



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ
ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**Η ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΚΝΗΜΙΑΙΟΥ ΝΕΥΡΟΥ
ΕΠΙΜΥΟΣ ΩΣ ΜΟΣΧΕΥΜΑ-ΑΓΩΓΟΣ ΓΙΑ
ΤΗ ΔΙΑΤΟΜΗ ΤΟΥ ΠΕΡΟΝΙΑΙΟΥ**

**ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ ΣΑΚΕΛΛΑΡΙΟΥ
ΙΑΤΡΟΣ**



ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2008



ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



026000304485



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ



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



Ημερομηνία αίτησης της κ. Σακελλαρίου Αικατερίνης: 14-1-2004

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 532^α/4-5-2004

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Μπερής Αλέξανδρος, Καθηγητής Ορθοπαιδικής

Μέλη

Γεωργούλης Αναστάσιος, Αναπληρωτής Καθηγητής Ορθοπαιδικής
Μητσιώνης Γρηγόριος, Επίκουρος Καθηγητής Ορθοπαιδικής

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 13-5-2004

«Χρησιμοποίηση του κνημιαίου νεύρου ποντικίου σαν μόσχευμα αγωγής του περονιαίου.
Πειραματική Μελέτη »

ΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ : 648^α/18-11-2008

1. Γεωργούλης Αναστάσιος, Καθηγητής Ορθοπαιδικής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
2. Γαλάρης Δημήτριος Καθηγητής Βιολογικής Χημείας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
3. Μπερής Αλέξανδρος, Καθηγητής Ορθοπαιδικής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
4. Μπουραντάς Κωνσταντίνος Καθηγητής Παθολογίας-Αιματολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
5. Βεκρής Μάριος Επίκουρος Καθηγητής Ορθοπαιδικής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
6. Κορομπίλιας Αναστάσιος Επίκουρος Καθηγητής Ορθοπαιδικής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
7. Μητσιώνης Γρηγόριος, Επίκουρος Καθηγητής Ορθοπαιδικής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων



Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 24-11-2008

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

Γουδέβενος Ιωάννης

Καθηγητής Παθολογίας-Καρδιολογίας



Στους δασκάλους μου,



Στους αγαπημένους μου γονείς,
Κωνσταντίνο και Φανή



Η εκπόνηση της διδακτορικής διατριβής απαιτεί μελέτη, αφοσίωση και υπομονή. Η ολοκλήρωσή της θα ήταν αδύνατη χωρίς τη συμπαράσταση και τη συμμετοχή ορισμένων ανθρώπων. Κάποιοι από αυτούς με στήριξαν και με καθοδήγησαν και κάποιοι αποτέλεσαν με την παρουσία τους συνεχή πηγή έμπνευσης και δημιουργίας.

Θα ήθελα από καρδιάς να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Αλέξανδρο Μπερή γιατί ήταν ο άνθρωπος που με έκανε να αγαπήσω τον κόσμο της μικροχειρουργικής και ο οποίος μου έδωσε απλόχερα τις γνώσεις του όσες φορές χρειάστηκα. Ήταν παρών σε κάθε δύσκολη στιγμή και τον ευγνωμονώ.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ χρωστώ στον επίκουρο καθηγητή της Ορθοπαιδικής κλινικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Αναστάσιο Κορομπίλια για τις πολύτιμες συμβουλές του και το ενδιαφέρον του σε όλη τη διάρκεια της προσπάθειάς μου.

Η επίκουρη καθηγήτρια της Παθολογικής Ανατομικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Άννα Μπατιστάτου με βοήθησε να κατανοήσω και στη συνέχεια να αξιολογήσω τα ιστολογικά ευρήματα. Η συμβολή της στην ολοκλήρωση της διατριβής ήταν καθοριστική και την ευχαριστώ.

Θα ήταν παράλειψή μου να μην ευχαριστήσω τον βιοστατιστικολόγο κ. Αντώνη Γαλανό για την πολύτιμη βοήθειά του στην ανάλυση και την ερμηνεία των στατιστικών αποτελεσμάτων.

Ευχαριστώ τον ειδικευόμενο της Ορθοπαιδικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Μάριο Λυκίσσα για την βοήθεια και την αμέριστη συμπαράσταση σε κάθε βήμα της προσπάθειάς μου.

Η κ. Όλγα Χαρίση, η γραμματέας της Ορθοπαιδικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων ήταν πάντα πρόθυμη να βοηθήσει για την ολοκλήρωση της διατριβής και για αυτό την ευχαριστώ.



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΤΟΥ ΝΕΥΡΟΥ	1
ΑΓΓΕΙΩΣΗ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΩΝ ΝΕΥΡΩΝ	7
ΑΙΜΑΤΟΝΕΥΡΙΚΟΣ ΦΡΑΓΜΟΣ	9
2. ΝΕΥΡΙΚΗ ΚΑΚΩΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ	11
ΝΕΥΡΙΚΟ ΚΥΤΤΑΡΟ	11
ΚΕΝΤΡΙΚΟ ΝΕΥΡΙΚΟ ΤΜΗΜΑ	12
ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟ ΝΕΥΡΙΚΟ ΤΜΗΜΑ	14
ΝΕΥΡΟΤΡΟΠΙΣΜΟΣ-ΚΑΘΟΔΗΓΗΣΗ ΕΠΑΦΗΣ	17
ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΝΕΥΡΙΚΗΣ ΚΑΚΩΣΗΣ	20
ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΚΑΚΩΣΕΩΝ	22
ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΝΕΥΡΙΚΗ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ	27
3. ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΕΛΛΕΙΜΜΑΤΩΝ	34
ΤΕΛΙΚΟΤΕΛΙΚΗ ΣΥΡΡΑΦΗ	34
ΝΕΥΡΙΚΑ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΑ	39
ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΕΛΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΜΕ ΑΓΩΓΟΥΣ	46
ΤΕΛΙΚΟΠΛΑΓΙΑ ΣΥΡΡΑΦΗ	57
ΔΙΠΛΗ ΤΕΛΙΚΟΠΛΑΓΙΑ ΣΥΡΡΑΦΗ	72
4. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ	77
5. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΒΑΛΠΡΟΪΚΟΥ	94

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	102
ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ	104
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	116
ΑΝΑΛΥΣΗ ΒΑΔΙΣΗΣ	116
ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ	137
ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	141
ΒΑΡΟΣ ΜΥΟΣ	158
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	160
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	169
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	171
ABSTRACT	172
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	175



➤ ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΤΟΥ ΝΕΥΡΟΥ

Τα νευρικό κύτταρο ή νευρώνας αντιπροσωπεύει την βασική λειτουργική μονάδα του νευρικού συστήματος. Το ανθρώπινο νευρικό σύστημα περιέχει περισσότερα από 10^{10} νευρικά κύτταρα. Κάθε νευρώνας αποτελείται από το κυτταρικό σώμα και τις αποφυάδες του, τους δενδρίτες και ένα νευράξονα. (Εικ.1)

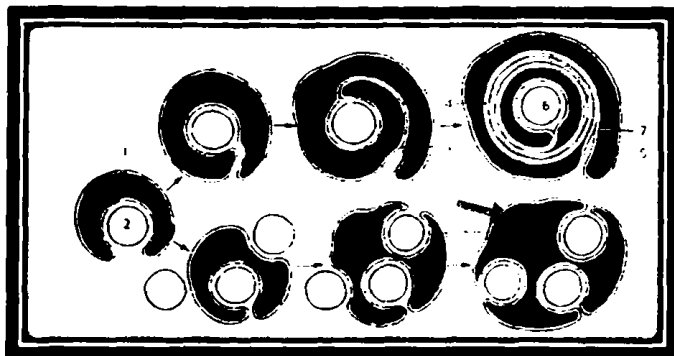


Εικ.1 Νευρικό κυτταρικό σώμα με τις αποφυάδες του. (Werner K. and Frotssher M. Nervous System and Sensory Organs. Thieme ed.)

Το κυτταρικό σώμα των κινητικών νευρώνων βρίσκεται στα πρόσθια κέρατα του νωτιαίου μυελού και των αισθητικών νευρώνων στις οπίσθιες ρίζες των νωτιαίων γαγγλίων και ο ρόλος του είναι να εξασφαλίζει την συνοχή, την διατροφή και την προστασία των βασικών λειτουργικών στοιχείων, δηλαδή των νευρικών ινών. Οι νευρικές ίνες χωρίζονται σε δυο κατηγορίες: Τις εμμύελες και τις αμύελες. Στις εμμύελες νευρικές ίνες, η μεμβράνη ενός κυττάρου του Schwann, τυλίγεται σπειροειδώς γύρω από κάθε νευρική ίνα, δημιουργώντας ένα περίβλημα από εναλλασσόμενα στρώματα λιπιδίων και πρωτεϊνών. (Εικ.2) Στις αμύελες νευρικές ίνες ένα κύτταρο του Schwann, περιβάλλει ένα μεγάλο αριθμό νευραξόνων. Τα κινητικά και αισθητικά νεύρα, περιέχουν αμύελες και εμμύελες νευρικές ίνες σε αναλογία 4:1. Στο περιφερικό νευρικό σύστημα, τα κύτταρα του Schwann, σχηματίζουν το στρώμα της μυελίνης το οποίο αποτελείται από 75% λιπίδια και 25% πρωτεΐνη. Τα βασικά



λιπίδια είναι η χοληστερόλη, οι εγκεφαλωσίδες, οι σφιγγομυελίνες, οι φωσφατιδυλοινωσιτόλες και οι φωσφατιδίλο-αμίνες.(1)



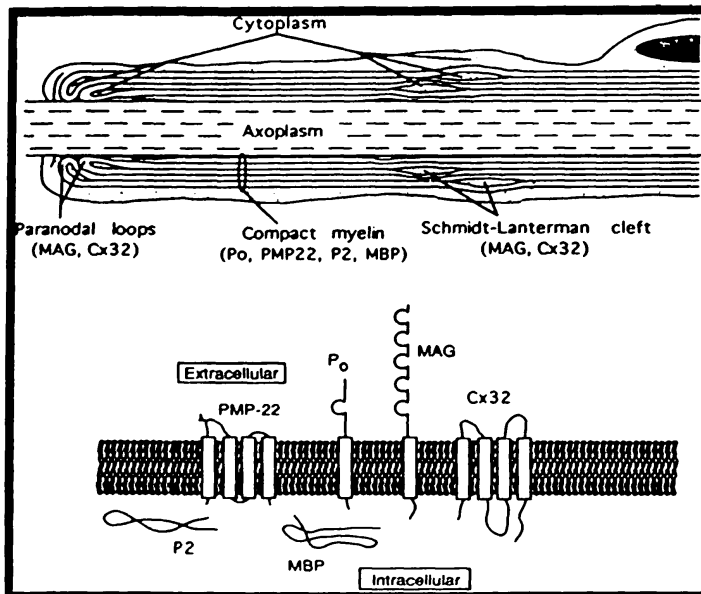
Εικ.2: Εμύελη νευρική ίνα (κίτρινο βέλος). Χαρακτηριστική η περιέλιξη του κυττάρου του Schwann που σχηματίζει το στρώμα της μυελίνης. Πολλές αμύελες νευρικές ίνες περιβάλλονται από ένα κύτταρο του Schwann.(πράσινο βέλος)(Werner K. and Frotssher M. Nervous System and Sensory Organs)

Αν και κάποια από τα λιπίδια είναι σε αυξημένη συγκέντρωση στην μυελίνη, κανένα από αυτά δεν είναι ειδικό για την μυελίνη, κάτι που δεν ισχύει για την περίπτωση των πρωτεϊνών, οι οποίες είναι ειδικές για την μυελίνη. Στο περιφερικό νευρικό σύστημα οι κύριες πρωτεΐνες είναι: Η πρωτεΐνη μηδέν (P0) η οποία αντιπροσωπεύει πάνω από το 50% του συνόλου των πρωτεϊνών, η πρωτεΐνη 2 (P2), η πρωτεΐνη 22 της περιφερικής μυελίνης (PMP22), η βασική πρωτεΐνη της μυελίνης (MBPs) η γλυκοπρωτεΐνη της μυελίνης (MAG) και η κοννεξίνη 32(Cx32) η οποία περιγράφηκε πρόσφατα.(2) Η πρωτεΐνη μηδέν (P0) έχει μοριακό βάρος 28 kDa και παρουσιάζει ένα εξωκυττάριο τμήμα που μοιάζει με το αντίστοιχο των ανοσοσφαιρινών και του οποίου ο ρόλος είναι να διατηρεί την σταθερότητα του εξωτερικού στρώματος της μυελίνης, ένα διαμεμβρανικό και ένα ενδοκυττάριο κυτταροπλασματικό.(3) (**Εικ.3**)

Οι παράγοντες που είναι υπεύθυνοι για την ακεραιότητα της στρώματος της μυελίνης είναι: 1) Ηλεκτροστατικές και υδροφοβικές δυνάμεις συνοχής ανάμεσα στην αρνητικά φορτισμένη κυτταροπλασματική μεμβράνη και στη θετικά φορτισμένη βασική πρωτεΐνη της μυελίνης. 2) Ελκτικές δυνάμεις van der Waals μεταξύ των δυο εξωκυττάρων επιφανειών. 3) Αλληλεπιδράσεις μεταξύ των λιπιδίων και των πρωτεϊνών.(3,4) Τα δυο βασικά αυτά δομικά στοιχεία δρουν συνεργικά ώστε να μπορέσουν να εξασφαλίσουν την δομή και επομένως την λειτουργικότητα της μυελίνης.

