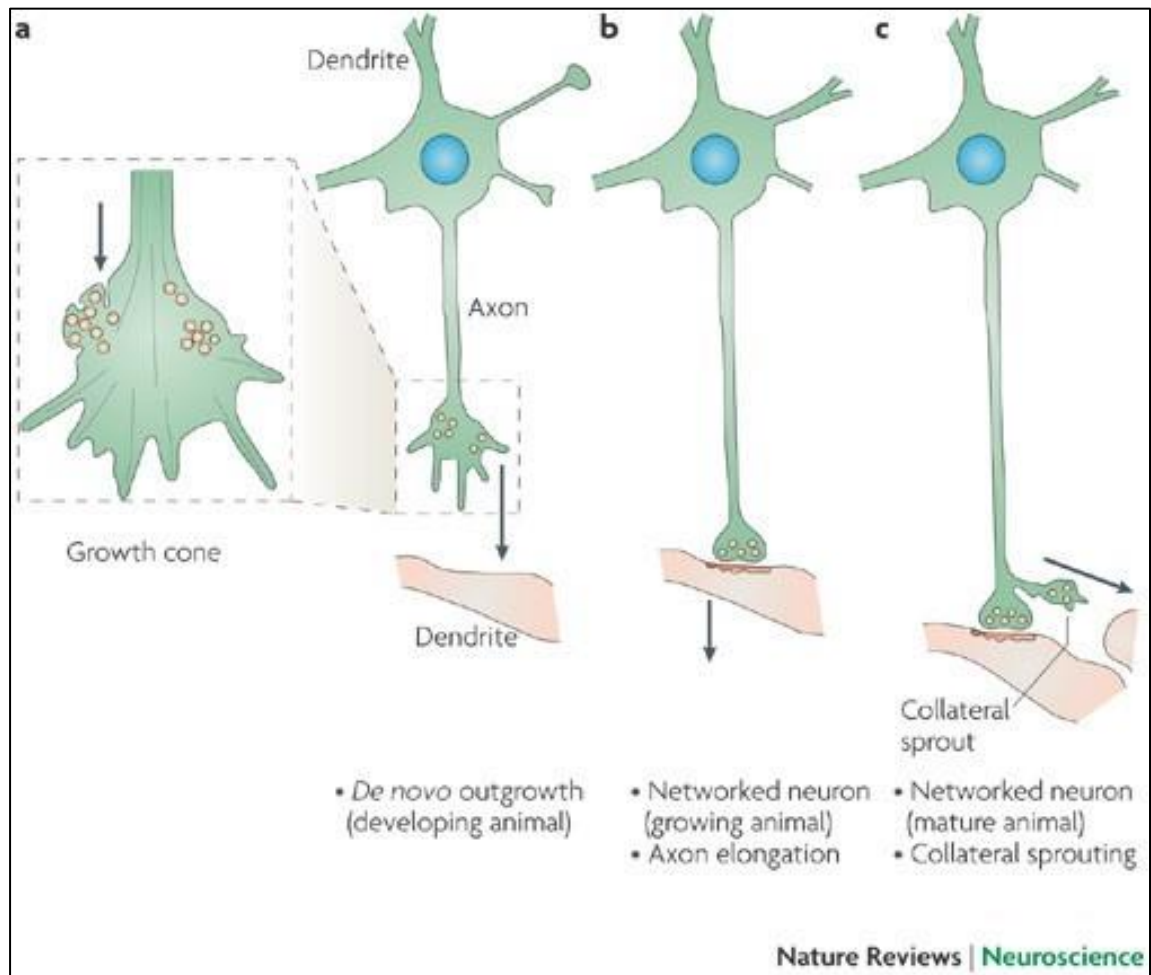


Εικόνα 41. Απεικόνιση τελικοπλάγιας νευροσυρραφής.

Τα αυτόλογα νευρικά μοσχεύματα εξακολουθούν να αποτελούν τον χρυσό κανόνα για την αντιμετώπιση των νευρικών ελλειμμάτων μετά από περιφερική νευρική βλάβη. Η χρήση των αυτόλογων νευρικών μοσχευμάτων περιορίζεται από την περιορισμένη διαθεσιμότητά τους και από την αυξημένη νοσηρότητα της δότριας περιοχής. Διάφορες χειρουργικές τεχνικές έχουν παρουσιαστεί με διαφορετικά ποσοστά επιτυχίας. Στις μεθόδους αυτές περιλαμβάνονται συνδυασμοί νευρικών μοσχευμάτων και αγωγών

σιλικόνης, την χρήση συνθετικών ή βιολογικών νευρικών αγωγών, αγωγών που περιλαμβάνουν αιμοφόρα αγγεία, την χρησιμοποίηση καλλιεργημένων κυττάρων Schwann και την τελικο-πλάγια νευροσυρραφή. Το 1992 ο Viterbo και συνεργάτες [5] επανεισήγαγαν την τελικο-πλάγια νευροσυρραφή, μια σχεδόν ξεχασμένη τεχνική νευρικής επιδιόρθωσης. Η τελικο-πλάγια νευροσυρραφή περιλαμβάνει την συναρμογή του περιφερικού κολοβώματος ενός διατμηθέντος νεύρου στον κορμό ενός παρακείμενου νεύρου δότη. Έχει προταθεί σαν μια εναλλακτική τεχνική σε περιπτώσεις περιφερικής νευρικής βλάβης, όταν το κεντρικό κολόβωμα του νεύρου δεν είναι διαθέσιμο ή έχει υποστεί συντριπτική βλάβη ή το νευρικό έλλειμμα είναι τόσο μεγάλο σε μήκος ώστε να γεφυρωθεί με νευρικό μόσχευμα. Η τελικο-πλάγια νευροσυρραφή περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1873 από τον Letievannt σαν μια τεχνική επιδιόρθωσης μιας νευρικής βλάβης σε περιπτώσεις μεγάλης απώλειας ιστού. Η αρχική ιδέα εγκαταλείφθηκε εξαιτίας πτωχών αποτελεσμάτων λόγω της χρήσης συμβατικών χειρουργικών εργαλείων και μη μικροχειρουργικών τεχνικών συρραφής χωρίς τη χρήση μικροσκοπίου. Περίπου 9 δεκαετίες αργότερα, αρκετοί μελετητές πραγματοποίησαν πειράματα πάνω στην τεχνική αυτή. Τα αποτελέσματα στις μελέτες αυτές ήταν ιδιαίτερα ενθαρρυντικά και από τότε αρκετές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί που έχουν καταλήξει σε βελτίωση των λειτουργικών αποτελεσμάτων και σε περαιτέρω κατανόηση της νευρικής αναγέννησης μετά από τελικο-πλάγια νευροσυρραφή (Lykissas 2011).

Collateral sprouting



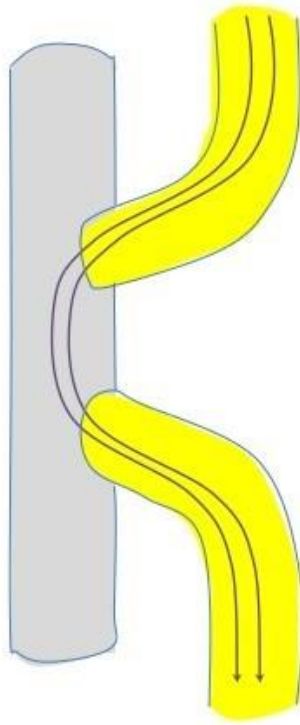
Εικόνα 42. Σχηματική αναπαράσταση του φαινομένου collateral sprouting.

Ο πιο αποδεκτός μηχανισμός της νευρικής αναγέννησης μετά από τελικο-πλάγια νευροσυρραφή είναι το collateral sprouting, όπου αναγεννημένοι νευράξονες

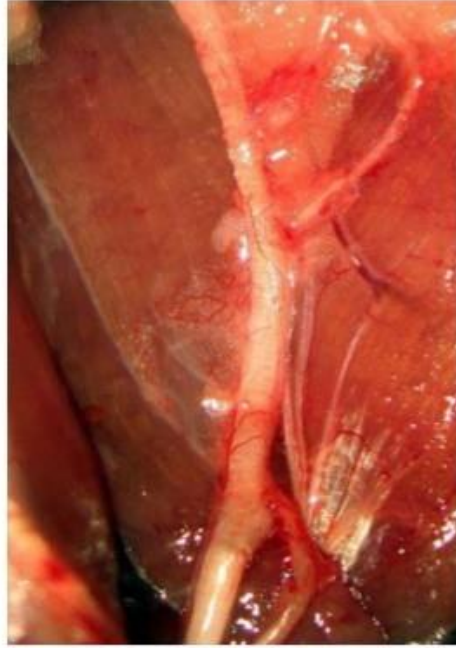
εμφανίζονται από τον πιο κεντρικό κόμβο του Ranvier του νεύρου δότη στην περιοχή συναρμογής και ταξιδεύουν στο επινεύριο του νεύρου δότη. Πριν από την ανάπτυξη των νευραξόνων, κύτταρα Schwann οργανώνονται σε στήλες στην περιοχή συναρμογή (Lykissas 2011). Σε ένα μετέπειτα στάδιο, τα κύτταρα αυτά καλύπτουν περιοχές του επινευρίου του νεύρου δέκτη. Αυτό θεωρείται το βασικό στάδιο για την έναρξη του collateral axonal sprouting από τους άθικτους νευράξονες. Υποστηρίζεται ότι νευράξονες αναδύονται από τους κόμβους του Ranvier κεντρικά της περιοχής συναρμογής. Σύμφωνα με μια μελέτη, τα κύτταρα Schwann φαίνεται ότι ενισχύουν την αναγέννηση των νευραξόνων και από το περιφερικό κολόβωμα αλλά και από τον κόμβο του Ranvier του νεύρου δότη. Ο μηχανισμός που περιγράφεται για το collateral sprouting μετά από τελικο-πλάγια νευροσυρραφή μπορεί να είναι αποτέλεσμα εναλλαγής σημάτων και παραγόντων, κυρίως νευροτροφικών. Ο Zhang και συνεργάτες ανέφερε ότι παράγοντες που απελευθερώνονται από τα κύτταρα Schwann που έχουν μετακινηθεί στο επινεύριο, μεταφέρονται στο περιινεύριο μέσω διάλυσης και με τον τρόπο αυτό προάγουν το collateral sprouting από την κοντινότερο στην βλάβη περιοχή στον κόμβο του Ranvier's της δότριας περιοχής. Είναι γνωστό από τη βιβλιογραφία ότι η Neurotrophine-3 (NT-3) διαδραματίζει έναν ιδιαίτερο ρόλο στην διαδικασία της νευρικής αναγέννησης και της μυικής επανανεύρωσης. Το μόριο NT-3 και ο υποδοχέας του Trk C εκφράζονται στην περιοχή συναρμογής μετά από τελικο-πλάγια νευροσυρραφή. Άλλες ουσίες που ανιχνεύονται επίσης στις διαδικασίες νευρικής αναγέννησης είναι επίσης η αυξητική πρωτεΐνη 43 (GAP-43), ένας δείκτης σχηματισμού του αυξητικού κώνου, ο νευροτροφικός παράγοντας του εγκεφάλου (BDNF) και ο υποδοχέας του Trk B (BDNF υποδοχέας) ανιχνεύονται επίσης στην περιοχή συναρμογής σε μικρότερες συγκεντρώσεις και μετά από την έκφραση του NT-3. Σε ένα μοντέλο τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής με την χρήση

anti-GAP-43 αντισωμάτων, παρατηρήθηκε σχηματισμός αυξητικού κώνου από την δότρια νευρική περιοχή στο περιφερικό νευρικό τμήμα του τραυματισμένου νεύρου. Αρκετοί μελετητές επίσης έχουν αποδείξει τον βασικό ρόλο του νευρικού αυξητικού παράγοντα-nerve growth factor (NGF) κατά τη διαδικασία του collateral sprouting (Lykissas 2011). Η ποσότητα του NGF που έχει εκκριθεί στην περιοχή απορροφάται από τα τελικά τμήματα των νευραξόνων και μεταφέρεται ανάστροφα στο νευρικό κυτταρικό σώμα δημιουργώντας μια δευτερογενή απάντηση. Έχει αποδειχθεί στη βιβλιογραφία ότι ο συνδυασμός του NGF και του ακτινωτού νευροτροφικού παράγοντα (CNTF) ευοδώνουν την νευρική αναγέννηση μετά από τελικο-πλάγια νευροσυρραφή (Lykissas 2011).

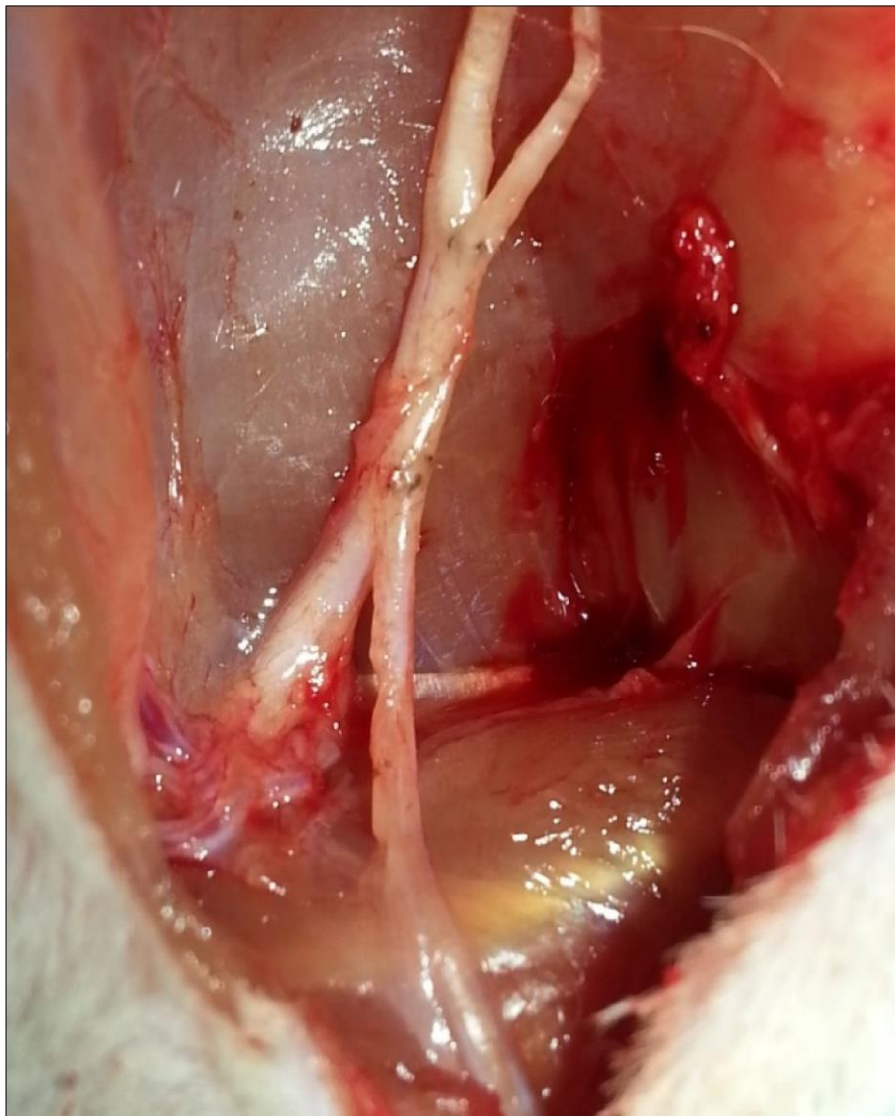
Διπλή τελικο-πλάγια νευροσυρραφή



Double end-to-side repair



Courtesy, Marios Lykissas, MD



Εικόνα 43. Σχηματική απεικόνιση διπλής τελικο-πλάγια νευροσυρραφής.

Ο Viterbo και συνεργάτες πρώτη φορά περιέγραψαν την διπλή τελικο-πλάγια νευροσυρραφή. Στην τεχνική αυτή, και το κεντρικό αλλά και το περιφερικό νευρικό κολόβωμα του τραυματισμένου νεύρου συρράβονται με μια τελικο-πλάγια τεχνική στο κολόβωμα ενός παρακείμενου υγιούς νεύρου δότη. Οι αναγεννημένοι νευράξονες χρησιμοποιούν το επινεύριο του νεύρου δότη σαν μια γέφυρα για την εύρεση του περιφερικού κολοβώματος. Έχει περιγραφεί ότι η τεχνική αυτή ευοδώνει την αξονική αναγέννηση μέσω μιας βελτιστοποιημένης τεχνικής σε σχέση με την τελικο-τελική νευροσυρραφή. Σε συνέχεια των αποτελεσμάτων αυτών, όταν η διπλή τελικο-πλάγια

νευροσυρραφή συγκρίθηκε με την συμβατική τελικο-πλάγια νευροσυρραφή, το νεύρο δότης μετά την διπλή τεχνική βρέθηκε να περιέχει σημαντικά μεγαλύτερο αριθμό εμμύελων νευρικών ινών περιφερικά της εστίας της νευροσυρραφής. 2 πηγές νευραξόνων μπορεί να συμβάλλουν στον αυξημένο αριθμό των αναγεννημένων νευρικών ινών, νευράξονες που προέρχονται από παράλληλες εκβλαστήσεις των εμμύελων νευρικών ινών στις περιοχές των κόμβων του Ranvier του νεύρου δότη, και νευράξονες που προέρχονται από το κεντρικό νευρικό κολόβωμα. Η πειραματική γνώση που παρουσιάζεται στη βιβλιογραφία για την διπλή τελικο-πλάγια νευροσυρραφή έχει οδηγήσει στη θεώρηση πολλών ότι μπορεί να αποτελεί ένα σημαντικό εργαλείο όταν δεν είναι δυνατή η αποκατάσταση της βλάβης με την κλασσική μέθοδο της τελικο-τελικής συρραφής. Σε προηγούμενες πειραματικές μελέτες, η λειτουργική αξιολόγηση και η ποσοτική καταμέτρηση των νευραξόνων, απέδειξε ότι η νευρική αναγέννηση μπορεί να υποστηριχθεί με τη χρήση της τεχνικής της άθικτης νευρικής γέφυρας για μια απόσταση 1.2 εκ σε πειραματικό μοντέλο ισχιακού νεύρου σε επίμυες (Lykissas 2011).

Επινευρικό ή Περινευρικό παράθυρο



Εικόνα 44. Σχηματική απεικόνιση του επινευρικού παραθύρου.

Μια τεχνική παράμετρος που μπορεί σημαντικά να επηρεάσει την αξονική αναγέννηση μετά από τελικο-πλάγια νευροσυρραφή περιλαμβάνει την διενέργεια επινευριοτομής ή περινευριοτομής. Ο Viterbo και ο Cao δεν απέδειξαν σημαντικές διαφορές για την τελικο-πλάγια νευροσυρραφή με και χωρίς τη διάνοιξη επινευρικού παραθύρου. Στην ίδια κατεύθυνση ο Viterbo και συνεργάτες δεν απέδειξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ νευροσυρραφών με και χωρίς περινευρικό παράθυρο. Τα αποτελέσματα αυτά μπορούν εν μέρει να δικαιολογηθούν από το γεγονός ότι οι αναγεννημένοι νευράξονες μετά από τελικο-πλάγια νευροσυρραφή μπορούν να διεισδύσουν στο ενδονεύριο, περινεύριο και επινεύριο. Κάποιοι μελετητές αναφέρουν καλύτερα αποτελέσματα με τη διάνοιξη περινευρικού παραθύρου. Αυτό μπορεί να συσχετίζεται με την μεγαλύτερου βαθμού αξονική βλάβη στο νεύρο δότη και επομένως στην ενισχυμένη αξονική αναγέννηση μετά από περινευριοτομή. Σε περιπτώσεις που η κόλλα ινικής χρησιμοποιήθηκε σαν εναλλακτική μέθοδος της τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής χωρίς να προκληθεί καμία βλάβη στο νεύρο δότη (χωρίς τη διάνοιξη επινευρικού ή περινευρικού παραθύρου), το τελικό αποτέλεσμα ήταν η απουσία μυικής επανανεύρωσης. Σύμφωνα με μελέτες του

Lykissas και συνεργάτες, η αφαίρεση ενός μικρού τμήματος του επινευρίου και η τοποθέτηση επινευρικών ραμμάτων χωρίς την πρόκληση βλάβης στο υποκείμενο περινεύριο βελτιώνει τα λειτουργικά αποτελέσματα μετά από τελικο-πλάγια νευρική αποκατάσταση χωρίς να περιορίζει ή να ζημιώνει την λειτουργικότητα του νεύρου δότη (Lykissas 2011).

Μελλοντικές κλινικές προοπτικές

Οι χρησιμοποιούμενες τεχνικές της νευρικής αναγέννησης σχετίζονται στενά με την περιγραφή του Gabriele Ferrara (1543–1627) πριν από 400 χρόνια που περιέγραψε μια διαδικασία που περιλαμβάνει περιορισμό της φλεγμονής, αναγνώριση των νευρικών κολοβωμάτων, μια επαρκή χειρουργική τεχνική νευροσυρραφής και ακινητοποίηση του σκέλους. Νέα δεδομένα προστέθηκαν μετά από εμπειρία που συλλέχθηκε μετά από την αντιμετώπιση νευρικών βλαβών στον 2° Παγκόσμιο Πόλεμο και περιελάμβανε τη χρήση αυτόλογων νευρικών μοσχευμάτων, πρωτογενή και δευτερογενή αντιμετώπιση. Το 1960, η ανακάλυψη και εισαγωγή του χειρουργικού μικροσκοπίου καθώς και τεχνικών νευρικής αποκατάστασης που εφάρμοζαν την αναγκαιότητα της επαρκούς τάσης της συρραφής, βελτίωσαν σημαντικά την τεχνική πλευρά της νευρικής αναγέννησης. Τελευταία, νέες χειρουργικές τεχνικές όπως η χρήση ελεύθερων μυικών κρημνών και νευρομεταφορών έχουν χρησιμοποιηθεί για να παρακάμψουν την πολυπλοκότητα και ανασταλτικότητα της

παρατεταμένης χρονικά νευρικής αναγέννησης μεταξύ του απονευρωμένου περιφερικού κολοβώματος και του οργάνου στόχου. Οι καινοτόμες αυτές μέθοδοι μπορούν να προσφέρουν μια εναλλακτική για την απόκτηση ενός επιπέδου λειτουργικότητας αλλά δεν μπορούν να προσφέρουν τα ίδια αποτελέσματα με τις βασικές μεθόδους για τους ασθενείς με νευρικές βλάβες. Το επόμενο βήμα για την κλινική βελτίωση μπορεί να επιτευχθεί με την καλύτερη κατανόηση των νευροβιολογικών μεταβολών της περιφερικής νευρικής βλάβης και των πειραματικών τεχνικών.

Λαμβάνοντας υπόψιν την πολυδιάστατη φύση της περιφερικής νευρικής βλάβης και την πολυπλοκότητα της κλινικής προσέγγισής της, παρουσιάζεται αναγκαία η συνδυασμένη φαρμακολογική και μοριακή θεραπείας μαζί με επαρκείς χειρουργικές τεχνικέςd. Χρησιμοποιώντας νέες νευρικές δομές μαζί με μοριακά στοχευμένες θεραπείες, όπως για παράδειγμα την ανάπτυξη υλικών που έχουν την ικανότητα αποδέσμευσης φαρμακευτικών ουσιών και τροποποίησης του RNAs, μπορούν να ενισχύσουν τους ενδογενείς μηχανισμούς ανάπτυξης. Οι προσεγγίσεις δεν θα πρέπει να στοχεύουν μόνο στην προώθηση της νευρικής αναγέννησης αλλά και στα SCs στο περιφερικό κολόβωμα καθώς και στις μοριακές αλλαγές του απονευρωμένου μυός. Αξίζει να αναφερθεί ότι πολλές από τις πειραματικές μεθόδους που υποβοηθούν την νευρική αναγέννηση έχουν περιορισμένη χρήση σε περίπτωση νευρικών ελλειμμάτων μικρού μεγέθους και νέα υλικά πρέπει να δημιουργηθούν ώστε να μπορούν να υποστηρίξουν την νευρική αναγέννηση σε περιπτώσεις μεγαλύτερου μήκους νευρικών βλαβών με απώτερο σκοπό να προσεγγίσουν όσο γίνεται περισσότερο τα χαρακτηριστικά του αυτόλογου νευρικού μοσχεύματος. Στην προσπάθεια αυτή είναι σημαντική η συνδρομή της καλύτερης κατανόησης της δομικής ανατομίας και της δομής του εξωκυττάριου ικριώματος του περιφερικού νεύρου. Στις περιπτώσεις των υλικών που σχεδιάζονται για την κάλυψη μεγαλύτερου μήκους νευρικών

βλαβών, είναι απαραίτητο να διασφαλιστεί επαρκής αιμάτωση ώστε να διαφυλαχτεί η βιωσιμότητα τυχόν μεταμοσχευμένων κυττάρων. Η συνδρομή των μαθηματικών και των ηλεκτρονικών υπολογιστών είναι εξέχουσας σημασίας σε αυτήν την προσπάθεια. Επίσης η σημαντική πρόοδος σε 3D in vitro μοντέλα μπορεί να χρησιμοποιηθεί ώστε με μεγαλύτερη ακρίβεια να αναπαρασταθεί το περιβάλλον του περιφερικού νεύρου και να πραγματοποιηθεί ο έλεγχος των νέων υλικών. Πειραματικές μελέτες επίσης είναι απαραίτητες για τον καθορισμό και την αξιολόγηση των υλικών αυτών σε μεγάλου μήκους νευρικές βλάβες που αποτελούν ιδιαίτερα δύσκολη κλινική οντότητα (Faroni 2105).

Προβληματισμός-Ανάγκη ενίσχυσης περιφερικής νευρικής αναγέννησης

Η

περιορισμένη ικανότητα αποκατάστασης του νευρικού ιστού αποτελεί σημαντικό ανασταλτικό παράγοντα στην προσέγγιση της νευρικής βλάβης. Τα αποτελέσματα της θεραπείας μεγάλου μέρους των περιφερικών νευρικών βλαβών δεν είναι ιδιαίτερα ενθαρρυντικά λόγω των ιδιοτεροτήτων του νευρικού ιστού, υποβαθμίζοντας σημαντικά την ποιότητα ζωής των ασθενών που στην πλειοψηφία τους είναι νέοι. Τα περιορισμένα αποτελέσματα της αποκατάστασης των περιφερικών νευρικών βλαβών έχουν οδηγήσει στην πραγματοποίηση πολυάριθμων πειραματικών μελετών για την αποτελεσματικότερη παρέμβαση στην νευρική βλάβη.

Περιγράφηκαν ανωτέρω τα πολύπλοκα βήματα που ακολουθούνται μετά από νευρική βλάβη καθιστώντας πολλαπλά τα στάδια στα οποία μπορεί να πραγματοποιηθεί παρέμβαση για την βελτίωση της τελικής έκβασης του τραυματισμού. Από πειραματικές μελέτες που έχουν δημοσιευθεί περιγράφεται ότι η παρέμβαση στο μόριο της RhoA μπορεί να επιφέρει τη βελτίωση της νευρικής αναγέννησης. Η μείωση της συγκέντρωσης της ενεργοποιημένης RhoA οδηγεί στον αποκλεισμό των ανασταλτικών παραγόντων για την περιφερική νευρική αναγέννηση, βελτιώνοντας το τελικό αποτέλεσμα μετά από νευρική βλάβη.

Τα ΜΣΑΦ που χρησιμοποιούνται ευρέως στην καθημερινή Ιατρική πράξη σε πολλές περιπτώσεις κυρίως για τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές τους εμφανίζουν την ιδιότητα να αναστέλλουν την ενεργοποίηση της Rho. Με τον τρόπο αυτό λόγω των μειωμένων επιπέδων της ενεργοποιημένης RhoA οι αναγεννούμενοι νευρώνες δεν θα βρίσκονται

κάτω από την ανασταλτική επίδραση του μορίου αυτού και άρα θα έχουν την δυνατότητα για ταχύτερη και πληρέστερη αποκατάσταση.

Η πραγματοποίηση μιας πειραματικής μελέτης με τη χρήση ΜΣΑΦ για τον έλεγχο της επίδρασής τους στην περιφερική νευρική αναγέννηση θα προσφέρει σημαντική περαιτέρω γνώση της επίδρασης των φαρμάκων αυτών και των δυνατοτήτων τους στην νευρική αναγέννηση ώστε να μελετηθούν οι ιδιότητες αυτές αργότερα επίσης και σε ανθρώπινες κλινικές μελέτες.

Περιγράφηκε στη βιβλιογραφία ότι το πειραματικό μοντέλο της τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής αποτελεί σημαντική μέθοδο νευρικής αποκατάστασης με ενθαρρυντικά αποτελέσματα και για το λόγο αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε πειραματικές μελέτες μετά από νευρική βλάβη.

Η οργάνωση και πραγματοποίηση πειραματικής μελέτης για το ρόλο των ΜΣΑΦ στην περιφερική νευρική αναγέννηση σε μοντέλο τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής μπορεί να προσφέρει σημαντική γνώση στην κατανόηση των διαδικασιών μετά από νευρική βλάβη καθώς και στην ανακάλυψη και εκμετάλλευση πιθανόν ευεργετικών ιδιοτήτων των ΜΣΑΦ στην περιφερική νευρική αναγέννηση. Οι προβληματισμοί αυτοί και η ανάγκη βελτίωσης και ενίσχυσης της νευρικής αναγέννησης μετά από περιφερικό νευρικό τραυματισμό οδήγησαν στην οργάνωση και πραγματοποίηση της πειραματικής αυτής μελέτης της επίδρασης των ΜΣΑΦ στην νευρική αναγέννηση σε πειραματικό μοντέλο τελικοπλάγιας νευροσυρραφής.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Πειραματόζωα

Η πειραματική μελέτη πραγματοποιήθηκε στις εγκαταστάσεις του εργαστηρίου Μικροχειρουργικής της Ορθοπαιδικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής Ιωαννίνων σε 44 ενήλικες αρσενικούς επίμους τύπου Wistar από τον Ιανουάριο του 2013 έως τον Μάιο του 2015. Το εργαστήριο Μικροχειρουργικής της Ορθοπαιδικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής Ιωαννίνων πληρεί τα κριτήρια για τη διενέργεια πειραματικών μελετών καθώς και για την εκπαίδευση ιατρικού προσωπικού στις αρχές της μικροχειρουργικής. Το Εργαστήριο Μικροχειρουργικής διέπεται από υψηλά στάνταρντ ποιότητας και ακολουθεί τα κριτήρια ευρωπαϊκών και παγκοσμίων κέντρων Μικροχειρουργικής.



Εικόνα 45. Εικόνα επίμους τύπου Wistar που αποτέλεσαν τα πειραματόζωα της μελέτης. Η προέλευση των πειραματοζώων ήταν από το Εκτροφείο του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων όπου τα πειραματόζωα γεννιούνται υπό ελεγχόμενες συνθήκες που είναι σύμφωνες με τους κανόνες Ηθικής και Δεοντολογίας περί μεταχείρισης των πειραματοζώων. Επίσης τα

πειραματόζωα παρέμεναν στις εγκαταστάσεις του εκτροφείου έως ότου πληρούσαν τα επιθυμητά κριτήρια βάρους για την πειραματική μελέτη. Τα πειραματόζωα στις εγκαταστάσεις του εργαστηρίου μικροχειρουργικής βρίσκονταν υπό την εβδομαδιαία επίβλεψη ζωοτρόφου και κτηνιάτρου. Το βάρος των πειραματοζώων κυμαίνονταν μεταξύ 250-300 gr (Μ.Ο.: 273 gr). Το κάθε πειραματόζωο τοποθετούνταν σε ξεχωριστό κλουβί πριν και μετά την πραγματοποίηση της χειρουργικής επέμβασης. Τα κλουβιά καθαρίζονταν και συντηρούνταν σε εβδομαδιαία βάση από το προσωπικό του Εργαστηρίου. Η διατροφή των επιμύων περιελάμβανε ειδική ξηρά τροφή για την ανάπτυξη τους. Επίσης τα πειραματόζωα είχαν άμεση 24ωρη πρόσβαση σε νερό στο κλουβί τους από ειδικό εξοπλισμό. Σταθερή θερμοκρασία 24 βαθμών Κελσίου και υγρασία διατηρούνταν στα κλουβιά των πειραματοζώων για την αποκατάσταση σταθερού περιβάλλοντος και μεταβολισμού. Η εναλλαγή φωτός ημέρας/σκότους ήταν κυκλική και ομοιόμορφη με ρυθμό 12h/12h.

Οι επίμυες χωρίστηκαν σε 4 ομάδες: Α, Β, C και D. Τα χαρακτηριστικά της κάθε ομάδας παρουσιάζονται παρακάτω:

Ομάδες	N	Χειρουργική Τεχνική
A	8	Απόσταση μεταξύ περιφερικής και κεντρικής end to side 0,6 cm μετά την διάνοιξη επινευρικού παραθύρου. (Control χωρίς καμιά χορήγηση ουσίας). Normal end to side axonal regeneration
B	12	Ίδια με την ομάδα A με την προσθήκη της υποδόριας χορήγησης της ιμπουπροφαίνης σε δόση 60 mg/kg/day για 7 μέρες με την πρώτη δόση να χορηγείται 1 ώρα μετά το χειρουργείο. Stimulation of axonal regeneration with ibuprofen
C	12	Ίδια με την ομάδα A με την προσθήκη της υποδόριας χορήγησης της ναπροξένης σε δόση 40 mg/kg/day για 7 μέρες με την πρώτη δόση να χορηγείται 1 ώρα μετά το χειρουργείο. Stimulation of axonal regeneration with naproxen
D	12	Ίδια με την ομάδα A με την πραγματοποίηση νευρικής βλάβης στο Κνημιαίο νεύρο με απολίνωση (7-0 Nylon ράμμα) 5 mm ουραία της περιφερικής τελικο-πλάγιας συρραφής. Χορήγηση ιμπουπροφαίνης υποδορίως σε δόση 60 mg/kg/day για 7 μέρες με την πρώτη δόση να χορηγείται 1 ώρα μετά το χειρουργείο. Stimulation of axonal regeneration with ibuprofen after nerve injury in nerve donor site

Πίνακας 1. Πίνακας όπου περιγράφονται οι 4 πειραματικές ομάδες και τα χαρακτηριστικά της κάθε ομάδας.

Τα ζώα χωρίστηκαν τυχαία σε 4 ομάδες, οι οποίες και αποτέλεσαν τις πειραματικές ομάδες. Η κάθε ομάδα αποτελούνταν από 12 επίμυες, ενώ η ομάδα ελέγχου από 8 (Πίνακας 1).

Η ομάδα Α (απόσταση κεντρικής και περιφερικής τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής 0.6 cm χωρία καμιά χορήγηση φαρμακευτικής ουσίας) αποτελεί την ομάδα για την επιβεβαίωση της αποτελεσματικότητας της νευρικής αναγέννησης μετά από διπλή τελικο-πλάγια συρραφή. Στην ομάδα Α πραγματοποιήθηκε διατομή του δεξιού περνιαίου νεύρου των επιμύων και διπλή τελικο-πλάγια νευροσυρραφή του με διάνοιξη επινευρικού παραθύρου 1mm στο δεξί κνημιαίο νεύρο που λειτουργεί ως νεύρο δότης με την απόσταση μεταξύ εγγύς και άπω τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής να είναι 0.6 cm .

Στην πειραματική ομάδα Β έλαβε χώρα η ίδια διαδικασία με την ομάδα Α καθώς και υποδόρια έγχυση του ΜΣΑΦ ιβουπροφαίνη για χρονικό διάστημα 7 ημερών μετά την χειρουργική επέμβαση για τον έλεγχο της δυνατότητάς του εν λόγω ΜΣΑΦ να οδηγήσει σε περιφερική αναγέννηση των νευροαξόνων και επανανεύρωση του περιφερικού τμήματος του περνιαίου νεύρου.

Στην πειραματική ομάδα C πραγματοποιήθηκε η ίδια διαδικασία με την ομάδα Α καθώς και υποδόρια έγχυση του ΜΣΑΦ ναπροξένη για χρονικό διάστημα 7 ημερών για τον έλεγχο της επίδρασής της στην περιφερική νευρική αναγέννηση των νευροαξόνων και επανανεύρωση του περιφερικού τμήματος του περνιαίου νεύρου.

Τέλος στην ομάδα D έλαβε χώρα η ίδια διαδικασία με την ομάδα Α, υποδόρια χορήγηση του ΜΣΑΦ ιβουπροφαίνη για 7 ημέρες όπως και στην ομάδα Β με τη διαφορά ότι στην ομάδα D πραγματοποιήθηκε νευρική βλάβη συμπίεσης στο νεύρο δότη δηλαδή στο δεξί κνημιαίο νεύρο με τη χρήση ράμματος Nylon 8-0 5 mm κεφαλικά της άπω τελικοπλάγιας

νευροσυρραφής, ώστε να αξιολογηθεί η δυνατότητα νευρικής αναγέννησης μετά από βλάβη στο νεύρο δότη. Στην ομάδα D ουσιαστικά μεταξύ των 2 τελικο-πλάγιων νευροσυρραφών και πιο κοντά στην κεντρική τελικο-πλάγια πραγματοποιήθηκε η τοποθέτηση απολίνωσης με ράμμα Nylon 8-0 ώστε να προκληθεί νευρική βλάβη συμπίεσης στο νεύρο δότη.

Στο Εργαστήριο Μικροχειρουργικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων έχουν πραγματοποιηθεί στο παρελθόν μελέτες σχετικά με την αποτελεσματικότητα της διπλής τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής με δημοσίευση ενθαρρυντικών αποτελεσμάτων στην βιβλιογραφία (Lykissas et al 2007; Beris et al 2007).