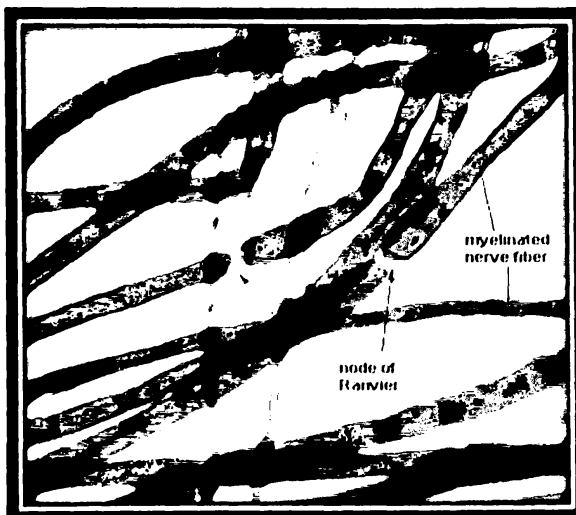


Ο βασικός ρόλος της μυελίνης είναι να επιτρέπει την γρήγορη και κατά άλματα αγωγή της νευρικής ώσης κατά μήκος της νευρικής ίνας, δρώντας ως βιολογικό ηλεκτρικό μονωτικό. Στις εμμύελες νευρικές ίνες, τα ηλεκτρικά σήματα μεταφέρονται με ταχύτερο ρυθμό από ότι στις αμύελες.



Εικ.3 Η βασική δομή της μυελίνης. Στην κάτω εικόνα, σχηματική διάταξη της τοπογραφίας και του προσανατολισμού των βασικών δομικών πρωτεϊνών της μυελίνης. (Snipes JG, Suter U: Molecular anatomy and genetics of myelin proteins in the peripheral nervous system. J Anat. 1995;196:483-494)

Σε τακτά διαστήματα (1-3mm), το στρώμα της μυελίνης διακόπτεται από βαθιές περισφύξεις, τους κόμβους του Ranvier. Πρόκειται για ανατομικές δομές που υποστηρίζουν την μετάδοση του δυναμικού ενεργείας σε εμμύελες νευρικές ίνες. (Εικ.4)



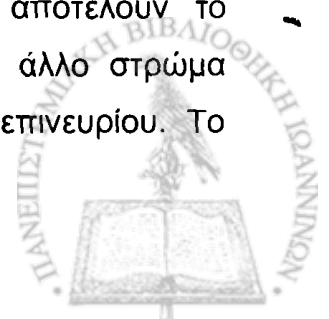
Εικ.4. Ιστολογική εικόνα κόμβων του Ranvier. Οι περισφύξεις είναι μικρές σε μέγεθος αλλά μεγάλης λειτουργικής σημασίας. (Histology. Thomas Caceci: Nervous Tissue.)



Περιγράφηκαν για πρώτη φορά από τον Louis-Antoine Ranvier το 1878.(5)
 Ανατομικά, οι κόμβοι του Ranvier οργανώνονται σε διακριτούς τομείς ο καθένας από τους οποίους αποτελείται από ένα ξεχωριστό σύνολο καναλιών ιόντων, μορίων προσκόλλησης και κυτταροπλασματικών πρωτεϊνών. Αυτή η ιδιαίτερη ανατομική τοπογραφία ρυθμίζεται από την δράση των ολιγοδενδριτικών κυττάρων και των κυττάρων του Schwann και λειτουργεί μέσω πολύπλοκων μηχανισμών.(6)

Κάθε νευρική ίνα περιβάλλεται από το **ενδονεύριο** που αποτελείται από ινοβλάστες, μακροφάγα, μαστοκύτταρα, εξωκυττάρια στοιχεία όπως βλεννοπολυσακχαρίτες και ίνες κολλαγόνου καθώς και από ένα δίκτυο τριχοειδών.(7) Τα κύρια στοιχεία του κυτταρικού πληθυσμού του ενδονευρίου είναι τα κύτταρα του Schwann και τα ενδοθηλιακά κύτταρα ενώ οι ινοβλάστες αποτελούν μόνο το 4% του συνόλου.(8) Στη δομή του ενδονευρίου, οι ίνες του κολλαγόνου διατάσσονται στενά γύρω από την νευρική ίνα, σχηματίζοντας ένα υποστηρικτικό στρώμα, τους ενδονευρικούς αγωγούς.

Οι νευρικές ίνες οργανώνονται σε δεσμίδες και κάθε δεσμίδα περιβάλλεται από το **περινεύριο**, μια δομή με υψηλή εξειδίκευση που αποτελείται από στρώματα περινευρικών κυττάρων και κολλαγόνου. Ο ρόλος του περινευρίου είναι να διατηρεί την ομοιόσταση του ενδονευρικού υγρού που περιβάλλει κάθε εμμύελη νευρική ίνα καθώς και τις ομάδες των αμύελων νευρικών ινών και να λειτουργεί ως μηχανικός φραγμός που προστατεύει τα ενδονευρικά στοιχεία από το εξωτερικό τραύμα.(9,10) Το περινεύριο αποτελείται από αποπλατυσμένα κύτταρα που δημιουργούν μια σειρά από στρώματα, ο αριθμός των οποίων εξαρτάται από την διάμετρο της νευρικής δεσμίδας. Σε νευρικές δεσμίδες θηλαστικών, έχουν περιγραφεί μέχρι και 15 στρώματα.(9) Μεταξύ των στρωμάτων υπάρχουν τριχοειδή με επιμήκη κατεύθυνση καθώς και ίνες κολλαγόνου και ελαστικές ίνες εγκαρσίως και επιμήκως προσανατολισμένες. Το μέγεθος των ινών του κολλαγόνου είναι περίπου ίδιο με των ινών του ενδονευρίου(-500 Å) και μικρότερο συγκρινόμενο με τον μέγεθος των ινών του εξωτερικού περιβλήματος του νεύρου, δηλαδή του επινευρίου (-800 Å). Σύμφωνα με μερικούς ερευνητές, τα αποπλατυσμένα κύτταρα αποτελούν το εσωτερικό στρώμα του περινευρίου ενώ έξω από αυτά, υπάρχει άλλο στρώμα ινώδους ιστού που σταδιακά μεταπίπτει στο συνδετικό ιστό του επινευρίου. Το



γεγονός αυτό έχει κλινική σημασία, καθώς κάνει εφικτή την τοποθέτηση ραμμάτων στην περινευρική μεμβράνη, χωρίς να βλάπτεται το εσωτερικό κυτταρικό στρώμα.(11) Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, τα περινευρικά κύτταρα μοιάζουν σαν λεπτά στρώματα κυτταροπλάσματος που περιέχουν μικρές ποσότητες ενδοπλασματικού δικτύου, ινίδια και ένα μεγάλο αριθμό πινοκυττωτικών κυστιδίων. Η απομόνωση του ενδονευρικού χώρου από τα περινευρικά κύτταρα δεν είναι πλήρης. Έχουν περιγραφεί μεμονωμένα αγγεία που περνούν τελικά διαμέσου του περινευρίου και καταλήγουν στον ενδονευρικό χώρο. Επιπλέον, στην περιφέρεια το περινεύριο καταλήγει κοντά στις τελικές κινητικές πλάκες σαν "ανοιχτό μανίκι" (open-ended sleeve) επιτρέποντας έτσι την δίοδο σε ορισμένες ουσίες που δεν θα μπορούσαν με άλλο τρόπο να διαπεράσουν το περινεύριο και να φτάσουν τελικά στον ενδονευρικό χώρο.(12) Οι παραπάνω δομικές ιδιαιτερότητες επιτρέπουν την δίοδο ουσιών στον ενδονευρικό χώρο, κάτι που διαφορετικά θα ήταν πρακτικά αδύνατο. Ο ρόλος του περινευρίου είναι να αποτελεί φραγμό διάχυσης σε έναν αριθμό ουσιών όπως σε μεγάλα πρωτεϊνικά μόρια, τοξικούς και φλεγμονώδεις παράγοντες καθώς και σε εξωγενώς χορηγούμενες ουσίες όπως η φερίτινη.(10-15) Ο φραγμός λειτουργεί και προς τις δυο κατευθύνσεις: Από το εσωτερικό της νευρικής δεσμίδας προς τα έξω και το ανάστροφο.(16) Τα περινευρικά κύτταρα παρουσιάζουν αυξημένη δραστηριότητα για οξειδωτικά και διφωσφορο-εξαρτώμενα ένζυμα. Επιπλέον, προστατεύουν το ενδονεύριο από εξωτερικές επιδράσεις, λειτουργώντας ως φίλτρο ενάντια στην είσοδο ιόντων, πρωτεϊνών και άλλων δυνητικά βλαβερών ουσιών.(Εικ.5) Το περινεύριο παίζει σημαντικό ρόλο στην διατήρηση της όσμωσης και της ηλεκτρολυτικής ισορροπίας γύρω από τους άξονες ενώ συγχρόνως αποτελεί σημαντικό στοιχείο για την εξασφάλιση της σταθερότητας του εσωτερικού του ενδονευρικού χώρου. Η μηχανική αντοχή του περινευρίου είναι αξιοσημείωτη. Πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι αντέχει την αύξηση της ενδοδεσμιδικής πίεσης από 300 μέχρι 750 mmHg, οπότε επέρχεται η ρήξη της περινευρικής μεμβράνης.(15) Το γεγονός αυτό αποδεικνύει τον προστατευτικό ρόλο του απέναντι στην νευρική κάκωση. Επιπλέον, το περινεύριο είναι ιδιαίτερα ανθεκτικό σε συνθήκες ισχαιμίας. Ο περινευρικός φραγμός διατηρείται ακέραιος ακόμα και αν η ισχαιμία διαρκεί 24 ώρες ή παραπάνω, με αποτέλεσμα να συνεχίζεται η προστασία του ενδονευρικού χώρου.(17)





Εικ.5 Ο περινευρικός φραγμός δεν επέτρεψε την είσοδο της αλβουμίνης (κόκκινο χρώμα) στο εσωτερικό των δεσμίδων. (Goran Lundborg: Nerve injury and repair. 2nd edition. Elsevier)