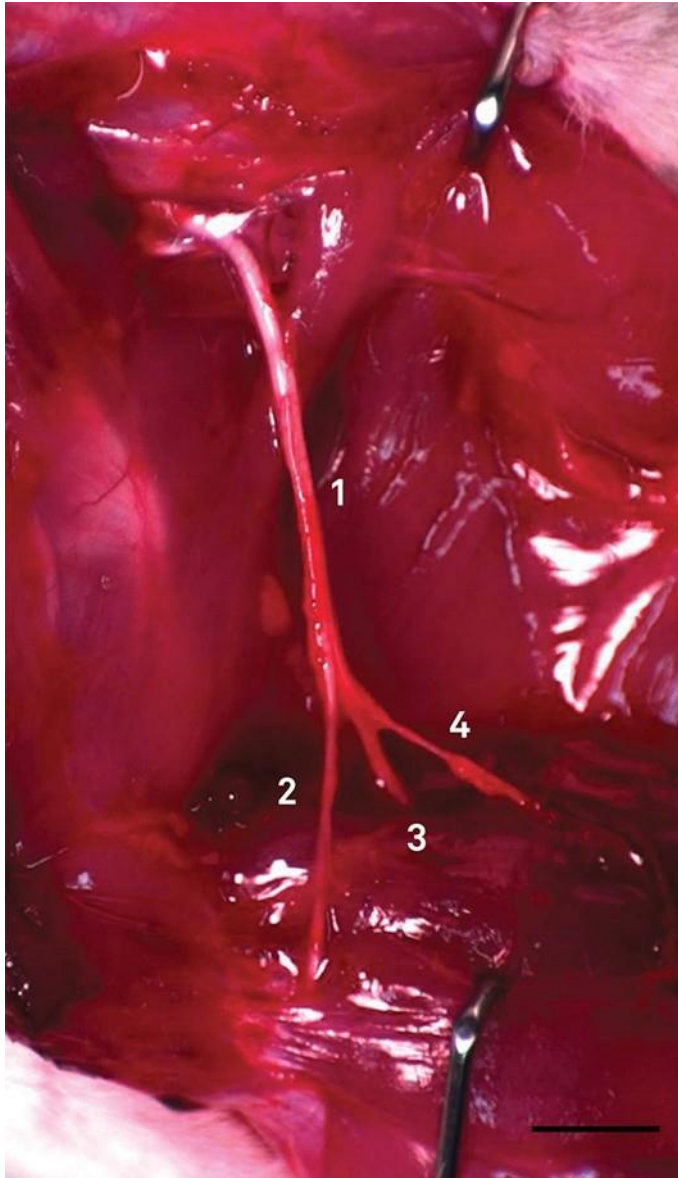
Χειρουργική τεχνική

Όλες οι χειρουργικές επεμβάσεις έλαβαν χώρα στις εγκαταστάσεις του Εργαστηρίου Μικροχειρουργικής της Ορθοπαιδικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Πριν από τη χειρουργική επέμβαση τα πειραματόζωα βάζονταν στον ειδικό διάδρομο για την επίτευξη της συμμόρφωσής τους για τη λήψη των προεγχειρητικών μετρήσεων για το PFI όπως περιγράφεται στο αντίστοιχο κεφάλαιο και ζυγίζονταν. Σ' όλες τις χειρουργικές επεμβάσεις το φάρμακο που χρησιμοποιήθηκε για την αναισθησία ήταν η κεταμίνη και η χορήγηση της έγινε ενδοπεριτοναϊκά σε δόση 100 mg/kg ΒΣ (Narketan 10, 100 mg/ml, Vetoquinolag, Switzerland). Όλοι οι πειραματικοί χειρισμοί πραγματοποιήθηκαν στο δεξί κάτω άκρο των επίμυων στην οπίσθια επιφανεία του. Το

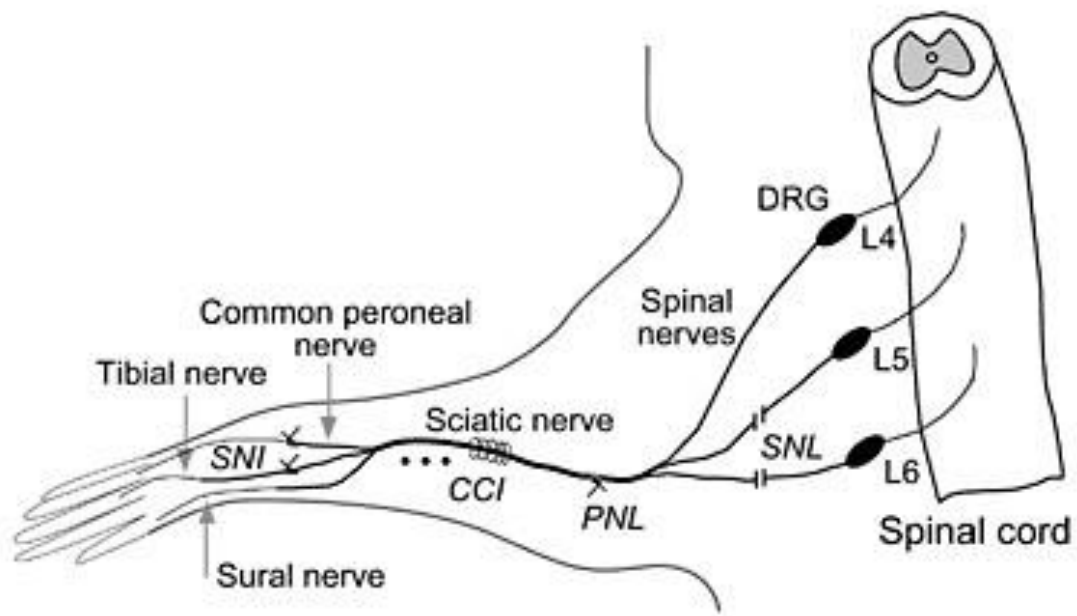
αριστερό κάτω άκρο των πειραματοζώων δεν υπέστη καμιά παρέμβαση ώστε να χρησιμοποιηθεί ως control στην ιστολογική μελέτη και τη μέτρηση του βάρους του πρόσθιου κνημιαίου μυός.

Μετά τη ζύγιση και την εισαγωγή των πειραματοζώων σε αναισθησία ακολουθούσε ευπρεπισμός τους (καθαρισμός και ξύρισμα της περιοχής της επέμβασης) και τοπική αντισηψία της περιοχής με διάλυμα ιωδιούχου ποβιδόνης 20 %. Η χειρουργική προσπέλαση για την αποκάλυψη του δεξιού ισχιακού νεύρου και των κλάδων του έγινε δια μέσου του δικέφαλου μηριαίου και του μείζονος γλουτιαίου μυός κεντρικά και του έξω πλατέος μυός περιφερικά, κατά τέτοιο τρόπο ώστε να μην καταστρέφεται το υποκείμενο στρώμα συνδετικού ιστού. Συγκεκριμένα πραγματοποιούνταν επιμήκης τομή περί τα 2,5 εκ περίπου στην οπίσθια έξω επιφάνεια του μηριαίου του πειραματοζώου κατά μήκος του άξονα του μηριαίου οστού από το ύψος του μείζονος τροχαντήρα κεντρικά έως τον έξω μηριαίο κόνδυλο περιφερικά.

Πραγματοποιούνταν διάνοιξη των ιστών κατά στρώματα και προσπάθεια διατήρησης των φυσιολογικών ανατομικών δομών της περιοχής. Καθόλη τη διάρκεια των μικροχειρουργικών τεχνικών χρησιμοποιήθηκε χειρουργικό μικροσκόπιο (OP16-S; Zeiss, Munich, Germany). Με τη βοήθεια του μικροσκοπίου έγινε αναγνώριση του ισχιακού νεύρου του επίμυος καθώς και του τριχασμού του σε κνημιαίο νεύρο, περονιαίο νεύρο και γαστροκνημιαίο νεύρο.



Εικόνα 46. Εικόνα κατά τη διάρκεια της χειρουργικής επέμβασης όπου απεικονίζεται το ισχιακό νεύρο (1) και ο τριχασμός του σε περονιαίο νεύρο (2), κνημιαίο νεύρο (3) και γαστροκνημιαίο νεύρο (4).

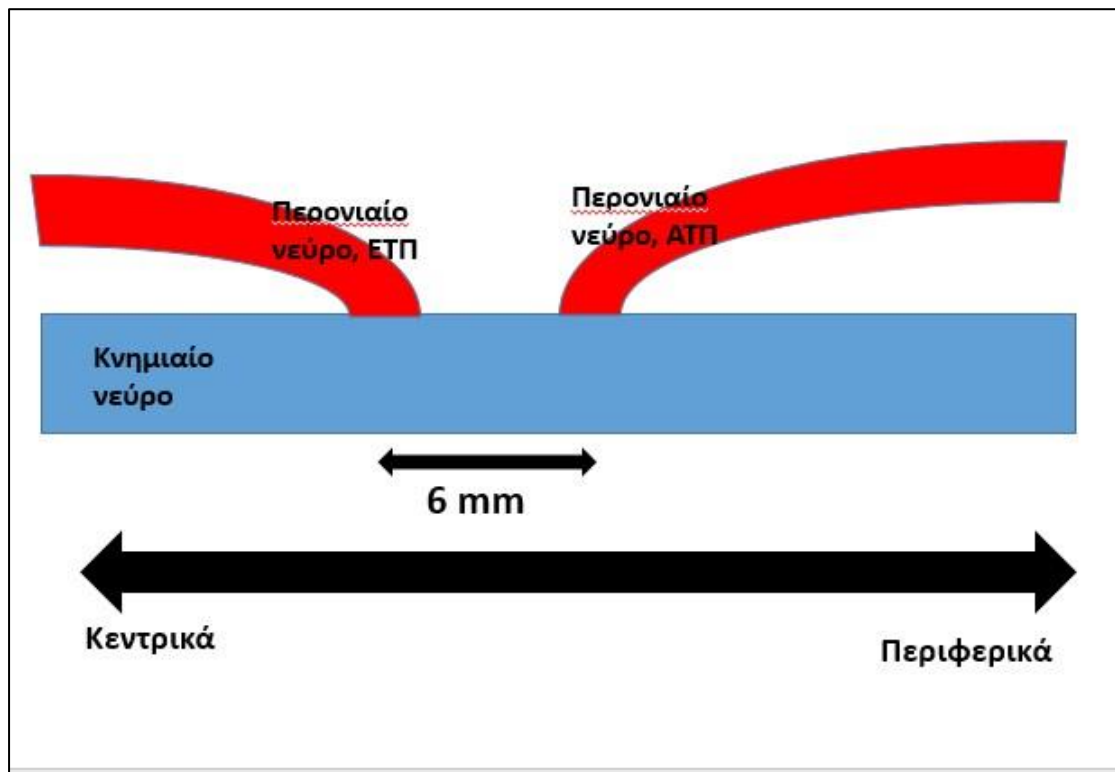


Εικόνα 47. Σχηματική αναπαράσταση του νευρικού συστήματος των κάτω άκρων των επιμύων. Απεικονίζεται το ισχιακό νεύρο (sciatic nerve) και οι κλάδοι του: το κνημιαίο νεύρο (tibial nerve), το περονιαίο νεύρο (common peroneal nerve) και το γαστροκνημιαίο νεύρο (sural nerve).

Μετά την ανατομική παρασκευή του ισχιακού νεύρου και των κλάδων πραγματοποιούνταν εγκάρσια διατομή του περονιαίου νεύρου σε απόσταση γύρω στα 4 mm από την έκφυσή του από τον κορμό του ισχιακού νεύρου. Μετά την εγκάρσια διατομή του νεύρου ακολουθούσε καθαρισμός των 2 κολοβωμάτων και διάνοιξη επινευρικού παραθύρου περίπου 1 mm στο κνημιαίο νεύρο στις 2 περιοχές των τελικοπλάγιων νευροσυρραφών (κεντρικά και περιφερικά) ώστε οι τελικο-πλάγιες νευροσυρραφές να πραγματοποιηθούν χωρίς ιδιαίτερη τάση. Οι διαδικασίες που έλαβαν χώρα σε κάθε ομάδα περιγράφονται στον ανωτέρω πίνακα. Η διάνοιξη του επινευρικού παραθύρου έγινε με τρόπο ώστε να προκληθεί η μικρότερη δυνατή βλάβη στο νεύρο δότη.

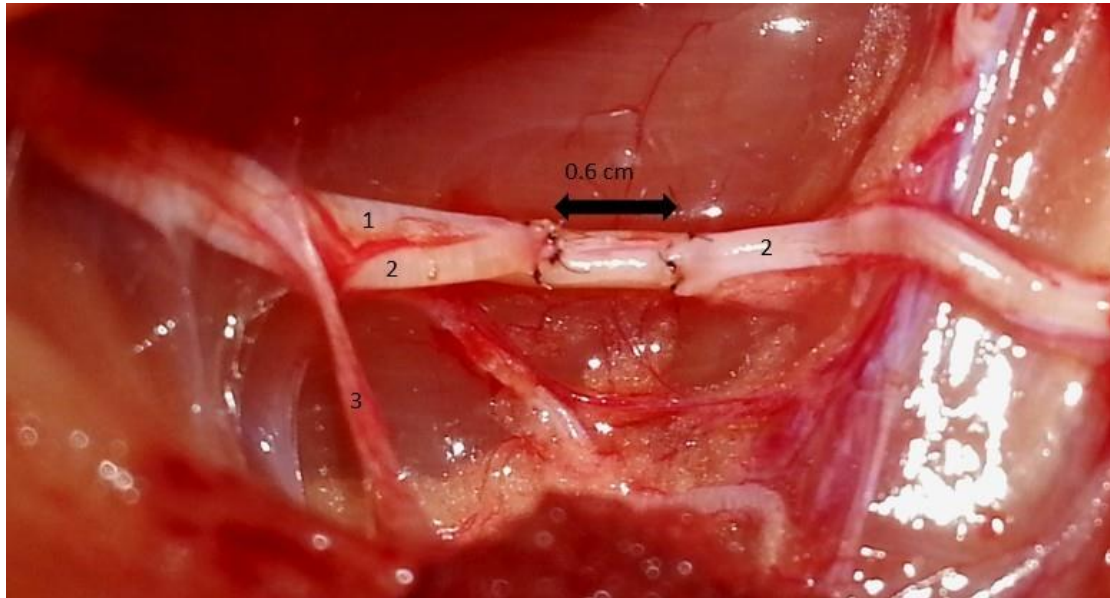


Εικόνα 48. Εικόνα όπου απεικονίζεται η τεχνική διάνοιξης επινευρικού παραθύρου 1 mm στο νεύρο δότη-κνημιαίο νεύρο χωρίς πρόκληση βλάβης στις παρακείμενες δομές.

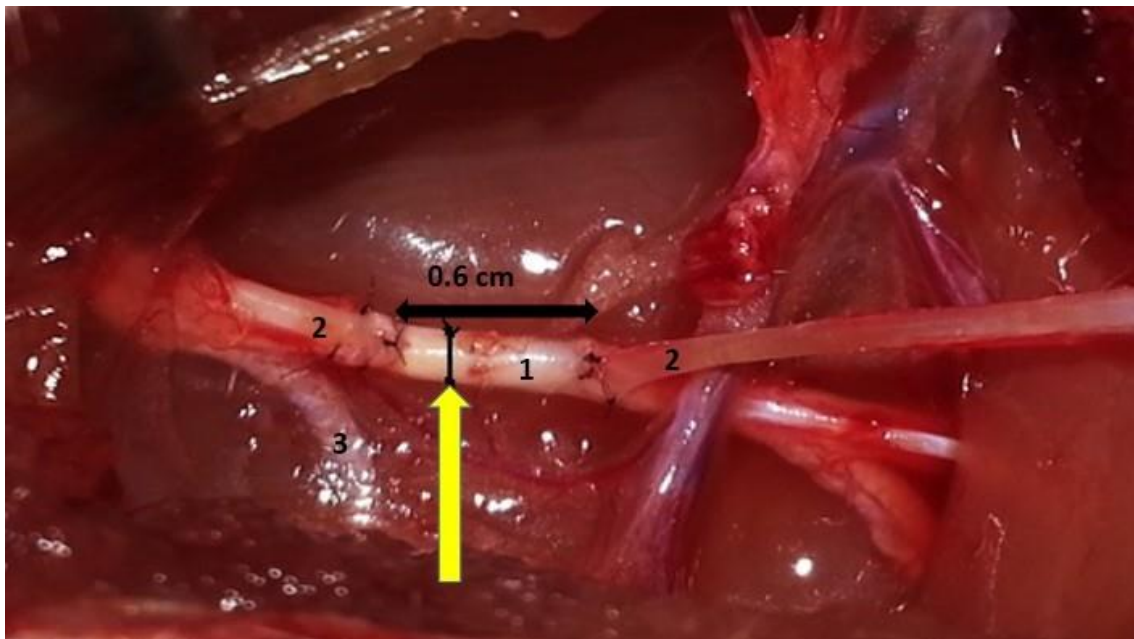


Σχήμα 1. Απεικονίζεται η τεχνική της χειρουργικής επέμβασης κατά την οποία πραγματοποιήθηκε με διάνοιξη επινευρικού παραθύρου 1 mm διπλή τελικο-πλάγια νευροσυρραφή του περονιαίου νεύρου στο κνημιαίο νεύρο με απόσταση 6 mm μεταξύ

των 2 νευροσυρραφών. ΕΤΠ=Εγγύς Τελικο-Πλάγια νευροσυρραφή, ΑΤΠ=Άπω ΤελικοΠλάγια νευροσυρραφή.

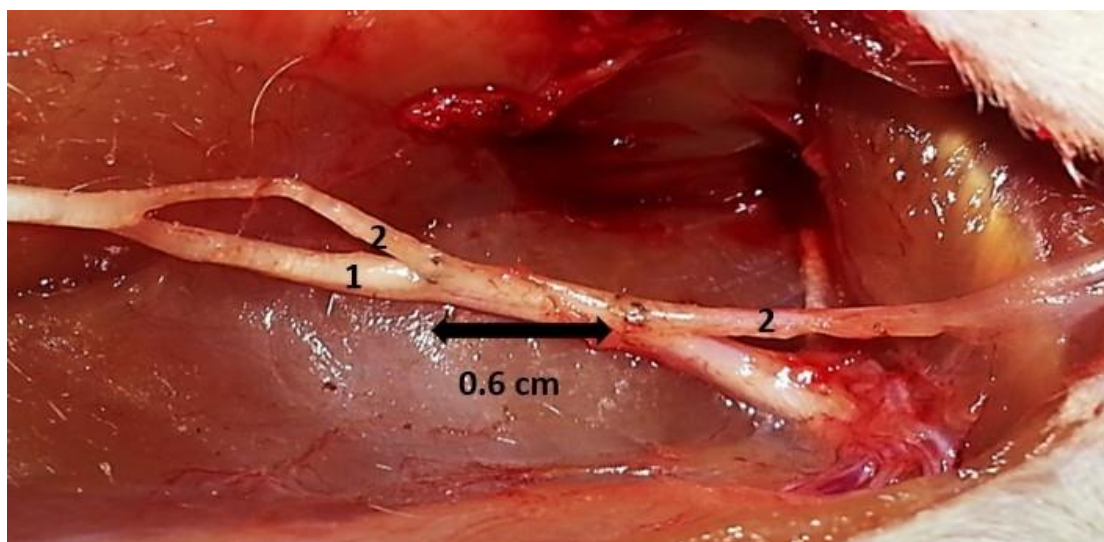


Εικόνα 49. Διεγχειρητική εικόνα όπου απεικονίζονται οι 2 τελικοπλάγιες νευροσυρραφές σε απόσταση 0.6 cm η κεντρική από την άπω (μαύρο βέλος). Επίσης απεικονίζονται το κνημιαίο νεύρο-νεύρο δότης (1), το περονιαίο νεύρο (2) και το γαστροκνημιαίο νεύρο (3).



Εικόνα 50. Διεγχειρητική εικόνα πειραματοζώου της ομάδας D όπου απεικονίζονται οι 2 τελικο-πλάγιες νευροσυρραφές σε απόσταση 0.6 cm η κεντρική από την άπω (μαύρο βέλος). Επίσης με κίτρινο βέλος απεικονίζεται η πρόκληση νευρικής βλάβης συμπίεσης στο νεύρο δότη-κνημιαίο νεύρο (1) με τη χρήση ράμματος Nylon 8-0 5 mm κεφαλικά της άπω τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής. Απεικονίζεται το περονιαίο νεύρο (2) και το γαστροκνημιαίο νεύρο (3).

Σε κάθε τελικο-πλάγια νευροσυρραφή πραγματοποιήθηκε διάνοιξη επινευρικού παραθύρου στο κνημιαίο νεύρο διαμέτρου 1mm και χρησιμοποιήθηκαν 2 ή 3 ράμματα 10-0 nylon με τραυματική-οξύαιχμη βελόνη. Ακολούθησε σύγκλιση των μυών και του δέρματος με ράμματα 4-0 vicryl και 3-0 nylon αντίστοιχα.



Εικόνα 51. Διεγχειρητική εικόνα κατά την 56^η ημέρα θανάτωσης των πειραματοζώων. Απεικονίζονται οι 2 τελικοπλάγιες νευροσυρραφές σε απόσταση 0.6 cm η μια από την άλλη (μαύρο βέλος) καθώς και το κνημιαίο νεύρο (1) και το περονιαίο νεύρο (2). Αναγνωρίζουμε από την εικόνα την ομαλότητα των ιστών στην περιοχή των νευροσυρραφών.

Σε όλες τις χειρουργικές επεμβάσεις έγινε προσπάθεια ώστε να πραγματοποιηθούν όσο το δυνατόν με παρόμοιο τρόπο ώστε να μην υπάρχουν διαφορές μεταξύ των ομάδων στον τομέα αυτό. Για το λόγο αυτό οι νευροσυρραφές πραγματοποιήθηκαν από τον ίδιο χειρουργό με την ίδια τεχνική (Δ. Γ.). Οι τελικο-πλάγιες νευροσυρραφές έγιναν υπό την ίδια γωνία. Η διάνοιξη του επινευρικού παραθύρου έγινε με τον ίδιο τρόπο σε όλα τα πειραματόζωα. Σε κάθε τελικο-πλάγια νευροσυρραφή τοποθετούνταν 3 ράμματα Nylon 10/0 με τραυματική- οξύαιχμη βελόνα. Μετά την ολοκλήρωση των 2 τελικο-πλάγιων νευροσυρραφών ακολουθούσε σύγκλειση του ραύματος κατά στρώματα με τη χρήση Vicryl 4/0 ράμματος και Nylon 3/0 για το δέρμα. Σε κάθε στρώμα χρησιμοποιούνταν αντισηπτικό διάλυμα ιωδιούχου ποβιδόνης 20% όπως και ανωτέρω.

Εκτίμηση των αποτελεσμάτων

Σε όλες τις παραπάνω ομάδες η λειτουργικότητα του περνιαίου νεύρου των πειραματόζωων εκτιμήθηκε αμέσως πριν καθώς και την 2^η, 5^η, 7^η, 14^η, 28^η και 56^η ημέρα μετά την πρώτη χειρουργική επέμβαση. Σε όλες τις ομάδες έγινε και δεύτερη χειρουργική επέμβαση την ημέρα της θυσίας (56^η μτχ ημέρα) για τη λήψη νευρικού ιστού για ιστολογική μελέτη και για τη λήψη του προσθίου κνημιαίου μυός για τον καθορισμό του βάρους του και ιστολογική μελέτη. Κατά την ημέρα της θυσίας ο πρόσθιος κνημιαίος μυς τόσο στην πειραματική όσο και στην υγιή πλευρά αφαιρέθηκε, ζυγίστηκε και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σαν αναλογία της πειραματικής προς την υγιή πλευρά. Τα πειραματόζωα θυσιάστηκαν με ενδοπεριτοναϊκή έγχυση θανατηφόρας δόσης κεταμίνης (200 mgr/kgf βάρους σώματος) αμέσως μετά τη λήψη του υλικού (νευρικός και μυϊκός ιστός).

Peroneal Functional Index (PFI) και Tibial Function Index (TFI)

Η λειτουργική εκτίμηση του περνιαίου νεύρου έγινε τόσο προεγχειρητικά, όσο και μετεγχειρητικά την 2η, 5η, 7η, 14η, 28η, και 56η ημέρα μετά την πρώτη επέμβαση.

Οι δείκτες PFI και TFI υπολογίστηκαν με την βοήθεια της μεθόδου των Bain – Mackinnon – Hunter.

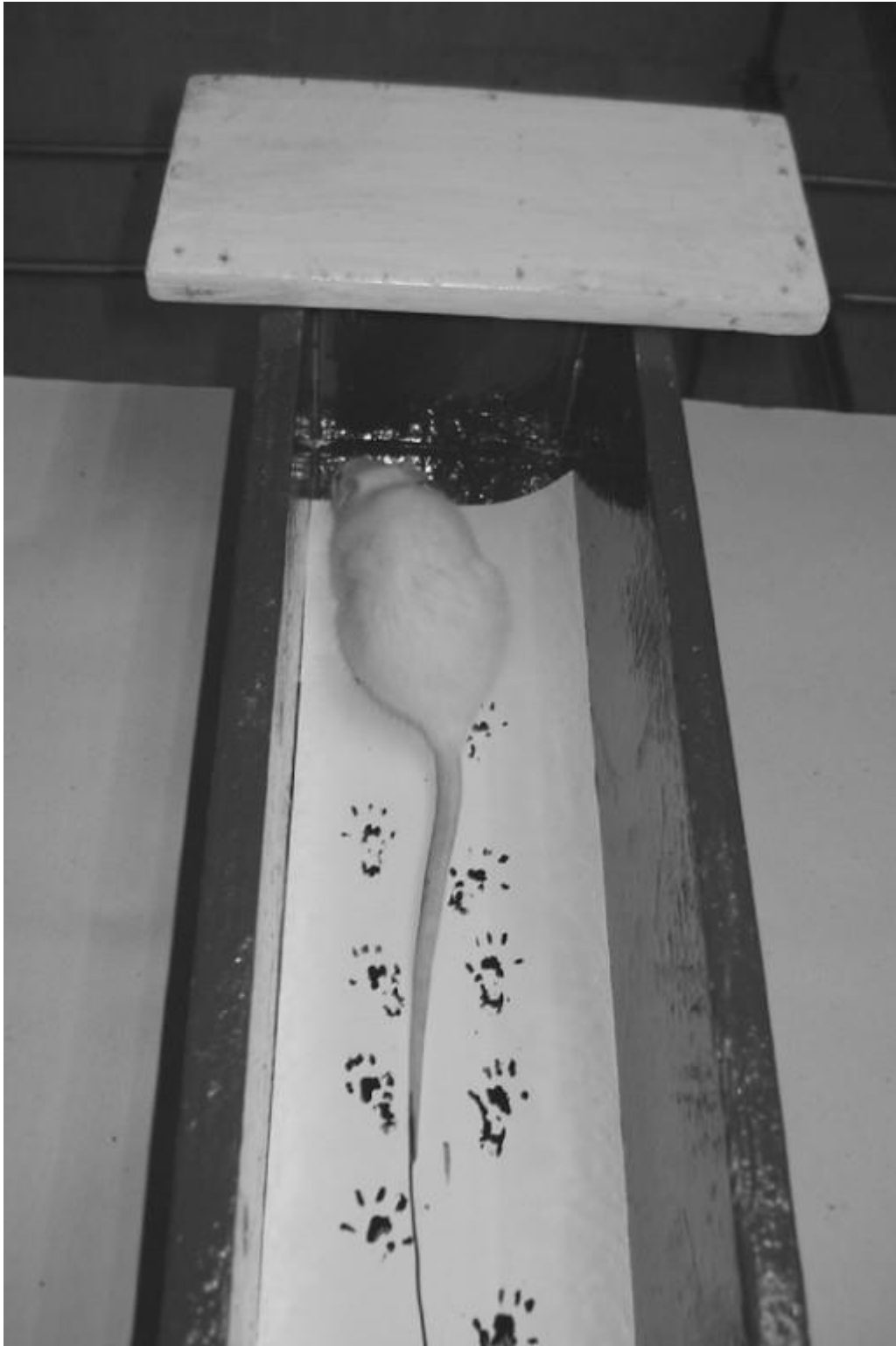
$$\begin{aligned}
 \text{SFI} &= -38,3 \frac{(\text{EPL} - \text{NPL})}{\text{NPL}} + 109,5 \frac{(\text{ETS} - \text{NTS})}{\text{NTS}} + 13,3 \frac{(\text{EIT} - \text{NIT})}{\text{NIT}} - 8,8 \\
 \text{TFI} &= -37,2 \frac{(\text{EPL} - \text{NPL})}{\text{NPL}} + 104,4 \frac{(\text{ETS} - \text{NTS})}{\text{NTS}} - 45,6 \frac{(\text{EIT} - \text{NIT})}{\text{NIT}} - 8,8 \\
 \text{PFI} &= 174,9 \frac{(\text{EPL} - \text{NPL})}{\text{NPL}} + 80,3 \frac{(\text{ETS} - \text{NTS})}{\text{NTS}} - 13,4
 \end{aligned}$$

SFI: sciatic function index, TFI: tibial function index, PFI: peroneal function index,
 NPL: normal print length, EPL: experimental print length, NTS: normal toe spread,
 ETS: experimental toe spread, NIT: normal intermediary toe spread, EIT: experimental
 intermediary toe spread.]

Εικόνα 52. Εικόνα όπου απεικονίζονται οι εξισώσεις υπολογισμού του δείκτη λειτουργικής ικανότητας του ισχιακού (SFI), κνημιαίου (TFI) και περνιαίου (PFI) Νεύρου. Λόγω των αντικειμενικών δυσκολιών που υπάρχουν σχετικά με τον νευρικό ιστό, η επιλογή της κατάλληλης τεχνικής για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της νευρικής αναγέννησης είναι ιδιαίτερα σημαντική. Για το λόγο αυτό όταν η λειτουργική εκτίμηση της ανάλυσης βάδισης και της εκτίμησης της κινητικής λειτουργίας ενός νεύρου συνδυασθεί

με στοιχεία από την ιστολογική ανάλυση του νεύρου μπορεί να προσδώσει μεγαλύτερη ισχύ και εγκυρότητα στα αποτελέσματα.

Για τον υπολογισμό του δείκτη PFI όπως παρουσιάζεται και παρακάτω χρειάστηκε να αξιολογηθούν οι μεταβλητές του μήκους του αποτυπώματος του πειραματοζώου που χαρακτηρίζεται ως PL (print length) που ουσιαστικά αποτελεί το μήκος του πέλματος του επίμυα και η μεταβλητή της απόστασης μεταξύ του 1^{ου} και του 5^{ου} δακτύλου του άκρου πόδα που χαρακτηρίζεται με τον όρο TS (toe spread) που αποτελεί το μήκος της απόστασης μεταξύ 1^{ου} και 5^{ου} δακτύλου. Όπως παρουσιάστηκε και ανωτέρω για τον υπολογισμό του δείκτη PFI χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των Bain–Mackinnon–Hunter για τον υπολογισμό της οποίας είναι απαραίτητος ο υπολογισμός των παραπάνω μεταβλητών (PL, TS). (Mackinnon, Hare)



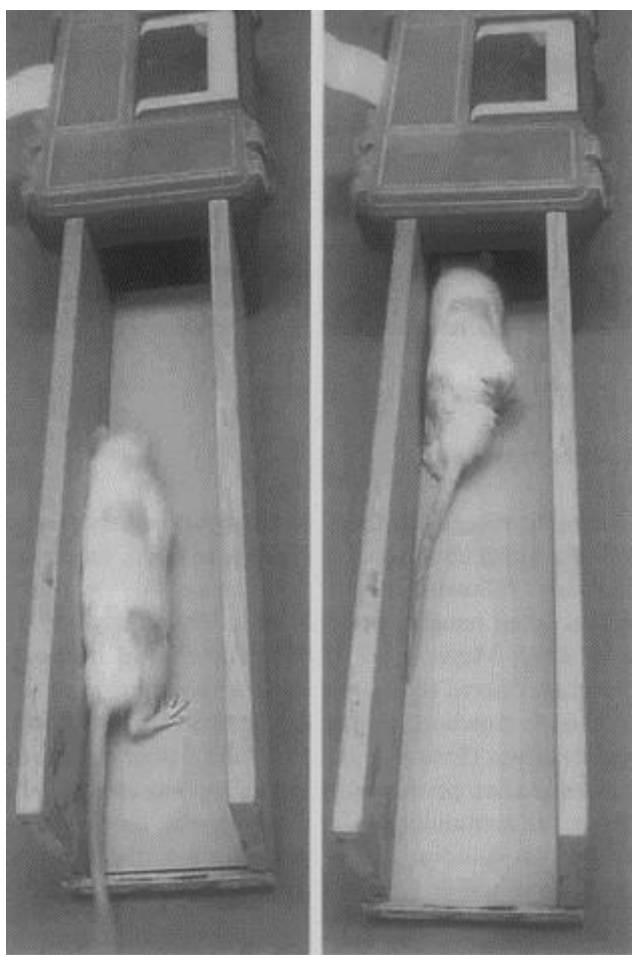
Εικόνα 53. Απεικόνιση της βάδισης των πειραματοζώων στον διάδρομο με την κατάληξη στο σκοτεινό θάλαμο και της καταγραφής των αποτυπωμάτων της βάδισης στη λευκή λωρίδα χάρτου (Wong et al 2011).

Στην μελέτη που πραγματοποιήθηκε η εκτίμηση της λειτουργίας του περνιαίου νεύρου των πειραματόζων έγινε προεγχειρητικά και μετά τη χειρουργική επέμβαση της διπλής τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής και συγκεκριμένα την 2^η, 5^η, 7^η, 14^η, 28^η και 56^η μετεγχειρητική ημέρα. Οι μετρήσεις της ανάλυσης βάδισης πραγματοποιήθηκαν στις εγκαταστάσεις του εργαστηρίου Μικροχειρουργικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Χρησιμοποιήθηκε ένας αυτοσχέδιος ξύλινος διάδρομος βάδισης που κατασκευάστηκε με πλάτος 12 εκ και μήκος περί τα 160 εκ. Η αρχή του διαδρόμου ήταν ανοικτή για πρόσβαση από τα πειραματόζωα και το τέλος του διαδρόμου κατέληγε σε ένα σκοτεινό κουτί για την καλύτερη συμμόρφωση των πειραματόζων ώστε να περιοριστεί η πιθανή επιρροή από εξωτερικά ερεθίσματα. Πριν από τη μέτρηση τα πειραματόζωα αφέθησαν να βαδίσουν στο διάδρομο ικανοποιητικό αριθμό βαδίσεων ώστε να καταφέρουν να πραγματοποιήσουν τη βάδιση χωρίς διακοπή. Θεωρήθηκε ικανοποιητική η συμμόρφωση των πειραματόζων όταν ήταν ικανά να πραγματοποιήσουν 3 συνεχόμενες επιτυχημένες διαδικασίες βάδισης στο διάδρομο μέχρι το μαύρο κουτί χωρίς διακοπή (Varejao et al 2004). Μετά την ικανοποιητική συμμόρφωση των πειραματόζων στην βάδιση στο διάδρομο βάδισης, στο διάδρομο τοποθετούνταν μια λωρίδα λευκού χαρτιού με διαστάσεις 10 x 90 εκ και τα πέλματα των κάτω άκρων των πειραματόζων εμβυθίζονταν σε μπλε μελάνι ώστε να είναι δυνατή η λήψη των αποτυπωμάτων. Εν συνεχεία τα πειραματόζωα αφήνονταν να βαδίσουν στο διάδρομο και γινόταν η καταγραφή των αποτυπωμάτων στην λευκή λωρίδα χαρτιού.

Μετά τη λήψη της λωρίδας πραγματοποιούνταν μετατροπή των αποτυπωμάτων σε ψηφιακή εικόνα με τη χρήση σαρωτή. Εν συνεχεία λάμβανε χώρα η αξιολόγηση της ψηφιακής εικόνας και η καταμέτρηση τουλάχιστον 3 αποτυπωμάτων από κάθε πλευρά.

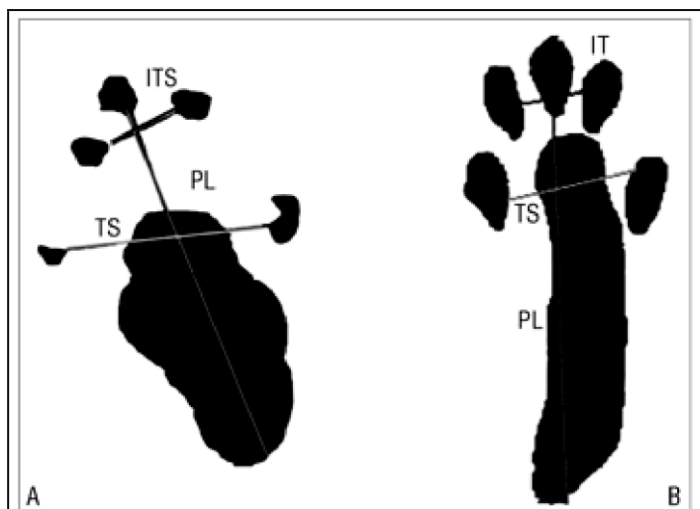
Εν συνεχεία πραγματοποιήθηκε υπολογισμός των μεταβλητών NPL, NTS, EPL, ETS για τον υπολογισμό του δείκτη PFI.

Για την καλύτερη κατανόηση των τιμών του PFI αξίζει να αναφέρουμε ότι ο δείκτης αυτός λαμβάνει τιμές από 0 μέχρι -100. Η τιμή 0 αντιπροσωπεύει τη φυσιολογική νευρική λειτουργία του περονιαίου νεύρου ενώ η τιμή -100 αντιπροσωπεύει την πλήρη απουσία νευρικής λειτουργίας. Τιμές λοιπόν κοντά στο 0 περιγράφουν πειραματόζωα με νευρική λειτουργία του περονιαίου νεύρου που προσεγγίζει τη φυσιολογική ενώ τιμές κοντά στο -100 περιγράφουν πειραματόζωα που εμφανίζουν σοβαρές διαταραχές της νευρικής λειτουργίας του περονιαίου νεύρου που προσεγγίζουν την παράλυση.



Εικόνα 54. Εικόνα όπου απεικονίζεται η βάδιση των πειραματοζώων στον ειδικά διαμορφωμένο διάδρομο. Παρατηρείται ότι υπάρχει η δυνατότητα βάδισης μόνο προς 1 κατεύθυνση των πειραματοζώων.

Σημαντικές περιγραφές στη βιβλιογραφία για την ανάλυση βάδισης στους επίμυες σαν τρόπο αξιολόγησης της λειτουργικής ικανότητας του περνιαίου νεύρου έχουν διατυπωθεί από τον De Medinaceli et al., 1982, από τον Strasberg et al., 1996 και από τον Meek et al., 1999 (de Medinaceli, Freed, & Wyatt, 1982; Meek, Den Dunnen, Schakenraad, & Robinson, 1999; Strasberg et al., 1996). Αρχικά είχε μελετηθεί μια ετερόπλευρη βλάβη του ισχιακού νεύρου και οι αλλαγές που επέφερε η βλάβη αυτή στον τρόπο βάδισης μεταξύ των 2 σκελών. Από την μελέτη αυτή κατέληξαν σε μια εξίσωση για την λειτουργική αξιολόγηση του ισχιακού νεύρου που είχε ονομαστεί Sciatic Function Index (SFI). Με την πάροδο των ετών και την μελέτη άλλων επιστημόνων εμπλουτίστηκαν τα χαρακτηριστικά της ανάλυσης βάδισης και συγκεκριμένα ο Bain, Mackinnon και Hunter εκτός από τους δείκτες λειτουργικής ικανότητας του ισχιακού νεύρου (SFI-Sciatic Function Index), περιέγραψαν και δείκτες για το κνημιαίο (TFI-Tibial Function Index) και το περνιαίο νεύρο (PFI-Peroneal Function Index) (Bain, Mackinnon, & Hunter, 1989; Evans, Bain, Mackinnon, Makino, & Hunter, 1991). Με την χρήση των δεικτών αυτών σε πειραματικές μελέτες αποδείχθηκαν ιδιαίτερα χρήσιμα εργαλεία στη λειτουργική αξιολόγηση της νευρικής αναγέννησης μετά από νευρική βλάβη.



Εικόνα 55. Εικόνα όπου απεικονίζεται το αποτύπωμα του πέλματος των πειραματοζώων. Αναγνωρίζονται οι μεταβλητές TS-Toe Spread όπου περιγράφει την απόσταση μεταξύ 1^{ου} και 5^{ου} δακτύλου και PL-Print Length όπου περιγράφει το μήκος του πέλματος των πειραματοζώων. Α) Εικόνα φυσιολογικού αποτυπώματος πέλματος πειραματοζώου, Β) Εικόνα αποτυπώματος όπου παρατηρείται διαταραχή της φυσιολογικής αποτύπωσης του πέλματος.



Εικόνα 56. Απεικονίζονται διάφορες περιπτώσεις αποτύπωσης του πέλματος των πειραματοζώων.

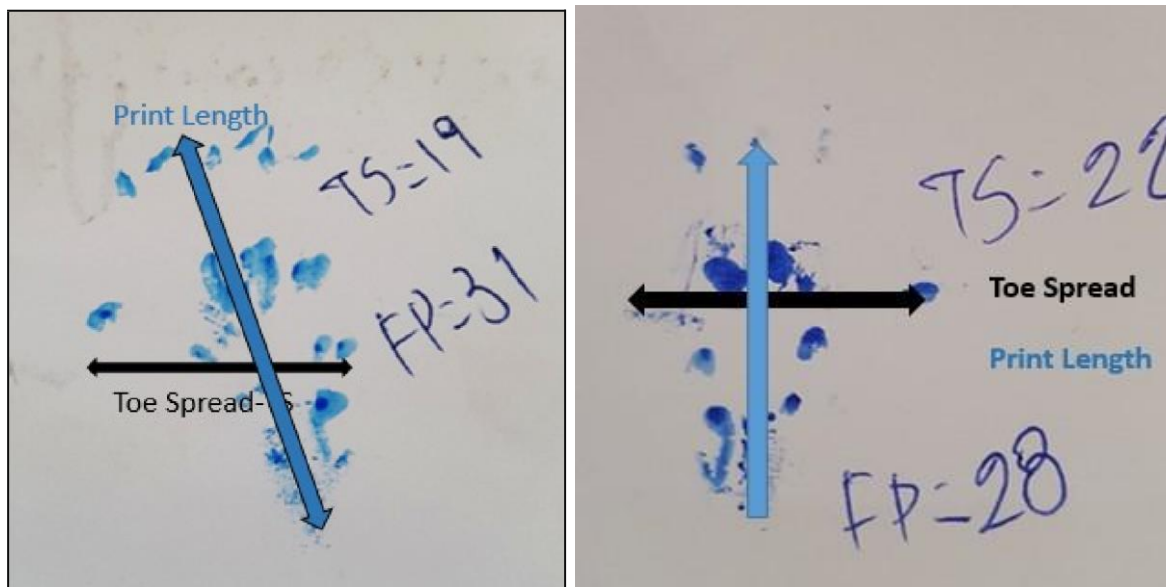
Α. εικόνα όπου απεικονίζεται τραυματισμένο (μαύρη μελάνι) και μη τραυματισμένο(μπλε μελάνι) κάτω άκρο πειραματοζώου. D. Μέτρια βλάβη E. Πιο εκτεταμένη βλάβη F. Σημαντική βλάβη.

Ο τραυματισμός του περονιαίου νεύρου έχει σαν αποτέλεσμα την μείωση του μήκους του πέλματος λόγω της απουσίας της δράσης των εκτεινόντων των δακτύλων και των μυών που πραγματοποιούν την ραχιαία κάμψη του άκρου πόδα. Λόγω λοιπόν της διακοπής της

δράσης των μυών αυτών επέρχεται σαν αποτέλεσμα η μείωση του μήκους του πέλματος που συμβαίνει λόγω του αθροιστικού αποτελέσματος της απουσίας δράσης των εκτεινόντων και ταυτόχρονα της συνεχής δράσης των καμπτήρων (Bain et al., 1989; Hare et al., 1992). Μετά από βλάβη του περνιαίου νεύρου επίσης παρατηρείται μείωση της απόστασης μεταξύ του 1^{ου} και 5^{ου} δακτύλου (Toe Spread, TS). Το διάστημα αυτό επηρεάζεται από τη δράση των μυών που νευρώνονται από το περνιαίο νεύρο σε αντίθεση με το διάστημα μεταξύ του 1^{ου} και 4^{ου} δακτύλου που δεν επηρεάζεται αισθητά λόγω της δράσης των αυτόχθονων μυών της περιοχής.

Παρότι οι μεταβλητές αυτές δεν μπορούν να μελετηθούν με αξιοπιστία στον ανθρώπινο οργανισμό σε περιπτώσεις πειραματοζώων του ίδιου βάρους μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εξαγωγή σχετικά ασφαλών συμπερασμάτων.

Στην πειραματική μελέτη υπολογίστηκαν όπως φαίνεται από την παρακάτω εικόνα οι δείκτες NPL- Normal Print Length και NTS- Normal Toe Spread καθώς και οι τιμές EPL- Experimental Print Length και ETS- Experimental Toe Spread, που ήταν απαραίτητα για τον υπολογισμό του δείκτη PFI. Συνεπώς οι μεταβλητές αυτές υπολογίστηκαν τόσο στο χειρουργημένο αλλά και στο φυσιολογικό σκέλος των πειραματοζώων.



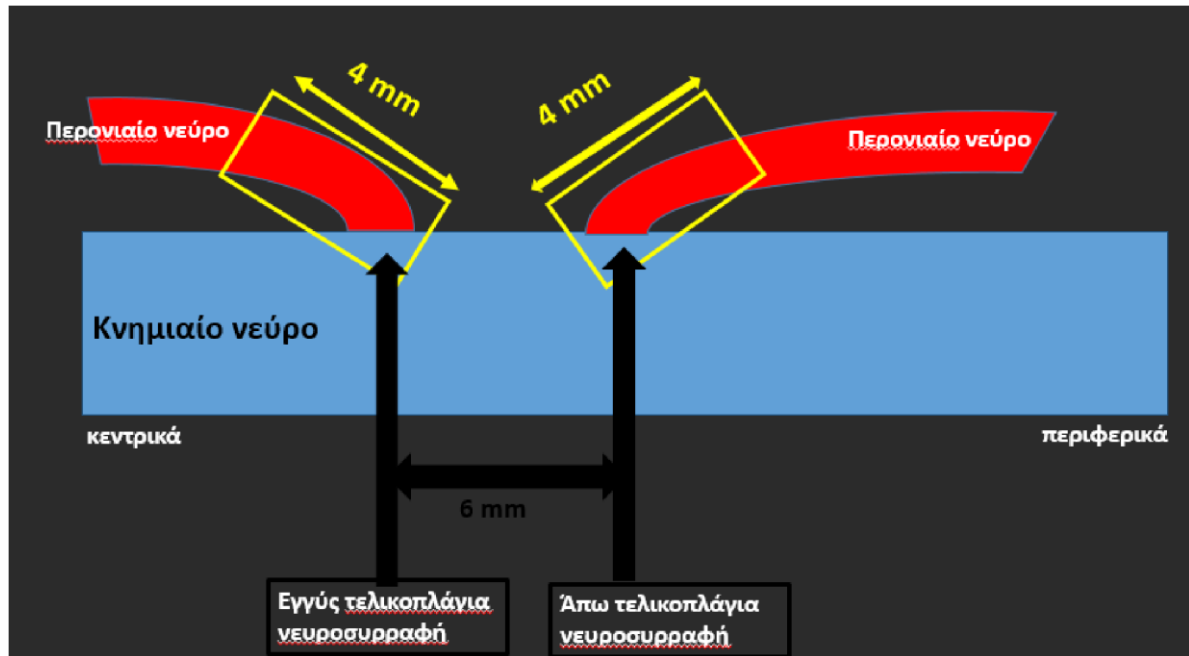
Εικόνα 57. Στις ανωτέρω εικόνες απεικονίζονται οι μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν στα πειραματόζωα όλων των ομάδων σχετικά με την λειτουργική αξιολόγηση του περνιαίου νεύρου. Αναδεικνύονται οι μετρήσεις του μήκους του πέλματος-Print Length (γαλάζιο χρώμα) και της απόστασης μεταξύ 1^{ου} και 5^{ου} δακτύλου- Toe Spread (μαύρο χρώμα) που είναι απαραίτητα για τον υπολογισμό του δείκτη PFI για την χειρουργημένη και την φυσιολογική πλευρά σε 2 διαφορετικές μετρήσεις.

Ιστολογική μελέτη

Κατά την 56^η μετεγχειρητική ημέρα πραγματοποιήθηκε δεύτερη χειρουργική επέμβαση και ευθανασία των πειραματόζωων με την ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση θανατηφόρου δόσης κεταμίνης (200 mg/kg B.Σ., Narketan 10, 100 mg/ml, Vetoquinolag, Switzerland). Κατά τη δεύτερη χειρουργική επέμβαση ακολουθήθηκαν τα βήματα που πραγματοποιήθηκαν και κατά την πρώτη επέμβαση (εισαγωγή στην αναισθησία, ευπρεπισμός, καθαρισμός, αντισηψία, τομή επί της αρχικής τομής, κατά στρώματα παρασκευή των ιστών, λήψη των ιστοτεμαχίων, λήψη φωτογραφιών, σύγκλειση κατά στρώματα). Κατά την επέμβαση αυτή έλαβε χώρα λήψη για ιστολογική μελέτη των παρακάτω τεμαχίων :

- 1) Τεμάχιο από το περνιαίο νεύρο 0,4 cm εγγύτερα της κεντρικής τελικο-πλάγιας συρραφής και 0,4 cm περιφερικότερα της άπω τελικο-πλάγιας συρραφής. Στο ιστοτεμάχιο θα συμπεριλαμβάνονται και οι δυο τελικο-πλάγιες συρραφές.

2) Λήψη ιστοτεμαχίου 1 cm από το ετερόπλευρο υγιές περονιαίο νεύρο(control).



Σχήμα 2. Σχηματική απεικόνιση της λήψης των ιστοτεμαχίων που περιγράφεται στο κείμενο κατά την 56^η ημέρα της θυσίας των πειραματόζώων. Απεικονίζονται οι 2 τελικοπλάγιες νευροσυρραφές (εγγύς και άπω με μαύρα βέλη), η απόσταση των 6 mm μεταξύ των καθώς και εντός των κίτρινων πλαισίων απεικονίζονται τα τμήματα του περονιαίου νεύρου που ελήφθησαν για την ιστολογική μελέτη. Το μήκος των τμημάτων του περονιαίου νεύρου που ελήφθησαν ήταν 4 mm και περιελάμβαναν και τις 2 τελικοπλάγιες νευροσυρραφές.

Ακολούθησε ποιοτική και ποσοτική εκτίμηση με καταμέτρηση των νευραξόνων στα ιστολογικά παρασκευάσματα. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως σχετική συχνότητα ινών της πειραματικής προς την υγιή πλευρά (νευροάξονες / μm^2).

Επίσης έγινε ποιοτική εκτίμηση με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο όσον αφορά την πυκνότητα, τη διάμετρο και το βαθμό μυελίνωσης των αναγεννούμενων νευρικών ινών και την έκταση της ίνωσης σε σχέση πάντα με την υγιή πλευρά.

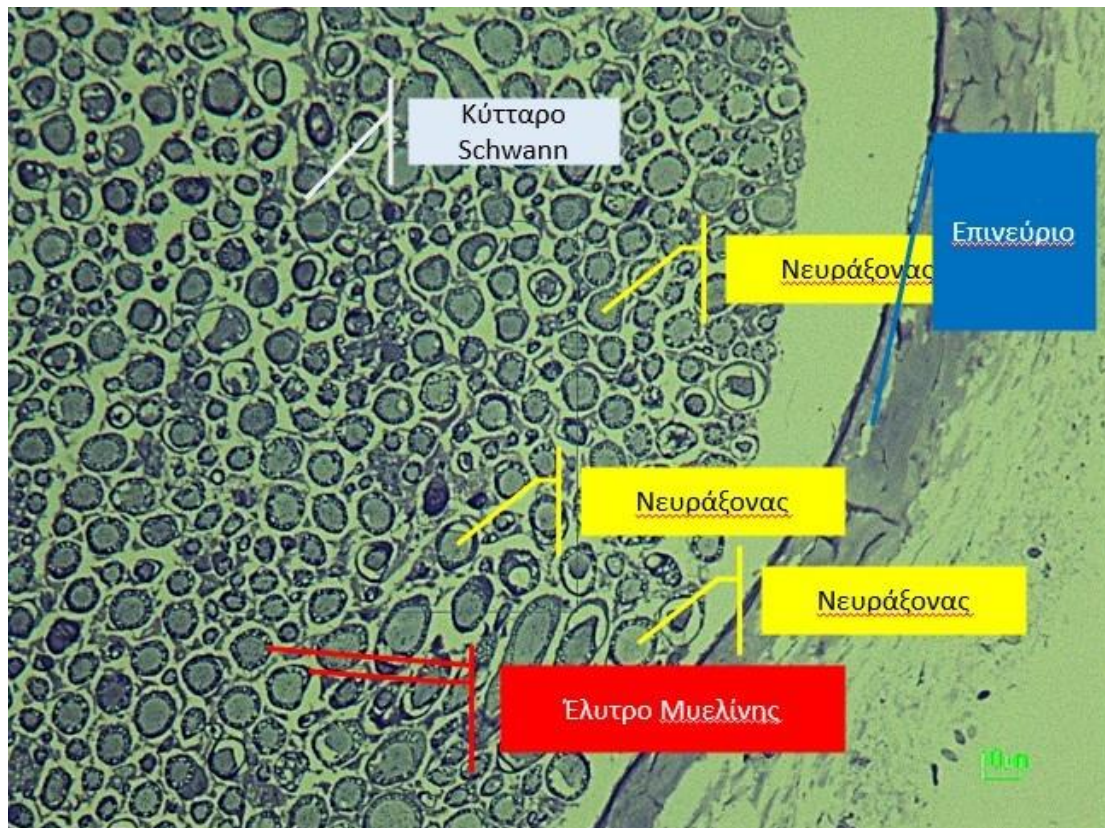
Παρασκευή ιστοτεμαχίων

Η διαδικασία της παρασκευής των ιστοτεμαχίων περιελάμβανε την άμεση μονιμοποίηση σε 2,5 % διάλυμα γλουταραλδεύδης σε 0,1 M Cacodylate Buffer (pH= 7,4) για 4 hr, ξέπλυμα με Cacodylate Buffer x3, επώαση σε διάλυμα τετροξειδίου του οσμίου 1 % για 2 hr (Buffered Osmium Tetroxide OsO₄). Εν συνεχεία ακολουθούσε αφυδάτωση του ιστού με ανιόντα διαλύματα οиноπνεύματος (50 οιν., 700 οιν., 950 οιν. και 1000 οιν.

Ακολουθούσε εγκλεισμός σε ρητίνη. Στη συνέχεια με τη βοήθεια μικροτόμου (Ultracut E, Reichert-Jung, Weiss, Austria) ελήφθησαν τομές πάχους 1 μ m και ακολούθησε χρώση με μπλε τολουιδίνης. Στο σημείο αυτό πραγματοποιούνταν μορφομετρική ανάλυση των ιστοτεμαχίων και εξέταση με οπτικό μικροσκόπιο (Axioscop, Zeiss, Inc, Munich, Germany)



Εικόνα 58. Απεικόνιση του εγκλεισμού των ιστοτεμαχίων σε ρητίνη.



Εικόνα 59. Ιστολογική εικόνα σε μεγέθυνση X400 υγιούς περονιαίου νεύρου πειραματοζώου. Στην εικόνα απεικονίζονται οι νευράξονες (κίτρινο χρώμα), τα έλυτρα μυελίνης (κόκκινο χρώμα), τμήματα του επινευρίου (μπλε χρώμα) και κύτταρα Schwann (λευκό χρώμα). Παρατηρούνται εμμέλαιοι νευράξονες διαφορετικής διαμέτρου και φυσιολογική αρχιτεκτονική και πυκνότητα νευραξόνων.

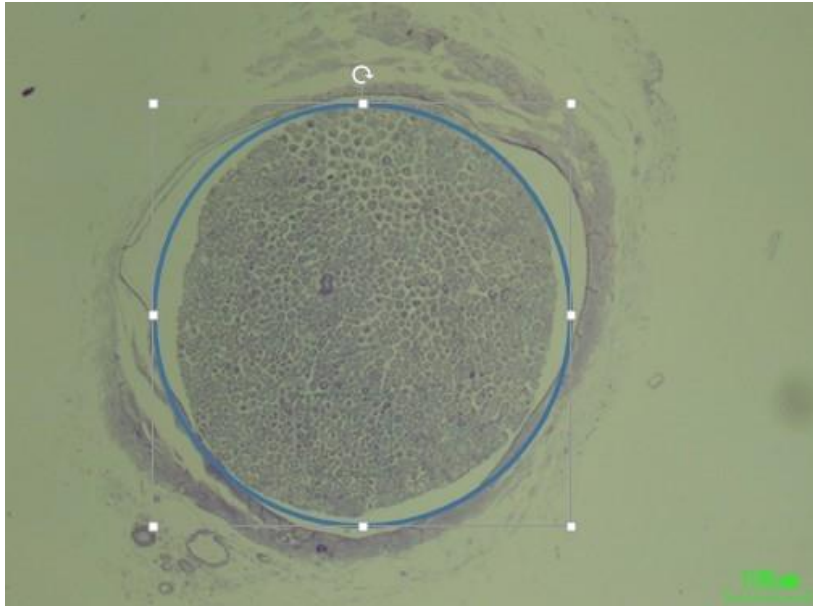
Για τον υπολογισμό της πυκνότητας των νευραξόνων πάρθηκαν οι πιο αντιπροσωπευτικές εικόνες από τα ιστολογικά δείγματα, μετατράπηκαν με την χρήση του λογισμικού Image J (Public Domain, NIH, imagej.nih.gov/ij/) σε ασπρόμαυρες εικόνες (binary) ώστε να απομακρυνθούν από την εικόνα τα αιμοφόρα αγγεία, διάφορες εκφυλισμένες νευρικές ίνες, περιοχές ινώδους συνδετικού ιστού, τυχόν ψευδή στοιχεία (artifacts). Εν συνεχεία γινόταν καταμέτρηση των εμμέλων νευρικών ινών ανά μονάδα επιφάνειας και άρα έκφραση της πυκνότητας των εμμέλων νευρικών ινών (νευράξονες/

mm²). Τα αποτελέσματα της πυκνότητας των εμμέλων νευρικών ινών της πειραματικής πλευράς συσχετίστηκαν με τα αποτελέσματα της υγιούς πλευράς.

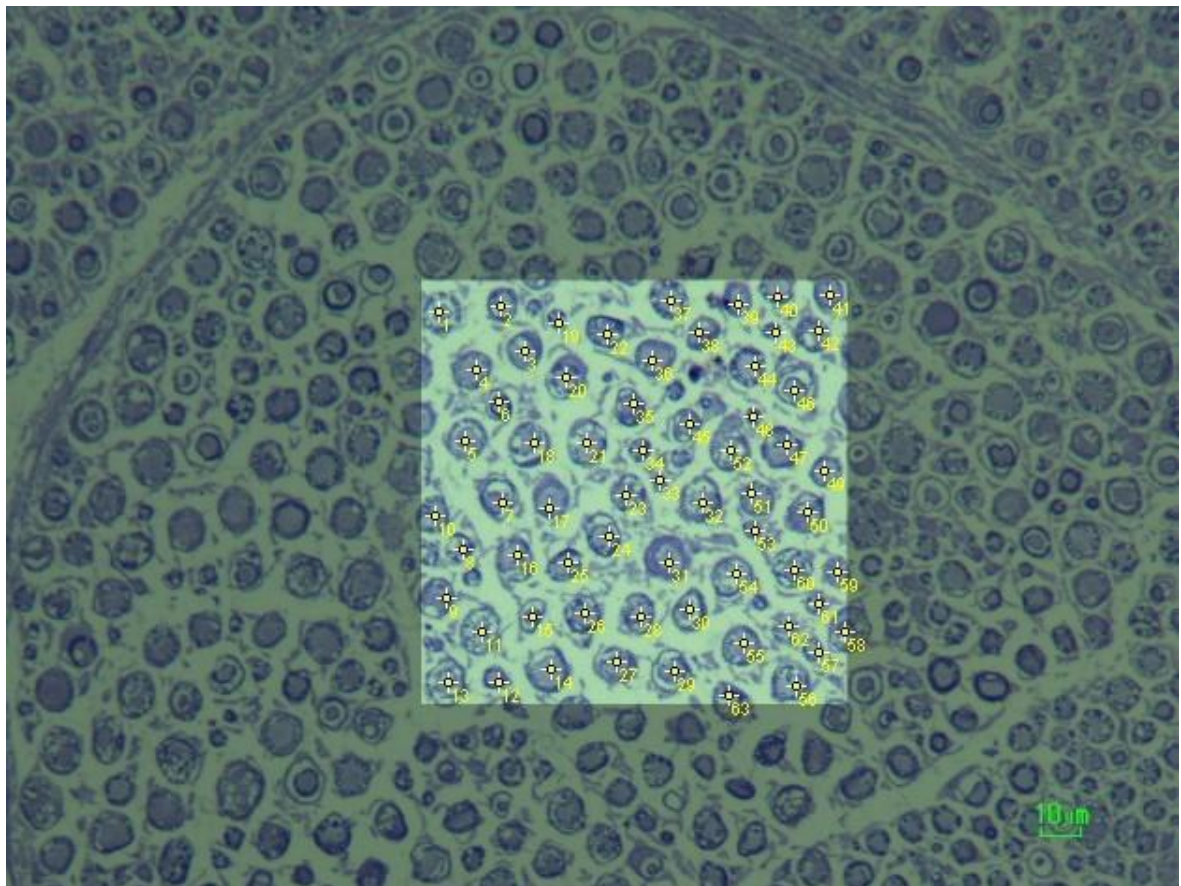
Σε υπερμικροσκοπικό επίπεδο πραγματοποιήθηκε ποιοτική εκτίμηση της δομής των αναγεννούμενων νευρικών ινών, της αρχιτεκτονικής και της πυκνότητάς τους, της διαμέτρου και του βαθμού μυελίνωσης αυτών. Ποιοτική αξιολόγηση πραγματοποιήθηκε και για τον βαθμό της ίνωσης των νευρικών ινών. Η σύγκριση πραγματοποιούνταν πάντα σε σχέση με την υγιή πλευρά.

Αρχικά στα μορφομετρικά χαρακτηριστικά υπολογιζόνταν η συνολική επιφάνεια της νευρικής ίνας σε mm² (fascicle area) οριοθετώντας με τον κέρσορα τα εσωτερικά όρια του επινευρίου. Εν συνεχεία από τον υπολογισμό διαδοχικών επιφανειών του εσωτερικού της νευρικής ίνας, επιλέγονταν οι αντιπροσωπευτικότερες εικόνες, μετατρέπονταν σε ασπρόμαυρη μορφή (binary), αφιρούνταν στοιχεία όπως εκφυλισμένες περιοχές, αγγεία και δόμες που δεν σχετίζονταν με νευράξονες ή μυελίνη, που συχνά αποτελούν συγχυτικό παράγοντα (artifact). Στη συνέχεια υπολογίζονταν με καταμέτρηση ο αριθμός των εμμέλων νευρικών ινών ανά μονάδα επιφάνειας και έτσι εκφραζόνταν η πυκνότητα των νευραξόνων ανά mm².

Η μορφομετρική ανάλυση έγινε τυφλά, από έναν ερευνητή με τη χρήση του οπτικού μικροσκοπίου Zeiss Axioscop microscope (Zeiss, Inc., Munich, Germany) και με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή (Win XP) ο οποίος διέθετε το λογισμικό πρόγραμμα ανάλυσης εικόνας NIH Image (κατασκευασμένο από το U.S. National Institutes of Health και διαθέσιμο στο διαδικτυακό τόπο <http://rsb.info.nih.gov/nihimage/>).



Εικόνα 60. Απεικονίζεται η οριοθέτηση με τον κερσορα του εσωτερικού του επινευρίου (γαλάζιος κύκλος) για τον υπολογισμό της επιφάνειας της νευρικής ίνας.



Εικόνα 61. Απεικονίζεται στάδιο της διαδικασίας κατά την οποία οριοθετείται περιοχή εντός του περονιαίου νεύρου και υπολογισμός-καταμέτρηση των εμμύελων νευραξόνων που αναγνωρίζονται εντός της περιοχής αυτής με τη χρήση του προγράμματος Image J.

Μυϊκό βάρος

Κατά την 56^η μετεγχειρητική ημέρα ο πρόσθιος κνημιαίος μυς τόσο στην πειραματική όσο και στην υγιή πλευρά αφαιρέθηκε με χειρουργική επέμβαση πριν την θανάτωση των πειραματοζώων, ζυγίστηκε και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σαν αναλογία της πειραματικής προς την υγιή πλευρά.

Κατά την χειρουργική επέμβαση της αφαίρεσης του προσθίου κνημιαίου μυός τα πειραματόζωα βρίσκονταν υπό την επίδραση της αναισθησίας από την δεύτερη χειρουργική επέμβαση για τη λήψη των ιστοτεμαχίων στις περιοχές των τελικο-πλάγιων νευροσυρραφών. Πραγματοποιήθηκε επιμήκης τομή στο πρόσθιο έξω τμήμα του δεξιού και του αριστερού κάτω άκρου των επιμύων από την περιοχή του κεντρικού τμήματος της κνήμης μέχρι και κάτωθεν του περιφερικότερου τμήματος αυτής. Η διάνοιξη πραγματοποιήθηκε κατά στρώματα και έγινε αφαίρεση του προσθίου κνημιαίου μυός της πειραματικής και της υγιούς πλευράς μαζί με τον καταφυρικό τένοντα. Στη συνέχεια έλαβε χώρα σύγκλειση του τραύματος με ράμμα Nylon 3-0 και θανάτωση του πειραματοζώου με ενδοπεριτοναϊκή έγχυση θανατηφόρου δόσης κεταμίνης στη συγκέντρωση που αναφέρθηκε ανωτέρω.

Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων

Για την ολοκληρωμένη αξιολόγηση της νευρικής λειτουργίας και άρα της νευρικής αναγέννησης είναι απαραίτητη η εκτίμηση της αισθητικής και της κινητικής λειτουργίας. Στην περίπτωση των επιμύων η εκτίμηση της αισθητικής λειτουργίας των νεύρων των κάτω άκρων είναι εξαιρετικά δύσκολη λόγω του γεγονότος ότι υπάρχει σημαντική επικάλυψη των δερμοτομιών από το σαφηνές νεύρο. Εξαιτίας της παράπλευρης νεύρωσης από το σαφηνές νεύρο δεν είναι εύκολη η αξιολόγηση της αισθητικής λειτουργίας του περνιαίου νεύρου. Εκτός από τον ανατομικό αυτό περιορισμό υπάρχουν επίσης και δυσκολίες από την αδυναμία επαναλήψιμων αισθητικών αντιδράσεων από τα πειραματόζωα σε ίδια ερεθίσματα.

Για τους 2 παραπάνω κύριους λόγους δεν ήταν δυνατή η εξαγωγή αποτελεσμάτων στην μελέτη αυτή που να σχετίζονται με την αισθητική μοίρα των νευρικών δομών και έγινε επικέντρωση της μελέτης στο κινητικό σκέλος της λειτουργικότητας του περνιαίου νεύρου.

Στατιστική ανάλυση

Για την στατιστική αξιολόγηση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα SPSS 21.0 for Windows. Τα δεδομένα από τα αποτελέσματα εισάγονταν εφόσον πληρούσαν συγκεκριμένους μαθηματικούς περιορισμούς. Λόγω της μη κανονικότητας της κατανομής των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκαν μη παραμετρικές μέθοδοι για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων και την εξαγωγή συμπερασμάτων. Πραγματοποιήθηκε

στατιστική ανάλυση στις μεταβολές του δείκτη PFI, στα ιστολογικά δεδομένα που ελήφθησαν από τα ιστοτεμάχια και στις μεταβολές της μάζας του προσθίου κνημιαίου μυός. Χρησιμοποιήθηκαν μη παραμετρικές μέθοδοι για δύο ή διάφορα μη-εξαρτημένα δείγματα κατά KruskalWallis και Mann-Whitney, καθώς και μη παραμετρικές μεθόδους για δύο ή διάφορα εξαρτημένα δείγματα κατά Wilcoxon και Friedman. Το όριο της στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε όταν η τιμή του p ήταν μικρότερη από .05.

PFI

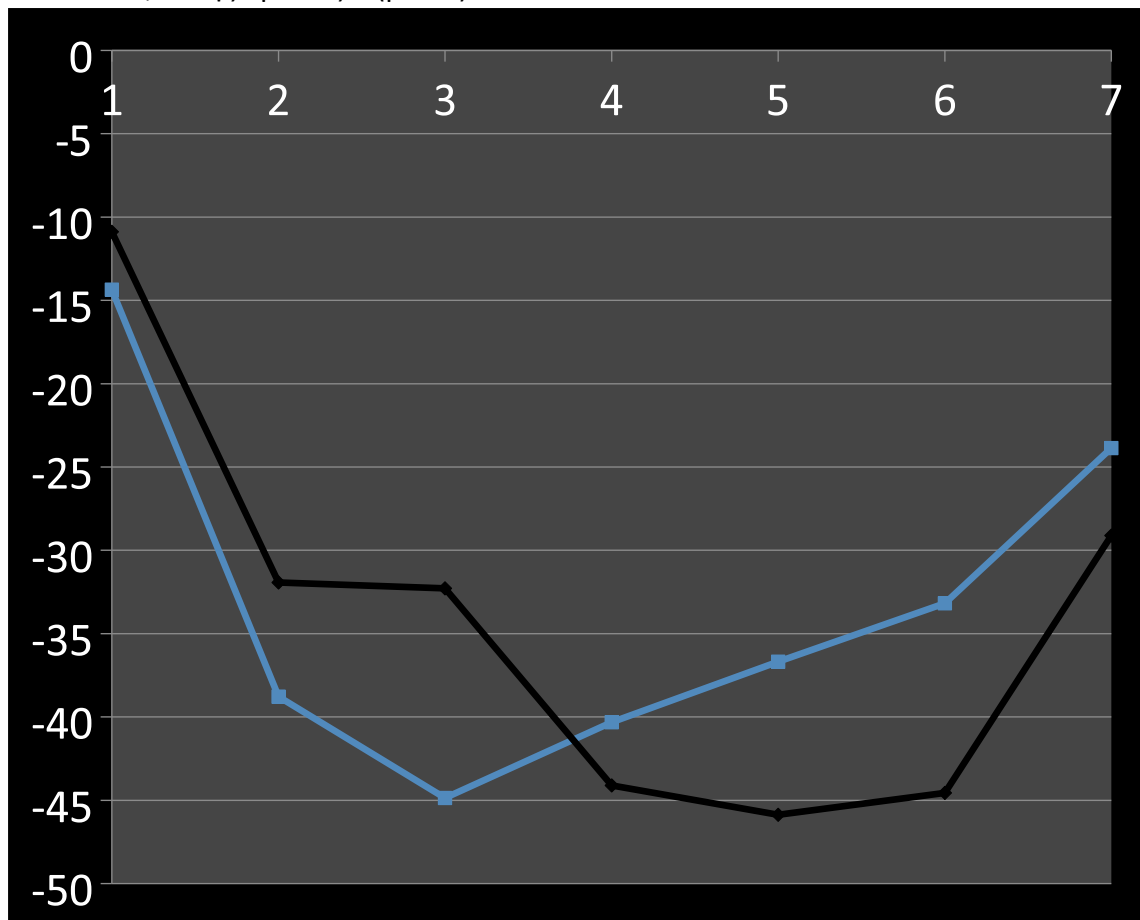
Αποτελέσματα

Στην ομάδα Α παρατηρήθηκε μια συνεχής μείωση του PFI για τις πρώτες 14 ημέρες μετεγχειρητικά (PFI14=-45,866) και μια συνεχής αύξηση από την 14^η μέχρι την 56^η μετεγχειρητική ημέρα (PFI56=-29,109). Στην πειραματική ομάδα με την χορήγηση της ιβουπροφαίνης παρατηρήθηκε μια συνεχής μείωση του PFI για τις πρώτες 5 ημέρες (PFI5=-44,863) και έπειτα μια συνεχής μεγαλύτερη αύξηση από την 5^η μέχρι την 56^η μετεγχειρητική ημέρα (PFI56=-23,86). Οι παρατηρηθείσες διαφορές ήταν στατιστικά σημαντικές ($p<.05$).

	PFI PRE	PFI2	PFI5	PFI7	PFI14	PFI28	PFI56
Group B	-14,357	-38,7847	-44,8638	-40,312	-36,6803	-33,1735	-23,86
Group A	-10,885	-31,9376	-32,2774	-44,1036	-45,8665	-44,5631	-29,1098

Πίνακας 2. Πίνακας όπου αποδίδονται οι τιμές για το δείκτη λειτουργικότητας του περνιαίου νεύρου-PFI για τις ομάδες A και B. Από τα αποτελέσματα παρατηρούμε ότι μέχρι την 5^η μετεγχειρητική ημέρα ο δείκτης PFI είναι μεγαλύτερος για την ομάδα A, αλλά μετά την χρονική αυτή στιγμή αυξάνεται σημαντικά για την ομάδα B που εμφανίζει καλύτερα αποτελέσματα για το PFI την 56^η ημέρα θανάτωσης των επιμύων.

Συγκεκριμένα για την ομάδα A το PFI₅₆= -29,1098, που είναι μικρότερο από την τιμή PFI₅₆= -23,86 της ομάδας B ($p<.05$).



Διάγραμμα 1. Διάγραμμα όπου απεικονίζεται η διακύμανση των τιμών του δείκτη PFI για τις ομάδες A (μαύρη γραμμή) και B (γαλάζια γραμμή). Παρατηρούμε την αρχική μέχρι την 5^η ημέρα καλύτερη πορεία του PFI για την ομάδα A, αλλά και την αλλαγή της διακύμανσης αυτής με τις τελικές τιμές την 56^η ημέρα που αναφέρονται στον ανωτέρω πίνακα,

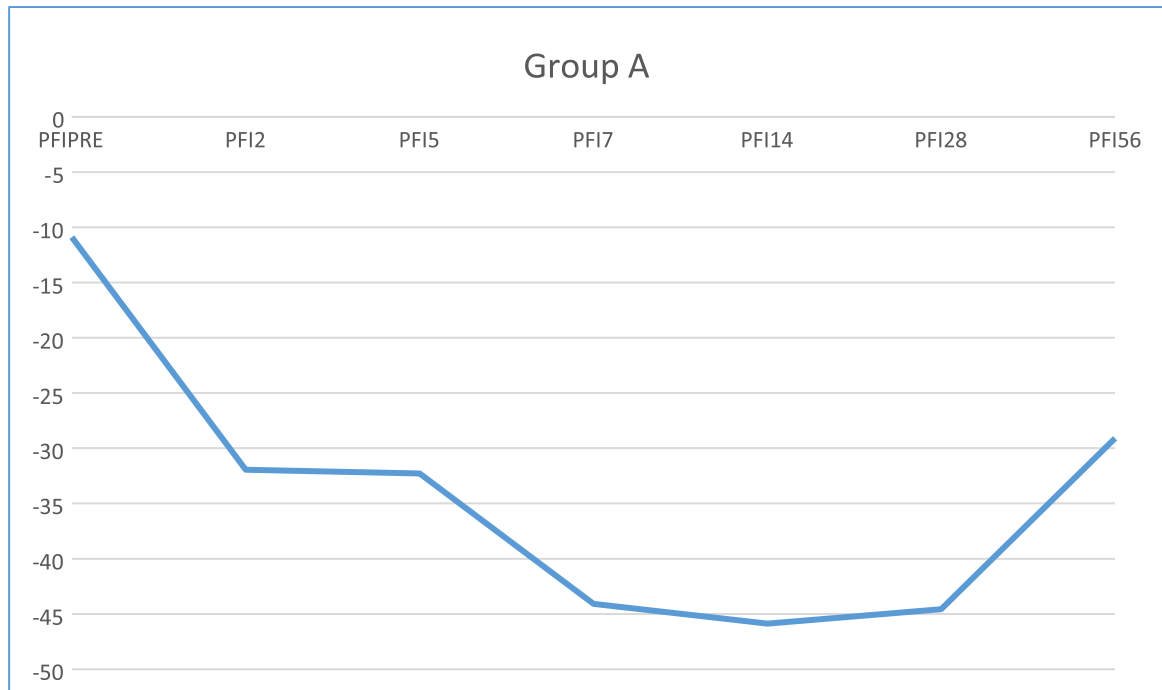
αποδεικνύοντας την καλύτερη κλινική εικόνα των πειραματοζώων της ομάδας Β σε σχέση με την ομάδα Α. Μαύρη απεικόνιση= Ομάδα Α, Γαλάζια απεικόνιση= Ομάδα Β.

	Group A	Group B	Group C	Group D
PFI _{PRE}	-10,885	-14,357	-12,241	-10,412
PFI ₂	-31,9376	-38,7847	-36,485	-35,124
PFI ₅	-32,2774	-44,8638182	-45,813	-42,194
PFI ₇	-44,1036	-40,312	-43,512	-45,508
PFI ₁₄	-45,8665	-36,6803077	-42,253	-46,801
PFI ₂₈	-44,5631	-33,1735385	-41,842	-44,503
PFI ₅₆	-29,1098	-23,86	-28,856	-31,85

Πίνακας 3. Πίνακας όπου αναγράφονται οι τιμές του PFI για τις 4 πειραματικές ομάδες στις διάφορες χρονικές στιγμές αξιολόγησης των αποτελεσμάτων. Παρατηρούμε ότι κατά την ημέρα θανάτωσης των πειραματοζώων η ομάδα Β εμφάνιζε την υψηλότερη τιμή για τον δείκτη PFI (PFI_{B56}= -23,86) σε σχέση με τις άλλες ομάδες αποδεικνύοντας την καλύτερη λειτουργική αποκατάσταση των επιμύων της ομάδας αυτής. (PFI_{A56}= -29,1098, PFI_{C56}= -28,856, PFI_{D56}= -31,85).