Το **επινεύριο** αντιπροσωπεύει ένα χαλαρό συνδετικό ιστό που περιέχει ινοβλάστες, μακροφάγα και μαστοκύτταρα, ο οποίος προστατεύει τις νευρικές δεσμίδες κατά την διάρκεια των κινήσεων του άκρου αλλά και από το εξωτερικό τραύμα.(18) Αντιπροσωπεύει περίπου το 50% της διαμέτρου του νεύρου και εκτός από κολλαγόνες ίνες, αποτελείται και από ελαστικές ίνες οι οποίες προσδίδουν την απαραίτητη ελαστικότητα και επομένως επιτρέπουν στο νεύρο να γλιστράει με τις κινήσεις του άκρου.(19)

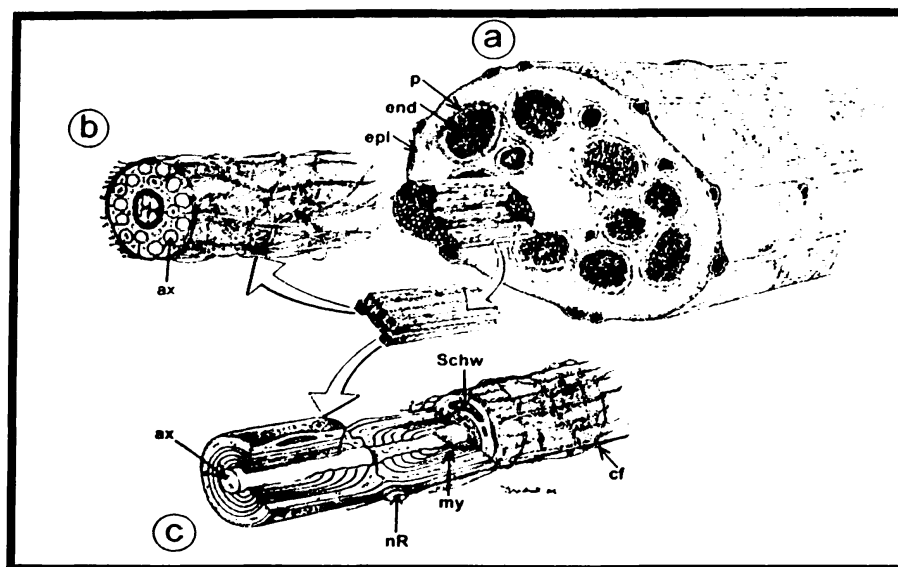
Περιέχει ένα καλά αναπτυγμένο αγγειακό δίκτυο με πολυάριθμα επιμήκως διατασσόμενα αγγειακά κανάλια. Τα βαθύτερα στρώματα του επινευρίου διαχωρίζουν τις δεσμίδες, ενώ συγχρόνως τις κρατούν ενωμένες χαλαρά. Επιφανειακά, ο συνδετικός ιστός συνέχεται με μια λεπτή δομή που μοιάζει με επιπεφυκότα. Την δομή αυτή, ο Millesi και συν, ονόμασαν «adventitia».(11) Η τοπογραφική κατανομή των δομών του επινευρίου που περιγράφηκαν παραπάνω, εξυπηρετεί την εξασφάλιση της ομαλής κίνησης του νεύρου, με τις κινήσεις των άκρων.

Η σχετική συγκέντρωση του επινευρικού ιστού ποικίλει από άτομο σε άτομο, διαφέρει μεταξύ των νεύρων αλλά και των επιπέδων των νεύρων.(20,21) Στο βραχιόνιο πλέγμα ο επινευρικός ιστός καταλαμβάνει περίπου το 1/3 του συνόλου του νευρικού ιστού, ενώ στα άκρα η συγκέντρωση είναι ακόμη μικρότερη.(ισχιακό νεύρο, 25%) Επίσης, η συγκέντρωση σχετίζεται και με την ανατομική θέση: Γύρω από τις αρθρώσεις είναι μεγαλύτερη, αποτελώντας το 75% της εγκάρσιας τομής του νεύρου,



πιθανά λόγω της αυξημένης πίεσης ή τριβής που αναπτύσσεται στα σημεία αυτά.(19)

(Εικ.6)



Εικ.6 Σχηματική αναπαράσταση της μικροανατομίας του νευρικού κορμού με τα δομικά στοιχεία.(end:ενδονεύριο, p:περινεύριο, epi:επινεύριο, ax:νευράξονες, Schw:κύτταρα του Schwann, my: μυελίνη, nR: κόμβοι του Ranvier, b:αμύελη νευρική ίνα, c:εμμύελη νευρική ίνα) (Goran Lundborg: Nerve injury and repair.2nd edition.Elsevier)

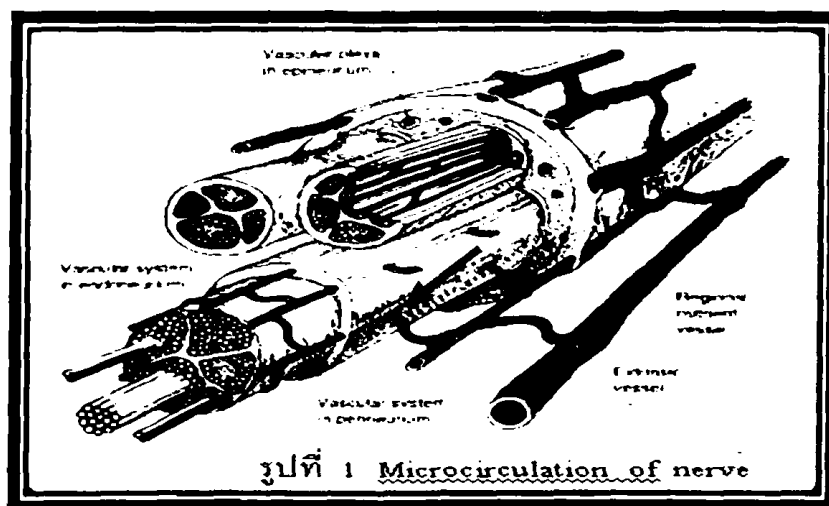
ΑΓΓΕΙΩΣΗ ΤΩΝ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΩΝ ΝΕΥΡΩΝ

Τα περιφερικά νεύρα είναι καλά αγγειούμενες δομές, με ξεχωριστά μικροαγγειακά συστήματα για το επινεύριο, το περινεύριο και το ενδονεύριο, τα οποία όμως επικοινωνούν σε μεγάλο βαθμό μεταξύ τους.(22-24) Το αγγειακό μοντέλο των νεύρων, που δεν ξεφεύγει από την βασική αρχιτεκτονική δομή των αγγείων, χαρακτηρίζεται από επιμήκως προσανατολισμένα αγγεία που επικοινωνούν μεταξύ τους με ένα μεγάλο αριθμό αναστομώσεων. Υπάρχει το «εσωτερικό αγγειακό σύστημα» που περιλαμβάνει το αγγειακό πλέγμα του επινευρίου, του περινευρίου και του ενδονευρίου και το «εξωτερικό αγγειακό σύστημα», που περιλαμβάνει τμηματικά περιοχικά αγγεία που προσεγγίζουν τον νευρικό κορμό, σε διάφορα σημεία της διαδρομής του.(Εικ.7) Τα αγγεία του εξωγενούς συστήματος μπορεί να προέρχονται από περιτοναϊκά, μυοδερματικά και περισοτικά αγγεία. Τα δυο αγγειακά συστήματα επικοινωνούν μεταξύ τους με τρόπο που να μπορούν να αντισταθμίσουν διαταραχές της αιμάτωσης που αφορούν το ένα ή το άλλο σύστημα. Τα χαρακτηριστικά της διαμόρφωσης των αγγείων των περιφερικών νεύρων είναι:



- ❖ Τα επινευρικά αγγεία επικοινωνούν μεταξύ τους και στις βαθύτερες στιβάδες των δεσμίδων, με σκοπό να εξασφαλίσουν επαρκή αιμάτωση σε κάθε δεσμίδα ξεχωριστά.
- ❖ Τα περινευρικά αγγεία πορεύονται αρχικά επιμήκως, πριν τρυπήσουν το εσωτερικό στρώμα του περινευρίου για να κατευθυνθούν στον ενδονευρικό χώρο. Η πορεία των αγγείων σε αυτή τη φάση γίνεται κάθετη, δημιουργώντας έτσι ένα βαλβιδικό μηχανισμό με τον οποίο τα αγγεία έχουν την τάση να κλείνουν όταν η ενδοδεσμιδική ιστική πίεση αυξάνεται.
- ❖ Το ενδονευρικό αγγειακό δίκτυο αποτελείται από αρτηριόλια, φλεβίδια και τριχοειδή που σχηματίζουν ευρύ πλέγμα αναστομώνσεων με την μορφή της διπλής έλικας με σκοπό να μπορούν να αντισταθμίσουν τοπικές ενδοδεσμιδικές αλλαγές στην ροή των αγγείων.

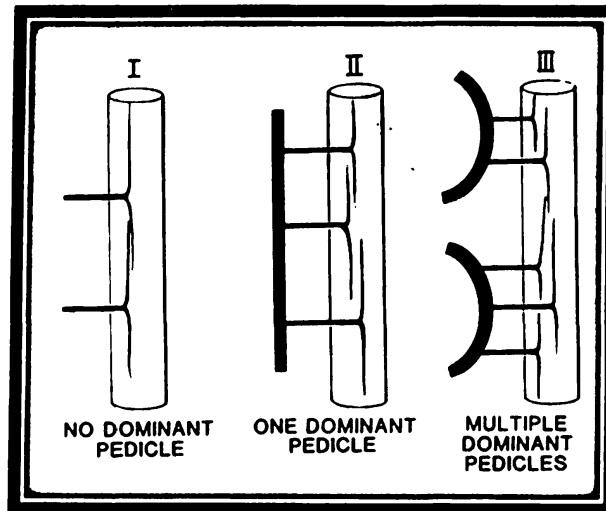
Η γνώση της ανατομικής αρχιτεκτονικής των αγγείων, είναι πολύ σημαντική όταν αντιμετωπίζονται κακώσεις περιφερικών νεύρων, δεδομένου ότι με τις ενδονευρικές παρασκευές είναι πιθανός ο τραυματισμός των αγγείων και επομένως η διαταραχή της ισορροπίας του ενδονευρικού διαμερίσματος.



Εικ.7. Σχηματική αναπαράσταση της μικροαγγειακής κυκλοφορίας του περιφερικού νεύρου. Πυκνό αγγειακό πλέγμα σε επινεύριο, περινεύριο και ενδονεύριο, με πολλαπλές αναστομώσεις. Χαρακτηριστική η κάθετη πορεία των αγγείων που διαπερνούν το περινεύριο. (μωβ βέλος) (G Lundborg. Nerve Injury and Repair. 2nd edition. Elsevier)

Πρόσφατα έχει περιγραφεί η ταξινόμηση της εξωτερικής αιματικής παροχής του νεύρου η οποία είναι σημαντική για την λήψη αγγειούμενων νευρικών μοσχευμάτων. (25)(Εικ.8)



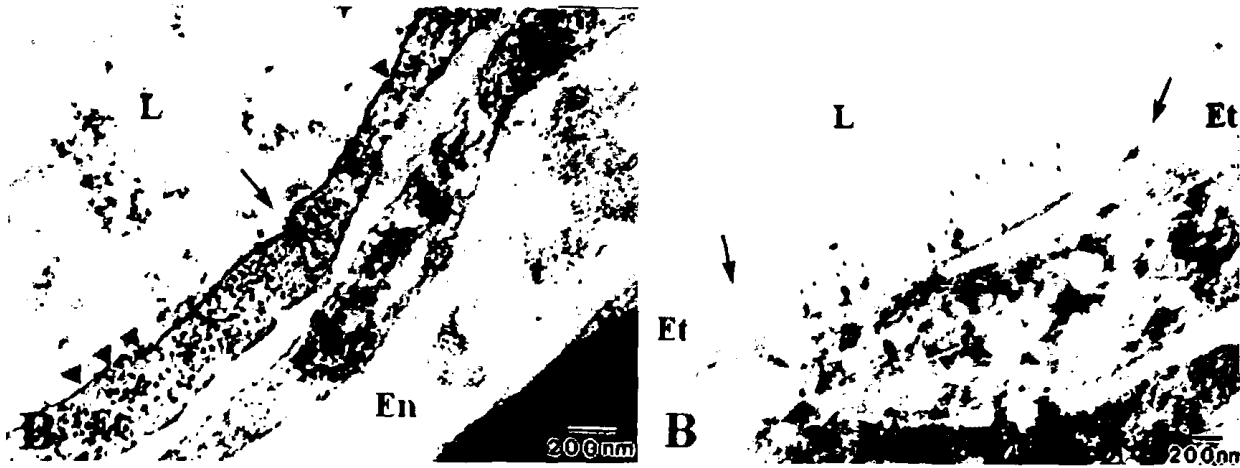


Εικ.8 Ταξινόμηση της αιμάτωσης των περιφερικών νεύρων.(Breindenbach WC, Terzis JK. The blood supply of vascularized nerve grafts. J Reconstr Microsurg. 1986;3:43-47)

Ο ΑΙΜΑΤΟΝΕΥΡΙΚΟΣ ΦΡΑΓΜΟΣ

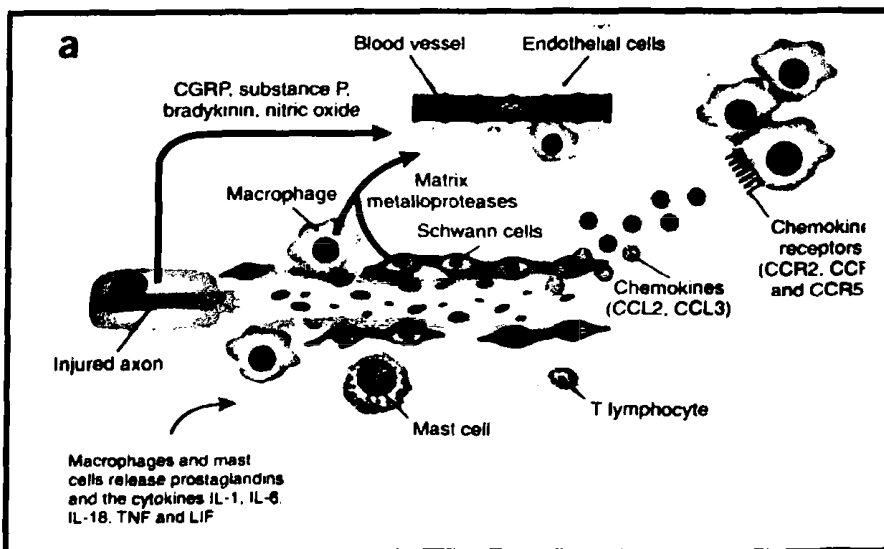
Ο αιματονευρικός φραγμός αποτελεί μαζί με τον περινευρικό φραγμό την ασπίδα προστασίας του περιφερικού νευρικού συστήματος από εξωγενείς και ενδογενείς βλαπτικούς παράγοντες. Επιπλέον, συμβάλλει στην διατήρηση της ωσμωτικής και ιοντικής ισορροπίας του ενδονευρικού διαμερίσματος.

Η δράση του ξεκινά από την δεύτερη εβδομάδα μετά την γέννηση, ενώ παρουσιάζει κοινά μορφοφυσιολογικά και μοριακά χαρακτηριστικά με τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό.(13,26). Δομικά, πρόκειται για πολύ «σφιχτές συνδέσεις» μεταξύ ενδοθηλιακών κυττάρων που δεν επιτρέπουν την ροή ουσιών από το αίμα στο ενδονεύριο.(Εικ.9) Πρόκειται για ένα μεταβολικά ενεργό φραγμό, ο οποίος επιτρέπει επιλεκτικά την είσοδο ουσιών που είναι απαραίτητες για την λειτουργία του νεύρου, όπως η γλυκόζη.(27,28) Η είσοδος της γλυκόζης στον ενδονευρικό χώρο επιτυγχάνεται μέσω της παρουσίας υποδοχέων της γλυκόζης (GLUT-1), που εκφράζονται τόσο από τα περινευρικά όσο και από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, έτσι ώστε να διευκολύνεται η είσοδος της βασικής ουσίας που παρέχει ενέργεια στα περιφερικά νεύρα.(13,29)



Εικ.9 Ηλεκτρονική φωτογραφία του αιματονευρικού φραγμού. Στην αριστερή φωτογραφία ο φραγμός είναι ανέπαφος. Παρατηρούνται οι «σφιχτές συνδέσεις»(μεγάλο βέλος) μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων και ο μικρός αριθμός των πινοκυττωτικών κυστιδίων(μικρό βέλος). Στην δεξιά εικόνα, η διάταση των «σφιχτών συνδέσεων» (μεγάλο βέλος) και η αυξημένη παρουσία πινοκυττωτικών κυστιδίων(μικρά βέλη),δείχνουν την δυνατότητα του φραγμού να επιτρέπει την μεταφορά ουσιών.(L:αυλός του αγγείου, En:ενδονευρικός χώρος, Et:ενδοθήλιο).(Kobayashi S et al: Imaging of intraneural edema by using gadolinium enhanced MR imaging: experimental compression injury. Am J Neuroradiol 2005;26(4):973-980)

Σε περίπτωση μικρού τραυματισμού, η αύξηση της διαπερατότητας των αγγείων του επινευρίου, οδηγεί στο σχηματισμό τοπικού οιδήματος που δεν επηρεάζει την ενδονευρικό χώρο, λόγω της δράσης του περινευρικού φραγμού. Σε περίπτωση διατομής περιφερικού νεύρου, ο αιματονευρικός φραγμός διαταράσσεται με τελικό αποτέλεσμα την αύξηση της πίεσης του ενδονευρικού υγρού, γεγονός που οδηγεί σε διαταραχή της μεταβολικής ισορροπίας στο εσωτερικό του νεύρου.(**Εικ.10**)



Εικ.10 Ο τραυματισμός του νευράξονα, οδηγεί στην απελευθέρωση ενδογενών χημικών διαβιβαστών όπως η ισταμίνη και η σεροτονίνη που εκκρίνονται από τα μαστοκύτταρα που εντοπίζονται στο ενδονεύριο και στο περινεύριο. Αυτό έχει ως συνέπεια την αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας με αποτέλεσμα την έξοδο και την τοπική συγκέντρωση πρωτεϊνών στον ενδονευρικό χώρο και άρα την αύξηση της πίεσης του ενδονευρικού υγρού. Καθώς η πίεση αυξάνει, αναπτύσσεται ένα μικρό σύνδρομο διαμερίσματος, με αποτέλεσμα ισχαιμική βλάβη στο σημείο της κάκωσης. Επιπλέον, τα κύτταρα του Schwann και τα μακροφάγα, παράγουν μεταλλοπρωτεάσες που επίσης επηρεάζουν τον αιματονευρικό φραγμό. Μετά την κάκωση, η αύξηση της έκφρασης ορισμένων πρωτεϊνών, επαναφέρει την λειτουργία του φραγμού σε φυσιολογικά επίπεδα, περίπου σε διάστημα τριών εβδομάδων. (The neuropathic pain triad: neuron, immune cell and glia. *Nature Neurosc.* 2007;(10):1361-1368)

▲ ΝΕΥΡΙΚΗ ΚΑΚΩΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ

Η αναγέννηση των περιφερικών νεύρων αποτελεί μια σύνθετη βιολογική διαδικασία, η οποία αφορά τόσο το νευρικό κύτταρο αλλά και στοιχεία όπως τα κύτταρα του Schwann, τους ινοβλάστες, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα μακροφάγα, καθιστώντας την διαδικασία μοναδική μεταξύ όλων των ιστών του ανθρώπινου σώματος. Η διατομή ενός νεύρου αντιπροσωπεύει μια σύνθετη κάκωση η οποία συνοδεύεται από άμεσα αλλά και από απώτερα βιοχημικά και κυτταρικά φαινόμενα σε πολλαπλά επίπεδα, ξεκινώντας από τους αισθητικούς μηχανοϋποδοχείς και τους μυς στην περιφέρεια, μέχρι τους σωματοευαίσθητους υποδοχείς και τον κινητικό φλοιό του εγκεφάλου.

* ΝΕΥΡΙΚΟ ΚΥΤΤΑΡΟ

Η νευρική κάκωση, οδηγεί σε απώλεια του αξονοπλασματικού όγκου και επομένως σε μια σειρά δομικών αλλαγών στα αντίστοιχα νευρικά σώμα το οποίο πρέπει να αποκαταστήσει αυτή την απώλεια. Οι αλλαγές περιλαμβάνουν οίδημα του νευρικού σώματος, μετατόπιση του πυρήνα στην περιφέρεια και εξαφάνιση του βασεόφιλου υλικού από το κυτταρόπλασμα (χρωματόλυση). Η διατομή του νεύρου, οδηγεί σε αποκλεισμό νευροτροφικών ουσιών που παράγονται κάτω από φυσιολογικές συνθήκες από τα κύτταρα-στόχους και μεταφέρονται ανάστροφα στον νευρώνα. Η διακοπή της μεταφοράς αυτών των ουσιών φαίνεται ότι αποτελεί την



βάση για την παρουσία του φαινομένου της χρωματόλυσης.(30) Δομικά, η χρωματόλυση, οφείλεται στην αποδιοργάνωση του ενδοπλασματικού δικτύου και περιλαμβάνει χημικές αλλαγές στην σύνθεση του RNA και του πρωτεϊνικού μεταβολισμού, με σκοπό την συμμετοχή των τελευταίων στην αναγέννηση των νευραξόνων. Η παραγωγή του κυτταρικού RNA και ο μεταβολισμός αυξάνουν 4 ημέρες μετά την κάκωση και κορυφώνονται την εικοστή ημέρα. Μετά τον τραυματισμό του νεύρου, στο κυτταρικό σώμα ξεκινά η ενεργοποίηση ενδοκυττάρων μορίων που ελέγχουν τον κυτταρικό κύκλο και την διαφοροποίηση, η έκκριση κυτταροκινών και παραγόντων ανάπτυξης καθώς και η αύξηση του μεταβολισμού των λιπιδίων και των αμινοξέων με σκοπό την εξοικονόμηση ενέργειας.(31-33) Από τις βιοχημικές αλλαγές που συμβαίνουν αρκετά νωρίς, είναι η αύξηση της έκφρασης των ενζύμων που σχετίζονται με την παραγωγή πολυαμινών όπως η πουτρεσκίνη και η σπερμίνη που βοηθούν την αξονική αναγέννηση.(34,35) Την ίδια χρονική περίοδο, αυξάνει η έκφραση γονιδίων και παραγόντων μεταγραφής, όπως το γονίδιο c-Jun και ο ενεργοποιητής του παράγοντα μεταγραφής 3 (ATF-3). Οι παράγοντες αυτοί, συμμετέχουν σε ένα καταρράχτη αντιδράσεων που βοηθά την αξονική αναγέννηση.