Group A	Mean +- SD	Minimum	Maximum
PFI_{PRE}	-11,4773 ± 3,756	-21,045	-1,885
PFI₂	-42,3836 ± 5,345	-51,324	-34,97
PFI₄	-32,2774 ± 4,289	-40,56	-29,476
PFI₇	-44,1036 ± 4,125	-49,873	-30,756
PFI₁₄	-45,8665 ± 3,864	-50,384	-41,284
PFI₂₈	-44,5631 ± 4,097	-49,37	-38,463
PFI₅₆	-29,1098 ± 3,946	-36,745	-17,38

Πίνακας 4. Πίνακας όπου παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του PFI της πειραματικής ομάδας A στις χρονικές στιγμές αξιολόγησης (οι τιμές παρέχονται σαν MO $\pm$ Σταθερή Απόκλιση).

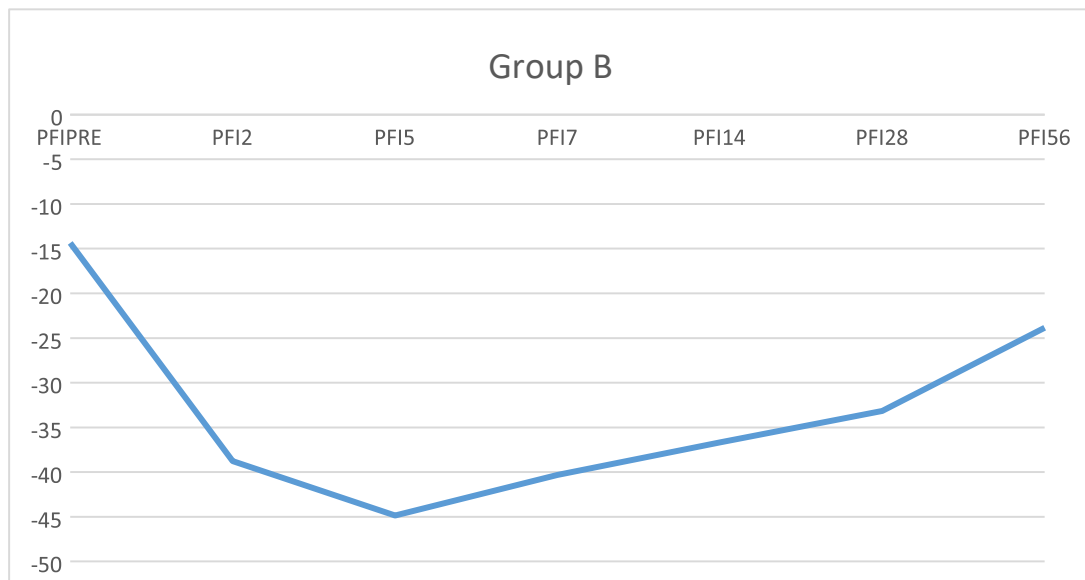


Διάγραμμα 2. Διάγραμμα όπου παρουσιάζεται η διακύμανση του PFI για την ομάδα A στις διάφορες χρονικές στιγμές αξιολόγησης της. Παρατηρούμε ότι κατά την 56^η ημέρα θανάτωσης των πειραματοζώων η τιμή του PFI παρουσιάζει απόκλιση από την προεγχειρητική τιμή (PFI PRE).

Group B	Mean $\pm$ SD	Minimum	Maximum
PFI PRE	-14,357 $\pm$ 3,293	-18,392	-9,376
PFI2	-38,7847 $\pm$ 5,29	-44,485	-36,392

PFI4	-44,8638 ± 5,120	-49,23	-37,291
PFI7	-40,312 ± 4,89	-46,471	-27,487
PFI14	-36,6803 ± 3,981	-41,836	-39,453
PFI28	-33,1735 ± 4,23	-46,21	-23,29
PFI56	-23,86 ± 3,782	-44,721	-22,783

Πίνακας 5. Πίνακας όπου παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του PFI της πειραματικής ομάδας Β στις χρονικές στιγμές αξιολόγησης (οι τιμές παρέχονται σαν ΜΟ +- Σταθερή Απόκλιση).

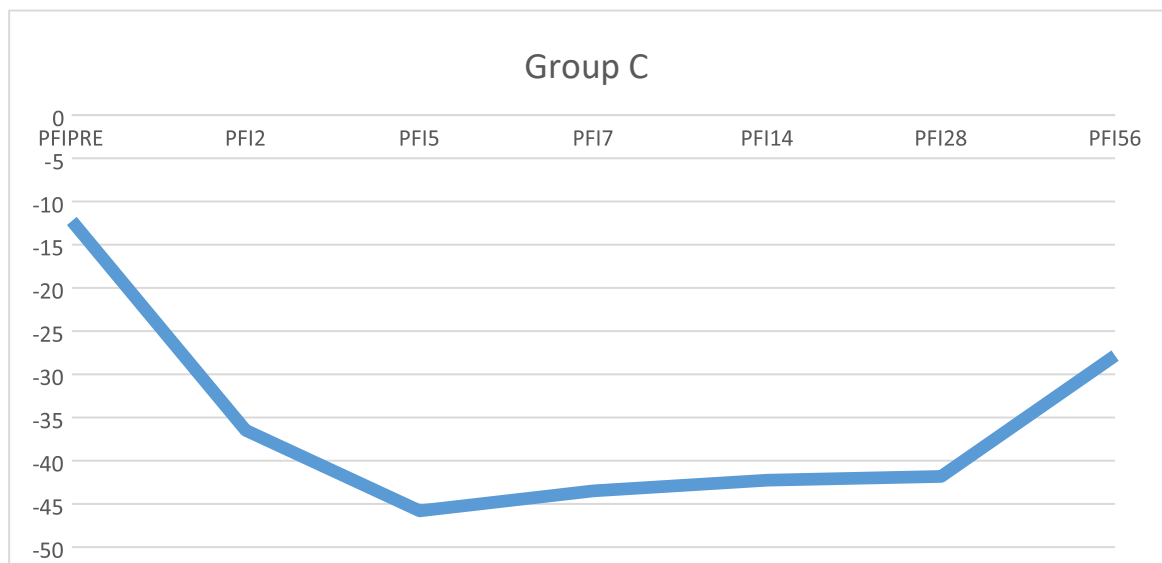


Διάγραμμα 3. Διάγραμμα όπου παρουσιάζεται η διακύμανση του PFI για την ομάδα Β στις διάφορες χρονικές στιγμές αξιολόγησής της.

Group C	Mean +- SD	Minimum	Maximum
PFI PRE	-12,241 ± 3,428	-20,272	-7,347

PFI2	-36,485 ± 5,78	-41,24	-33,283
PFI4	-45,813 ± 5,982	-48,28	-36,198
PFI7	-43,512 ± 5,01	-48,29	-30,23
PFI14	-42,253 ± 3,822	-44,89	-41,82
PFI28	-41,842 ± 4,78	-49,32	-26,49
PFI56	-27,856 ± 3,28	-45,29	-26,38

Πίνακας 6. Πίνακας όπου παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του PFI της πειραματικής ομάδας C στις χρονικές στιγμές αξιολόγησης (οι τιμές παρέχονται σαν MO +- Σταθερή Απόκλιση).

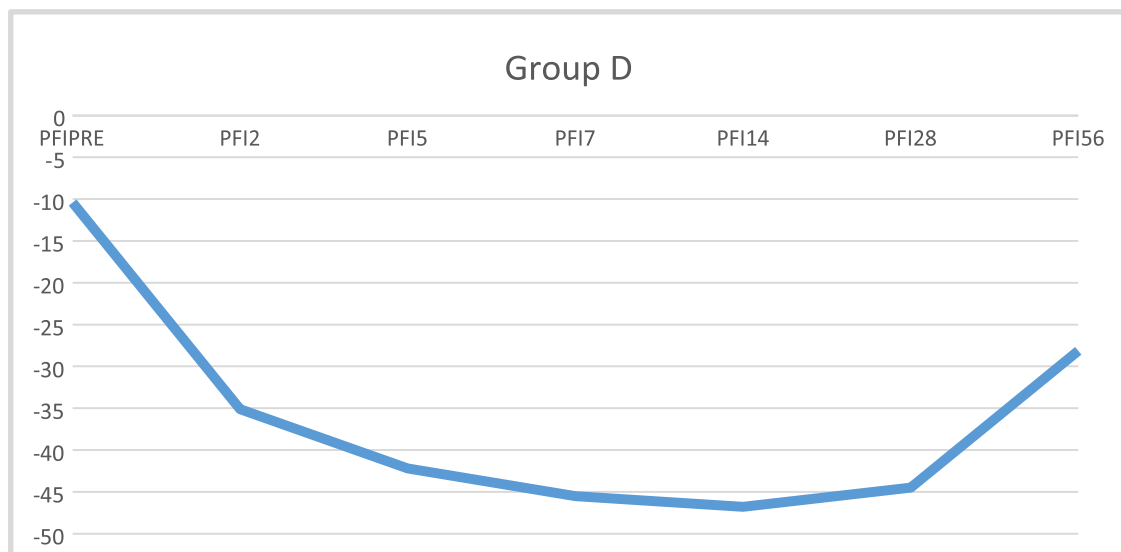


Διάγραμμα 4. Διάγραμμα όπου παρουσιάζεται η διακύμανση του PFI για την ομάδα C στις διάφορες χρονικές στιγμές αξιολόγησής της.

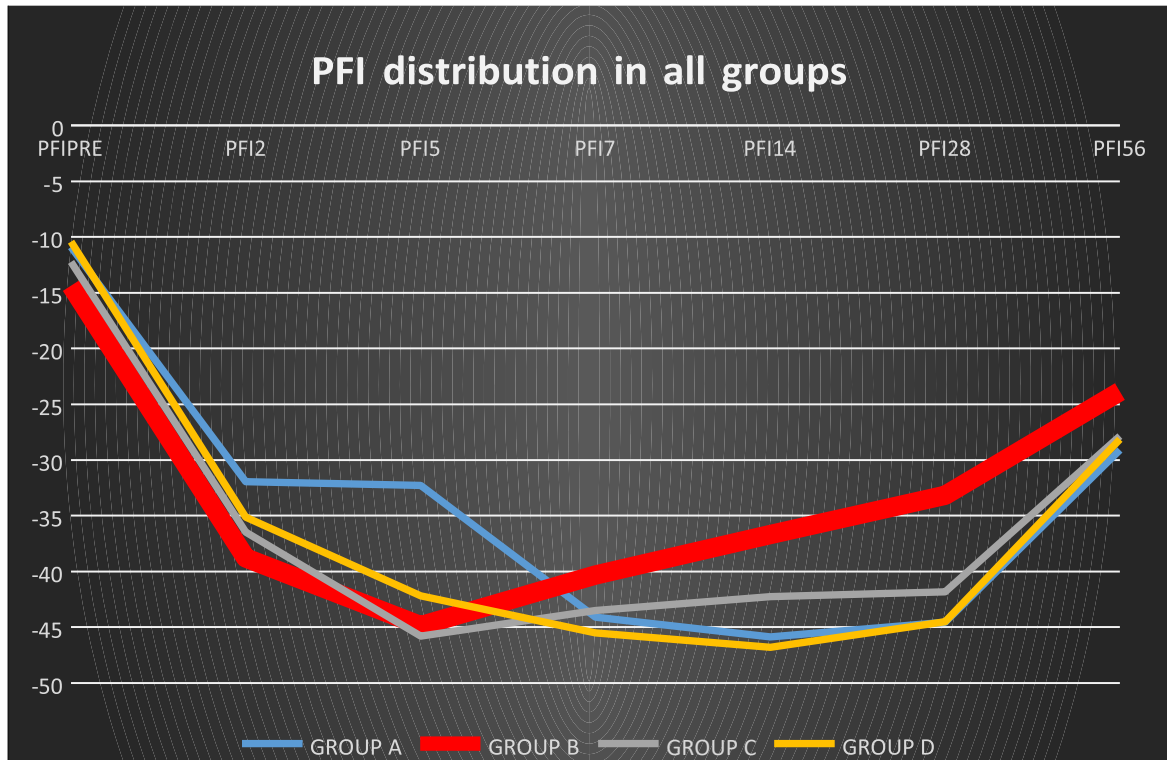
Group D	Mean +- SD	Minimum	Maximum
PFI PRE	-10,412 ± 4,02	-19,34	-3,85
PFI2	-35,124 ± 4,97	-50,34	-34,67

PFI4	-42,194 ± 5,21	-42,34	-31,34
PFI7	-45,508 ± 5,23	-48,23	-31,28
PFI14	-46,801 ± 4,89	-47,45	-40,61
PFI28	-44,503 ± 3,98	-49,28	-31,28
PFI56	-28,15 ± 4,283	-46,29	-27,012

Πίνακας 7. Πίνακας όπου παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του PFI της πειραματικής ομάδας D στις χρονικές στιγμές αξιολόγησης (οι τιμές παρέχονται σαν MO +- Σταθερή Απόκλιση).



Διάγραμμα 5. Διάγραμμα όπου παρουσιάζεται η διακύμανση του PFI για την ομάδα D στις διάφορες χρονικές στιγμές αξιολόγησής της.



Διάγραμμα 6. Διάγραμμα όπου απεικονίζεται σχηματικά η διακύμανση της τιμής του PFI για τις 4 πειραματικές ομάδες στα διάφορα στάδια της αξιολόγησής τους. Από την διακύμανση παρατηρούμε ότι στις ομάδες B, C και D στις οποίες έγινε χορήγηση ΜΣΑΦ εμφανίζεται μια συνεχής μείωση του PFI τουλάχιστον για τις πρώτες 5 ημέρες μετά την χειρουργική επέμβαση της διπλής τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής, και σταδιακή αυξησή του για τις επόμενες ημέρες μέχρι και την 56^η ημέρα στην οποία η τιμή του PFI είναι μεγαλύτερη για την ομάδα B (κόκκινη γραμμή).

Από την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων του δείκτη λειτουργικότητας του περνιαίου νεύρου (PFI) προκύπτει ότι η πειραματική ομάδα στην οποία χρησιμοποιήθηκε το ΜΣΑΦ ιβουπροφαίνη εμφάνισε καλύτερα αποτελέσματα. Συγκεκριμένα, τα πειραματόζωα στα οποία χρησιμοποιήθηκε το ΜΣΑΦ ιβουπροφαίνη εμφάνισαν υψηλότερο PFI την 56^η ημέρα (PFI56= -27,86) σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες (η ομάδα ελέγχου εμφάνισε PFI56=-

29, τα πειραματόζωα στα οποία χορηγήθηκε ναπροξένη εμφάνισαν $PFI_{56}=28,856$ και η τιμή του PFI την 56^η ημέρα στην ομάδα με την προκλητή βλάβη στο νεύρο δότη εμφάνισαν $PFI_{56}=-31,85$). Ο δείκτης εκτίμησης της λειτουργικής ικανότητας του περονιαίου νεύρου εμφανίστηκε βελτιωμένος στην πειραματική ομάδα Β όπου και χορηγήθηκε το ΜΣΑΦ ιβουπροφαίνη, γεγονός που δεν προέκυψε στην πειραματική ομάδα Γ και Δ. Από την στατιστική επεξεργασία των τιμών του PFI προέκυψε ότι οι διαφορές στις τιμές ήταν στατιστικά σημαντικές ($p<.05$).

Από την κλινική αυτή εκτίμηση των πειραματικών ομάδων φαίνεται ότι η χρήση της ιβουπροφαίνης βελτιώνει την περιφερική νευρική αναγέννηση καθόσον τα πειραματόζωα στα οποία χρησιμοποιήθηκε η ουσία αυτή εμφάνισαν βελτιωμένη κλινική εικόνα όσον αφορά τη λειτουργία του περονιαίου νεύρου σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες.

Αξίζει να αναφερθεί ότι κατά την αρχική περίοδο παρατηρείται μια μεγαλύτερη μείωση για τις ομάδες στις οποίες χορηγήθηκαν τα ΜΣΑΦ (Β και Γ) σε σχέση με τις άλλες ομάδες. Στις ομάδες αυτές όμως μετά την αρχική αυτή φάση παρατηρείται μια σταδιακή αυξανόμενη αύξηση του PFI (περισσότερο για την ομάδα Β) μέχρι και την ημέρα θανάτωσης των πειραματοζώων. Από τα κλινικά αυτά ευρήματα διαφαίνεται μια σχέση μεταξύ της αρχικής νευρικής αναγεννητικής ικανότητας του περονιαίου νεύρου και της φλεγμονώδους διαδικασίας που παρατηρείται στην περιοχή τραυματισμού του περιφερικού νεύρου. Στις ομάδες που χορηγήθηκαν τα ΜΣΑΦ (Β και Γ) επειδή υπήρχε περιορισμός της φλεγμονώδους διαδικασίας αρχικά παρατηρείται μεγαλύτερη έκπτωση της νευρικής λειτουργίας (του κινητικού σκέλους του περονιαίου νεύρου) κατά την αρχική φάση η οποία όμως βελτιώνεται αργότερα.

Κατά την τελική χρονική φάση αξιολόγησης των πειραματοζώων μόνο μεταξύ της ομάδας Β φαίνεται να παρατηρούνται κλινικά και στατιστικά σημαντικές διαφορές με την χορήγηση του ΜΣΑΦ ιβουπροφαίνη. Η άλλη ουσία που ανήκει στην ίδια γενική κατηγορία φαρμάκων όπως είναι τα ΜΣΑΦ (η ναπροξένη) δεν φαίνεται να έχει τα ίδια αποτελέσματα με την ιβουπροφαίνη στην περιφερική νευρική αναγέννηση.

Σύγκριση ομάδας ελέγχου με ομάδα Β

Από την σύγκριση της ομάδας ελέγχου με την ομάδα Β στην οποία χρησιμοποιήθηκε το ΜΣΑΦ ιβουπροφαίνη για το οποίο είχε διατυπωθεί αρχικά η υπόθεση ότι η χρήση του μπορεί να ευοδώνει την περιφερική νευρική αναγέννηση, παρατηρούμε ότι κλινικά φαίνεται ότι σε στατιστικά σημαντικό βαθμό η κινητική λειτουργία του περνιαίου νεύρου εμφανίζεται βελτιωμένη σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($PFI_{56} = -29,1098$ για την ομάδα ελέγχου σε σχέση με $PFI_{56} = -27,86$ για την ομάδα Β). Από την αύξηση αυτή του PFI που παρατηρείται στην ομάδα Β όπου έχει χορηγηθεί ιβουπροφαίνη στα πειραματόζωα, παρουσιάζεται ότι το ΜΣΑΦ αυτό δρα ευεργετικά στην αποκατάσταση μετά από νευρική βλάβη στο ΠΝΣ. Συνεπώς με την χρήση της ιβουπροφαίνης στην προτεινόμενη δόση και για το προτεινόμενο χρονικό διάστημα χορήγησης παρατηρείται μεγαλύτερη ικανότητα των νευραξόνων του ΠΝΣ για αναγέννηση και άρα για καλύτερο λειτουργικό αποτέλεσμα για τον οργανισμό.

Κατά την αρχική φάση των πρώτων 7 ημερών παρατηρείται μια συνεχόμενη μείωση του PFI στην ομάδα Β που δεν παρατηρείται για όλο το χρονικό αυτό διάστημα στην ομάδα ελέγχου. Το γεγονός αυτό μπορεί να μας οδηγήσει στο συμπέρασμα ότι στην ομάδα Β

λόγω της δράσης του ΜΣΑΦ, η απουσία της διαδικασίας της φλεγμονής «καθυστερεί» τις διαδικασίες της περιφερικής νευρικής αναγέννησης τουλάχιστον κατά την αρχική φάση. Κατά το μετέπειτα χρονικό διάστημα που η ευεργετική δράση του ΜΣΑΦ στις ανασταλτικές διαδικασίες της περιφερικής νευρικής αναγέννησης υπερνικά την αντιφλεγμονώδη δράση της ουσίας, παρατηρείται μια συνεχής αύξηση του PFI και άρα της βελτίωσης της νευρικής λειτουργίας με το φάρμακο αυτό μέχρι και την 56^η ημέρα της θανάτωσης των πειραματόζων.

Σύγκριση της ομάδας ελέγχου με την ομάδα Γ

Από τη σύγκριση της ομάδας ελέγχου με την ομάδα Γ κατά την οποία το ΜΣΑΦ ναπροξένη χορηγήθηκε στα πειραματόζωα, παρατηρείται ότι η τελική τιμή του PFI την 56^η ημέρα μετά την διπλή τελικο-πλάγια νευροσυρραφή δεν διαφέρει σε τόσο μεγάλο βαθμό όσο στην ομάδα Β ($PFI_{56} = -27,856$ για την ομάδα Γ και $PFI_{56} = 29,1098$ για την ομάδα ελέγχου). Λόγω της χρήσης μιας αντιφλεγμονώδους ουσίας (ναπροξένη) παρατηρείται και στην περίπτωση αυτή η αρχική μεγαλύτερη μείωση του PFI κατά την πρώτη εβδομάδα σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, και η μετά την εβδομάδα αύξηση του PFI με την κατάληξη την 56^η ημέρα στην τιμή $-27,856$. Η τιμή αυτή είναι μεγαλύτερη από την ομάδα ελέγχου χωρίς όμως οι δυο τιμές να διαφέρουν σε βαθμό στατιστικά σημαντικό ($p > .05$). Από την κλινική αξιολόγηση του δείκτη λειτουργικής ικανότητας του περονιαίου νεύρου προκύπτει ότι με την χρήση

του ΜΣΑΦ ναπροξένης στα πειραματόζωα δεν παρατηρήθηκε σημαντική κλινικά και στατιστικά μεταβολή-αύξηση του PFI.

Η ναπροξένη δρα με διαφορετικό τρόπο από την ιβουπροφαίνη, γεγονός που επηρεάζει τη δράση της ουσίας αυτής στα περιφερικά νεύρα. Η ναπροξένη δεν φαίνεται να δρα πάνω στην RhoA, όπως η ιβουπροφαίνη, με αποτέλεσμα να μην παρατηρείται αυτή η ανασταλτική δράση πάνω στις αρνητικές επιδράσεις του μορίου της RhoA στην περιφερική νευρική αναγέννηση.

Σύγκριση της ομάδας ελέγχου με την ομάδα Δ

Στην ομάδα Δ όπως περιγράφεται και στη μεθοδολογία της μελέτης αυτής πραγματοποιήθηκε διπλή τελικο-πλάγια νευροσυρραφή του περονιαίου νεύρου του πειραματοζώου στο κνημιαίο νεύρο, χορήγηση του ΜΣΑΦ ιβουπροφαίνη υποδορίως σε δόση 60 mg/kg/day για 7 μέρες με την πρώτη δόση να χορηγείται 1 ώρα μετά το χειρουργείο και με πραγματοποίηση νευρικής βλάβης στο κνημιαίο νεύρο με απολίνωση[8-0 Nylon ράμμα] 5 mm κεφαλικά της περιφερικής τελικοπλάγιας συρραφής. Από τη σύγκριση των αποτελεσμάτων για το PFI την 56^η ημέρα μετά την επέμβαση δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές κλινικά και στατιστικά ($p > .05$) διαφορές μεταξύ των 2 ομάδων. Λόγω της χρήσης του ΜΣΑΦ παρατηρείται η ίδια διακύμανση του PFI με την αρχική μεγαλύτερη μείωση για την ομάδα Δ και τη σταδιακή αύξηση μετά το διάστημα αυτό χωρίς ωστόσο να φθάνει την τελική τιμή της ομάδας Β όπου

Σύγκριση του δείκτη λειτουργικής ικανότητας του περονιαίου νεύρου μεταξύ των ομάδων

δεν πραγματοποιήθηκε νευρική βλάβη στο νεύρο δότη. Από τη σύγκριση των τιμών παρατηρούμε ότι λόγω της πρόκλησης νευρικής βλάβης στο νεύρο δότη δεν εμφανίζονται τα ίδια αποτελέσματα στην τελική κλινική αξιολόγηση. Συνεπώς η νευρική βλάβη που προκαλείται με συμπίεση στο νεύρο δότη περιορίζει κατά πολύ το τελικό αποτέλεσμα της νευρικής αναγέννησης στο ΠΝΣ, τονίζοντας την αναγκαιότητα ύπαρξης υγιούς νεύρου δότη για την επιτυχημένη νευρική αναγέννηση.

Μεταξύ των 4 ομάδων της μελέτης παρατηρούνται διαφορές όσον αφορά το PFI. Παρατηρούμε ότι η τιμή του PFI την 56^η ημέρα θανάτωσης των πειραματοζώων είναι μεγαλύτερη για την ομάδα Β που χορηγήθηκε το ΜΣΑΦ ιβουπροφαίνη σε σχέση με τις άλλες ομάδες (-23,86 για την ομάδα Β σε σχέση με -29,1098 για την ομάδα Α, -28,856 για την ομάδα Γ και -31,85 για την ομάδα Δ). Παρατηρούμε δηλαδή ότι στα πειραματόζωα στα οποία χορηγήθηκε ιβουπροφαίνη και δεν πραγματοποιήθηκε βλάβη στο νεύρο δότη η λειτουργική αποκατάσταση ήταν καλύτερη σε σχέση με τις άλλες ομάδες. Μέσω του μηχανισμού δράσης της και της αναστολής των ανασταλτικών διαδικασιών της περιφερικής νευρικής αναγέννησης η ιβουπροφαίνη

καταφέρνει να ενισχύσει την περιφερική νευρική αναγέννηση στα πειραματόζωα, γεγονός που εμφανίζεται με τη βελτιωμένη λειτουργία του περνιαίου νεύρου τους. Στην ομάδα Γ που χορηγήθηκε το ΜΣΑΦ ναπροξένη δεν παρατηρήθηκαν τα ίδια αποτελέσματα στη αποκατάσταση της λειτουργίας του περνιαίου νεύρου. Η ναπροξένη δρα με διαφορετικό μηχανισμό σε σχέση με την ιβουπροφαίνη και δεν έχει βρεθεί ότι παρεμβαίνει στα μόρια της αναστολής της νευρικής αναγέννησης με αποτέλεσμα να μην επιδρά καθόλου στο μονοπάτι αυτό και άρα να μην εμφανίζει ευεργετικές επιδράσεις στην νευρική αποκατάσταση.

Στην ομάδα Δ όπου χορηγήθηκε ιβουπροφαίνη στα πειραματόζωα σαν την ομάδα Β θα ανέμενε κάποιος θετικά αποτελέσματα στην λειτουργική αποκατάσταση του περνιαίου νεύρου. Στην ομάδα Δ όμως πραγματοποιήθηκε και νευρική βλάβη στο νεύρο δότη-κνημιαίο νεύρο. Το γεγονός αυτό φαίνεται ότι επηρεάζει σημαντικά τη δυνατότητα περιφερικής νευρικής αναγέννησης καθόσον στην ομάδα Δ οι τελικές τιμές του PFI δεν ήταν τόσο υψηλές όσο οι τιμές στην ομάδα Β. Συνεπώς ο βαθμός επανανεύρωσης των πειραματοζώων της ομάδας αυτής δεν ήταν το ίδιο ικανοποιητικός με αυτόν της ομάδας Β παρότι στις 2 ομάδες χορηγήθηκε το ΜΣΑΦ ιβουπροφαίνη.

Εκτίμηση μυικού βάρους προσθίου κνημιαίου μυός

Έχει βρεθεί ότι στους επίμυες το περνιαίο νεύρο είναι υπεύθυνο για την νεύρωση του προσθίου κνημιαίου μυός και του μακρού εκτείνοντα τους δακτύλους. Είναι γνωστό ότι η νευρική βλάβη προκαλεί αισθητικού και κινητικού τύπου διαταραχές στα περιφερικά όργανα στόχους στα οποία χορηγεί νεύρωση (μυικές ομάδες, δερμοτόμια, κτλ). Η νευρική βλάβη έχει σαν αποτέλεσμα την ατροφία των μυικών ομάδων που νευρώνει γεγονός που εκτός από τις ανατομικές μεταβολές (μείωση του μεγέθους της μυικής ομάδας, μεταβολές στην οργάνωση των μυικών ινών), επιφέρει και κλινικές αλλαγές στη λειτουργία των μυικών αυτών ομάδων ενώ ο βαθμός της ατροφίας σχετίζεται με τον βαθμό της απονεύρωσης.

Την ημέρα θανάτωσης των πειραματόζωνων (56^η ημέρα) πραγματοποιούνταν αφαίρεση του προσθίου κνημιαίου μυός από την πειραματική αλλά και από την υγιή πλευρά με χειρουργική επέμβαση όπως περιγράφηκε ανωτέρω. Η αφαίρεση του προσθίου κνημιαίου μυός γινόταν σε όλο του το μήκος μαζί με τον καταφυτικό του τένοντα. Με ζυγαριά ακριβείας (ακρίβεια 2 δεκαδικών ψηφίων) ζυγίζονταν ο πρόσθιος κνημιαίος μυς. Εν συνεχεία το αποτέλεσμα δεν εκφραζόταν σαν απόλυτη τιμή αλλά σαν λόγος της πειραματικής προς την υγιή πλευρά ($M = \text{experimental}$

anterior tibialis weight/ normal anterior tibialis weight).

Μετά τη χρήση των μυικών τμημάτων για την συσχέτιση των μυικών μαζών, οι μύες τοποθετούνταν σε διάλυμα φορμαλδεύδης 10% για μονιμοποίηση και επίσης σταθεροποιούνταν με την χρήση παραφίνης.

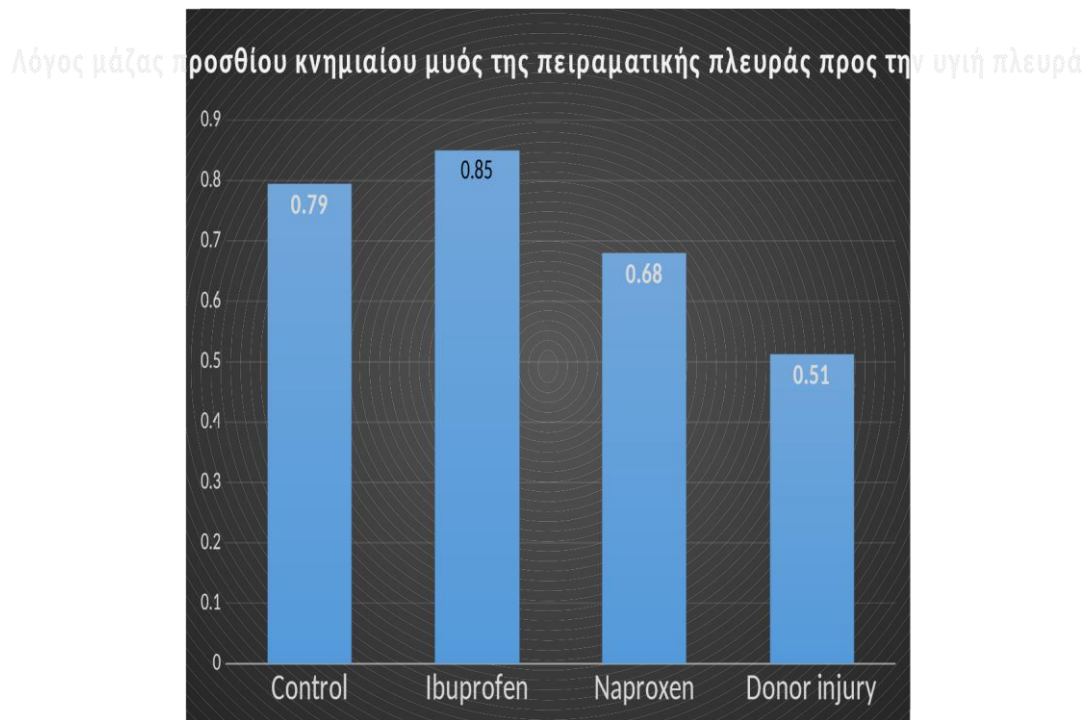
Ομάδα	Mean	Minimum	Maximum
Group A	0,7942 ± 0,0845	0,735	0,894
Group B	0,849 ± 0,0873	0,763	0,942
Group C	0,6791 ± 0,0975	0,674	0,743
Group D	0,512 ± 0,076	0,428	0,526

Πίνακας 8. Πίνακας όπου απεικονίζεται η μέση τιμή του προσθίου κνημιαίου μυός της πειραματικής πλευράς προς την υγιή πλευρά εκφρασμένος σαν λόγος των 2 τιμών, με τις ελάχιστες και τις μέγιστες τιμές για τις 4 πειραματικές ομάδες.

Παραθέτονται οι μέσες τιμές +- Σταθερές Αποκλίσεις, η μέγιστη και η ελάχιστη τιμή.

Παρατηρούμε ότι ο λόγος του προσθίου κνημιαίου μυός στην περίπτωση των πειραματοζώων της ομάδας B είναι μεγαλύτερος σε σχέση με τις άλλες ομάδες (MB=0,849 έναντι MA=0,7942, MC=0,6791 και MD=0,512). Παρατηρούμε λοιπόν ότι

στην ομάδα Β η μάζα του προσθίου κνημιαίου είναι μεγαλύτερη σε σχέση με τις άλλες ομάδες.



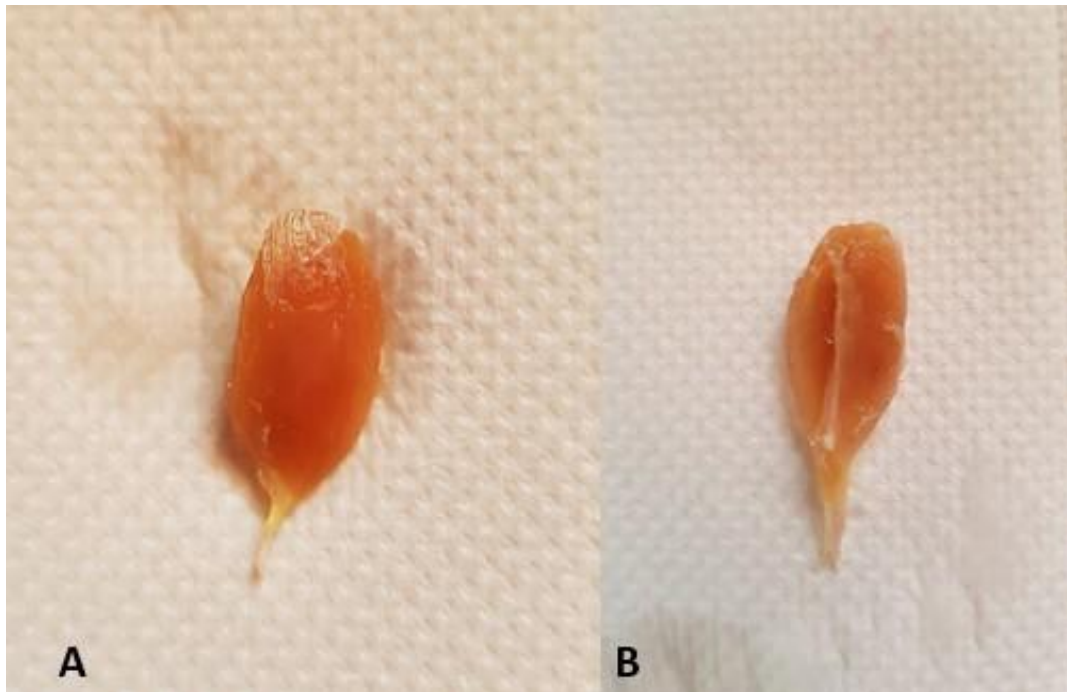
Διάγραμμα 7. Διάγραμμα όπου απεικονίζονται οι τιμές του παραπάνω πίνακα, κατά το οποίο παρατηρείται η μεγαλύτερη τιμή του λόγου της μάζας του προσθίου κνημιαίου μύος της ομάδας Β σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες.

Σύγκριση ομάδων

Ομάδα Α

Από τις μετρήσεις των πειραματοζώων της ομάδας Α ο λόγος που προέκυψε για την πειραματική προς την υγιή πλευρά του προσθίου κνημιαίου ήταν 0,7942.

Συγκεκριμένα ο λόγος του προσθίου κνημιαίου της πειραματικής πλευράς προς την υγιή πλευρά για την ομάδα A στην οποία δεν χορηγήθηκε κάποια φαρμακευτική ουσία ήταν $0,7942 \pm 0,0845$ (Mean $\pm$ SD). Η μέγιστη τιμή που παρατηρήθηκε ήταν 0,894, τιμή που είναι αρκετά υψηλή. Το αποτέλεσμα αυτό βρίσκεται σε ακολουθία επίσης με την μακροσκοπική απεικόνιση του προσθίου κνημιαίου μυός, κατά την οποία η διαφορά στο μέγεθος και τον όγκο του προσθίου κνημιαίου μυός από την πειραματική σε σχέση με την υγιή πλευρά είναι πολύ μικρή. Καθόσον λοιπόν βλέπουμε ότι μακροσκοπικά δεν παρατηρούνται μεγάλες διαφορές μεταξύ των 2 πλευρών φαίνεται ότι μετά από τη διπλή τελικο-πλάγια νευροσυρραφή του περονιαίου νεύρου στο κνημιαίο νεύρο ο βαθμός απονεύρωσης που παρατηρείται δεν είναι ιδιαίτερα μεγάλος.

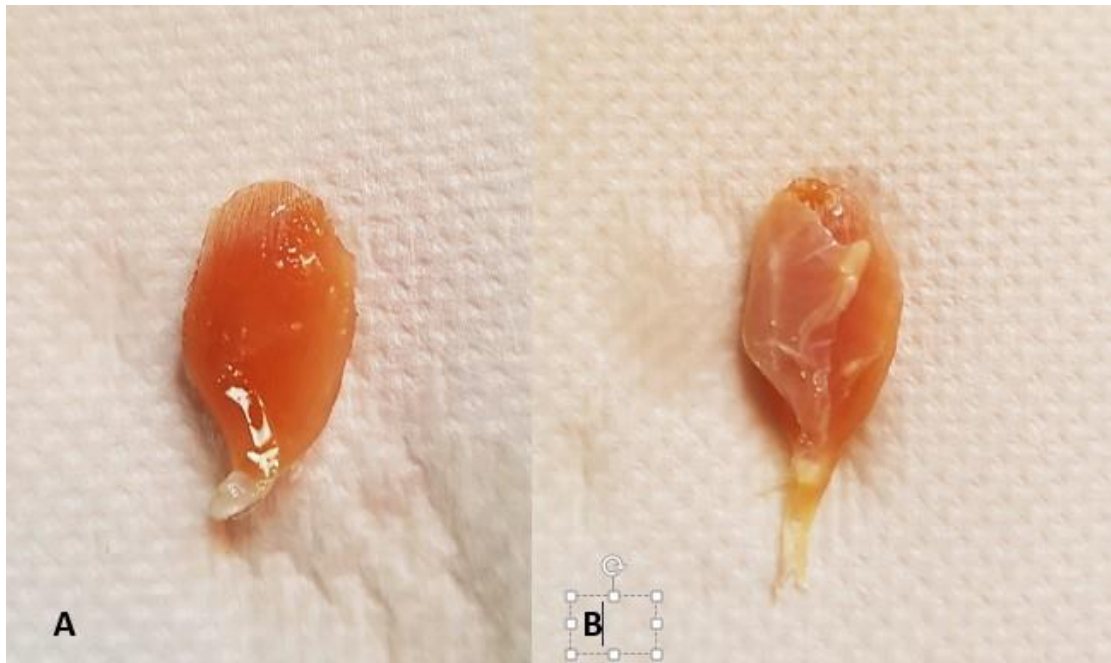


Εικόνα 62. A) Εικόνα του προσθίου κνημιαίου μυός της υγιούς πλευράς από πειραματόζωο της ομάδας A, B) Εικόνα του προσθίου κνημιαίου μυός της

πειραματικής πλευράς από πειραματόζωο της ομάδας Α. Παρατηρούμε τη μείωση του μεγέθους του προσθίου κνημιαίου στην πειραματική πλευρά του επίμυος.