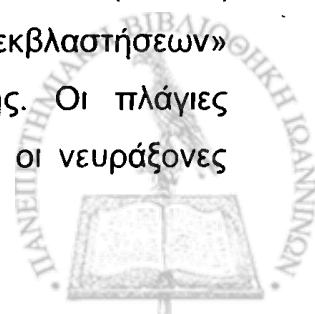
Η χρωματόλυση μπορεί ορισμένες φορές να οδηγήσει σε θάνατο και εξαφάνιση του νευρώνα γεγονός που μειώνει κάθε πιθανότητα αναγέννησης του συγκεκριμένου νευρώνα. Σύμφωνα με μελέτες, ένας σχετικά μεγάλος αριθμός νευρώνων δεν επιβιώνει μετά από τραυματισμό του νεύρου με αναφερόμενο ποσοστό θανάτου στις οπίσθιες ρίζες του νωτιαίου μυελού που κυμαίνεται από 20% - 50%. (36)

Η διατομή ενός νευράξονα, οδηγεί σε σημαντικές αλλαγές τόσο στη μορφολογία όσο και στην ιστική οργάνωση και στα δύο νευρικά κολοβώματα:

*** ΚΕΝΤΡΙΚΟ ΝΕΥΡΙΚΟ ΤΜΗΜΑ**

Στο εγγύς τμήμα της νευρικής βλάβης, οι άξονες αποδομούνται δημιουργώντας με τον τρόπο αυτό, ένα κενό "ενδονευρικό σωλήνα" που αποτελείται από ενδονευρικό συνδετικό ιστό και την βασική μεμβράνη των κυττάρων του Schwann.

Μετά από μια σχετική καθυστέρηση που εξαρτάται από την εντόπιση και τη σοβαρότητα της κάκωσης, ξεκινά η δημιουργία πλαγίων και τελικών «εκβλαστήσεων» οι οποίες προχωρούν προς το περιφερικό τμήμα της κάκωσης. Οι πλάγιες εκβλαστήσεις ξεκινούν από τους εγγύς κόμβους του Ranvier όπου οι νευράξονες



είναι ακόμη ανέπαφοι ενώ οι τελικές εκβλαστήσεις, από την άκρη των αξόνων που έχουν εναπομείνει.

Οι εκβλαστήσεις που ξεκινούν από ένα νευράξονα και κατευθύνονται μέσα στον ενδονευρικό σωλήνα, συνιστούν μια μονάδα αναγέννησης(37,38) Κατά την διάρκεια των πρώτων εβδομάδων, κάθε κύτταρο του Schwann και η βασική του μεμβράνη, περιβάλλεται από έναν αριθμό εκβλαστήσεων που ξεκινούν από την ίδια εμμύελη ίνα. Με την πάροδο του χρόνου ο αριθμός των εκβλαστήσεων σε κάθε μονάδα, μειώνεται όταν οι άξονες ωριμάζουν και κάνουν τελικά τις περιφερικές συνδέσεις. Συμπερασματικά, κάθε μονάδα αναγέννησης οφείλει να θεωρείται ως η ανατομική έκφραση της αναγεννητικής δραστηριότητας κάθε εμμύελης ίνας.(Εικ.11)

Καθώς η διαδικασία της αναγέννησης προχωρά, κάποιοι από τους νευράξονες θα ωριμάσουν και θα γίνουν εμμύελοι ενώ κάποιοι άλλοι θα εξαφανιστούν. Ο μηχανισμός που πυροδοτεί την παραπάνω διαδικασία δεν είναι ακόμη σαφής αλλά πιστεύεται ότι στη ρύθμισή του συμβάλουν τοπικοί παράγοντες του μικροπεριβάλλοντος. Ποικίλοι μηχανισμοί έχουν προταθεί για την εξήγηση του φαινομένου, όπως η απελευθέρωση χημικών ουσιών που επάγουν το φαινόμενο. Οι ουσίες μπορεί να παράγονται από τους νευρικούς ιστούς που αποδομούνται (39,40) ή από τους απονευρωμένους και ανενεργούς μυς(41)

In vitro μελέτες έχουν δείξει ότι στο τελικό τμήμα κάθε εκβλάστησης, δημιουργείται μια οίδηματώδης περιοχή, ο κώνος ανάπτυξης, από τον οποίο ξεκινούν φιλοπόδια και μικροακίδες. Τα φιλοπόδια, κινούνται συνεχώς και εξερευνούν το τοπικό μικροπεριβάλλον ενώ οι ακίδες περιέχουν ακτίνη η οποία πιθανώς να παίζει ρόλο στην κινητικότητα. Η δραστηριότητα των κώνων ανάπτυξης συμβάλει ουσιαστικά στον σωστό προσανατολισμό των εκβλαστήσεων, για τον οποίο καθοριστικό ρόλο παίζουν και οι παράγοντες νευρικής αναγέννησης του τοπικού μικροπεριβάλλοντος, όπως οι γλυκοπρωτεΐνες φιμπρονεκτίνη και λαμινίνη.(42,43) Η λαμινίνη και η φιμπρονεκτίνη αποτελούν σημαντικά μόρια της βασικής μεμβράνης των κυττάρων του Schwann και προάγουν την επιμήκυνση των νευραξόνων.

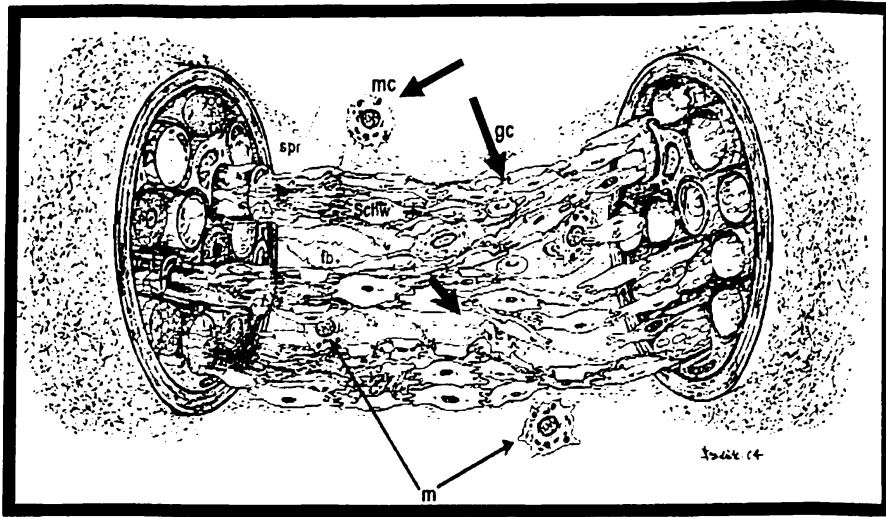
Όταν οι αναγεννώμενοι νευράξονες δεν καταφέρουν να φτάσουν στους κατάλληλους περιφερικούς υποδοχείς, τότε θα σχηματιστεί νεύρωμα, το οποίο αντιπροσωπεύει δυναμική απώλεια της λειτουργικότητας και μπορεί να αποτελέσει πηγή πόνου.



***ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟ ΝΕΥΡΙΚΟ ΤΜΗΜΑ**

Μετά την διατομή των νευραξόνων, το περιφερικό τμήμα αποδομείται και υφίσταται Βαλλεριανή εκφύλιση. Τα νευρονημάτια του αξονοπλάσματος αποδομούνται μέσω μιας πρωτεολυτικής διαδικασίας που εξαρτάται από την συγκέντρωση του ασβεστίου και στην οποία συμμετέχουν ένζυμα του αξονοπλάσματος που ενεργοποιούνται από το ασβέστιο.(44-46) Ο πιθανός μηχανισμός της αποδόμησης των νευρονημάτων και των μικροσωληνίσκων είναι η αυξημένη διαπερατότητα των μεμβρανών των νευραξόνων στο ασβέστιο καθώς και η απελευθέρωση του ασβεστίου από τα άκρα του νευράξονα που έχει διατμηθεί. Έτσι, η ενεργοποίηση των πρωτεασών πυροδοτείται από την έξοδο του ασβεστίου. Παρότι η διαδικασία αρχίζει μέσα σε μερικές ώρες από την κάκωση, οι μορφολογικές αλλαγές στο περιφερικό τμήμα είναι ορατές μετά από 2-3 ημέρες. Η αποδόμηση της μυελίνης πραγματοποιείται με τα κύτταρα του Schwann που την φαγοκυτταρώνουν, καθώς και με μακροφάγα. Αμέσως μετά την διατομή του νεύρου, τα κύτταρα του Schwann πολλαπλασιάζονται και σχηματίζουν δεμάτια, τα δεμάτια του Bungner που αποτελούν σημαντικά μονοπάτια για την αναγέννηση των νευραξόνων ενώ συγχρόνως αποτελούν πηγές νευροτροφικών παραγόντων που διεγείρουν την αξονική αναγέννηση.(Εικ.11,12,13) Επιπλέον, τα κύτταρα του Schwann, συνθέτουν τροφικούς παράγοντες για την υποστήριξη της επιβίωσης του νευρώνα και της ανάπτυξης των νευραξόνων. Όταν οι αναγεννημένοι νευράξονες πλησιάσουν το περιφερικό τμήμα, προσεγγίζουν τα δεμάτια των κυττάρων του Schwann, οπότε παράγεται ένα σήμα για την έναρξη της διαδικασίας της μυελινοποίησης. Η εντολή στο κύτταρο του Schwann για την δημιουργία μυελίνης βασίζεται σε γενετικό κώδικα του αντίστοιχου νευρώνα και η ενεργοποίησή της απαιτεί αλληλεπίδραση και άμεση επαφή μεταξύ του νευράξονα και του κυττάρου του Schwann. Η διαδικασία για την αναγέννηση του νευράξονα συνεχίζεται με ρυθμό 1-4 mm/μέρα.





Εικ.11 Τοπική κυτταρική απάντηση σε διατομή νεύρου. Παρατηρούνται οι εκβλαστήσεις (κίτρινο βέλος) που ξεκινούν από ένα μυελινοποιημένο νευράξονα και σχηματίζουν τις μονάδες αναγέννησης που περιβάλλονται από κοινή βασική μεμβράνη. Στην άκρη κάθε εκβλάστησης, υπάρχει ο κώνος ανάπτυξης (πράσινο βέλος). Στην ζώνη τραυματισμού, υπάρχουν μακροφάγα, (μαύρο βέλος), ινοβλάστες (κόκκινο βέλος) και μαστοκύτταρα (γαλάζιο βέλος) (Goran Lundborg: Nerve injury and repair.)