Ομάδα Β

Από τις μετρήσεις των τιμών της μάζας του προσθίου κνημιαίου στην πειραματική και την υγιή πλευρά στην ομάδα Β όπου χορηγήθηκε το ΜΣΑΦ ιβουπροφαίνη η μέση τιμή του λόγου που παρατηρήθηκε ήταν 0,849. Η μέση τιμή με τη σταθερή απόκλιση ήταν $0,849 \pm 0,0873$ (Mean $\pm$ Standard Deviation). Η μέγιστη τιμή του λόγου που παρατηρήθηκε ήταν 0,942, τιμή που προσεγγίζει τη μονάδα και άρα την τιμή της μάζας του προσθίου κνημιαίου μυός στη φυσιολογική πλευρά. Από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < .05$) μεταξύ της ομάδας Β και της ομάδας Α όπου $p = 0,042$ και μεταξύ της ομάδας Β και της ομάδας Γ όπου $p = 0,044$. Δεν φαίνεται να παρατηρούνται στατιστικά σημαντικά διαφορές με την ομάδα Δ ($p > .05$). Φαίνεται λοιπόν ότι στην ομάδα Β που χρησιμοποιήθηκε το ΜΣΑΦ ιβουπροφαίνη μετά τη διπλή τελικοπλάγια νευροσυρραφή η επανανεύρωση του προσθίου κνημιαίου μυός ήταν πολύ ικανοποιητική, γεγονός που είναι σε συνέχεια με την κλινική αξιολόγηση της ομάδας αυτής που εμφάνισε τον υψηλότερο δείκτη PFI (-23,86). Το αποτέλεσμα αυτό είναι επίσης σύμφωνο και με την ιστολογική απεικόνιση των ιστοτεμαχίων της ομάδας αυτής όπου φαίνονται ενθαρρυντικά αποτελέσματα για την περιφερική νευρική αναγέννηση. Παρατηρούμε χαμηλό βαθμό ατροφίας για τον πρόσθιο κνημιαίο μυ στην ομάδα Β γεγονός που υποδηλώνει έναν σημαντικό βαθμό επανανεύρωσης.

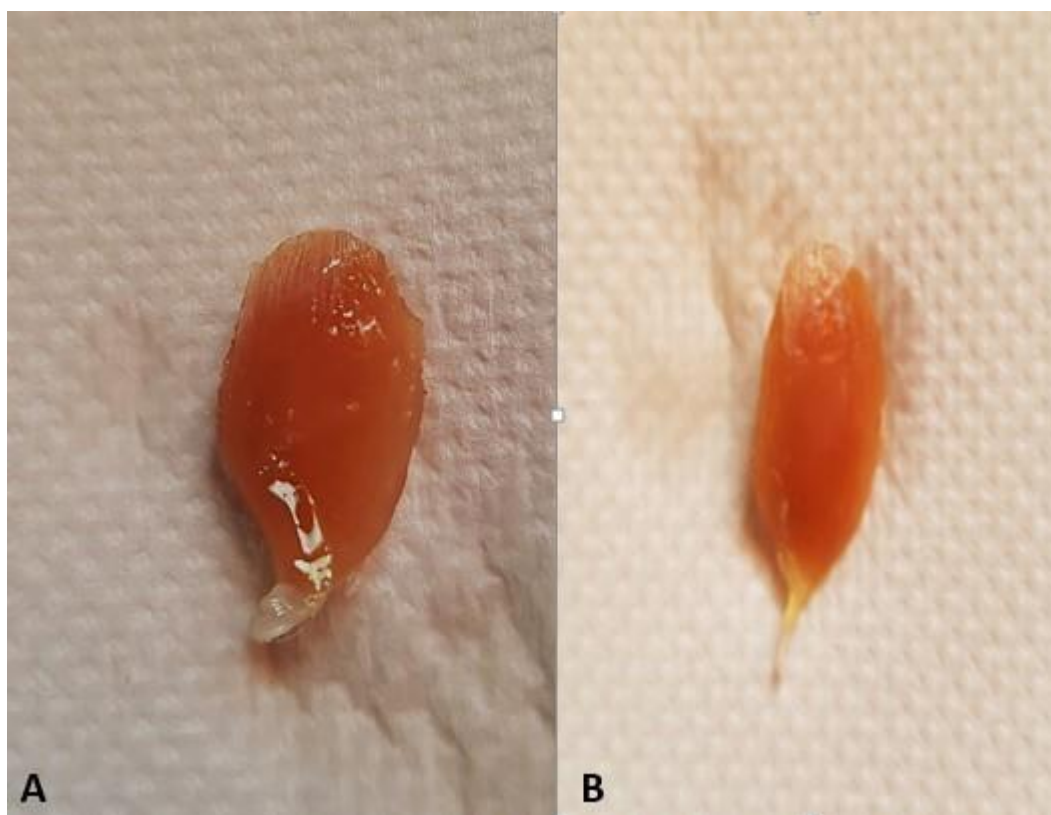


Εικόνα 63. Α) Εικόνα του προσθίου κνημιαίου μυός της υγιούς πλευράς από πειραματόζωο της ομάδας Β, Β) Εικόνα του προσθίου κνημιαίου μυός της πειραματικής πλευράς από πειραματόζωο της ομάδας Β. Παρατηρούμε ότι το μέγεθος του μυός της πειραματικής πλευράς προσεγγίζει το μέγεθος του φυσιολογικού προσθίου κνημιαίου μυός.

Ομάδα Γ

Από τις μετρήσεις για την ομάδα Γ όπου το ΜΣΑΦ που χορηγήθηκε ήταν η ναπροξένη παρατηρούμε ότι η μέση τιμή του λόγου του προσθίου κνημιαίου της πειραματικής ομάδας προς την υγιή ομάδα ήταν 0,6791. Συγκεκριμένα η μέση τιμή του λόγου και η σταθερά απόκλισης ήταν $0,6791 \pm 0,0975$. Από την τιμή αυτή γίνεται αντιληπτό ότι στην ομάδα Γ ο λόγος της πειραματικής προς την υγιή πλευρά είναι σχετικά χαμηλός. Ακόμα και η μέγιστη τιμή του λόγου που είναι 0,743 απέχει αρκετά από τις τιμές των 2 προηγούμενων ομάδων και φυσικά από τη μονάδα υποδηλώνοντας ότι ο βαθμός

ατροφίας του προσθίου κνημιαίου στην περίπτωση του ΜΣΑΦ της ναπροξένης είναι σημαντικός. Οι τιμές αυτές διαφέρουν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό από τις τιμές της ομάδας Β ($p=0,044$) αλλά όχι από τις τιμές της ομάδας Α και Δ ($p>.05$). Το αποτέλεσμα και συμπέρασμα αυτό είναι σε συνέχεια με την κλινική αξιολόγηση των επιμύων με την δοκιμασία βάδισης όπου το PFI για την ομάδα Γ ήταν χαμηλό συγκρινόμενο με την ομάδα Β ($PFI_{56B}=-23,86$ και $PFI_{56Γ}=-27,856$). Από την εικόνα που παρατίθεται παρατηρείται επίσης ότι ο βαθμός ατροφίας για την ομάδα Γ είναι σημαντικός. Για την ομάδα Γ λοιπόν ο βαθμός ατροφίας του προσθίου κνημιαίου είναι σημαντικός όπως και ο βαθμός απονεύρωσης, εφόσον οι 2 αυτές διαδικασίες είναι άρρηκτα δεμένες μεταξύ τους.



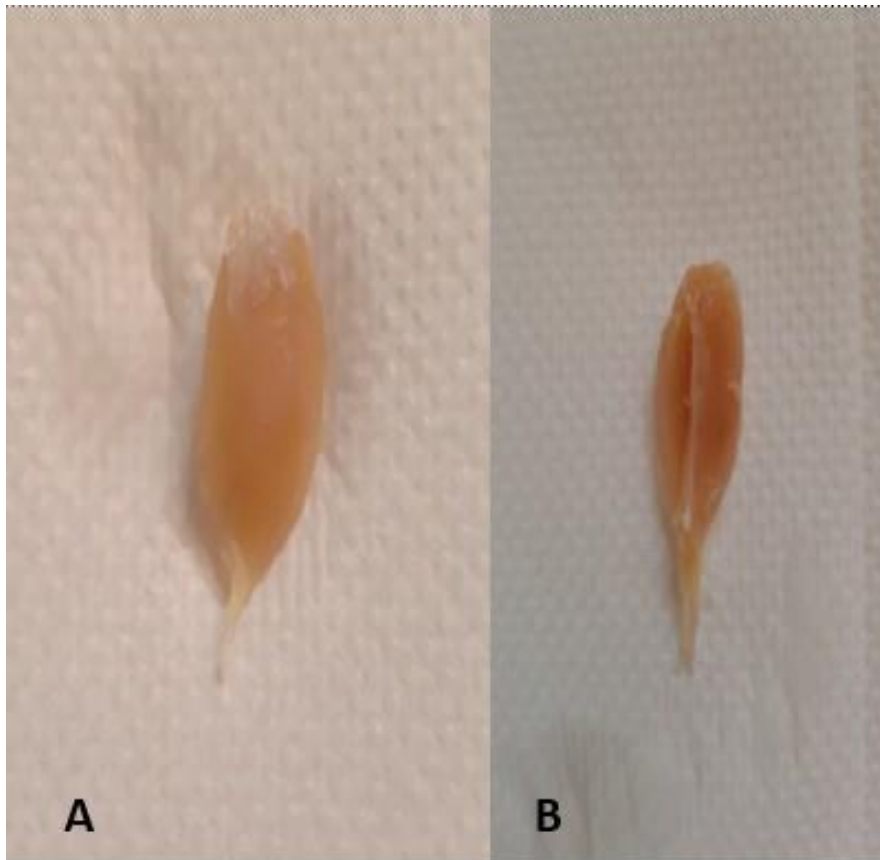
Εικόνα 64. Α) Εικόνα του προσθίου κνημιαίου μύος της υγιούς πλευράς από πειραματόζωο της ομάδας C, Β) Εικόνα του προσθίου κνημιαίου μύος της πειραματικής πλευράς από πειραματόζωο της ομάδας C. Παρατηρούμε ότι το

μέγεθος του μυός της πειραματικής πλευράς είναι αισθητά μικρότερο του μεγέθους του φυσιολογικού προσθίου κνημιαίου μυός.

Ομάδα Δ

Από τις μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν στην ομάδα Δ, στην οποία χορηγήθηκε στα πειραματόζωα μετά τη διπλή τελικοπλάγια νευροσυρραφή το ΜΣΑΦ ιβουπροφαίνη αλλά ταυτόχρονα πραγματοποιήθηκε και νευρική βλάβη στο νεύρο δότη (κνημιαίο) παρατηρούμε ότι η μέση τιμή του λόγου της μάζας του προσθίου κνημιαίου στην πειραματική προς την υγιή πλευρά είναι 0,512. Συγκεκριμένα η μέση τιμή και η σταθερή απόκλιση για την ομάδα Δ ήταν $0,512 \pm 0,076$ (Mean $\pm$ Standard Deviation). Οι τιμές δεν φάνηκε να διαφέρουν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό από τις άλλες ομάδες ($p > .05$). Από τις μετρήσεις παρατηρούμε ότι η εκατοστιαία αναλογία της μάζας του προσθίου κνημιαίου στην ομάδα Δ είναι κατά πολύ μικρότερη από τη μονάδα και από τις ομάδες Α και Β. Συμπεραίνουμε λοιπόν ότι παρόλη την χορήγηση του ΜΣΑΦ της ιβουπροφαίνης, όπως έλαβε χώρα και στην ομάδα Β, λόγω της βλάβης στο νεύρο δότη η τελική μάζα του προσθίου κνημιαίου της πειραματικής πλευράς είναι σαφώς μειωμένη σε σχέση με την υγιή πλευρά. Το γεγονός αυτό συνδέεται και με τον υπολογισμό του PFI για την ομάδα Δ ($PFI_{56} = -28,15$). Η βλάβη λοιπόν στο νεύρο δότη- κνημιαίο νεύρο φαίνεται να περιορίζει σημαντικά την ευοδωτική ικανότητα που φαίνεται να εμφανίζει η χορήγηση του φαρμάκου ιβουπροφαίνη στην ομάδα Β. Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνεται και με τα αποτελέσματα των ιστοτεμαχίων που ελήφθησαν από τα πειραματόζωα της ομάδας Δ.

Στην ομάδα Δ παρατηρούμε σημαντικού βαθμού ατροφία του προσθίου κνημιαίου μυός και περιορισμένη ικανότητα επανανεύρωσής του.



Εικόνα 65. Α) Εικόνα του προσθίου κνημιαίου μυός της υγιούς πλευράς από πειραματόζωο της ομάδας D, Β) Εικόνα του προσθίου κνημιαίου μυός της πειραματικής πλευράς από πειραματόζωο της ομάδας D. Παρατηρούμε ότι το μέγεθος του μυός της πειραματικής πλευράς είναι αισθητά μικρότερο του μεγέθους του φυσιολογικού προσθίου κνημιαίου μυός.

Ιστολογική αξιολόγηση

Ιστολογική μελέτη

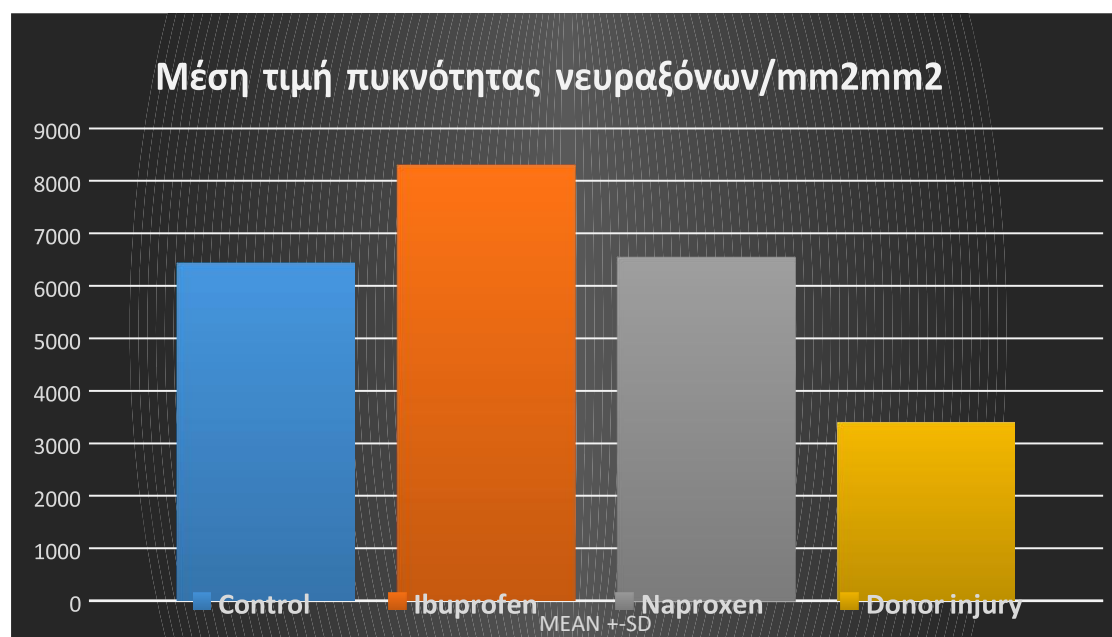
Αξιολόγηση του περονιαίου νεύρου

Αρχικά έλαβε χώρα η αξιολόγηση των ιστοτεμαχίων του περονιαίου νεύρου από τα ιστοτεμάχια της άπω τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής. Υπολογίστηκε ο μέσος όρος της πυκνότητας των νευρικών ινών ανά μονάδα επιφανείας (/mm²) για τις 4 ομάδες. Τα αποτελέσματα απεικονίζονται στους παρακάτω πίνακες και τα γραφήματα. Ελήφθησαν τμήματα από την άπω τελικο-πλάγια νευροσυρραφή καθόσον βρίσκονται πλησιέστερα στο όργανο στόχο και άρα ο βαθμός νευρικής αναγέννησης των νευραξόνων έχει άμεσο αντίκτυπο στην λειτουργική κατάσταση του οργάνου στόχου.

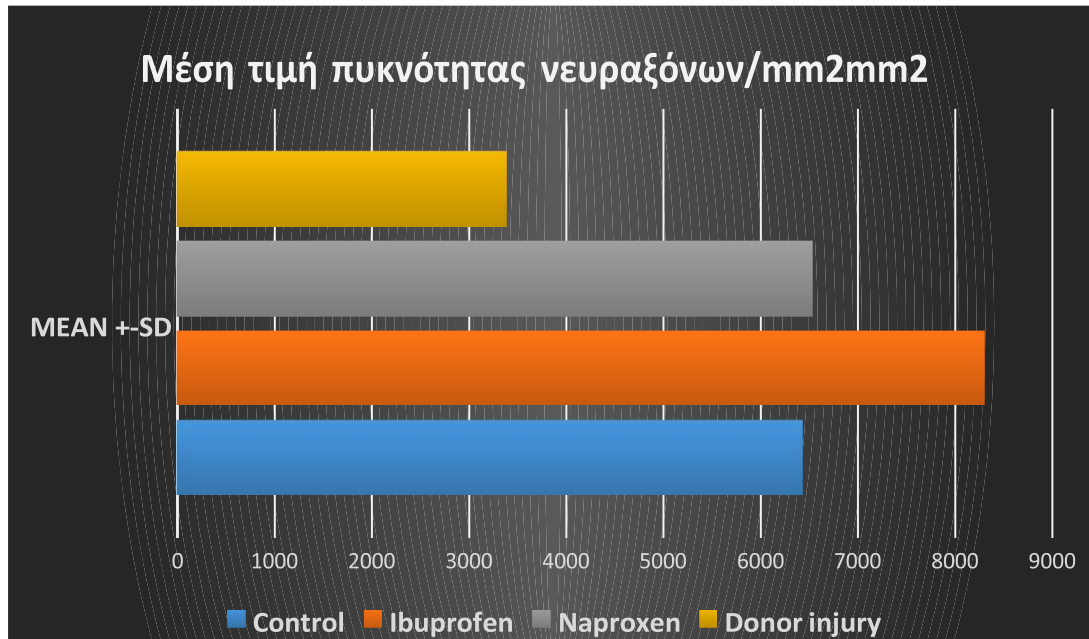
GROUP	MEAN +-SD	Maximum	Minimum
Group A	6430 ± 1560	8240	5470
Group B	8300 ± 1740	12580	9840
Group C	6530 ± 1610	9130	4320

Group D	3390 ± 1550	5420	2820
----------------	-------------	------	------

Πίνακας 9. Πίνακας όπου απεικονίζεται η μέση τιμή της πυκνότητας των νευρικών ινών του περνιαίου νεύρου στο τμήμα της άπω τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής στις 4 ομάδες (νευράξονες/mm²). Οι τιμές έχουν εκφραστεί σαν μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση και σαν μέγιστη και ελάχιστη τιμή. Από τις τιμές του πίνακα διαπιστώνουμε ότι στην περίπτωση της ομάδας B εμφανίζεται η μεγαλύτερη πυκνότητα νευραξόνων σε σχέση με τις άλλες ομάδες (dB=8300 νευρ/mm² έναντι dA=6430 νευρ/mm², dC=6530 νευρ/mm² και dD=3390 νευρ/mm²).



Διάγραμμα 8. Διάγραμμα στο οποίο απεικονίζονται οι τιμές της πυκνότητας των νευραξόνων του περνιαίου νεύρου στην άπω τελικοπλάγια νευροσυρραφή ανά μονάδα επιφάνειας για τις 4 πειραματικές ομάδες (νευράξονες/mm²). Παρατηρούμε την μεγαλύτερη τιμή πυκνότητας που παρατηρείται στην ομάδα B σε σχέση με τις άλλες ομάδες.



Διάγραμμα 9. Διάγραμμα όπου απεικονίζονται οι τιμές της πυκνότητας των νευραξόνων του περονιαίου νεύρου στην άπω τελικο-πλάγια νευροσυρραφή ανά μονάδα επιφάνειας για τις 4 πειραματικές ομάδες εκφρασμένη σε νευράξονες/mm².

Αξίζει να σημειωθεί ότι κατά τη λήψη ιστοτεμαχίου από το υγιές περονιαίο και μετά από υπολογισμό των νευραξόνων ανά μονάδα επιφανείας η μέση τιμή της πυκνότητας των νευραξόνων που παρατηρήθηκε ήταν 12200 νευράξονες/mm².

Σύγκριση των ομάδων

Από τα αποτελέσματα της μελέτης των ιστολογικών τεμαχίων προκύπτει ότι σχετικά με την ομάδα Α όπου πραγματοποιήθηκε το πειραματικό μοντέλο διπλής τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής χωρίς τη χορήγηση κάποιας φαρμακευτικής ουσίας η μέση τιμή των νευραξόνων που παρατηρήθηκε ήταν 6430 νευράξονες/mm² (6430 ± 1560 νευράξονες/mm²). Η μέγιστη τιμή που παρατηρήθηκε ήταν 8240 νευράξονες/mm² και η ελάχιστη τιμή που παρατηρήθηκε ήταν 5470 νευράξονες/mm².

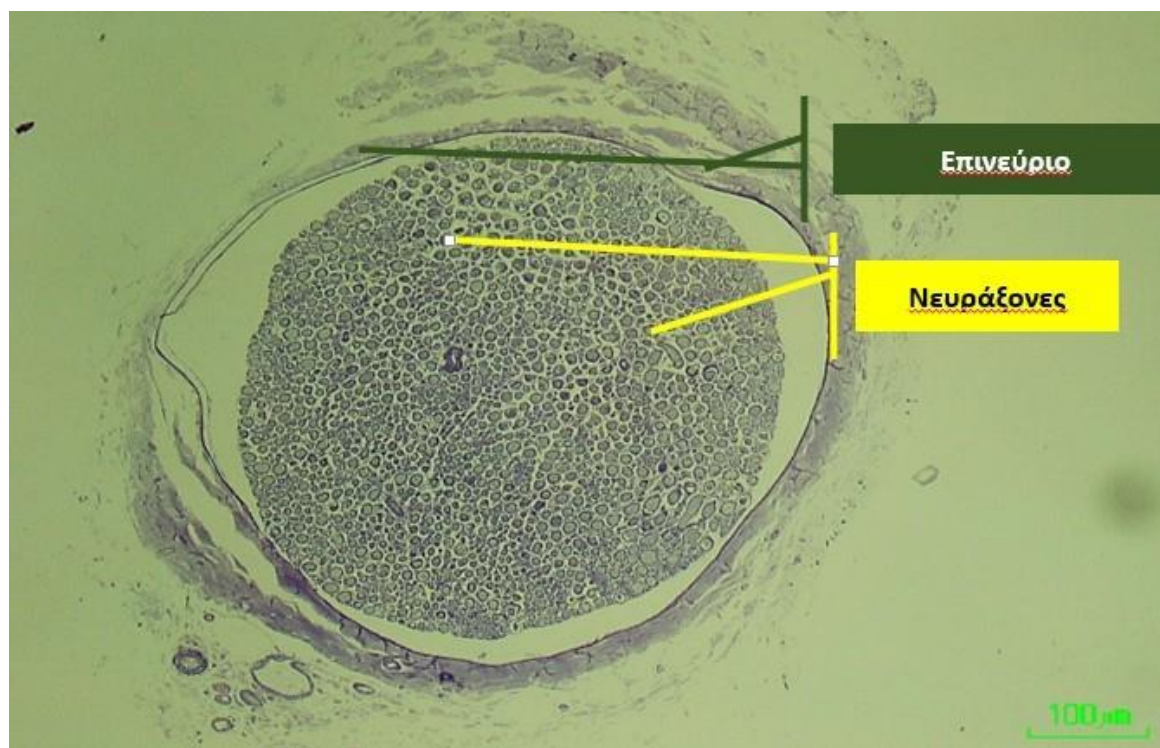
Στην ομάδα Β που στα πειραματόζωα χορηγήθηκε το ΜΣΑΦ ιβουπροφαίνη και στην οποία κλινικά παρατηρήσαμε την μεγαλύτερη βελτίωση της κινητικής λειτουργίας του περονιαίου νεύρου η μέση τιμή μετά την ιστολογική μελέτη των ιστοτεμαχίων που ελήφθησαν ήταν 8300 νευράξονες/ mm^2 (8300 ± 1740 νευράξονες/ mm^2). Η μέγιστη τιμή που παρατηρήθηκε ήταν 12580 νευράξονες/ mm^2 και η ελάχιστη 6840 νευράξονες/ mm^2 . Από τα αποτελέσματα αυτά παρατηρούμε ότι στην πειραματική ομάδα Β όπου χορηγήθηκε το ΜΣΑΦ της ιβουπροφαίνης ο αριθμός των νευραξόνων που υπολογίστηκαν είναι μεγαλύτερος από τις υπόλοιπες ομάδες και προσεγγίζει περισσότερο σε σχέση πάντα με τις υπόλοιπες πειραματικές ομάδες των αριθμό των νευραξόνων του υγιούς περονιαίου νεύρου (8300 έναντι 6430, 6530 και 3390 νευραξόνων/ mm^2). Κατά την στατιστική αξιολόγηση των αποτελεσμάτων αυτών παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < .05$) με τα αποτελέσματα των ομάδων Α και Γ, αλλά όχι με τα αποτελέσματα της πειραματικής ομάδας Δ ($p = 0,053$, $p > .05$). Η τιμή των 12200 νευραξόνων/ mm^2 του υγιούς περονιαίου νεύρου είναι σαφώς μεγαλύτερη από όλες τις τιμές των ομάδων της διπλής τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής. Το εύρημα αυτό για την ομάδα Β είναι σε ακολουθία με την κλινική βελτίωση της λειτουργίας του περονιαίου νεύρου (που πραγματοποιήθηκε μέσω του PFI) που εμφάνισαν τα πειραματόζωα της ομάδας αυτής.

Σχετικά με την ομάδα Γ στην οποία χορηγήθηκε το ΜΣΑΦ ναπροξένη στα πειραματόζωα παρατηρούμε ότι η μέση τιμή της πυκνότητας των νευραξόνων ήταν 6530 νευράξονες/ mm^2 (6530 ± 1610 νευράξονες/ mm^2). Η μέγιστη τιμή της πυκνότητας των νευραξόνων που παρατηρήθηκε για την ομάδα αυτή ήταν 9130 νευράξονες/ mm^2 και η ελάχιστη τιμή που παρατηρήθηκε ήταν 4320 νευράξονες/ mm^2 . Από τις τιμές αυτές παρατηρούμε ότι η πυκνότητα των νευραξόνων στην

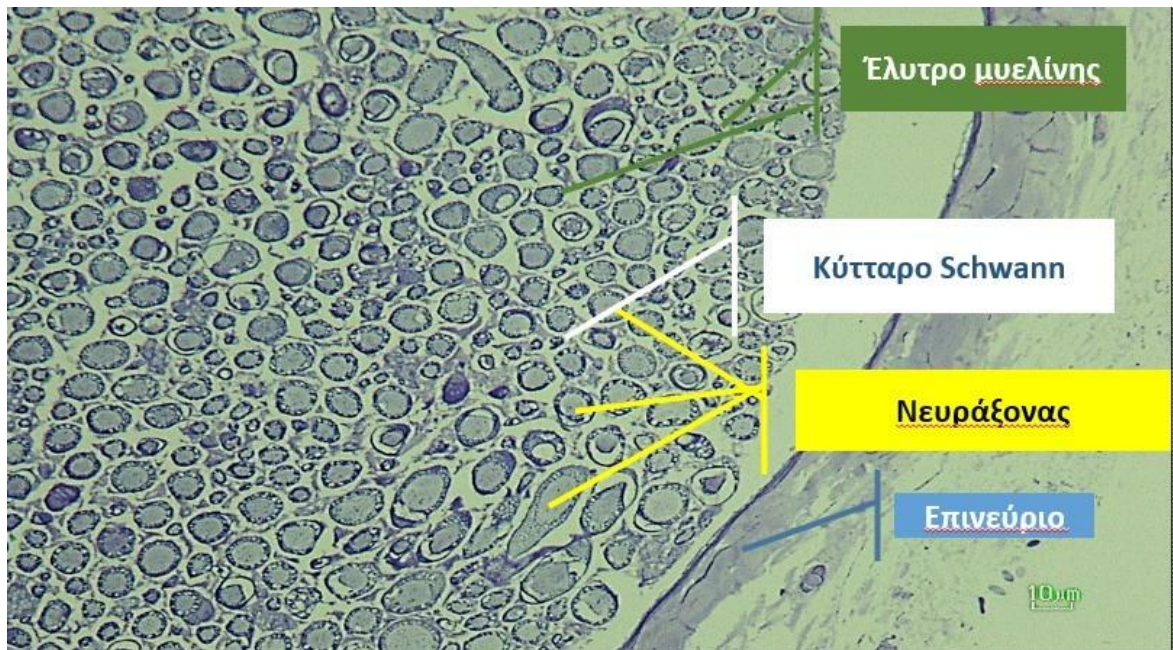
πειραματική ομάδα Γ μετά τη χορήγηση της ναπροξένης απέχει αρκετά από την πυκνότητα των νευραξόνων στο υγιές περονιαίο νεύρο. Το γεγονός αυτό είναι σε ακολουθία με τα αποτελέσματα της κλινικής αξιολόγησης των πειραματοζώων της ομάδας αυτής τα οποία δεν εμφάνισαν υψηλό δείκτη PFI στην αξιολόγηση την 56^η ημέρα μετά τη χειρουργική επέμβαση ($PFI_{56G} = -27,856$). Επίσης το αποτέλεσμα της ιστολογικής μελέτης των ιστοτεμαχίων της ομάδας Γ βρίσκεται σε συσχέτιση με το μυϊκό βάρος του προσθίου κνημιαίου μυός που εμφανίστηκε μειωμένο στην ομάδα αυτή γεγονός που συνδέεται με τον βαθμό απονεύρωσης γεγονός που αποδεικνύεται με την ιστολογική μελέτη.

Στην πειραματική ομάδα Δ στην οποία πραγματοποιήθηκε διπλή τελικο-πλάγια νευροσυρραφή στο διατμηθέν περονιαίο νεύρο, χορήγηση του ΜΣΑΦ ιβουπροφαίνη και πραγματοποίηση βλάβης στο νεύρο δότη (κνημιαίο) η μέση τιμή της πυκνότητας των νευραξόνων που αναφέρεται είναι 3390 νευράξονες/ mm^2 (3390 ± 1550 νευράξονες/ mm^2). Η μέγιστη τιμή για την ομάδα αυτή ήταν 5420 νευράξονες/ mm^2 και η ελάχιστη τιμή 2820 νευράξονες/ mm^2 . Τα αποτελέσματα αυτά δεν βρέθηκε να διαφέρουν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό από τα αποτελέσματα των άλλων ομάδων ($p > .05$). Από τα αποτελέσματα της ιστολογικής μελέτης παρατηρούμε ότι οι τιμές των νευραξόνων ανά μονάδα επιφάνειας απέχουν αρκετά από τις τιμές του υγιούς περονιαίου νεύρου. Παρατηρούμε λοιπόν ότι ο βαθμός απονεύρωσης της ομάδας αυτής είναι ιδιαίτερα υψηλός. Παρότι στην ομάδα αυτή χορηγήθηκε το ΜΣΑΦ ιβουπροφαίνη το οποίο στην ομάδα Β φαίνεται ότι ευοδώνει αισθητά την περιφερική νευρική αναγέννηση, στην ομάδα Δ επειδή πραγματοποιείται βλάβη στο νεύρο δότη (κνημιαίο) δεν υπάρχει η δυνατότητα ουσιαστικής περιφερικής νευρικής αναγέννησης με το πειραματικό μοντέλο της διπλής τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής

που χρησιμοποιήθηκε. Η πρόκληση νευρικής βλάβης στο νεύρο δότη περιορίζει αισθητά τις δυνατότητες του περιφερικού νεύρου για αναγέννηση. Τα ευρήματα αυτά είναι σε ακολουθία με την κλινική αξιολόγηση των πειραματόζων και την μέτρηση του PFI ($PFI56\Delta = -28,15$) και με την μέτρηση της μάζας του προσθίου κνημιαίου μυός ($M = 0,512 \pm 0,076$). Από τις φωτογραφίες που παρατίθενται από τα παρασκευάσματα παρατηρείται επίσης ο σημαντικός βαθμός απονεύρωσης που παρατηρείται στην ομάδα αυτή.

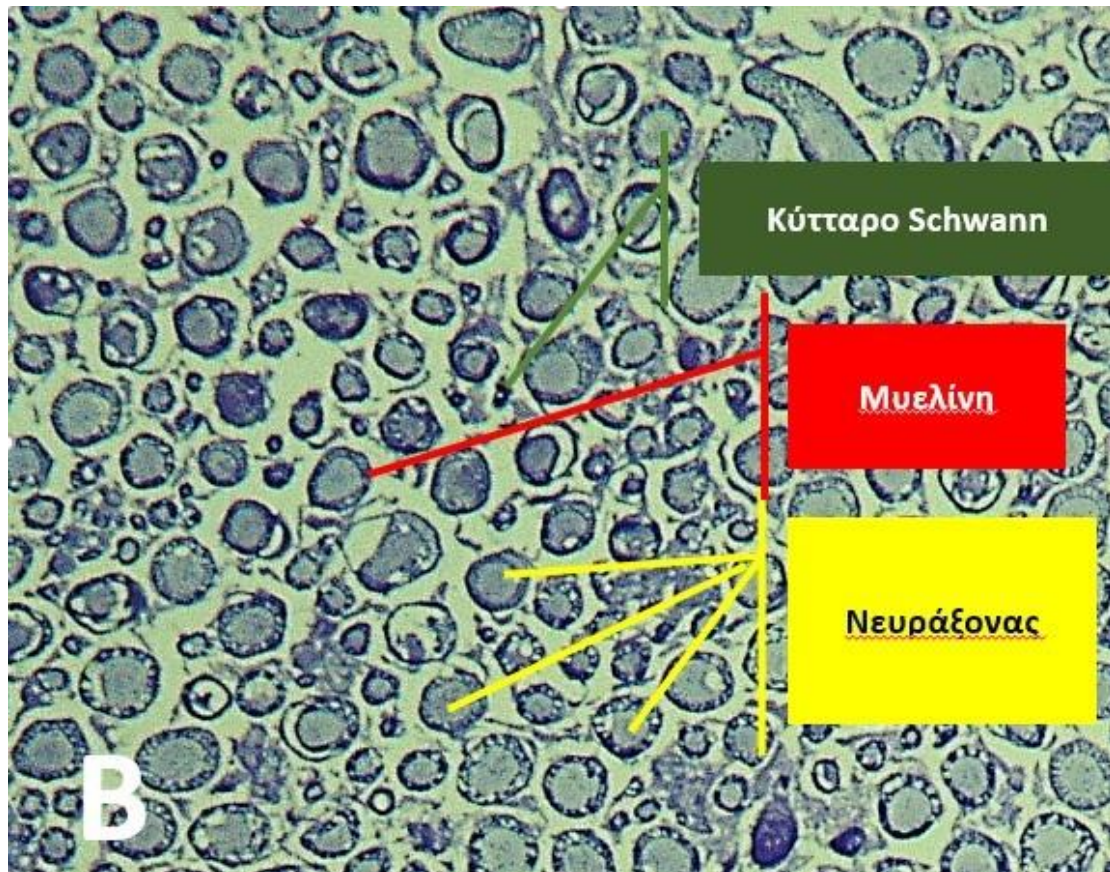


Εικόνα 66. Ιστολογική εικόνα υγιούς περονιαίου νεύρου σε μεγέθυνση X100 από πειραματόζωο της ομάδας Β. Απεικονίζονται η φυσιολογική δομή του επινευρίου και η φυσιολογική δομή και αρχιτεκτονική των νευραξόνων και η φυσιολογική τους πυκνότητα.

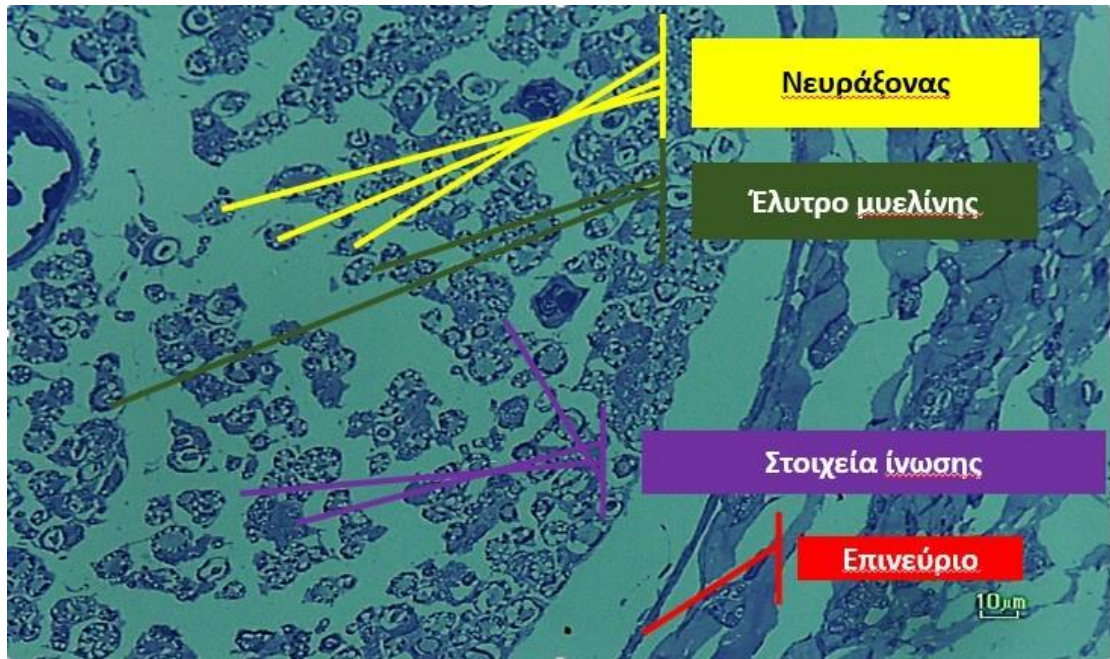


Εικόνα 67. Ιστολογική εικόνα υγιούς περονιαίου σε μεγέθυνση X400 από πειραματόζωο της ομάδας Β. Απεικονίζεται η ομαλή αρχιτεκτονική των νευραξόνων (κίτρινες γραμμές), η φυσιολογική τους αρχιτεκτονική και πυκνότητα, τα έλυτρα μυελίνης (πράσινες γραμμές), τα κύτταρα Schwann (γαλάζια γραμμή) και οι φυσιολογικές δομές του επινευρίου (εξωτερική μπλε γραμμή).

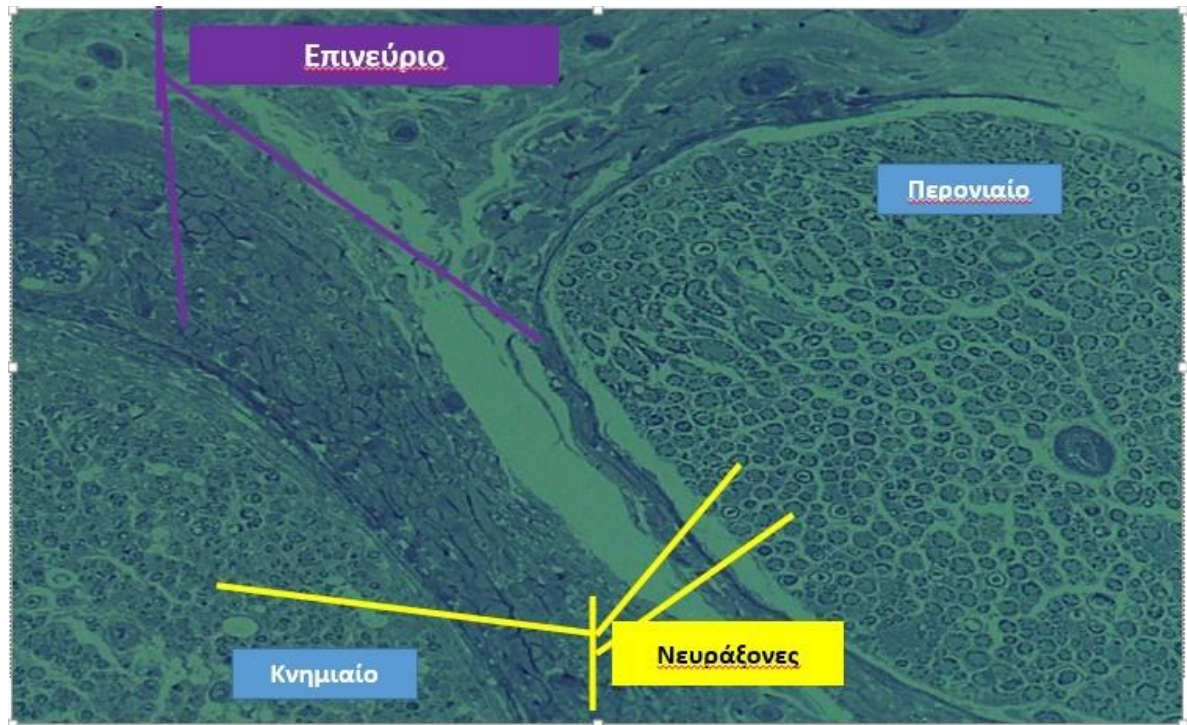




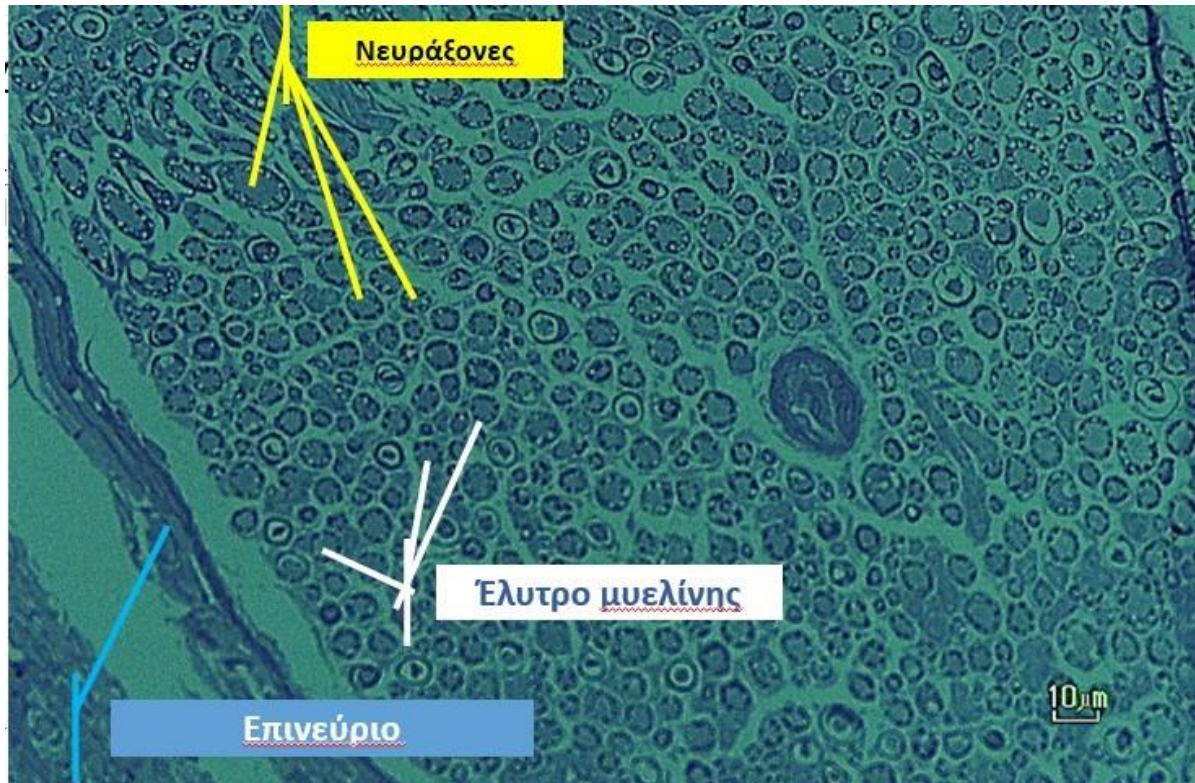
Εικόνα 68. Ιστολογικό τμήμα από την εγγύς τελικοπλάγια νευροσυρραφή της ομάδας Α και της ομάδας Β σε μεγέθυνση Χ400. Απεικονίζονται στην εικόνα Α οι δομές των νευραξόνων, των ελύτρων μυελίνης, των κυττάρων Schwann και των στοιχείων ίνωσης. Είναι εμφανής η διαφορά στην αρχιτεκτονική και διάταξη των νευραξόνων της ομάδας Α σε σχέση με τη διάταξη του νεύρου της ομάδας Β (εικόνα Β). Παρατηρούμε την ομοιόμορφη αρχιτεκτονική και πυκνότητα των νευραξόνων που εμφανίζεται στην ομάδα Β που προσομοιάζει με εκείνη του φυσιολογικού περονιαίου νεύρου, γεγονός που δεν εμφανίζεται στην ομάδα Α.



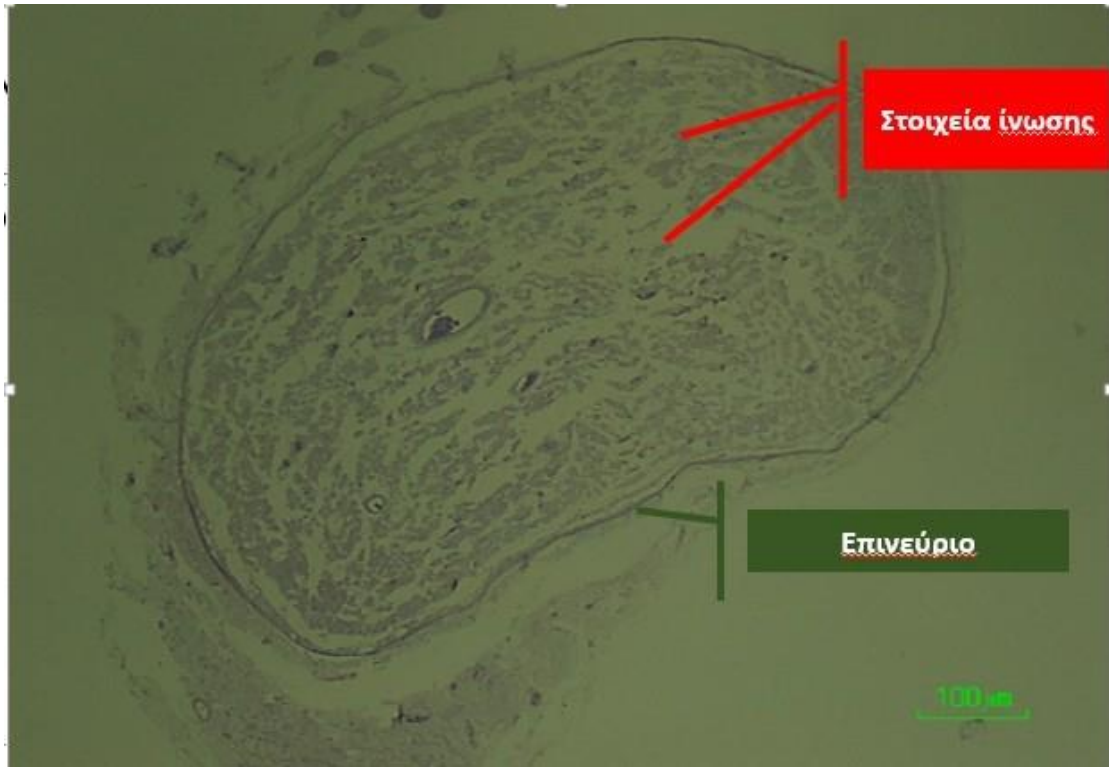
Εικόνα 69. Ιστολογικό τμήμα από την εγγύς τελικο-πλάγια νευροσυρραφή της ομάδας Α σε μεγέθυνση Χ400. Από την εικόνα παρατηρούμε τον μικρό αριθμό νευραξόνων στην μικροσκοπική αυτή εικόνα του ιστολογικού τμήματος της εγγύς τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής της ομάδας ελέγχου. Επίσης απεικονίζεται η παρουσία μικρού αριθμού εμμύελων ινών, η απουσία φυσιολογικής αρχιτεκτονικής του περονιαίου νεύρου όπως απεικονίστηκε ανωτέρω καθώς και η παρουσία ινωτικών στοιχείων στο νευρικό τμήμα.



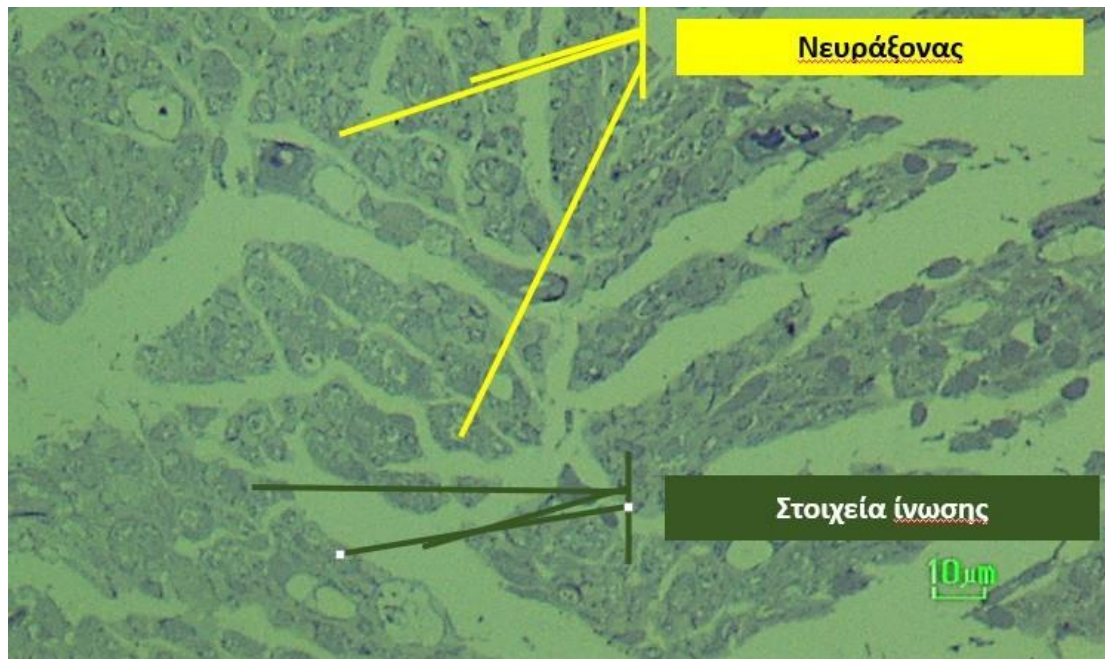
Εικόνα 70. Ιστολογικό τμήμα εγγύς τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής από την πειραματική ομάδα Β σε μεγέθυνση Χ200. Στην ιστολογική εικόνα απεικονίζονται το κνημιαίο και το περονιαίο νεύρο, τμήματα του επινευρίου και των νευραξόνων. Παρατηρούμε από την απεικόνιση ότι η μορφολογία των 2 νευρικών δομών παρουσιάζει αρκετές ομοιότητες όσον αφορά την αρχιτεκτονική, τη δομή και την πυκνότητα των νευραξόνων.



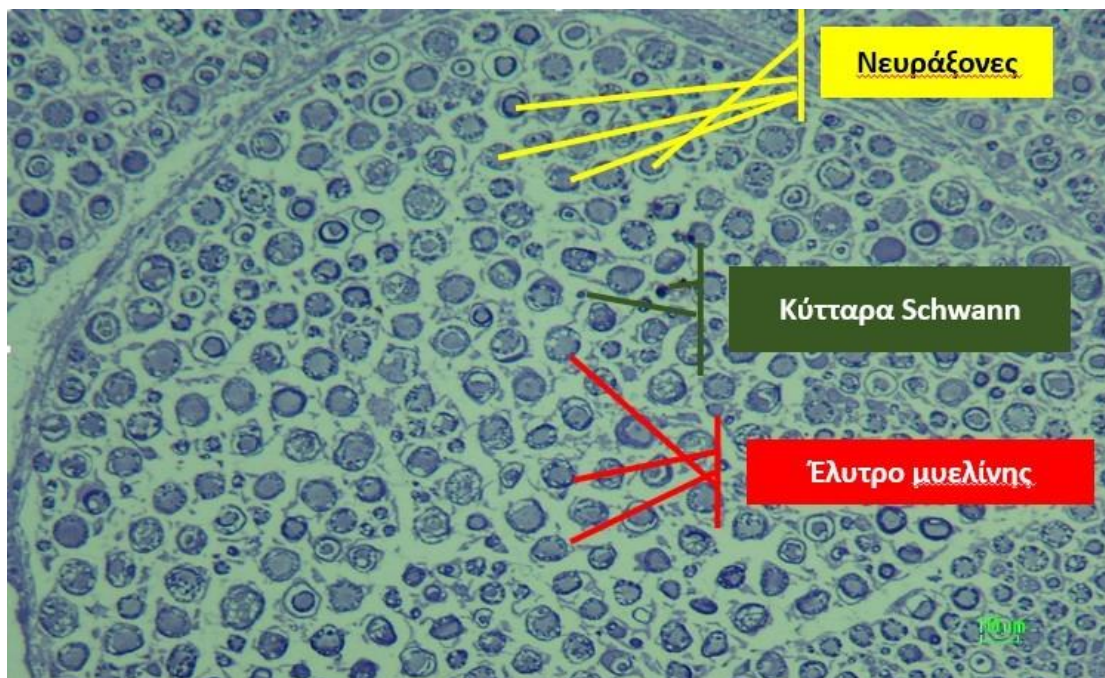
Εικόνα 71. Ιστολογικό τμήμα της εγγύς τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής του περονιαίου νεύρου από την πειραματική ομάδα Β σε μεγέθυνση Χ400. Απεικονίζεται η ομοιόμορφη διάταξη των εμμέλων νευρικών ινών που προσομοιάζει την απεικόνιση του υγιούς περονιαίου νεύρου όπως περιγράφηκε ανωτέρω (επινεύριο= γαλάζιες γραμμές, έλυτρα μυελίνης= λευκές γραμμές, νευράξονες= κίτρινες γραμμές).



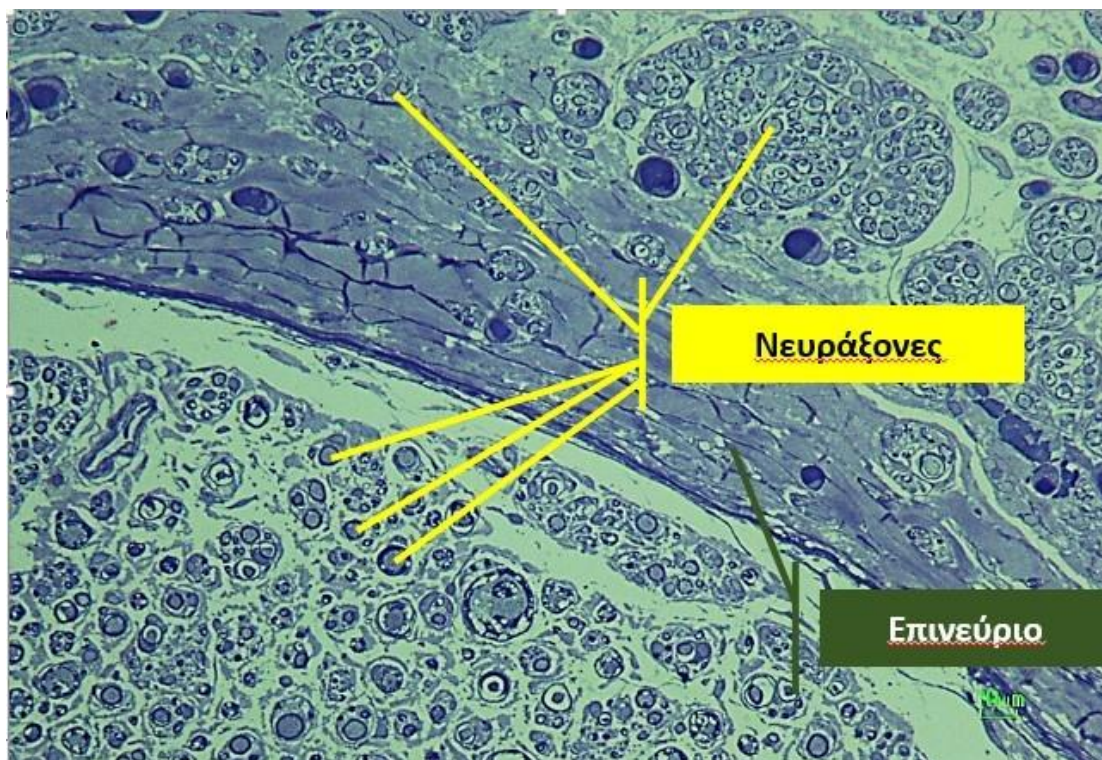
Εικόνα 72. Ιστολογικό τμήμα περονιαίου νεύρου από την άπω τελικο-πλάγια νευροσυρραφή στην ομάδα Α σε μεγέθυνση Χ100. Απεικονίζεται η απουσία εμμύελων νευρικών ινών, η μικρή πυκνότητα νευραξόνων, η παρουσία ινωτικών στοιχείων (κόκκινες γραμμές) και γενικά η απεικόνιση είναι αισθητά διαφορετική από την απεικόνιση του φυσιολογικού περονιαίου νεύρου.



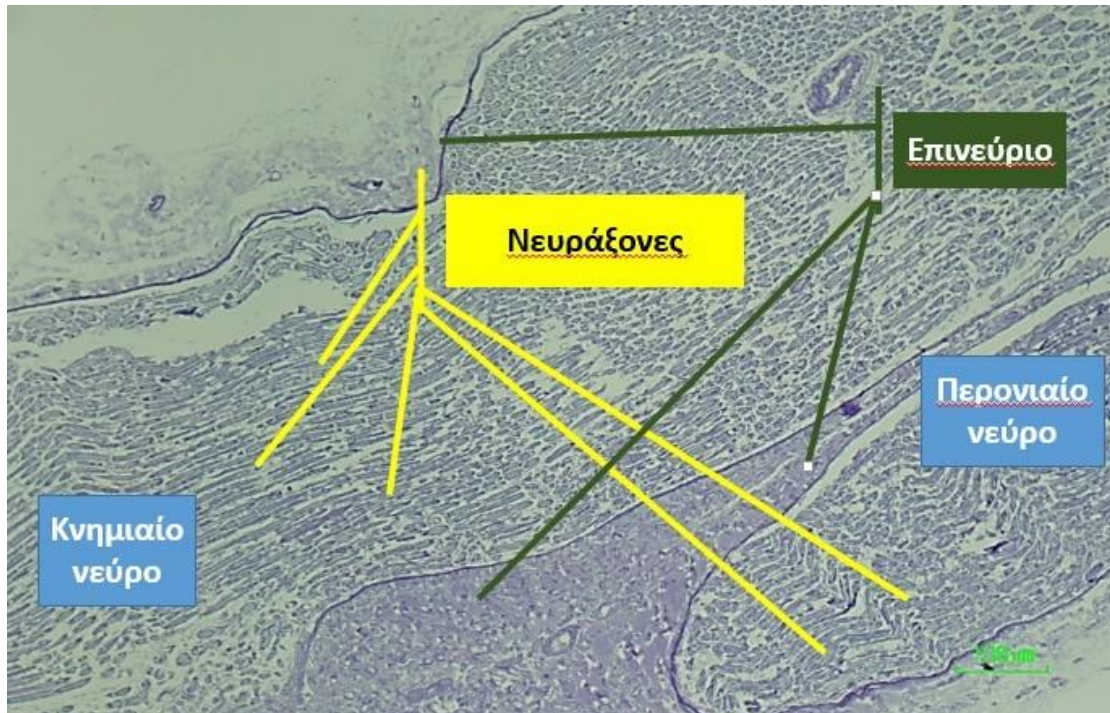
Εικόνα 73. Ιστολογικό τμήμα περονιαίου νεύρου από την άπω τελικο-πλάγια νευροσυρραφή της ομάδας Α σε μεγέθυνση Χ400. Παρατηρείται η απουσία μεγάλου αριθμού εμμύελων νευρικών ινών, η παρουσία μικρού αριθμού νευραξόνων (κίτρινες γραμμές), η παρουσία στοιχείων ίνωσης (πράσινες γραμμές) και η απουσία της φυσιολογικής αρχιτεκτονικής και δομής του υγιούς περονιαίου νεύρου.



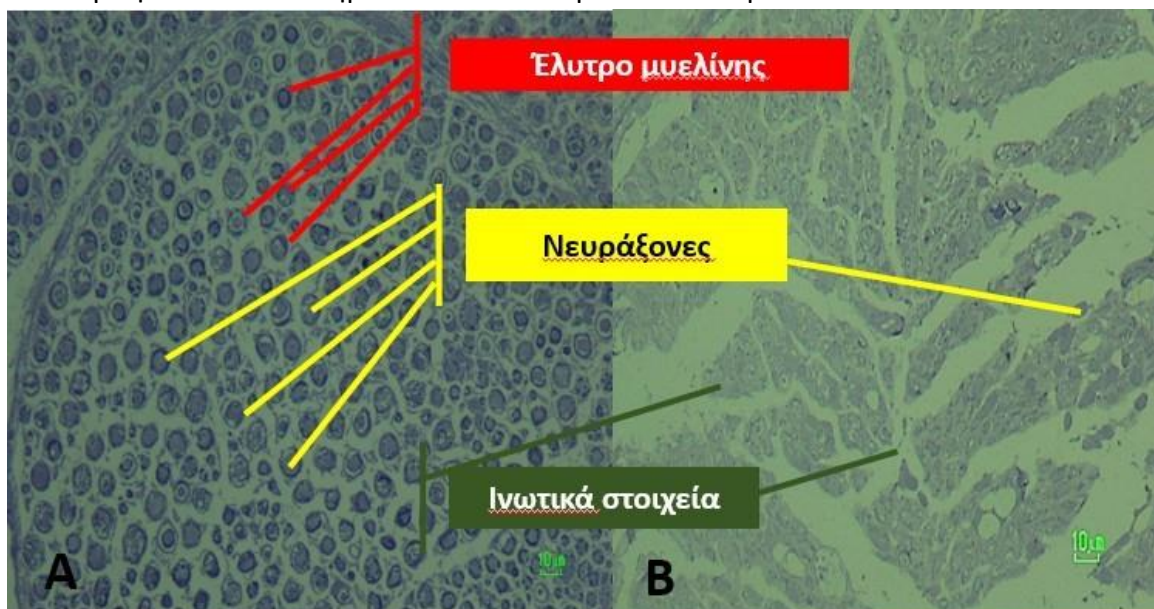
Εικόνα 74. Ιστολογικό τμήμα περονιαίου νεύρου της άπω τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής της πειραματικής ομάδας Β σε μεγέθυνση Χ400. Απεικονίζονται οι νευράξονες (κίτρινες γραμμές), τα έλυτρα μυελίνης (κόκκινες γραμμές) και η ομοιόμορφη δομή και αρχιτεκτονική των εμμύελων νευραξόνων. Παρατηρούμε ότι η πυκνότητα των νευραξόνων προσομοιάζει με αυτή του φυσιολογικού περονιαίου νεύρου. Τα κύτταρα Schwann απεικονίζονται με τις πράσινες γραμμές.



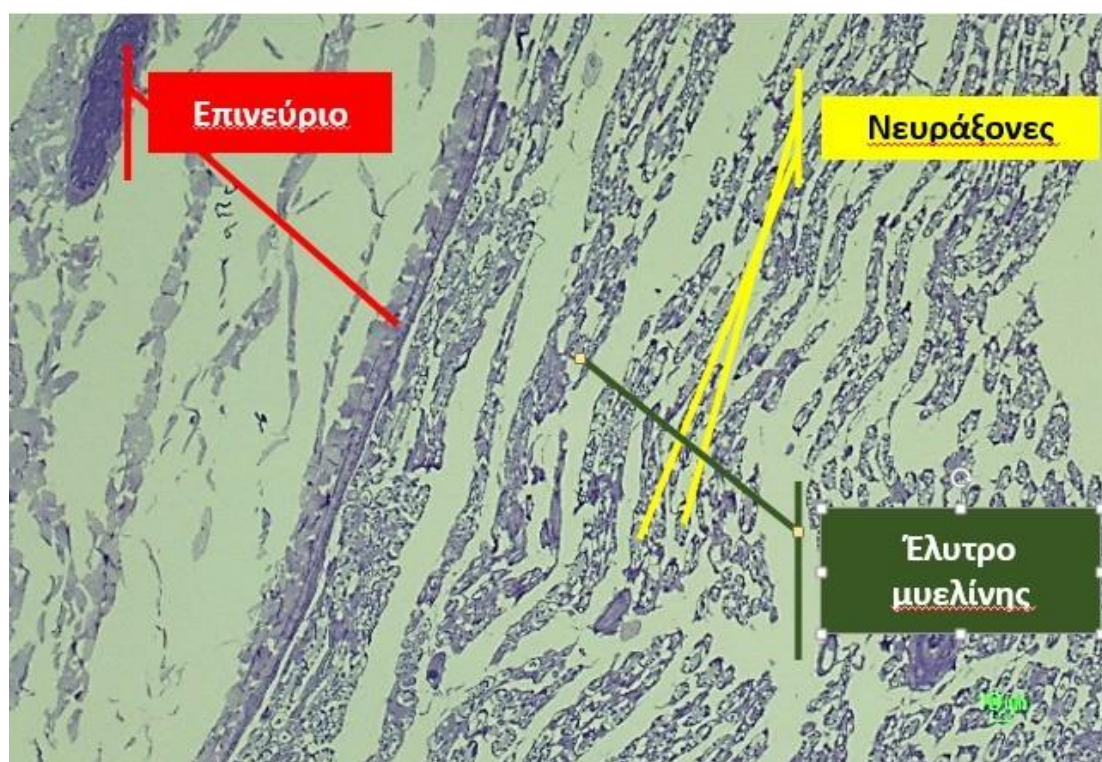
Εικόνα 75. Ιστολογικό τμήμα περονιαίου νεύρου της άπω τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής της πειραματικής ομάδας Β στο περιφερικό τμήμα αυτής σε μεγέθυνση Χ400. Απεικονίζονται τμήματα του επινευρίου (πράσινες γραμμές) καθώς και πλήθος εμμύελων νευραξόνων (κίτρινες γραμμές). Παρατηρούμε την παρουσία αναγεννούμενων νευραξόνων και εκτός του επινευρίου του περονιαίου νεύρου.



Εικόνα 76. Ιστολογικό τμήμα νευρικού ιστού της άπω τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής της ομάδας Β σε επιμήκη τομή όπου απεικονίζονται το κνημιαίο και το περωνιαίο νεύρο (γαλάζια πλαίσια). Παρατηρούμε στην ιστολογική εικόνα την παρουσία εμμέλων νευραξόνων (κίτρινες γραμμές), τα τμήματα του επινευρίου (πράσινες γραμμές) και την ομαλή και ομοιόμορφη διάταξη των νευραξόνων. Παρατηρούμε την παρόμοια ιστολογική εικόνα του κνημιαίου και του περωνιαίου νεύρου.



Εικόνα 77. Ιστολογικά τμήματα περονιαίου νεύρου της άπω τελικοπλάγιας νευροσυρραφής της πειραματικής ομάδας Β (εικόνα Α) και της ομάδας Γ (εικόνα Β). Παρατηρείται η διαφορετική αρχιτεκτονική και πυκνότητα των αναγεννώμενων νευραξόνων (κίτρινες γραμμές). Παρατηρείται ο μικρός αριθμός εμμύελων νευρικών ινών στην ομάδα Γ σε σχέση με την ομάδα Β καθώς και τα στοιχεία ίνωσης (πράσινες γραμμές) που παρατηρούνται στην ομάδα Γ. Στην εικόνα Α απεικονίζεται αισθητά μεγαλύτερος αριθμός εμμύελων νευρικών ινών (κόκκινες γραμμές) σε σχέση με την εικόνα Β.



Εικόνα 78. Ιστολογική εικόνα περονιαίου νεύρου της άπω τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής της πειραματικής ομάδας Δ όπου πραγματοποιήθηκε βλάβη συμπίεσης στο νεύρο δότη. Παρατηρούμε τμήματα του επινευρίου (κόκκινες γραμμές), ολιγάριθμους νευράξονες (κίτρινες γραμμές) και λίγες εμμύελες περιοχές (πράσινες γραμμές). Απεικονίζεται η αρχιτεκτονική και δομή της πειραματικής ομάδας Δ να διαφέρει αισθητά σε σχέση με τη

Συμπέρασμα από τα αποτελέσματα των ιστολογικών μελετών

δομή και αρχιτεκτονική της ομάδας Β και του φυσιολογικού περνιαίου νεύρου. Επίσης η

πυκνότητα των νευραξόνων είναι περιορισμένη.

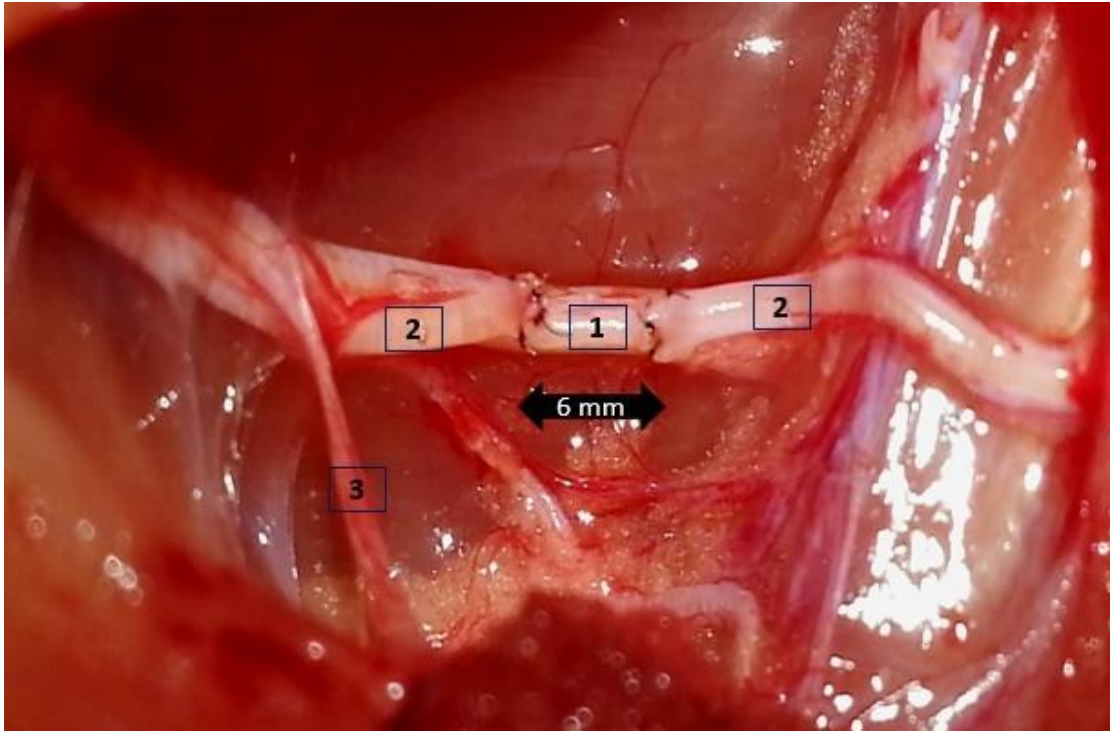
Από τα αποτελέσματα της ιστολογικής επεξεργασίας των ιστοτεμαχίων που ελήφθησαν από τα πειραματόζωα όλων των πειραματικών ομάδων παρουσιάζεται η ομάδα Β όπου χορηγήθηκε το ΜΣΑΦ ιβουπροφαίνη να εμφανίζει τα πιο ενθαρρυντικά αποτελέσματα όσον αφορά στην πυκνότητα των αναγεννούμενων νευραξόνων και στο βαθμό επανανεύρωσης. Στην ομάδα Β παρατηρήθηκε η μεγαλύτερη πυκνότητα νευραξόνων ανά μονάδα επιφανείας (12580 νευράξονες/ mm^2) που προσεγγίζει την πυκνότητα του υγιούς περνιαίου νεύρου. Οι διαφορές αυτές ήταν στατιστικά σημαντικές ($p < .05$) όταν συγκρίθηκαν με τα αποτελέσματα της ομάδας Α και Γ, αλλά δεν παρουσίαζαν στατιστικά σημαντικές διαφορές όταν συγκρίθηκαν με τα αποτελέσματα της ομάδας Δ ($p = 0.053$, $p > .05$). Παρατηρούμε λοιπόν ότι η χρήση της ιβουπροφαίνης φαίνεται να ευοδώνει την περιφερική νευρική αναγέννηση μέσω των μηχανισμών που αναφέρθηκαν ανωτέρω. Στην ομάδα Α όπου δεν χρησιμοποιήθηκε κάποια ουσία για την ενίσχυση της νευρικής αναγέννησης δεν εμφανίστηκαν τα ίδια αποτελέσματα και η μέση τιμή της πυκνότητας των νευραξόνων (6430 ± 1560 νευράξονες/ mm^2) απέχει αρκετά από τις τιμές του υγιούς περνιαίου νεύρου (12200 νευράξονες/ mm^2). Χωρίς λοιπόν τη χρήση κάποιας ουσίας σαν ενισχυτικό της νευρικής αναγέννησης μετά από διπλή τελικο-πλάγια νευροσυρραφή, το αποτέλεσμα που παρατηρείται δεν είναι ιδιαίτερα ικανοποιητικό.

Λόγω του διαφορετικού τρόπου δράσης της ναπροξένης δεν φαίνεται να έχει ευοδωτική επίδραση στην περιφερική νευρική αναγέννηση μετά από χορήγησή της. Η μέση τιμή της πυκνότητας των νευραξόνων στην ομάδα Γ (6530 ± 1610 νευράξονες/ mm^2) απέχει αρκετά

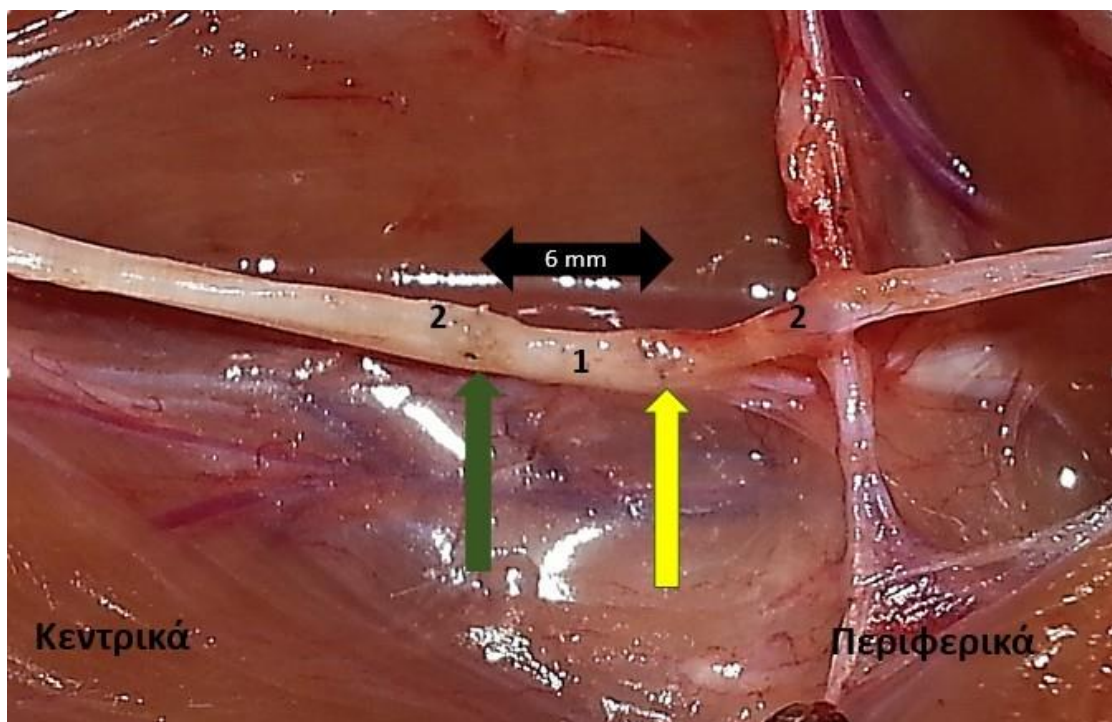
από την μέση πυκνότητα του υγιούς περονιαίου νεύρου και άρα ο βαθμός επανανεύρωσης που παρέχει η ουσία αυτή δεν είναι αποτελεσματικός.