Εικ.12 Διατομή περιφερικού νεύρου. Η βασική δομική μονάδα του νεύρου είναι η νευρική ίνα. Χαρακτηριστική η εκτεταμένη επιμήκης αιματική ροή με το εσωτερικό αναστομωτικό πλέγμα. Στο δεξί άκρο της εικόνας μια νευρική ίνα εξορμάται από τη δεσμίδα. Παρατηρείται η δημιουργία πλέγματος ανάμεσα στις δυο ίνες. (Από: Mackinnon SE, Dellon AL: Surgery of the Peripheral Nerve. Thieme Medical Publishers, New York, 1988)



Εικ.13. Στο περιφερικό τμήμα του νεύρου, παρατηρείται ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων του Schwann (κίτρινο βέλος), η σύνθεση της μυελίνης(πράσινο βέλος), η φαγοκύτωση, ο σχηματισμός των μπαντών του Bungner και η αξονική αναγέννηση.(Mackinnon SE, Dellon AL: Surgery of the Peripheral Nerve. Thieme Medical Publishers,New York,1988)

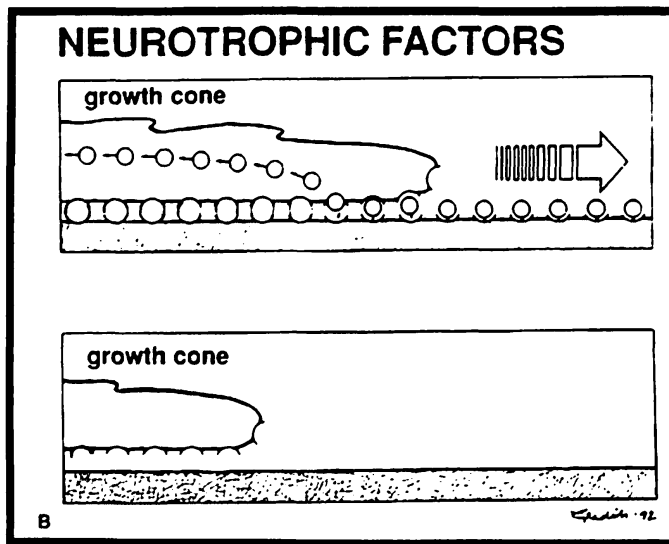
Η μοριακή σύνθεση του μικροπεριβάλλοντος είναι επίσης καθοριστικής σημασίας για την ανάπτυξη και την επέκταση των νευραξόνων. Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, η επιβίωση των νευρικών κυττάρων εξαρτάται από την τροφική επίδραση ουσιών που παράγονται από περιφερικά κύτταρα-στόχους τα οποία βρίσκονται σε περιοχή που νευρώνεται από τα αντίστοιχα νευρικά κύτταρα. Οι ουσίες αυτές, όπως ο νευροτροφικός αυξητικός παράγοντας(NGF), μεταφέρονται με ανάστροφη ροή κατά μήκος του νευράξονα και υποστηρίζουν την επιβίωση και τις στοιχειώδεις δραστηριότητες του νευρώνα. Σε περιπτώσεις διατομής περιφερικού νεύρου, η αναπλήρωση του NGF, γίνεται από μη νευρωνικά κύτταρα και σε περιοχές που υφίστανται Βαλλεριανή εκφύλιση.(47) Η σύνθεση του παράγοντα NGF, επιτυγχάνεται μέσω της ιντερλευκίνης -1 που παράγεται από τα μακροφάγα, γεγονός που αποδεικνύει τον πολυπαραγοντικό ρόλο των μακροφάγων, τόσο στην αποδόμηση της μυελίνης, όσο και στην σύνθεση νευροτροφικών παραγόντων.(48) Επιπλέον, η γραμματική διατομή του νεύρου, επάγει και τον σχηματισμό υποδοχέων NGF στην επιφάνεια των κυττάρων του Schwann που σχηματίζουν τις μπάντες του Bungner. Στην περίπτωση αυτή, και ενόσω οι άξονες προχωρούν κατά μήκος της επιφάνειας των κυττάρων του Schwann, η σύνδεση υποδοχέα - παράγοντα, οδηγεί στην είσοδο του παράγοντα στο εσωτερικό του κώνου ανάπτυξης και στην μεταφορά του με ανάστροφη ροή στον νευρώνα. Με τον μηχανισμό αυτό, τα μόρια NGF δρουν σαν



νευροτροφικοί αλλά και σαν χημειοτακτικοί παράγοντες στην αναγέννηση των νευραξόνων.

Εκτός από τον NGF, τα κύτταρα του Schwann, παράγουν και μια σειρά άλλων αυξητικών παραγόντων, όπως ο επαγωγικός του εγκεφάλου(BDNF), η νευροτροφίνη 3(NF-3), ο επιδερμικός παράγοντας ανάπτυξης, ο νευροτροφικός παράγοντας που προέρχεται από κύτταρα της γλοίας(GDNF), ο κροσσωτός νευροτροφικός παράγοντας(CNTF), ο ινσουλινόμορφος παράγοντας ανάπτυξης(ILGF) (49)

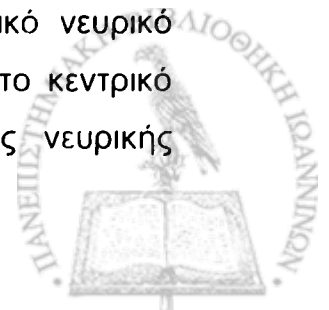
Επιπλέον, οι νευροτροφικοί παράγοντες έχουν την ικανότητα να διεγείρουν την ωρίμανση του νεύρου.(Εικ.14)



Εικ.14 Η αξονική αναγέννηση μπορεί να πραγματοποιηθεί μόνο όταν οι νευροτροφικοί παράγοντες είναι διαθέσιμοι στις κυτταρικές επιφάνειες των κώνων ανάπτυξης. Η πρόσληψή τους στη θέση αυτή και η μεταφορά τους στο κυτταρικό σώμα του νευρώνα, πυροδοτεί μια σειρά αντιδράσεων που υποστηρίζουν την επιβίωσή του.(Goran Lundborg.Trophism, tropism and specificity in nerve regeneration.J Reconstr Microsurg.1994;10(5):345-354)

ΝΕΥΡΟΤΡΟΠΙΣΜΟΣ- ΚΑΘΟΔΗΓΗΣΗ ΕΠΑΦΗΣ

Ο μηχανισμός με τον οποίο οι αναγεννώμενοι νευράξονες καταφέρνουν να επιμηκυνθούν και να συναντήσουν τελικά το περιφερικό κολόβωμα αποτελεί μέχρι και σήμερα ένα πεδίο μελέτης με ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Ο όρος **χημειοταξία** ή **νευροτροπισμός** περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Ισπανό βιολόγο Cajal το 1928, ο οποίος υποστήριξε ότι χημικοί παράγοντες από το περιφερικό νευρικό κολόβωμα θα μπορούσαν να προσελκύσουν αναγεννημένες ίνες από το κεντρικό κολόβωμα.(50) Το γεγονός λαμβάνει χώρα στα αρχικά στάδια της νευρικής

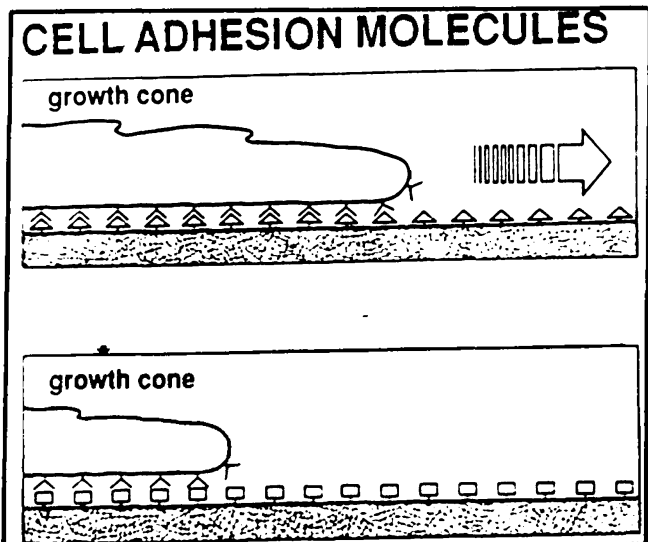


αναγέννησης, επηρεάζει την κατεύθυνσή της, αλλά η σημασία του είναι περιορισμένη, όταν δεν υπάρχει υποστήριξη από τους τροφικούς παράγοντες. Μελέτες έχουν θεμελιώσει ότι ο νευροτροπισμός και η καθοδήγηση επαφής είναι απαραίτητα στοιχεία για την νευρική αναγέννηση.

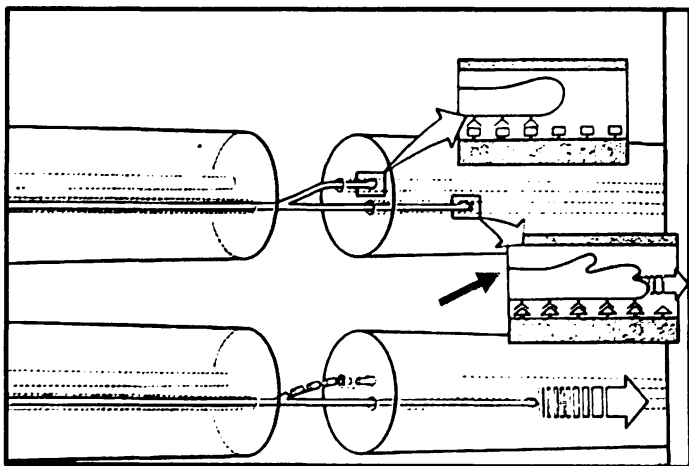
Ο όρος ειδικότητα είναι ίσως πιο ακριβής για να περιγράψει το φαινόμενο. Έχουν περιγραφεί οι εξής τύποι ειδικότητας: *Ειδικότητα των ιστών που δείχνει την καθοδήγηση των αναγεννώμενων νευραξόνων ως ομάδα, στο περιφερικό τμήμα του τραυματισμένου νεύρου, παρά σε άλλους ιστούς όπως οι μυς ή οι τένοντες. *Κινητική εναντίον αισθητικής ειδικότητας, που δείχνει την προτίμηση των νευραξόνων στην κινητική επανανεύρωση του οργάνου-στόχου, από ότι στην αισθητική. *Τοπογραφική ειδικότητα που δείχνει την επιστροφή τόσο των κινητικών όσο και των αισθητικών νευραξόνων στην τοπογραφική περιοχή από την οποία αρχικά προήλθαν και η ειδικότητα των τελικών οργάνων που σχετίζεται με την επανανεύρωση κάθε τελικού οργάνου από άξονες που προηγούμενα κατανέμονταν στο συγκεκριμένο όργανο.(51)

Σύμφωνα με την μελέτη των Brushart και Seiler, οι κινητικοί νευράξονες προτιμούν να επανανευρώνουν κινητικά όργανα στόχους, φαινόμενο που λαμβάνει χώρα ακόμα και όταν τα περιφερικά όργανα-στόχοι απομονώνονται.(52) Οι συγγραφείς κατέληξαν ότι τα κύτταρα του Schwann, παρουσιάζουν ειδική ταυτότητα με την οποία αναγνωρίζονται από τους αναγεννώμενους νευράξονες και η οποία επηρεάζει την συμπεριφορά τους, κάτι που παρατηρείται αποκλειστικά για τα κινητικά μονοπάτια. Στην ουσία, πρόκειται για ειδικά μοριακά σήματα που προάγουν τον σχηματισμό των κώνων ανάπτυξης και διεγείρουν την προώθηση των νευραξόνων.(53) Αναφέρονται και ως «μόρια προσκόλλησης», τα οποία εντοπίζονται από ειδικούς υποδοχείς που υπάρχουν στους κώνους ανάπτυξης. Η σύνδεση των υποδοχέων με τα μόρια προσκόλλησης, δημιουργεί το κατάλληλο υπόστρωμα ώστε να μπορέσει να γίνει η προώθηση των κώνων ανάπτυξης.(Εικ.15,16) Παραδείγματα τέτοιων μορίων, αποτελούν οι γλυκοπρωτεΐνες MAG, TAG-1, L1, οι πρωτεΐνες N-CAM .(54)





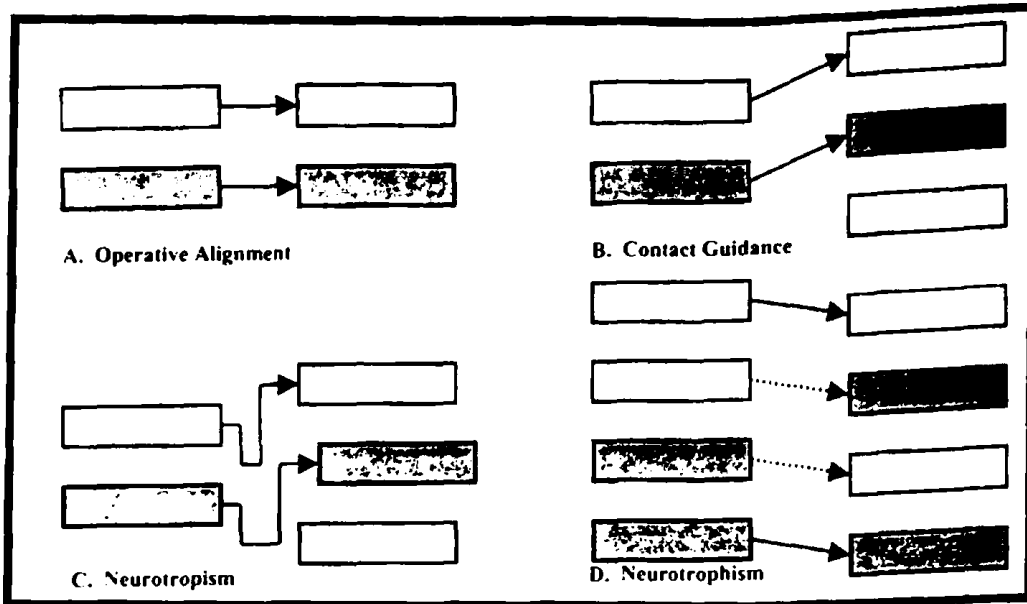
Εικ.15 Η προώθηση των κώνων ανάπτυξης είναι δυνατή μόνο αν οι υποδοχείς της επιφάνειάς τους είναι συμβατοί με τα μόρια προσκόλλησης. Lundborg G et al. Trophism, tropism and specificity in nerve regeneration. J Reconstr Microsurg. 1994;10(5):345-354)