Στην ομάδα Δ χορηγήθηκε το ΜΣΑΦ ιβουπροφαίνη αλλά ταυτόχρονα πραγματοποιήθηκε και νευρική βλάβη στο νεύρο δότη (κνημιαίο νεύρο). Παρόλο το γεγονός της χορήγησης της ιβουπροφαίνης που λόγω της ενισχυτικής της δράσης θα αναμενόταν ο βαθμός επανανεύρωσης να είναι υψηλός, η τραυματική βλάβη του νεύρου δότη φαίνεται να περιορίζει σημαντικά την επανανεύρωση και για το λόγο αυτό η μέση τιμή της πυκνότητας των νευραξόνων στην ομάδα Δ ήταν 3390 ± 1550 νευράξονες/ mm^2 που είναι διαφορετική από τις τιμές του υγιούς περονιαίου νεύρου. Η τραυματική βλάβη στο νεύρο δότη λοιπόν περιόρισε την ενισχυτική ικανότητα της ιβουπροφαίνης στην ομάδα Δ.

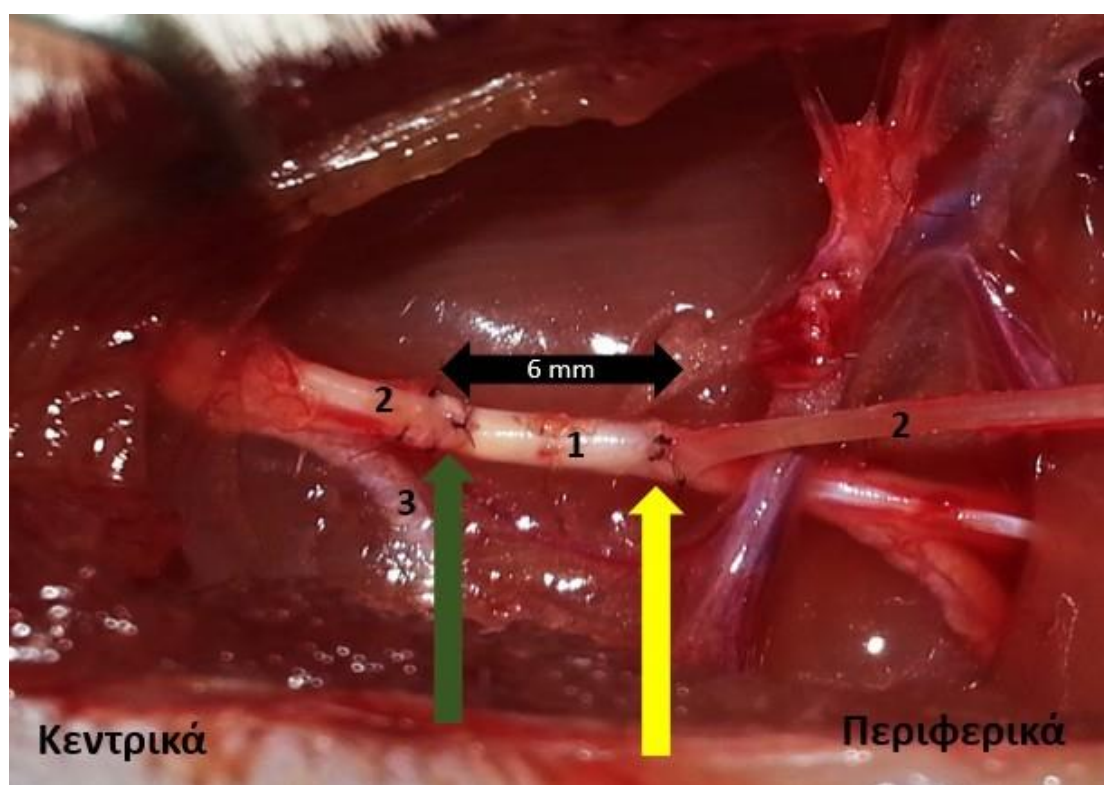
Φωτογραφικό υλικό



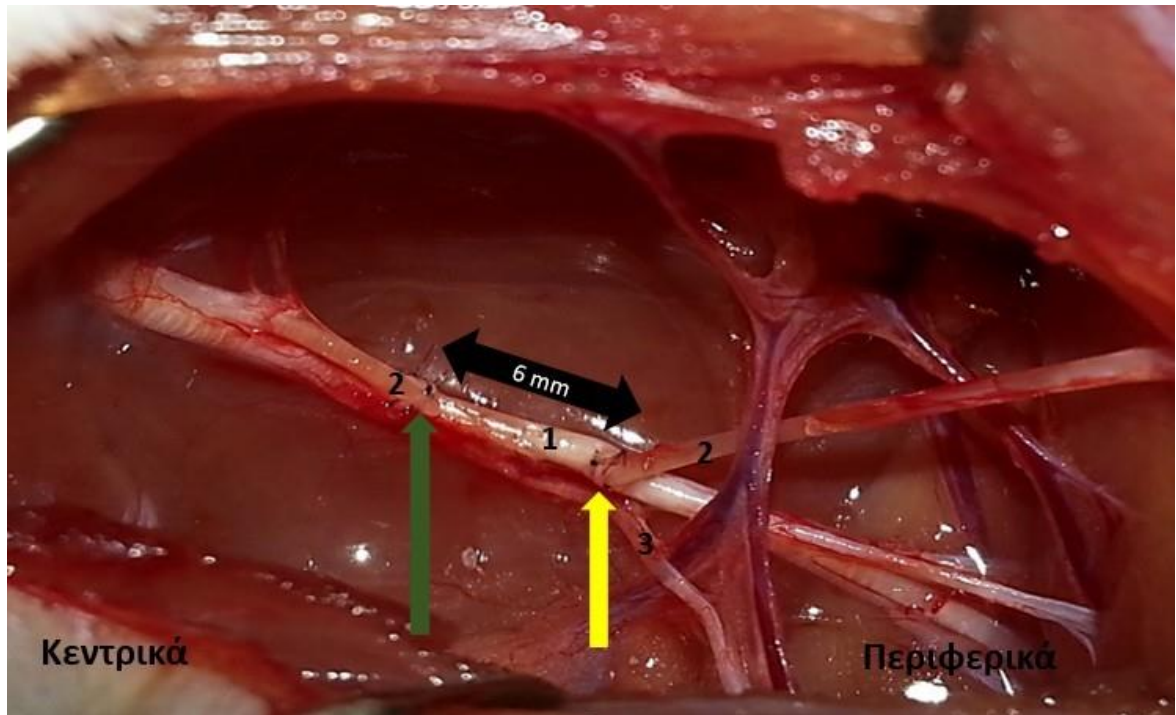
Εικόνα 79. Διεγχειρητική φωτογραφία πειραματοζώου της ομάδας Α. Απεικονίζεται η απόσταση 6 mm μεταξύ της κεντρικής και της άπω τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής. Απεικονίζεται το κνημιαίο νεύρο (1), το περνιαίο νεύρο (2) και το γαστροκνημιαίο νεύρο (3).



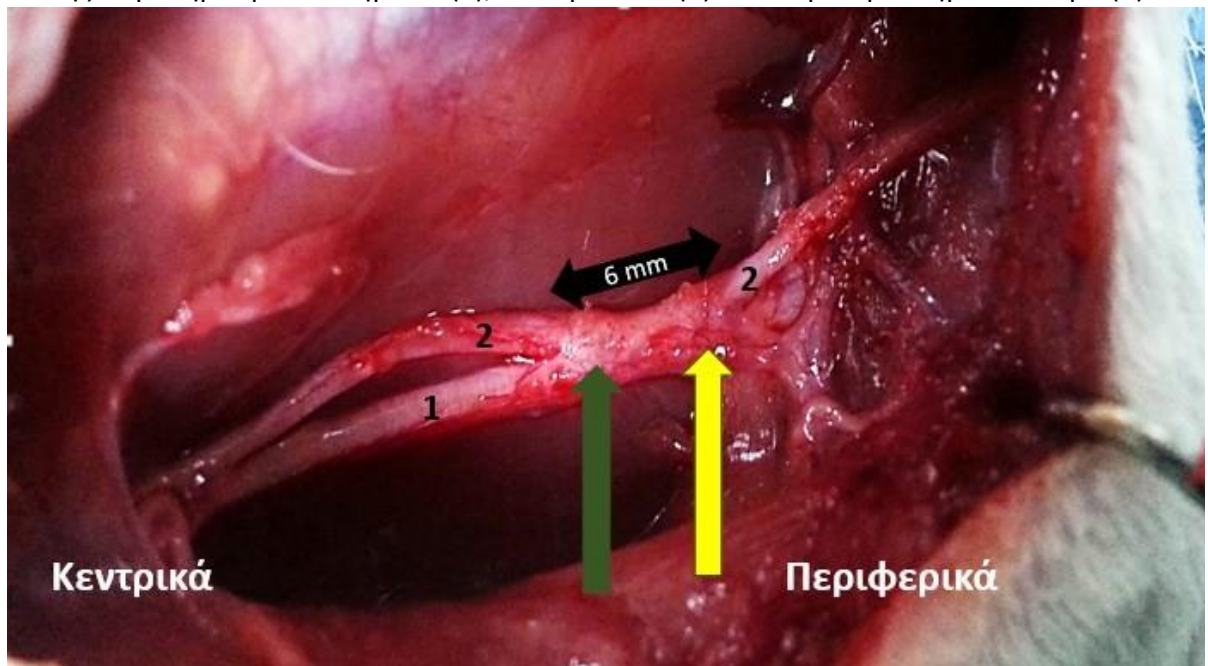
Εικόνα 80. Διεγχειρητική φωτογραφία κατά τη δεύτερη χειρουργική επέμβαση την 56η ημέρα. Απεικονίζεται η περιοχή των 2 τελικο-πλάγιων νευροσυρραφών (κεντρική με πράσινο βέλος και περιφερική με κίτρινο βέλος), η απόσταση των 6 mm μεταξύ τους (μαύρο βέλος), καθώς και το κνημιαίο (1) και το περνιαίο νεύρο (2). Παρατηρούμε την ομαλότητα των ιστών στην περιοχή των 2 νευροσυρραφών 56 ημέρες μετά την αρχική πραγματοποίησή τους. Η διάκριση των ραμμάτων είναι ιδιαίτερα δύσκολη λόγω του αναγεννηθέντος ιστού που έχει συγκεντρωθεί στην περιοχή της νευροσυρραφής.



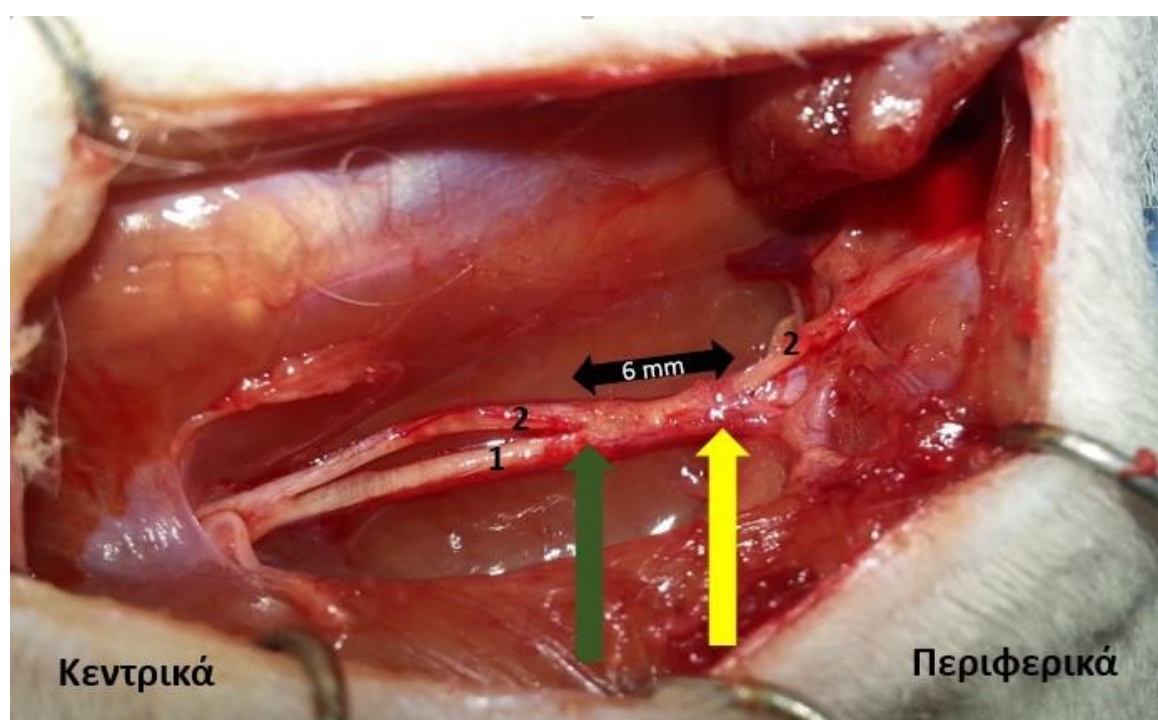
Εικόνα 81. Διεγχειρητική φωτογραφία πειραματοζώου της ομάδας Γ. Απεικονίζονται οι 2 τελικο-πλάγιες νευροσυρραφές (κεντρική με πράσινο βέλος και περιφερική με κίτρινο βέλος) σε απόσταση 6 mm η μία από την άλλη (μαύρο βέλος). Απεικονίζονται το κνημιαίο (1) νεύρο, το περνιαίο (2) και το γαστροκνημιαίο νεύρο (3).



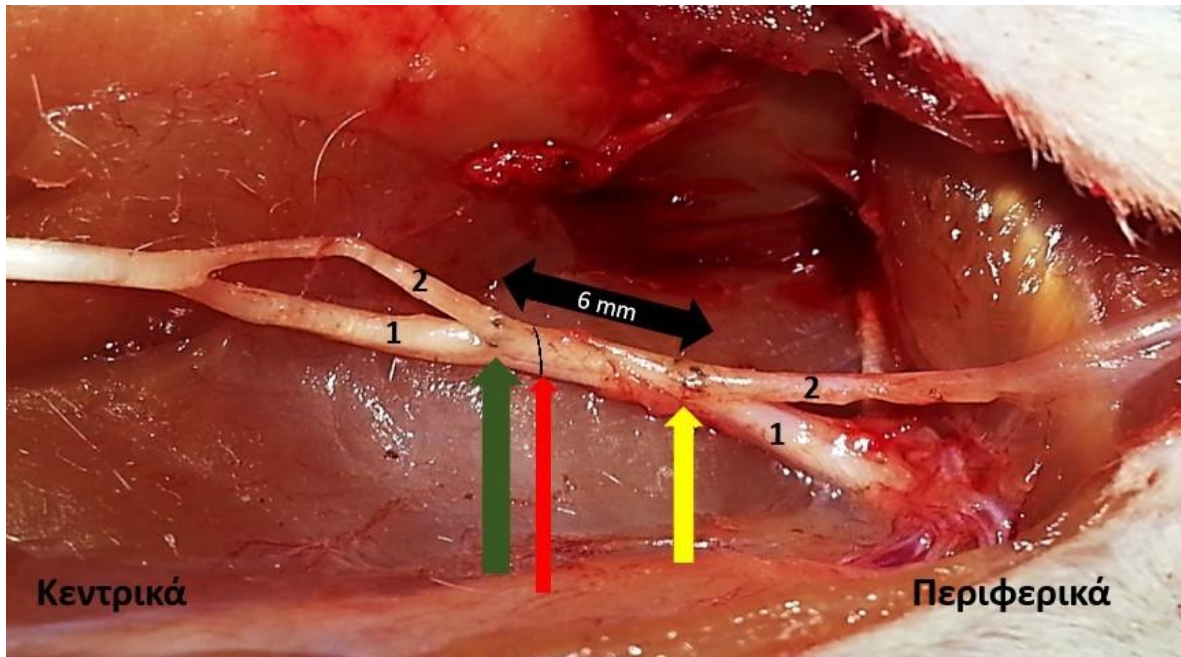
Εικόνα 82. Διεγχειρητική φωτογραφία από πειραματόζωο της ομάδας Β. Παρατηρούμε τη διπλή τελικο-πλάγια νευροσυρραφή (κεντρική με πράσινο βέλος και περιφερική με κίτρινο βέλος) σε απόσταση 6 mm την κεντρική από την περιφερική (μαύρο βέλος). Επίσης παρατηρούμε το κνημιαίο (1), το περονιαίο (2) και το γαστροκνημιαίο νεύρο (3).



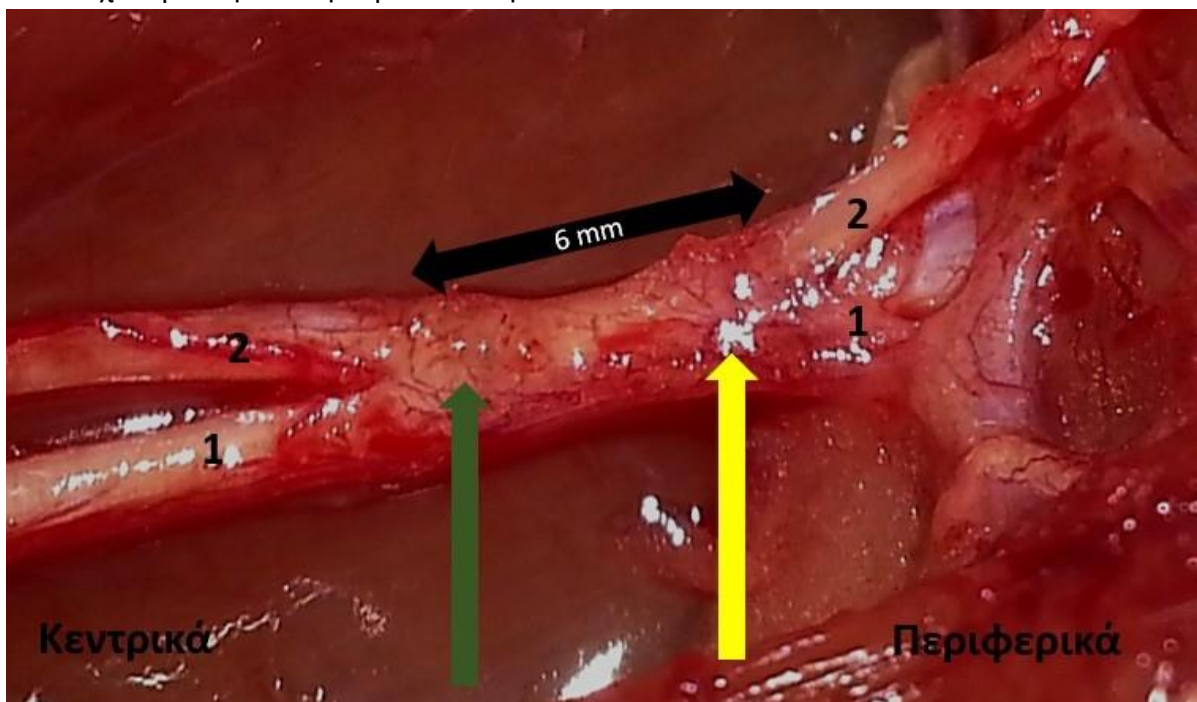
Εικόνα 83. Διεγχειρητική φωτογραφία από πειραματόζωο της ομάδας Β κατά την δεύτερη χειρουργική επέμβαση την 56^η ημέρα της μελέτης. Παρατηρούμε τις 2 τελικοπλάγιες νευροσυρραφές (κεντρική με πράσινο βέλος και περιφερική με κίτρινο βέλος) σε απόσταση 6 mm την κεντρική από την περιφερική (μαύρο βέλος). Παρατηρούμε το κνημιαίο (1) και το περονιαίο νεύρο (2) και την ομαλότητα των ιστών στις περιοχές των νευροσυρραφών 56 ημέρες μετά την αρχική επέμβαση.



Εικόνα 84. Διεγχειρητική φωτογραφία πειραματοζώου της ομάδας Α κατά την δεύτερη χειρουργική επέμβαση την 56^η ημέρα της μελέτης. Απεικονίζονται οι 2 τελικο-πλάγιες νευροσυρραφές (πράσινο βέλος για την κεντρική και κίτρινο βέλος για την περιφερική) σε απόσταση 6 mm η κεντρική από την περιφερική (μαύρο βέλος) καθώς και το κνημιαίο (1) και το περονιαίο (2) νεύρο.



Εικόνα 85. Διεγχειρητική φωτογραφία κατά την δεύτερη χειρουργική επέμβαση από πειραματόζωο της ομάδας Δ. Παρατηρούμε την διπλή τελικο-πλάγια νευροσυρραφή (κεντρική με πράσινο βέλος και περιφερική με κίτρινο βέλος) σε απόσταση 6 mm την κεντρική από την περιφερική (μαύρο βέλος), το κνημιαίο (1) και το περονιαίο (2) νεύρο. Επίσης με κόκκινο βέλος παρατηρούμε την νευρική βλάβη συμπίεσης με ράμμα Nylon 8-0 που έχει προκληθεί στην ομάδα αυτή.



Εικόνα 86. Διεγχειρητική φωτογραφία κατά τη δεύτερη χειρουργική επέμβαση την 56^η ημέρα της μελέτης από πειραματόζωο της ομάδας Γ. Παρατηρούμε τις 2 τελικο-πλάγιες νευροσυρραφές (κεντρική με πράσινο βέλος και περιφερική με κίτρινο βέλος) σε απόσταση 6 mm την κεντρική από την περιφερική (μαύρο βέλος) καθώς και το κνημιαίο (1) και περνιαίο (2) νεύρο. Στην φωτογραφία αυτή μπορούμε να παρατηρήσουμε και την δημιουργία vasa nervosum στο επινεύριο.

Συζήτηση

Αναμφισβήτητα σε αντίθεση με άλλους ιστούς η δυνατότητα αποκατάστασης του νευρικού ιστού είναι σαφώς περιορισμένη. Για το λόγο αυτό η πλήρης και ενδελεχής και λεπτομερής κατανόηση των βασικών ανατομικών δομών του νευρικού ιστού καθώς και των βασικών φυσιολογικών και παθοφυσιολογικών διαδικασιών της νευρικής λειτουργίας, της νευρικής βλάβης και των διαδικασιών νευρικής αποκατάστασης και αναγέννησης αποτελεί ακρογωνιαίο λίθο στην προσέγγιση της νευρικής βλάβης. Στην προσπάθεια αυτή είναι σημαντική η συνεισφορά της τεχνολογίας με την βελτίωση του μικροσκοπίου και των εργαλείων μικροχειρουργικής. Παρόλη την πρόοδο της επιστήμης στην κατανόηση των φαινομένων που παρατηρούνται μετά από τη νευρική βλάβη και στην προσπάθεια για νευρική αναγέννηση η επιτυχής αποκατάσταση μεγάλων ειδικά νευρικών ελλειμμάτων δεν είναι πάντοτε δυνατή.

Πολλοί διαφορετικοί τρόποι έχουν περιγραφεί στην προσπάθεια αποκατάστασης των νευρικών ελλειμμάτων όπως νευρικά αλλομοσχεύματα, χρήση νευρικών αγωγών, χρήση προϊόντων ινικής, κτλ. Η πιο αποτελεσματική μέθοδος που έχει

περιγραφεί μέχρι τώρα είναι η χρήση νευρικού αυτομοσχεύματος-αυτόλογου νευρικού μοσχεύματος. Εμφανίζει τα πιο ενθαρρυντικά αποτελέσματα στην προσπάθεια αποκατάστασης των νευρικών ελλειμμάτων, αλλά ενέχει μειονεκτήματα όπως η νοσηρότητα της δότριας περιοχής, οι περιορισμοί ανάλογα με τα ανατομικά χαρακτηριστικά του νεύρου της περιοχής (διάμετρος, μήκος), η αναγέννηση των νευραξόνων μεταξύ των περιοχών νευροσυρραφής. Ένας άλλος σημαντικός περιορισμός είναι το γεγονός ότι κινητικοί νευράξονες θα πρέπει να αναπτυχθούν από ένα αισθητικό νεύρο, που μπορεί να μην είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό.

Στην προσπάθεια να υπερνικηθούν τα εμπόδια αυτά, έχουν παρουσιαστεί διάφοροι τρόποι σαν εναλλακτικές της χρήσης των αυτόλογων νευρικών μοσχευμάτων. Στους τρόπους αυτούς ανήκουν διάφοροι αγωγοί-neurotubes των οποίων η χρήση μπορεί να ενισχυθεί με τη χρήση πεπτιδίων, κυττάρων Schwann καθώς και αυξητικών παραγόντων που έχει αποδειχθεί ότι είναι αποτελεσματικοί στην νευρική αναγέννηση.

Στην προσπάθεια βελτίωσης του περιβάλλοντος της νευροσυρραφής στο μέγιστο δυνατό χρησιμοποιούνται αυξητικοί παράγοντες και υλικά που μπορούν να επιδρούν σε διάφορα στάδια της νευρικής αναγέννησης. Τα υλικά αυτά μπορεί να είναι είτε φυσικά είτε τεχνητά. Τα προϊόντα αυτά μπορεί να αναστέλλουν τη δράση ανασταλτικών για την νευρική αναγέννηση μορίων, μπορεί να αυξάνουν την βιοσυμβατότητα ή να μειώνουν την απόρριψη υλικών λόγω της αντίδρασης ξένου σώματος, μπορεί να ευοδώνουν την μετανάστευση κυττάρων Schwann που δρουν θετικά στις διαδικασίες νευρικής αναγέννησης. Στην κατηγορία των υλικών αυτών ανήκει ο φλεβικός ιστός (vein wrapping technique που χρησιμοποιείται για τη βελτιστοποίηση του αποτελέσματος μετά από νευροσυρραφή), λαμινίνη,

ινονεκτίνη, κολλαγόνο, ικρίωμα βασικής μεμβράνης από μυ, κτλ. Αγωγοί από πολυγλυκολικό οξύ (PGA) έχουν χρησιμοποιηθεί είτε μεμονωμένα είτε σε συνδυασμό με κολλαγόνο τύπου I για την αποκατάσταση νευρικών βλαβών του ισχιακού νεύρου σε πειραματικά μοντέλα σε επίμυες (Meek et al 2008).

Αναφέρεται από τη συγκεκριμένη μελέτη ότι 4 μήνες μετά την χειρουργική επέμβαση παρατηρήθηκε η ανάπτυξη εμμύελων νευραξόνων εντός του αγωγού από πολυγλυκολικό οξύ. Περιγράφεται η χρήση των αγωγών αυτών σε περιπτώσεις τραυματικής βλάβης μικρής διαμέτρου περιφερικών νεύρων όπως για παράδειγμα δακτυλικά νεύρα. Οι αγωγοί αυτοί μπορεί να χρησιμοποιηθούν στην πρωτοπαθή αντιμετώπιση μικρών νευρικών ελλειμμάτων.

Εναλλακτικά μπορούν οι αγωγοί να χρησιμοποιηθούν για την κάλυψη μικρής απόστασης μεταξύ των νεύρων σε περίπτωση που έχει ήδη πραγματοποιηθεί αρχικά νευροσυρραφή χωρίς τάση.

Η απόσταση που εμφανίζεται να είναι κριτική για τη χρήση των μεθόδων αυτών είναι τα 40 mm, καθόσον φαίνεται ότι για μεγαλύτερα νευρικά χάσματα δεν παρατηρείται η ικανότητα των νευραξόνων να αναπτυχθούν μέσα σε αγωγούς χωρίς κυτταρικά στοιχεία. Το γεγονός αυτό σχετίζεται με την περιορισμένη ικανότητα των κυττάρων Schwann να μεταναστεύουν και να παρέχουν δομική υποστήριξη στους αναγεννούμενους νευράξονες.

Από μελέτη του Lykissas et al 2011 προκύπτει ότι η τεχνική της διπλής τελικοπλάγιας νευροσυρραφής μπορεί να γεφυρώσει αποτελεσματικά μικρά νευρικά ελλείμματα, αλλά μπορεί και να χρησιμοποιηθεί για την περίπτωση μεγάλων νευρικών ελλειμμάτων. Επίσης σε περιπτώσεις που το κεντρικό τμήμα του τραυματισμένου

νεύρου δεν είναι διαθέσιμο για νευροσυρραφή η μέθοδος αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν εναλλακτική λύση.

Στην πειραματική αυτή μελέτη χρησιμοποιήθηκε το πειραματικό μοντέλο της διπλής τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής. Το μοντέλο αυτό παρουσιάζει ιδιαιτερότητες. Αρχικά μια σημαντική συνιστώσα του μοντέλου αυτού είναι η δυνατότητα επαγωγής παράπλευρων αναγεννούμενων νευραξόνων. Οι αναγεννούμενοι νευράξονες έχουν την ικανότητα να διαπερνούν τις διάφορες στοιβάδες του νεύρου δότη και άρα να δημιουργήσουν συνδέσεις με το νεύρο δέκτη, βοηθώντας έτσι στην νευρική αναγέννηση. Από τους νευράξονες που έχουν αναγεννηθεί, οι κινητικοί έχουν την ικανότητα να δημιουργούν λειτουργικές συνδέσεις με τις περιφερικές κινητικές μονάδες των οργάνων.

Το μοντέλο της τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής προσφέρει την δυνατότητα ανάπτυξης νέων νευραξόνων, οι οποίοι με τη σειρά τους για να λειτουργήσουν θα πρέπει να βρίσκονται σε ένα περιβάλλον που δεν περιλαμβάνει ανασταλτικούς παράγοντες για την βελτίωση της λειτουργικότητάς τους. Σημαντικό ρόλο στο περιβάλλον αυτό διαδραματίζει η εξωκυττάριος θεμέλια ουσία, διάφοροι αυξητικοί παράγοντες, διάφοροι ανασταλτικοί παράγοντες της νευρικής αναγέννησης, το ιστικό ικρίωμα για τη μετανάστευση των νευραξόνων, τα κύτταρα Schwann και τα μακροφάγα που παίζουν ρόλο υποστηρικτικών κυττάρων. Υπό ιδανικές συνθήκες η επιτυχημένη προσπάθεια πρωτογενούς νευροσυρραφής μαζί με την προσπάθεια βελτιστοποίησης του περιβάλλοντος του νεύρου αποτελούν βασικά στοιχεία για την αποτελεσματική έκβαση της νευρικής αποκατάστασης.

Στην πειραματική μελέτη που πραγματοποιήθηκε, έγινε προσπάθεια να μελετηθεί η

δράση συγκεκριμένων φαρμακευτικών ουσιών-ΜΣΑΦ- και κυρίως της ιβουπροφαίνης στην περιφερική νευρική αναγέννηση. Η ιδιότητα της ιβουπροφαίνης να αναστέλει έναν βασικό ανασταλτικό παράγοντα της περιφερικής νευρικής αναγέννησης, περιορίζοντας σημαντικά την δράση του, φάνηκε ότι ενισχύει την προσπάθεια της περιφερικής νευρικής αναγέννησης.

Περίληψη

Σκοπός: Η πραγματοποίηση της μελέτης αυτής αποσκοπούσε στον έλεγχο της επίδρασης των Μη Στεροειδών Αντι-Φλεγμονωδών Φαρμάκων στην περιφερική νευρική αναγέννηση σε ένα πειραματικό μοντέλο διπλής τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής σε επίμυες. Συγκεκριμένα με τη μελέτη αυτή έγινε προσπάθεια να αποδειχθεί η θετική ή αρνητική επίδραση συγκεκριμένων ΜΣΑΦ (ιβουπροφαίνη και ναπροξένη) στην νευρική αναγέννηση.

Υλικό-Μέθοδος: Για την πραγματοποίηση της μελέτης χρησιμοποιήθηκαν 44 ενήλικοι αρσενικοί επίμυες τύπου Wistar οι οποίοι χωρίστηκαν σε 4 ομάδες: ομάδα Α στην οποία πραγματοποιήθηκε διατομή του περονιαίου νεύρου και διπλή τελικοπλάγια νευροσυρραφή του στο κνημιαίο νεύρο με απόσταση 6 mm μεταξύ των 2 νευροσυρραφών, ομάδα Β στην οποία πραγματοποιήθηκαν οι ίδιες διαδικασίες με την ομάδα Α με τη διαφορά ότι στα πειραματόζωα χορηγήθηκε το ΜΣΑΦ ιβουπροφαίνη για 7 ημέρες μετά την χειρουργική επέμβαση, στην ομάδα Γ στην οποία πραγματοποιήθηκαν οι ίδιες διαδικασίες με την ομάδα Α με τη διαφορά ότι στα πειραματόζωα χορηγήθηκε το ΜΣΑΦ ναπροξένη για 7 ημέρες μετά την επέμβαση

και στην ομάδα Δ στην οποία πραγματοποιήθηκαν οι ίδιες διαδικασίες με την ομάδα Α με τη διαφορά ότι προξενήθηκε βλάβη συμπίεσης στο κνημιαίο νεύρο. Σε όλα τα πειραματόζωα το ετερόπλευρο σκέλος χρησιμοποιήθηκε σαν μάρτυρας. Η λειτουργική αξιολόγηση του περονιαίου νεύρου για τον έλεγχο της νευρικής αναγέννησης πραγματοποιήθηκε ανά τακτά χρονικά διαστήματα μέχρι την 56^η ημέρα με τη βοήθεια του δείκτη Peroneal Function Index (PFI). Την ημέρα αυτή πραγματοποιήθηκε δεύτερη χειρουργική επέμβαση για τη λήψη νευρικού ιστού για ιστολογική εξέταση (πυκνότητα νευραξόνων) και του προσθίου κνημιαίου μυός για τον προσδιορισμό του βάρους του.

Αποτελέσματα: Από την αξιολόγηση της λειτουργικής και ιστολογικής εκτίμησης η ομάδα Β παρουσίασε στατιστικά σημαντικά πλεονεκτικότερα αποτελέσματα σε σχέση με τις ομάδες Α και Γ. Επίσης η ομάδα Β εμφάνισε βελτιωμένα αποτελέσματα όσον αφορά το βάρος του προσθίου κνημιαίου μυός σε σχέση με τις ομάδες Α και Γ. Παρατηρήσαμε ότι η δράση της ιβουπροφαίνης και όχι της ναπροξένης ευόδωσε την περιφερική νευρική αναγέννηση στο πειραματικό μοντέλο διπλής τελικοπλάγιας νευροσυρραφής που χρησιμοποιήσαμε. Στην ομάδα Δ λόγω της βλάβης του νεύρου δότη δεν παρατηρήθηκε βελτίωση των αποτελεσμάτων.

Συμπέρασμα: Η παρούσα μελέτη αποδεικνύει ότι μετά από περιφερική νευρική βλάβη η χρήση του ΜΣΑΦ της ιβουπροφαίνης μπορεί να ευοδώσει την περιφερική νευρική αναγέννηση σε πειραματικό μοντέλο διπλής τελικο-πλάγιας νευροσυρραφής σε επίμυες. Συνεπώς μπορεί να χορηγηθεί επικουρικά για τη βελτιστοποίηση των αποτελεσμάτων μετά από περιφερική νευρική βλάβη στον άνθρωπο. Περαιτέρω μελέτες απαιτούνται για τον καθορισμό της δόσης και της διάρκειας χορήγησης για το βέλτιστο αποτέλεσμα.

THE EFFECT OF NON-STEROID ANTI-INFLAMMATORY DRUGS IN PERIPHERAL NERVE REGENERATION. AN EXPERIMENTAL MODEL OF DOUBLE END-TO-SIDE NEURORRHAPHY IN RATS.

Abstract

Objectives: The main aim of this study was the evaluation of the effect of the NonSteroid Anti-Inflammatory Drugs in peripheral nerve regeneration in an experimental model of double end-to-side neurorrhaphy in rats. Specifically in this study we tried to access the positive or negative effect of the NSAIDs ibuprofen and naproxen in nerve regeneration.

Materials-Methods: For the completion of the study we used 44 adult male Wistar rats who were divided into 4 groups: Group A where the peroneal nerve was dissected and repaired with a double end-to-side neurorrhaphy to the tibial nerve with the distance between the 2 neurorrhaphies to be 6 mm, Group B in which the same procedures as in Group A were performed with the difference that in this group the NSAID ibuprofen was administered to the rats for 7 days after the operation, Group C in which the same procedures as in group A were performed with the difference that in this group the NSAID naproxen was administered to the rats for 7 days after the operation and Group D in which the same procedures as in group B were performed with the difference that in this group a compression injury to the donor nerve-tibial nerve was done. In all the rats the contralateral limb was used as control. The

functional evaluation of the peroneal nerve for nerve regeneration was performed before and after the operation up to the 56th day postoperative with the use of Peroneal Function Index (PFI). The same day a second operation took place and nerve tissue samples for histopathological examination (density of neuraxons per surface unit) and the anterior tibialis muscle was dissected for weight evaluation between the operated and the uninjured side.

Results: From the evaluation of the functional and histopathological results the animals of Group B had statistically significant better-superior results compared to the animals of Group A and C. Also Group B had better results in regard to the weight of the anterior tibialis muscle compared to Group A and C. From this study, we report that ibuprofen can stimulate peripheral nerve regeneration in an experimental model of double end-to-side neurorrhaphy in rats. Naproxen does not seem to have the same effect. In Group D due to the donor nerve injury, we could not observe any improvement in the regeneration phase.

Conclusion: This study reports that after peripheral nerve injury the use of the NSAID ibuprofen can stimulate peripheral nerve regeneration in an experimental mode of double end-to-side neurorrhaphy in rats. This medication can be used to improve the nerve rehabilitation in humans after nerve injury. Further studies to determine the exact dosage and duration of use are needed to extract safer results.

Μελλοντική προσέγγιση

Αξίζει να αναφερθεί ότι μία συνιστώσα της ευόδωσης της περιφερικής νευρικής αναγέννησης είναι η προσπάθεια μπλοκαρίσματος των μορίων εκείνων τα οποία

αναστέλλουν την νευρική αναγέννηση. Η προσέγγιση της αντιμετώπισης της νευρικής βλάβης με την χορήγηση ουσιών που αναστέλλουν τη δράση των ανασταλτικών παραγόντων αποδίδει ενθαρρυντικά αποτελέσματα σε πειραματικές μελέτες τουλάχιστον.

Αντικείμενο μελλοντικών μελετών θα αποτελέσει ο συνδυασμός αυτών των ανασταλτικών ουσιών στην προσπάθεια μεγιστοποίησης της ευόδωσης της περιφερικής νευρικής αναγέννησης. Για παράδειγμα θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί συνδυαστική μελέτη του ΜΣΑΦ ιβουπροφαίνη με τον παράγοντα φασουδίλη που είναι αναστολέας της ROCK. Επίσης τα αρχέγονα μεσεγχυματικά κύτταρα θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό με άλλες ευοδωτικές ουσίες για τη μεγιστοποίηση του αποτελέσματος της νευρικής αναγέννησης.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Adalbert, R., Morreale, G., Paizs, M., Conforti, L., Walker, S. A., Roderick, H. L., Coleman, M. P. (2012). Intra-axonal calcium changes after axotomy in wild-type and slow Wallerian degeneration axons. *Neuroscience*, 225, 44-54. doi:10.1016/j.neuroscience.2012.08.056
- Aird, R. B., & Naffziger, H. C. (1953). The pathology of human striated muscle following denervation. *J Neurosurg*, 10(3), 216-227. doi:10.3171/jns.1953.10.3.0216
- Al-Majed, A. A., Tam, S. L., & Gordon, T. (2004). Electrical stimulation accelerates and enhances expression of regeneration-associated genes in regenerating rat femoral motoneurons. *Cell Mol Neurobiol*, 24(3), 379-402.
- Amano, M., Ito, M., Kimura, K., Fukata, Y., Chihara, K., Nakano, T., Kaibuchi, K. (1996). Phosphorylation and activation of myosin by Rho-associated kinase (Rho-kinase). *J Biol Chem*, 271(34), 20246-20249.
- Antoniadis, G., Kretschmer, T., Pedro, M. T., Konig, R. W., Heinen, C. P., & Richter, H. P. (2014). Iatrogenic nerve injuries: prevalence, diagnosis and treatment. *Dtsch Arztebl Int*, 111(16), 273-279. doi:10.3238/arztebl.2014.0273
- Anzil, A. P., & Wernig, A. (1989). Muscle fibre loss and reinnervation after long-term denervation. *J Neurocytol*, 18(6), 833-845.
- Avery, M. A., Rooney, T. M., Pandya, J. D., Wishart, T. M., Gillingwater, T. H., Geddes, J. W., Freeman, M. R. (2012). WldS prevents axon degeneration through increased mitochondrial flux and enhanced mitochondrial Ca²⁺ buffering. *Curr Biol*, 22(7), 596-600. doi:10.1016/j.cub.2012.02.043
- Bain, J. R., Mackinnon, S. E., & Hunter, D. A. (1989). Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconstr Surg*, 83(1), 129-138.
- Bain, J. R., Veltri, K. L., Chamberlain, D., & Fahnstock, M. (2001). Improved functional recovery of denervated skeletal muscle after temporary sensory nerve innervation. *Neuroscience*, 103(2), 503-510.
- Benavides, E., & Alvarez, J. (1998). Peripheral axons of Wlds mice, which regenerate after a delay of several weeks, do so readily when transcription is inhibited in the distal stump. *Neurosci Lett*, 258(2), 77-80.
- Beris A, Lykissas M, Korompilias A, Mitsionis G, End-to-side nerve repair in peripheral nerve injury, *J Neurotrauma*. 2007 May;24(5):909-16. Review.
- Beuche, W., & Friede, R. L. (1984). The role of non-resident cells in Wallerian degeneration. *J Neurocytol*, 13(5), 767-796.
- Billings-Gagliardi, S. (1977). Mode of locomotion of Schwann cells migrating in vivo. *Am J Anat*, 150(1), 73-87. doi:10.1002/aja.1001500106
- Bloechlinger, S., Karchewski, L. A., & Woolf, C. J. (2004). Dynamic changes in glypican-1 expression in dorsal root ganglion neurons after peripheral and central axonal injury. *Eur J Neurosci*, 19(5), 1119-1132. doi:10.1111/j.1460-9568.2004.03262.x
- Boato, F., Hendrix, S., Huelsenbeck, S. C., Hofmann, F., Grosse, G., Djalali, S., Holtje, M. (2010). C3 peptide enhances recovery from spinal cord injury by improved regenerative

- growth of descending fiber tracts. *J Cell Sci*, 123(Pt 10), 1652-1662. doi:jcs.066050 [pii] 10.1242/jcs.066050 [doi]
- Boyd, J. G., & Gordon, T. (2002). A dose-dependent facilitation and inhibition of peripheral nerve regeneration by brain-derived neurotrophic factor. *Eur J Neurosci*, 15(4), 613626.
- Bove GM, Light AR. The nervi nervorum: missing link for neuropathic pain? *Pain Forum*. 1997;6:181–190.
- Burke RE, Sir Charles Sherrington's the integrative action of the nervous system: a centenary appreciation, *Brain*. 2007 Apr;130(Pt 4):887-94.
- Burnett, M. G., & Zager, E. L. (2004). Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. *Neurosurg Focus*, 16(5), E1.
- Campbell, W. W. (2008). Evaluation and management of peripheral nerve injury. *Clin Neurophysiol*, 119(9), 1951-1965. doi:10.1016/j.clinph.2008.03.018
- Catala M, Kubis N, Gross anatomy and development of the peripheral nervous system, *Handb Clin Neurol*. 2013;115:29-41. doi: 10.1016/B978-0-444-52902-2.00003-5.
- Chacon, P. J., Garcia-Mejias, R., & Rodriguez-Tebar, A. (2011). Inhibition of RhoA GTPase and the subsequent activation of PTP1B protects cultured hippocampal neurons against amyloid beta toxicity. *Mol Neurodegener*, 6(1), 14. doi:1750-1326-6-14 [pii] 10.1186/1750-1326-6-14 [doi]
- Chaudhry, V., Glass, J. D., & Griffin, J. W. (1992). Wallerian degeneration in peripheral nerve disease. *Neurol Clin*, 10(3), 613-627.
- Chen, Z. L., Yu, W. M., & Strickland, S. (2007). Peripheral regeneration. *Annu Rev Neurosci*, 30, 209-233. doi:10.1146/annurev.neuro.30.051606.094337
- Cheng, C., Webber, C. A., Wang, J., Xu, Y., Martinez, J. A., Liu, W. Q., Zochodne, D. W. (2008). Activated RHOA and peripheral axon regeneration. *Exp Neurol*, 212(2), 358-369. doi:S0014-4886(08)00163-5 [pii] 10.1016/j.expneurol.2008.04.023 [doi]
- Christie, K. J., Martinez, J. A., & Zochodne, D. W. (2012). Disruption of E3 ligase NEDD4 in peripheral neurons interrupts axon outgrowth: Linkage to PTEN. *Mol Cell Neurosci*, 50(2), 179-192. doi:10.1016/j.mcn.2012.04.006
- Christie, K. J., Webber, C. A., Martinez, J. A., Singh, B., & Zochodne, D. W. (2010). PTEN inhibition to facilitate intrinsic regenerative outgrowth of adult peripheral axons. *J Neurosci*, 30(27), 9306-9315. doi:10.1523/jneurosci.6271-09.2010
- Christie K, Koshy D, Cheng C, Guo G, Martinez JA, Duraikannu A, Zochodne DW, Intraganglionic interactions between satellite cells and adult sensory neurons, *Mol Cell Neurosci*. 2015 Jul;67:1-12. doi: 10.1016/j.mcn.2015.05.001. Epub 2015 May 12.
- Coleman, M. P., Conforti, L., Buckmaster, E. A., Tarlton, A., Ewing, R. M., Brown, M. C., Perry, V. H. (1998). An 85-kb tandem triplication in the slow Wallerian degeneration (Wlds) mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95(17), 9985-9990.
- Coleman, M. P., & Freeman, M. R. (2010). Wallerian degeneration, wld(s), and nmnat. *Annu Rev Neurosci*, 33, 245-267. doi:10.1146/annurev-neuro-060909-153248
- Conforti, L., Tarlton, A., Mack, T. G., Mi, W., Buckmaster, E. A., Wagner, D., Coleman, M. P. (2000). A Ufd2/D4Cole1e chimeric protein and overexpression of Rbp7 in the slow Wallerian degeneration (Wlds) mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97(21), 11377-11382. doi:10.1073/pnas.97.21.11377

- Curt, A., Van Hedel, H. J., Klaus, D., & Dietz, V. (2008). Recovery from a spinal cord injury: significance of compensation, neural plasticity, and repair. *J Neurotrauma*, 25(6), 677-685. doi:10.1089/neu.2007.0468 [doi]
- David, S., & Aguayo, A. J. (1981). Axonal elongation into peripheral nervous system "bridges" after central nervous system injury in adult rats. *Science*, 214(4523), 931-933.
- de Medinaceli, L., Freed, W. J., & Wyatt, R. J. (1982). An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. *Exp Neurol*, 77(3), 634-643.
- Dellon, A. L., & Mackinnon, S. E. (1988). Basic scientific and clinical applications of peripheral nerve regeneration. *Surg Annu*, 20, 59-100.
- Detloff, M. R., Fisher, L. C., McGaughy, V., Longbrake, E. E., Popovich, P. G., & Basso, D. M. (2008). Remote activation of microglia and pro-inflammatory cytokines predict the onset and severity of below-level neuropathic pain after spinal cord injury in rats. *Exp Neurol*, 212(2), 337-347. doi:S0014-4886(08)00158-1 [pii] 10.1016/j.expneurol.2008.04.009 [doi]
- Dill, J., Patel, A. R., Yang, X. L., Bachoo, R., Powell, C. M., & Li, S. (2010). A molecular mechanism for ibuprofen-mediated RhoA inhibition in neurons. *J Neurosci*, 30(3), 963-972. doi:30/3/963 [pii] 10.1523/JNEUROSCI.5045-09.2010 [doi]
- Donnelly, C. J., Willis, D. E., Xu, M., Tep, C., Jiang, C., Yoo, S., Twiss, J. L. (2011). Limited availability of ZBP1 restricts axonal mRNA localization and nerve regeneration capacity. *Embo j*, 30(22), 4665-4677. doi:10.1038/emboj.2011.347
- Duce, J. A., Hollander, W., Jaffe, R., & Abraham, C. R. (2006). Activation of early components of complement targets myelin and oligodendrocytes in the aged rhesus monkey brain. *Neurobiol Aging*, 27(4), 633-644. doi:S0197-4580(05)00143-0 [pii] 10.1016/j.neurobiolaging.2005.03.027 [doi]
- Dumitru, D., Diaz, C. A., & King, J. C. (2001). Prevalence of denervation in paraspinal and foot intrinsic musculature. *Am J Phys Med Rehabil*, 80(7), 482-490.
- Dyck, P. (2005). *Peripheral Neuropathy* (Vol. Volume 1-2, pp. 2753p). Rochester, MN, United States Mayo Clinic.
- Eberstein, A., & Eberstein, S. (1996). Electrical stimulation of denervated muscle: is it worthwhile? *Med Sci Sports Exerc*, 28(12), 1463-1469.
- Evans, P. J., Bain, J. R., Mackinnon, S. E., Makino, A. P., & Hunter, D. A. (1991). Selective reinnervation: a comparison of recovery following microsuture and conduit nerve repair. *Brain Res*, 559(2), 315-321.
- Faroni, A., Mobasser, S. A., Kingham, P. J., & Reid, A. J. (2015). Peripheral nerve regeneration: experimental strategies and future perspectives. *Adv Drug Deliv Rev*, 82-83, 160-167. doi:S0169-409X(14)00273-7 [pii] 10.1016/j.addr.2014.11.010 [doi]
- Fenrich, K., & Gordon, T. (2004). Canadian Association of Neuroscience review: axonal regeneration in the peripheral and central nervous systems--current issues and advances. *Can J Neurol Sci*, 31(2), 142-156.
- Fournier, A. E., Takizawa, B. T., & Strittmatter, S. M. (2003). Rho kinase inhibition enhances axonal regeneration in the injured CNS. *J Neurosci*, 23(4), 1416-1423. doi:23/4/1416 [pii]
- Fry, E. J., Ho, C., & David, S. (2007). A role for Nogo receptor in macrophage clearance from injured peripheral nerve. *Neuron*, 53(5), 649-662. doi:S0896-6273(07)00108-0 [pii] 10.1016/j.neuron.2007.02.009 [doi]

- Fu, Q., Hue, J., & Li, S. (2007). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs promote axon regeneration via RhoA inhibition. *J Neurosci*, 27(15), 4154-4164. doi:27/15/4154 [pii] 10.1523/JNEUROSCI.4353-06.2007 [doi]
- Fu, S. Y., & Gordon, T. (1995). Contributing factors to poor functional recovery after delayed nerve repair: prolonged denervation. *J Neurosci*, 15(5 Pt 2), 3886-3895.
- Geuna, S., Raimondo, S., Ronchi, G., Di Scipio, F., Tos, P., Czaja, K., & Fornaro, M. (2009). Chapter 3: Histology of the peripheral nerve and changes occurring during nerve regeneration. *Int Rev Neurobiol*, 87, 27-46. doi:10.1016/s0074-7742(09)87003-7
- Gilley, J., & Coleman, M. P. (2010). Endogenous Nmnat2 is an essential survival factor for maintenance of healthy axons. *PLoS Biol*, 8(1), e1000300. doi:10.1371/journal.pbio.1000300
- Gordon, T., Sulaiman, O., & Boyd, J. G. (2003). Experimental strategies to promote functional recovery after peripheral nerve injuries. *J Peripher Nerv Syst*, 8(4), 236-250. doi:3029 [pii]
- Gordon, T., Tyreman, N., & Raji, M. A. (2011). The basis for diminished functional recovery after delayed peripheral nerve repair. *J Neurosci*, 31(14), 5325-5334. doi:10.1523/jneurosci.6156-10.2011
- Govek, E. E., Newey, S. E., & Van Aelst, L. (2005). The role of the Rho GTPases in neuronal development. *Genes Dev*, 19(1), 1-49. doi:19/1/1 [pii] 10.1101/gad.1256405 [doi]
- Griffin, J. W., Hogan, M. V., Chhabra, A. B., & Deal, D. N. (2013). Peripheral nerve repair and reconstruction. *J Bone Joint Surg Am*, 95(23), 2144-2151. doi:10.2106/jbjs.l.00704
- Hall, S. (2005). The response to injury in the peripheral nervous system. *J Bone Joint Surg Br*, 87(10), 1309-1319. doi:10.1302/0301-620x.87b10.16700
- Hall, S. M. (1989). Regeneration in the peripheral nervous system. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 15(6), 513-529.
- Hall, S. M. (1999). The biology of chronically denervated Schwann cells. *Ann N Y Acad Sci*, 883, 215-233.
- Hanz, S., Perlson, E., Willis, D., Zheng, J. Q., Massarwa, R., Huerta, J. J., Fainzilber, M. (2003). Axoplasmic importins enable retrograde injury signaling in lesioned nerve. *Neuron*, 40(6), 1095-1104.
- Hare, G. M., Evans, P. J., Mackinnon, S. E., Best, T. J., Bain, J. R., Szalai, J. P., & Hunter, D. A. (1992). Walking track analysis: a long-term assessment of peripheral nerve recovery. *Plast Reconstr Surg*, 89(2), 251-258.
- Hiraga, A., Kuwabara, S., Doya, H., Kanai, K., Fujitani, M., Taniguchi, J., Yamashita, T. (2006). Rho-kinase inhibition enhances axonal regeneration after peripheral nerve injury. *J Peripher Nerv Syst*, 11(3), 217-224. doi:10.1111/j.1529-8027.2006.00091.x
- Hoke, A. (2011). A (heat) shock to the system promotes peripheral nerve regeneration. *J Clin Invest*, 121(11), 4231-4234. doi:10.1172/jci59320
- Hoke, A., Gordon, T., Zochodne, D. W., & Sulaiman, O. A. (2002). A decline in glial cell-line derived neurotrophic factor expression is associated with impaired regeneration after long-term Schwann cell denervation. *Exp Neurol*, 173(1), 77-85. doi:10.1006/exnr.2001.7826
- Hu, X., Hicks, C. W., He, W., Wong, P., Macklin, W. B., Trapp, B. D., & Yan, R. (2006). Bace1 modulates myelination in the central and peripheral nervous system. *Nat Neurosci*, 9(12), 1520-1525. doi:10.1038/nn1797
- Huebner, E. A., & Strittmatter, S. M. (2009). Axon regeneration in the peripheral and central nervous systems. *Results Probl Cell*

- Differ, 48, 339-351. doi:10.1007/400_2009_19 Ide, C. (1996). Peripheral nerve regeneration. *Neurosci Res*, 25(2), 101-121.
- Inoue, M., Rashid, M. H., Fujita, R., Contos, J. J., Chun, J., & Ueda, H. (2004). Initiation of neuropathic pain requires lysophosphatidic acid receptor signaling. *Nat Med*, 10(7), 712-718. doi:10.1038/nm1060 [doi] nm1060 [pii]
- Isaacs, J., Loveland, K., Mallu, S., Adams, S., & Wodicka, R. (2011). The use of anabolic steroids as a strategy in reversing denervation atrophy after delayed nerve repair. *Hand (N Y)*, 6(2), 142-148. doi:10.1007/s11552-011-9331-y
- Jessen, K. R., & Mirsky, R. (2008). Negative regulation of myelination: relevance for development, injury, and demyelinating disease. *Glia*, 56(14), 1552-1565. doi:10.1002/glia.20761
- Julien, S., Schnichels, S., Teng, H., Tassew, N., Henke-Fahle, S., Mueller, B. K., & Monnier, P. P. (2008). Purkinje cell survival in organotypic cultures: implication of Rho and its downstream effector ROCK. *J Neurosci Res*, 86(3), 531-536. doi:10.1002/jnr.21511 [doi]
- Jung, J., Cai, W., Lee, H. K., Pellegatta, M., Shin, Y. K., Jang, S. Y., Park, H. T. (2011). Actin polymerization is essential for myelin sheath fragmentation during Wallerian degeneration. *J Neurosci*, 31(6), 2009-2015. doi:10.1523/JNEUROSCI.4537-10.2011 [doi]
- Kang, H., Tian, L., & Thompson, W. (2003). Terminal Schwann cells guide the reinnervation of muscle after nerve injury. *J Neurocytol*, 32(5-8), 975-985. doi:10.1023/B:NEUR.0000020636.27222.2d
- Kehoe, S., Zhang, X. F., & Boyd, D. (2012). FDA approved guidance conduits and wraps for peripheral nerve injury: a review of materials and efficacy. *Injury*, 43(5), 553-572. doi:10.1016/j.injury.2010.12.030
- Kerschensteiner, M., Schwab, M. E., Lichtman, J. W., & Misgeld, T. (2005). In vivo imaging of axonal degeneration and regeneration in the injured spinal cord. *Nat Med*, 11(5), 572-577. doi:10.1038/nm1229
- Koeppen, A. H. (2004). Wallerian degeneration: history and clinical significance. *J Neurol Sci*, 220(1-2), 115-117. doi:10.1016/j.jns.2004.03.008
- Korompilias AV, Lykissas MG, Kostas-Agnantis IP, Vekris MD, Soucacos PN, Beris AE, Approach to radial nerve palsy caused by humerus shaft fracture: is primary exploration necessary?, *Injury*, 2013 Mar;44(3):323-6. doi: 10.1016/j.injury.2013.01.004. Epub 2013 Jan 23.
- Landon DL, & S, H. (1976). The myelinated fibre. In C. a. Hall (Ed.), *The peripheral nerve* (pp. 1-105). London Landon DN.
- Lunn, E. R., Brown, M. C., & Perry, V. H. (1990). The pattern of axonal degeneration in the peripheral nervous system varies with different types of lesion. *Neuroscience*, 35(1), 157-165.
- Lykissas, M. G. (2011). Current concepts in end-to-side neurorrhaphy. *World J Orthop*, 2(11), 102-106. doi:10.5312/wjo.v2.i11.102 [doi]
- Lykissas, M. G., Sakellariou, E., Vekris, M. D., Kontogeorgakos, V. A., Batistatou, A. K., Mitsionis, G. I., & Beris, A. E. (2007). Axonal regeneration stimulated by erythropoietin: an experimental study in rats. *J Neurosci Methods*, 164(1), 107-115. doi:S0165-0270(07)00180-X [pii] 10.1016/j.jneumeth.2007.04.008 [doi]

- Lykissas MG, Korompilias AV, Batistatou AK, Mitsionis GI, Beris AE, Can end-to-side neurorrhaphy bridge large defects? An experimental study in rats, *Muscle Nerve*. 2007 Nov;36(5):664-71.
- Lykissas MG, Korompilias AV, Vekris MD, Mitsionis GI, Sakellariou E, Beris AE, The role of erythropoietin in central and peripheral nerve injury, *Clin Neurol Neurosurg*. 2007 Oct;109(8):639-44. Epub 2007 Jul 12. Review.
- Ma, C. H., Omura, T., Cobos, E. J., Latremoliere, A., Ghasemlou, N., Brenner, G. J., Woolf, C. J. (2011). Accelerating axonal growth promotes motor recovery after peripheral nerve injury in mice. *J Clin Invest*, 121(11), 4332-4347. doi:10.1172/jci58675
- Madura T, Tomita K, Terenghi G, Ibuprofen improves functional outcome after axotomy and immediate repair in the peripheral nervous system, *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2011 Dec;64(12):1641-6. doi: 10.1016/j.bjps.2011.07.014. Epub 2011 Aug 3.
- Maggi, S. P., Lowe, J. B., 3rd, & Mackinnon, S. E. (2003). Pathophysiology of nerve injury. *Clin Plast Surg*, 30(2), 109-126.
- Malessy MJ, Pondaag W, van Dijk JG, Electromyography, nerve action potential, and compound motor action potentials in obstetric brachial plexus lesions: validation in the absence of a "gold standard", *Neurosurgery*. 2009 Oct;65(4 Suppl):A153-9. doi: 10.1227/01.NEU.0000338429.66249.7D.
- Manzano GM, Giuliano LM, Nóbrega JA, A brief historical note on the classification of nerve fibers, *Arq Neuropsiquiatr*. 2008 Mar;66(1):117-9.
- McKerracher, L., & Winton, M. J. (2002). Nogo on the go. *Neuron*, 36(3), 345-348.
- Meek MF, Coert JH, US Food and Drug Administration /Conformit Europe- approved absorbable nerve conduits for clinical repair of peripheral and cranial nerves, *Ann Plast Surg*. 2008 Apr;60(4):466-72.
- Meek, M. F., Den Dunnen, W. F., Schakenraad, J. M., & Robinson, P. H. (1999). Long-term evaluation of functional nerve recovery after reconstruction with a thin-walled biodegradable poly (DL-lactide-epsilon-caprolactone) nerve guide, using walking track analysis and electrostimulation tests. *Microsurgery*, 19(5), 247-253.
- Mei, L., & Xiong, W. C. (2008). Neuregulin 1 in neural development, synaptic plasticity and schizophrenia. *Nat Rev Neurosci*, 9(6), 437-452. doi:10.1038/nrn2392
- Menorca R., Fussell T., Elfar J., Peripheral Nerve Trauma: Mechanisms of Injury and Recovery, *Hand Clin*. Author manuscript; available in PMC 2015 Apr 24. Published in final edited form as: *Hand Clin*. 2013 Aug; 29(3): 317–330. doi: 10.1016/j.hcl.2013.04.002
- Micko, S., & Schlaepfer, W. W. (1978). Protein composition of axons and myelin from rat and human peripheral nerves. *J Neurochem*, 30(5), 1041-1049.
- Miranda, G. E., & Torres, R. Y. (2016). Epidemiology of Traumatic Peripheral Nerve Injuries Evaluated with Electrodiagnostic Studies in a Tertiary Care Hospital Clinic. *P R Health Sci J*, 35(2), 76-80.
- Mueller, B. K., Mack, H., & Teusch, N. (2005). Rho kinase, a promising drug target for neurological disorders. *Nat Rev Drug Discov*, 4(5), 387-398. doi:nrd1719 [pii] 10.1038/nrd1719 [doi]
- Murinson, B. B., Archer, D. R., Li, Y., & Griffin, J. W. (2005). Degeneration of myelinated efferent fibers prompts mitosis in Remak Schwann cells of uninjured C-fiber afferents. *J Neurosci*, 25(5), 1179-1187. doi:10.1523/jneurosci.1372-04.2005

- Nakagomi, S., Suzuki, Y., Namikawa, K., Kiryu-Seo, S., & Kiyama, H. (2003). Expression of the activating transcription factor 3 prevents c-Jun N-terminal kinase-induced neuronal death by promoting heat shock protein 27 expression and Akt activation. *J Neurosci*, 23(12), 5187-5196.
- Nave KA, Werner HB, Myelination of the nervous system: mechanisms and functions, *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2014;30:503-33. doi: 10.1146/annurev-cellbio-100913-013101.
- Noble, J., Munro, C. A., Prasad, V. S., & Midha, R. (1998). Analysis of upper and lower extremity peripheral nerve injuries in a population of patients with multiple injuries. *J Trauma*, 45(1), 116-122.
- Olofsson, B. (1999). Rho guanine dissociation inhibitors: pivotal molecules in cellular signalling. *Cell Signal*, 11(8), 545-554. doi:S0898-6568(98)00063-1 [pii]
- Omar A, Bhimji SS, Physiology, Neuromuscular Junction, SourceStatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2017-, 2017 Dec 12.
- Osterloh, J. M., Yang, J., Rooney, T. M., Fox, A. N., Adalbert, R., Powell, E. H., Freeman, M. R. (2012). dSarm/Sarm1 is required for activation of an injury-induced axon death pathway. *Science*, 337(6093), 481-484. doi:10.1126/science.1223899
- Park, K. J., Grosso, C. A., Aubert, I., Kaplan, D. R., & Miller, F. D. (2010). p75NTR-dependent, myelin-mediated axonal degeneration regulates neural connectivity in the adult brain. *Nat Neurosci*, 13(5), 559-566. doi:nn.2513 [pii] 10.1038/nn.2513 [doi]
- Park, K. K., Liu, K., Hu, Y., Smith, P. D., Wang, C., Cai, B., He, Z. (2008). Promoting axon regeneration in the adult CNS by modulation of the PTEN/mTOR pathway. *Science*, 322(5903), 963-966. doi:10.1126/science.1161566
- Patodia, S., & Raivich, G. (2012a). Downstream effector molecules in successful peripheral nerve regeneration. *Cell Tissue Res*, 349(1), 15-26. doi:10.1007/s00441-012-1416-6
- Patodia, S., & Raivich, G. (2012b). Role of transcription factors in peripheral nerve regeneration. *Front Mol Neurosci*, 5, 8. doi:10.3389/fnmol.2012.00008
- Perry, V. H., Brown, M. C., Lunn, E. R., Tree, P., & Gordon, S. (1990). Evidence that Very Slow Wallerian Degeneration in C57BL/Ola Mice is an Intrinsic Property of the Peripheral Nerve. *Eur J Neurosci*, 2(9), 802-808.
- Peters, A. (2002). The effects of normal aging on myelin and nerve fibers: a review. *J Neurocytol*, 31(8-9), 581-593.
- Raff, M. C., Whitmore, A. V., & Finn, J. T. (2002). Axonal self-destruction and neurodegeneration. *Science*, 296(5569), 868-871. doi:10.1126/science.1068613
- Rahmatullah, M., Schroering, A., Rothblum, K., Stahl, R. C., Urban, B., & Carey, D. J. (1998). Synergistic regulation of Schwann cell proliferation by heregulin and forskolin. *Mol Cell Biol*, 18(11), 6245-6252.
- Ristic, S., Strauch, R. J., & Rosenwasser, M. P. (2000). The assessment and treatment of nerve dysfunction after trauma around the elbow. *Clin Orthop Relat Res*(370), 138-153.
- Rydevik, B., & Lundborg, G. (1977). Permeability of intraneural microvessels and perineurium following acute, graded experimental nerve compression. *Scand J Plast Reconstr Surg*, 11(3), 179-187.
- Saadat, S., Eslami, V., & Rahimi-Movaghar, V. (2011). The incidence of peripheral nerve injury in trauma patients in Iran. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*, 17(6), 539-544. doi:10.5505/tjtes.2011.75735
- Scheib, J., & Hoke, A. (2013). Advances in peripheral nerve regeneration. *Nat Rev Neurol*, 9(12), 668-676. doi:10.1038/nrneurol.2013.227

- Schulz, A., Baader, S. L., Niwa-Kawakita, M., Jung, M. J., Bauer, R., Garcia, C., Morrison, H. (2013). Merlin isoform 2 in neurofibromatosis type 2-associated polyneuropathy. *Nat Neurosci*, 16(4), 426-433. doi:nn.3348 [pii] 10.1038/nn.3348 [doi]
- Schwab, J. M., Conrad, S., Elbert, T., Trautmann, K., Meyermann, R., & Schluesener, H. J. (2004). Lesional RhoA+ cell numbers are suppressed by anti-inflammatory, cyclooxygenase-inhibiting treatment following subacute spinal cord injury. *Glia*, 47(4), 377-386. doi:10.1002/glia.E20031 [doi]
- Seddon, H. J., Medawar, P. B., & Smith, H. (1943). Rate of regeneration of peripheral nerves in man. *J Physiol*, 102(2), 191-215.
- Seijffers, R., Mills, C. D., & Woolf, C. J. (2007). ATF3 increases the intrinsic growth state of DRG neurons to enhance peripheral nerve regeneration. *J Neurosci*, 27(30), 7911-7920. doi:10.1523/jneurosci.5313-06.A2007
- Sharma, H. S., & Winkler, T. (2002). Assessment of spinal cord pathology following trauma using early changes in the spinal cord evoked potentials: a pharmacological and morphological study in the rat. *Muscle Nerve Suppl*, 11, S83-91. doi:10.1002/mus.10152 [doi]
- Singh, B., Xu, Q. G., Franz, C. K., Zhang, R., Dalton, C., Gordon, T., Zochodne, D. W. (2012). Accelerated axon outgrowth, guidance, and target reinnervation across nerve transection gaps following a brief electrical stimulation paradigm. *J Neurosurg*, 116(3), 498-512. doi:10.3171/2011.10.jns11612
- Smith, P. D., Sun, F., Park, K. K., Cai, B., Wang, C., Kuwako, K., He, Z. (2009). SOCS3 deletion promotes optic nerve regeneration in vivo. *Neuron*, 64(5), 617-623. doi:10.1016/j.neuron.2009.11.021
- Stoll, G., & Muller, H. W. (1999). Nerve injury, axonal degeneration and neural regeneration: basic insights. *Brain Pathol*, 9(2), 313-325.
- Strasberg, S. R., Watanabe, O., Mackinnon, S. E., Tarasidis, G., Hertl, M. C., & Wells, M. R. (1996). Wire mesh as a post-operative physiotherapy assistive device following peripheral nerve graft repair in the rat. *M J Peripher Nerv Syst*, 1(1), 73-76.
- Sulaiman, O. A., & Gordon, T. (2000). Effects of short- and long-term Schwann cell denervation on peripheral nerve regeneration, myelination, and size. *Glia*, 32(3), 234-246.
- Sulaiman, O. A., & Gordon, T. (2002). Transforming growth factor-beta and forskolin attenuate the adverse effects of long-term Schwann cell denervation on peripheral nerve regeneration in vivo. *Glia*, 37(3), 206-218.
- Sunderland, S. (1945a). The adipose tissue of peripheral nerves. *Brain*, 68, 118-122.
- Sunderland, S. (1945b). The intraneural topography of the radial, median and ulnar nerves. *Brain*, 68, 243-299.
- Sunderland, S. (1952). Factors influencing the course of regeneration and the quality of the recovery after nerve suture. *Brain*, 75(1), 19-54.
- Sunderland, S. (1990). The anatomy and physiology of nerve injury. *Muscle Nerve*, 13(9), 771-784. doi:10.1002/mus.880130903
- Taylor, C. A., Braza, D., Rice, J. B., & Dillingham, T. (2008). The incidence of peripheral nerve injury in extremity trauma. *Am J Phys Med Rehabil*, 87(5), 381-385. doi:10.1097/PHM.0b013e31815e6370
- Tcherkezian, J., & Lamarche-Vane, N. (2007). Current knowledge of the large RhoGAP family of proteins. *Biol Cell*, 99(2), 67-86. doi:BC20060086 [pii] 10.1042/BC20060086 [doi]

- Terzis, J. K., Sun, D. D., & Thanos, P. K. (1997). Historical and basic science review: past, present, and future of nerve repair. *J Reconstr Microsurg*, 13(3), 215-225. doi:10.1055/s-2007-1006407
- Tonkin RS, Mao Y, O'Carroll SJ, Nicholson LF, Green CR, Gorrie CA, Moalem-Taylor G, Gap junction proteins and their role in spinal cord injury, *Front Mol Neurosci*. 2015 Jan 6;7:102. doi: 10.3389/fnmol.2014.00102. eCollection 2014.
- Varejão AS, Melo-Pinto P, Meek MF, Filipe VM, Bulas-Cruz J, Methods for the experimental functional assessment of rat sciatic nerve regeneration, *Neurol Res*. 2004 Mar;26(2):186-94.
- Vargas, M. E., & Barres, B. A. (2007). Why is Wallerian degeneration in the CNS so slow? *Annu Rev Neurosci*, 30, 153-179. doi:10.1146/annurev.neuro.30.051606.094354
- Vega, F. M., Fruhwirth, G., Ng, T., & Ridley, A. J. (2011). RhoA and RhoC have distinct roles in migration and invasion by acting through different targets. *J Cell Biol*, 193(4), 655-665. doi:jcb.201011038 [pii] 10.1083/jcb.201011038 [doi]
- Viterbo, F., Salvio, A. G., Griva, B. L., & Maciel, F. O. (2012). The embracing end-to-side neurorrhaphy in rats. *Acta Cir Bras*, 27(3), 260-265.
- Viterbo, F., Trindade, J. C., Hoshino, K., & Mazzoni, A. (1994). Two end-to-side neurorrhaphies and nerve graft with removal of the epineural sheath: experimental study in rats. *Br J Plast Surg*, 47(2), 75-80.
- Waller, A. (1850). Experiments on the Section of the Glossopharyngeal and Hypoglossal Nerves of the Frog, and Observations of the Alterations Produced Thereby in the Structure of Their Primitive Fibres. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, Vol. 140, 423-429.
- Wang, X., Budel, S., Baughman, K., Gould, G., Song, K. H., & Strittmatter, S. M. (2009). Ibuprofen enhances recovery from spinal cord injury by limiting tissue loss and stimulating axonal growth. *J Neurotrauma*, 26(1), 81-95. doi:10.1089/neu.2007.0464 [doi]
- Weerasuriya A, Mizisin AP, The blood-nerve barrier: structure and functional significance, *Methods Mol Biol*. 2011;686:149-73. doi: 10.1007/978-1-60761-938-3_6.
- Weggen, S., Eriksen, J. L., Das, P., Sagi, S. A., Wang, R., Pietrzik, C. U., Koo, E. H. (2001). A subset of NSAIDs lower amyloidogenic Abeta42 independently of cyclooxygenase activity. *Nature*, 414(6860), 212-216. doi:10.1038/35102591 [doi] 35102591 [pii]
- Welshhans, K., & Bassell, G. J. (2011). Netrin-1-induced local beta-actin synthesis and growth cone guidance requires zipcode binding protein 1. *J Neurosci*, 31(27), 9800-9813. doi:10.1523/jneurosci.0166-11.2011
- Wilbourn, A. J. (2002). Nerve conduction studies. Types, components, abnormalities, and value in localization. *Neurol Clin*, 20(2), 305-338, v.
- Willem, M., Garratt, A. N., Novak, B., Citron, M., Kaufmann, S., Rittger, A., Haass, C. (2006). Control of peripheral nerve myelination by the beta-secretase BACE1. *Science*, 314(5799), 664-666. doi:10.1126/science.1132341
- Woodhoo, A., Alonso, M. B., Droggiti, A., Turmaine, M., D'Antonio, M., Parkinson, D. B., Jessen, K. R. (2009). Notch controls embryonic Schwann cell differentiation, postnatal myelination and adult plasticity. *Nat Neurosci*, 12(7), 839-847. doi:10.1038/nn.2323
- Xing, B., Li, H., Wang, H., Mukhopadhyay, D., Fisher, D., Gilpin, C. J., & Li, S. (2011). RhoA-inhibiting NSAIDs promote axonal myelination after spinal cord injury. *Exp*

Neurol, 231(2), 247-260. doi:S0014-4886(11)00240-8 [pii]
10.1016/j.expneurol.2011.06.018 [doi]

- Yamashita, T., Higuchi, H., & Tohyama, M. (2002). The p75 receptor transduces the signal from myelin-associated glycoprotein to Rho. *J Cell Biol*, 157(4), 565-570. doi:10.1083/jcb.200202010 [doi] jcb.200202010 [pii]
- Yamauchi, J., Chan, J. R., & Shooter, E. M. (2004). Neurotrophins regulate Schwann cell migration by activating divergent signaling pathways dependent on Rho GTPases. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101(23), 8774-8779. doi:10.1073/pnas.0402795101
- Yawo, H., Kojima, H., & Kuno, M. (1985). Low-threshold, slow-inactivating Na⁺ potentials in the cockroach giant axon. *J Neurophysiol*, 54(5), 1087-1100.
- Yawo, H., & Kuno, M. (1985). Calcium dependence of membrane sealing at the cut end of the cockroach giant axon. *J Neurosci*, 5(6), 1626-1632.
- You, S., Petrov, T., Chung, P. H., & Gordon, T. (1997). The expression of the low affinity nerve growth factor receptor in long-term denervated Schwann cells. *Glia*, 20(2), 87-100.
- Zhang Z, Johnson EO, Vekris MD, Zoubos AB, Bo J, Beris AE, Soucacos PN, Long-term evaluation of rabbit peripheral nerve repair with end-to-side neurorrhaphy in rabbits, *Microsurgery*. 2006;26(4):262-7.
- Zheng, B., Ho, C., Li, S., Keirstead, H., Steward, O., & Tessier-Lavigne, M. (2003). Lack of enhanced spinal regeneration in Nogo-deficient mice. *Neuron*, 38(2), 213-224. doi:S0896627303002253 [pii]
- Zhou, Y., Su, Y., Li, B., Liu, F., Ryder, J. W., Wu, X., Ni, B. (2003). Nonsteroidal antiinflammatory drugs can lower amyloidogenic Abeta42 by inhibiting Rho. *Science*, 302(5648), 1215-1217. doi:10.1126/science.1090154 [doi] 302/5648/1215 [pii]
- Zimmerman, U. P., & Schlaepfer, W. W. (1984). Multiple forms of Ca-activated protease from rat brain and muscle. *J Biol Chem*, 259(5), 3210-3218.
- Zuo, J., Ferguson, T. A., Hernandez, Y. J., Stetler-Stevenson, W. G., & Muir, D. (1998). Neuronal matrix metalloproteinase-2 degrades and inactivates a neurite-inhibiting chondroitin sulfate proteoglycan. *J Neurosci*, 18(14), 5203-5211.
- Zuo, J., Neubauer, D., Graham, J., Krekoski, C. A., Ferguson, T. A., & Muir, D. (2002). Regeneration of axons after nerve transection repair is enhanced by degradation of chondroitin sulfate proteoglycan. *Exp Neurol*, 176(1), 221-228.