Εικ.16 Επάνω εικόνα:
Η αναγεννώμενη κινητική νευρική ίνα στέλνει με τα κατάλληλα μόρια αναγνώρισης μια εκβλάστηση στη σωστή κατεύθυνση. (κίτρινο βέλος)

Κάτω εικόνα: Μόνο οι εκβλαστήσεις που έχουν σταλεί σε σωστή κατεύθυνση θα συνεχίσουν να αναπτύσσονται. Lundborg G et al. Trophism, tropism and specificity in nerve regeneration. J Reconstr Microsurg. 1994;10(5):345-354)

Συνοπτικά, οι θεωρίες για τους μηχανισμούς της νευρικής αναγέννησης απεικονίζονται παρακάτω.(Εικ.17)



Εικ.17Α.Διεγερητικός προσανατολισμός. Μικροχειρουργικές τεχνικές χρησιμοποιούνται για να συμπλησιάσουν τα τραυματισμένα νευρικά άκρα. **Β.**Καθοδήγηση επαφής: Αναγνώριση του κατάλληλου μικροπεριβάλλοντος καθοδηγεί τον αναγεννώμενο νευράξονα προς το κατάλληλο περιφερικό κολόβωμα. **Γ.**Νευροτροπισμός: Η καθοδήγηση των αναγεννόμενων νευραξόνων προς το σωστό νευρικό κολόβωμα επιτυγχάνεται με την δράση ουσιών σε μοριακό επίπεδο. **Δ.**Νευροτροφισμός: Τροφικοί παράγοντες υποστηρίζουν την σωστή καθοδήγηση των νευραξόνων. Οι νευράξονες που δεν συνδέονται σωστά, υφίστανται αποδόμηση.(Winograd J, Mackinnon SE.Peripheral nerve injuries:repair and reconstruction. In: Plastic surgery. Mathis S, Hentz VR,eds.)

Η παθοφυσιολογία της διαδικασίας της νευρικής κάκωσης συνοψίζεται στον παρακάτω πίνακα. Ο χρόνος μπορεί να ποικίλει και εξαρτάται από τον τύπο και την έκταση της βλάβης. (55,56)

ΧΡΟΝΟΣ	ΑΠΟΔΟΜΗΣΗ	ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ
6 ώρες	Ο πυρήνας μετατοπίζεται και τα σωματία του Nissl αποδομούνται, κάνοντας το κύτταρο βασεόφιλο.	Αξονικές ακίδες εμφανίζονται στο εγγύς άκρο.
1 ^η ημέρα	Εισβολή των μακροφάγων στην περιοχή της αποδόμησης. Η παρουσία τους διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του Schwann. Η λειτουργία του νεύρου εξασθενίζει και συνοδεύεται από ρήξη του αιματο-νευρικού φραγμού. Οίδημα του περιφερικού κολοβώματος.	Δημιουργία των κώνων ανάπτυξης. Ενεργοποίηση των κυτταρικών σωματίων των τραυματισμένων νευραξόνων και αύξηση του μεγέθους τους.

2 ^η ημέρα		Αύξηση της δραστηριότητας των μιτοχονδρίων στο αξονόπλασμα για παροχή ενέργειας απαραίτητης για την μεταφορά ουσιών στο περιφερικό κολόβωμα.
3 ^η ημέρα	Συρρίκνωση των νευραξόνων, έναρξη της αποδόμησης της μυελίνης. Η διαδικασία της αποδόμησης στηρίζεται στην ενεργοποίηση των περινευρικών κυττάρων, των κυττάρων του Schwann και των μακροφάγων. Μπορεί να διαρκέσει μέχρι και 3 μήνες. Ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων του Schwann, κορυφώνεται.	
4 ^η ημέρα		Αύξηση της παραγωγής του RNA στο κυτταρικό σώμα. Έναρξη των αξονικών Sprouting.
1 ^η εβδομάδα	Διάσπαση της μυελίνης και διείσδυση φλεγμονοδών κυττάρων και ερυθροκυττάρων στην περιοχή.	
2 ^η εβδομάδα	Τα κύτταρα του Schwann συνεχίζουν να πολλαπλασιάζονται. Ολοκληρώνεται η διαδικασία του καθαρισμού του περιεχομένου των ενδονευρικών στοιχείων.	Τα κύτταρα του Schwann που είναι κοντά στους αναγεννώμενους νευράξονες, σταματούν την αποδόμηση της μυελίνης και συγκεντρώνουν τους νευράξονες.
3 ^η εβδομάδα	Στο περιφερικό άκρο του νευράξονα, η διαδικασία της αποδόμησης έχει ολοκληρωθεί.	Ο νευράξονας περιβάλλεται ολοκληρωτικά από μυελίνη. Οι περισσότεροι αναγεννώμενοι νευράξονες εντοπίζονται έξω από τους αποδομούμενους ενδονευρικούς αγωγούς. Κορυφώνονται οι μεταβολικές αλλαγές. Ξεκινούν οι αξονικές εκβλαστήσεις, οι οποίες περνούν το σημείο συρραφής.
4 ^η εβδομάδα		Έναρξη της επαναμυελινοποίησης.

Πιν.1 Παθοφυσιολογία της αποδόμησης και της αναγέννησης των νευραξόνων μετά από κάκωση. (Gupta S et al: Hand, nerve injury and repair. Article from e-medicine)



^ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΚΑΚΩΣΕΩΝ

Οι κακώσεις των περιφερικών νεύρων ταξινομούνται ανάλογα με τις δομικές και λειτουργικές μεταβολές που υφίστανται οι νευρικές ίνες. Το 1943, ο Seddon εισήγαγε την εξής λειτουργική κατάταξη για κακώσεις περιφερικών νεύρων: Νευραπραξία, αξονότμηση και νευρότμηση.(57) Το 1951, ο Sunderland επέκτεινε την παραπάνω ταξινόμηση και δημιούργησε το πιο χρησιμοποιημένο σύστημα ταξινόμησης κακώσεων περιφερικών νεύρων που είναι πιο λεπτομερές, στηρίζεται στην συμμετοχή που έχουν στην βλάβη τα βασικά δομικά στοιχεία του νευρικού κορμού και περιλαμβάνει πέντε βαθμούς.(58) (Εικ.18) Το 1988, η Mackinnon, πρόσθεσε τον έκτο βαθμό, που αντιστοιχεί σε μικτές κακώσεις που αφορούν τραυματισμούς διαφόρων βαθμών που μπορεί να συνυπάρχουν σε δεσμίδες του ίδιου νεύρου.(59)(Πιν.2)

^ Κακώσεις πρώτου βαθμού- Νευραπραξία

Ο όρος νευραπραξία περιλαμβάνει τοπικό αποκλεισμό της αγωγής της νευρικής ώσης, αλλά με διατήρηση της ανατομικής συνέχειας των νευραξόνων. Παρά το γεγονός ότι η ανάρρωση είναι πλήρης, ο χρόνος που απαιτείται ποικίλλει από μέρες έως και μήνες, μέχρι να ολοκληρωθεί η διαδικασία επανόρθωσης της μυελίνης τοπικά και να αποκατασταθεί έτσι η δυνατότητα διέγερσης των νευρικών ινών. Με βάση την αρχική ταξινόμηση του Seddon, η νευραπραξία επιπλέον περιλαμβάνει πλήρη κινητική παράλυση ενώ συνήθως διατηρούνται ως ένα βαθμό οι αισθητικές και συμπαθητικές λειτουργίες.(57) Δεν υπάρχει νευρική αναγέννηση, ούτε σημείο Tinell εφόσον δεν υπάρχει συμμετοχή των νευραξόνων. Ιστολογικά, παρουσιάζεται κυρίως απομυελινοποίηση. Παραδείγματα κακώσεων πρώτου βαθμού αποτελούν η ισχαιμος περιδεδση ή η παράλυση λόγω παρατεταμένης τοπικής πίεσης. Στην πρώτη περίπτωση, η πίεση που υφίσταται ο νευρικός κορμός είναι αρκετή για να παρακωλύσει την ενδονευρική αγγειακή ροή και επομένως να επηρεάσει την οξυγόνωση των νευρικών ινών. Οι αναφερόμενες επιπλοκές μπορεί να αντιστοιχούν σε μια μικρή διαταραχή της αισθητικότητας μέχρι πλήρη παράλυση των νεύρων του άνω άκρου, ενώ ο χρόνος ισχαιμίας ποικίλλει από 15 λεπτά έως 2 ώρες. Ένα άλλο παράδειγμα νευραπραξίας είναι η παράλυση του κερκιδικού νεύρου μετά από κατάγματα βραχιονίου οστού. Παρατηρείται πλήρης παράλυση των μυών που νευρώνονται από το κερκιδικό νεύρο, κάτω από το σημείο της κάκωσης ενώ μπορεί



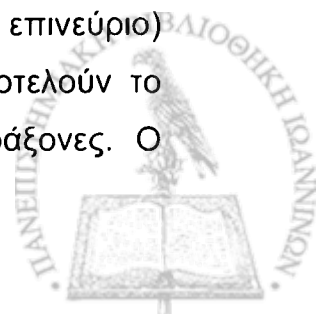
να διατηρείται ενός βαθμού αισθητικότητα. Η ανάρρωση διαρκεί από εβδομάδες έως μήνες, όσος δηλαδή και ο χρόνος που απαιτείται για τοπική επιδιόρθωση της κατεστραμμένης μυελίνης.

Σε πιο προχωρημένες περιπτώσεις, ο τοπικός αποκλεισμός της αγωγής της νευρικής ώσης μπορεί να απαιτήσει εβδομάδες έως και μήνες μέχρι να αποκατασταθεί πλήρως. (60,61) Ο πιθανότερος μηχανισμός που ερμηνεύει αυτή την κατάσταση, είναι ο σχηματισμός ενδονευρικού οιδήματος, το οποίο δεν είναι εύκολο να παροχετευτεί, διότι το περινεύριο αποτελεί φραγμό και επιπλέον ο ενδονευρικός χώρος στερείται λεμφαγγείων. Επειδή οι νευράξονες είναι μυελινοποιημένοι σε διαφορετική έκταση, η απώλεια αλλά και η επανάκτηση της λειτουργίας γίνεται σε διαφορετικές χρονικές περιόδους. Οι κινητικές νευρικές ίνες είναι οι πρώτες που χάνουν την λειτουργικότητά τους και οι τελευταίες που την επανακτούν, ενώ το αντίθετο συμβαίνει με αισθητικές νευρικές ίνες. (58)

▲ Κακώσεις δευτέρου βαθμού-Αξονότμηση

Οι κακώσεις αυτές, περιλαμβάνουν απώλεια της συνέχειας των νευραξόνων στο σημείο της βλάβης αλλά με ανέπαφα το ενδονεύριο και το περινεύριο. Ακολουθεί η αποδόμηση των νευραξόνων και η Βαλλεριανή εκφύλιση, που γίνονται περιφερικά από το σημείο της νευρικής βλάβης. Οι χημικές μεταβολές που λαμβάνουν χώρα στις περιπτώσεις αυτές, αφορούν κυρίως τα επίπεδα των λιπιδίων της μυελίνης (εγκεφαλοσίδη, σφιγγομυελίνη και ελεύθερη χοληστερόλη) που αρχικά ελαττώνονται σε σχέση με τα αντίστοιχα στο φυσιολογικό νεύρο. Ακόμα και όταν ολοκληρωθεί η διαδικασία της μυελινοποίησης του νεύρου και η λειτουργία του επανέλθει, η συγκέντρωση των λιπιδίων της μυελίνης ποτέ δεν φτάνει στα φυσιολογικά επίπεδα, αποδεικνύοντας έτσι ότι ακόμα και σε επίπεδο χημικών μεταβολών, το αναγεννώμενο μετά από αξονότμηση νεύρο, διαφέρει από το φυσιολογικό. (58) Το σημείο Tinell είναι παρόν και μπορεί να εντοπιστεί περιφερικά καθώς η διαδικασία της αξονικής αναγέννησης προχωρά.

Συνθλιπτικές κακώσεις υψηλής ενέργειας και κακώσεις εξελκυσμού μπορεί να οδηγήσουν σε αξονότμηση. Η διατήρηση της ακεραιότητας του ενδονευρίου και των υπολοίπων συνδετικών ενδονευρικών στοιχείων (περινεύριο και επινεύριο) εξασφαλίζουν την πλήρη αποκατάσταση καθώς τα στοιχεία αυτά, αποτελούν το μονοπάτι που θα προσανατολίσει σωστά τους αναγεννώμενους νευράξονες. Ο



χρόνος που απαιτείται για την λειτουργική αποκατάσταση αντιστοιχεί στον χρόνο που απαιτείται για την αναγέννηση των νευραξόνων και την επανανεύρωση του οργάνου στόχου. Το ηλεκτρομυογράφημα και η μελέτη της ταχύτητας αγωγής της ώσης, μπορεί να προσθέσουν πληροφορίες αλλά συχνά δεν είναι δυνατό να προβλέψουν τον ρυθμό της επανόρθωσης. Επιπλέον, μη αναστρέψιμες βλάβες στον μυϊκό ιστό μπορεί να υπάρξουν λόγω του αυξημένου χρόνου που απαιτείται για την επανανεύρωσή τους.

^ Κακώσεις τρίτου βαθμού

Το δομικό μοντέλο των κακώσεων αυτών, περιλαμβάνει απώλεια της συνέχειας των νευραξόνων και του ενδονευρίου, ενώ το περινεύριο παραμένει ανέπαφο. Η σοβαρότητα των κακώσεων αυτών είναι τέτοια, που προκαλεί αποδόμηση των νευραξόνων, Βαλλεριανή εκφύλιση και επιπλέον, πλήρη αποδιοργάνωση των εσωτερικών δομών των δεσμίδων, σε τέτοιο βαθμό που η εσωτερική ανατομία του νευρικού κορμού χάνεται. Η αποδιοργάνωση των δεσμίδων είναι πιθανό να συνοδεύεται από αιμορραγία, οίδημα και ισχαιμία, καταστάσεις που οδηγούν στην ανάπτυξη ενδοδεσμιδικής ίνωσης. Σε τέτοιες καταστάσεις, όπου περιορίζεται ή και αποκλείεται η πιθανότητα οι αναγεννώμενοι νευράξονες να φτάσουν στα τελικά όργανα-στόχους, η χειρουργική αποκατάσταση θεωρείται επιβεβλημένη. Το σημείο Tinell, δείχνει το επίπεδο της αναγέννησης αλλά η αποκατάσταση δεν θα είναι ποτέ πλήρης. Επιπλέον, αν οι δεσμίδες περιέχουν αισθητικές και κινητικές ίνες τότε το λάθος ταίριασμα των ινών αυτών είναι πιθανό να οδηγήσει σε πτωχότερο λειτουργικό αποτέλεσμα.

^ Κακώσεις τετάρτου βαθμού

Οι κακώσεις αυτές, συνοδεύονται από λύση της συνέχειας του περινευρίου ενώ το επινεύριο παραμένει ανέπαφο. Βαλλεριανή εκφύλιση λαμβάνει χώρα στο περιφερικό τμήμα της κάκωσης αλλά η αναγέννηση των νευραξόνων είναι απίθανο να συμβεί λόγω της ανάπτυξης ουλώδους ιστού.(58) Στις περιπτώσεις αυτές, η χειρουργική διερεύνηση και αποκατάσταση, είναι αναγκαία. Το σημείο Tinell είναι παρόν αλλά χωρίς σημεία βελτίωσης. Τέτοιες κακώσεις είναι συνήθως αποτέλεσμα τραυματισμών υψηλής ενέργειας.



^ Κακώσεις πέμπτου βαθμού-Νευρότμηση

Η λύση της συνέχειας ολόκληρου του νευρικού κορμού είναι το χαρακτηριστικό των κακώσεων αυτών. Ο μηχανισμός των κακώσεων αυτών είναι ο εξελκυσμός, διαπιτραινόντα τραύματα ή ανοιχτά τραύματα με συμμετοχή τενόντων, μυών, οστών και αγγείων. Η αποκατάσταση είναι αδύνατη χωρίς μικροχειρουργική παρέμβαση. Η πρόγνωση εξαρτάται από την φύση της κάκωσης αλλά και από τοπικούς και γενικούς παράγοντες. Το μέγεθος του νευρικού ελλείμματος, ο τύπος της νευρικής συρραφής και ο χρόνος αποκατάστασης επηρεάζουν σημαντικά το τελικό λειτουργικό αποτέλεσμα.

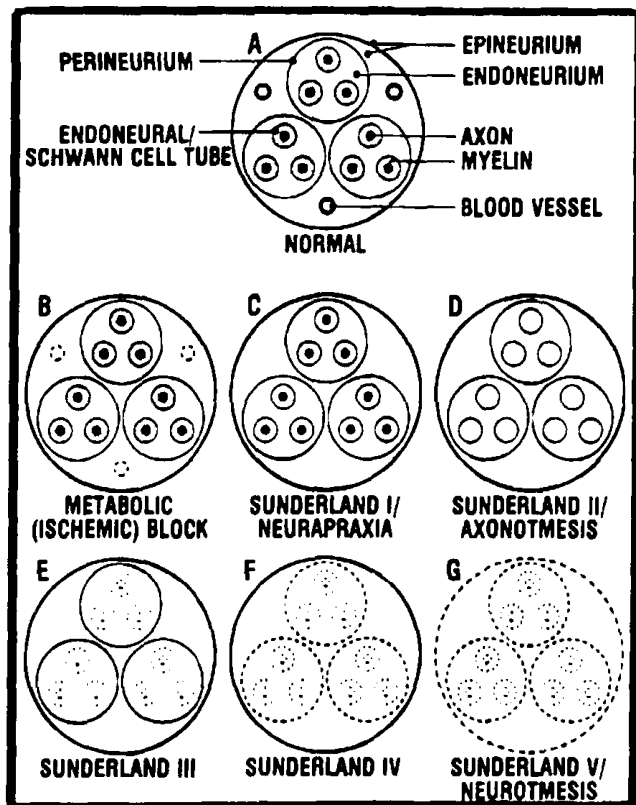
^ Κακώσεις έκτου βαθμού (Νεύρωμα σε συνέχεια)

Ο όρος νεύρωμα σε συνέχεια, χρησιμοποιήθηκε για να περιγράψει τον συνδυασμό ορισμένων από τις παραπάνω περιγραφείσες κακώσεις σε δεσμίδες του ίδιου νεύρου. Χειρουργικά, είναι το πιο δύσκολο αλλά και πιο ενδιαφέρον κομμάτι των νευρικών κακώσεων, γιατί υπάρχει πάντα ο κίνδυνος να υποεκτιμήσει κανείς την λειτουργία των λιγότερο τραυματισμένων περιοχών του νεύρου. Νωρίς μετά την νευρική κάκωση, οι ηλεκτροδιαγνωστικές μελέτες θα διαφοροδιαγνώσουν μόνο την νευραπραξία από τις υπόλοιπες κακώσεις, χωρίς όμως να προσφέρουν κάποιες επιπλέον πληροφορίες. Μετά από μερικές εβδομάδες η ύπαρξη κινητικών δυναμικών θα ξεχωρίσει τις κακώσεις 2^{ου} και 3^{ου} βαθμού από τις κακώσεις 4^{ου} και 5^{ου} βαθμού που είναι μη αναστρέψιμες και με πιο δυσμενή πρόγνωση. Οι κακώσεις έκτου βαθμού είναι μικτές και η δυσκολία εντοπίζεται στον προσδιορισμό των λιγότερο τραυματισμένων δεσμίδων από τις μη τραυματισμένες. Η γνώση της ανατομίας των δεσμίδων και η διόρθωση που γίνεται σύμφωνα με τον βαθμό της βλάβης, μπορούν να βοηθήσουν στην ορθότερη αντιμετώπιση τέτοιων κακώσεων. Η τοπογραφική εικόνα ολοκληρώνεται με ηλεκτροφυσιολογικές μελέτες ενώ η προσεκτική νευρόλυση που επιτρέπει τον διαχωρισμό των δεσμίδων και την ξεχωριστή αποκατάσταση χωρίς να βλάψει γειτονικές υγιείς δεσμίδες, αποτελεί την μέθοδο εκλογής.



ΒΑΘΜΟΣ ΚΑΚΩΣΗΣ	Ενδονεύριο	Περινεύριο	Επινεύριο	Σημείο Tinel
I. Νευραπραξία				-
II. Αξονότμηση				+
III.	+			+
IV.	+	+		+
V. Νευρότμηση	+	+	+	+
VI. Συνδυασμός κακώσεων σε δεσμίδες του ίδιου νεύρου				

Πιν 2. Ταξινόμηση περιφερικών κακώσεων. (Evans E. Peripheral nerve injury: A review and approach to tissue engineered constructs. The Anatomical Records 2001,263:396-404)



Εικ. 18. Α. Φυσιολογικό νεύρο με 3 δεσμίδες και 3 αγγεία.
Β. Μεταβολικό (ισχαιμικό) block . Διαταραχή της αγγείωσης αλλά ανέπαφη όλη η δομή του νεύρου.
Γ. Sunderland I: Seddon-Νευραπραξία. Εξαφάνιση της μυελίνης, ανέπαφη η δομή των δεσμιδών.
Δ. Sunderland II-Seddon-Αξονότμηση. Οι άξονες και η μυελίνη έχουν καταστραφεί αλλά οι ενδονευρικοί αγωγοί διατηρούνται.
Ε. Sunderland III .Οι ενδονευρικοί αγωγοί έχουν καταστραφεί, διατηρείται το περινεύριο.
Φ. Sunderland IV. Μόνο το επινεύριο διατηρείται.
Γ Sunderland V- Seddon Νευρότμηση. Όλα τα δομικά στοιχεία του νεύρου έχουν καταστραφεί.
 (Gelberman RH. Operative Nerve Repair and Reconstruction)

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΝΕΥΡΙΚΗ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ

*ΝΕΥΡΟΤΡΟΦΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Οι νευροτροφικοί παράγοντες είναι πρωτεΐνες που ρυθμίζουν την αξονική αναγέννηση και υποστηρίζουν την επιβίωση των νευρώνων. Ανάλογα με τα μοριακά, λειτουργικά και βιολογικά χαρακτηριστικά τους, χωρίζονται σε οικογένειες, που περιλαμβάνουν τις νευροτροφίνες, τις νευροποιητικές κυτοκίνες και τους μετατρεπτικούς παράγοντες ανάπτυξης.

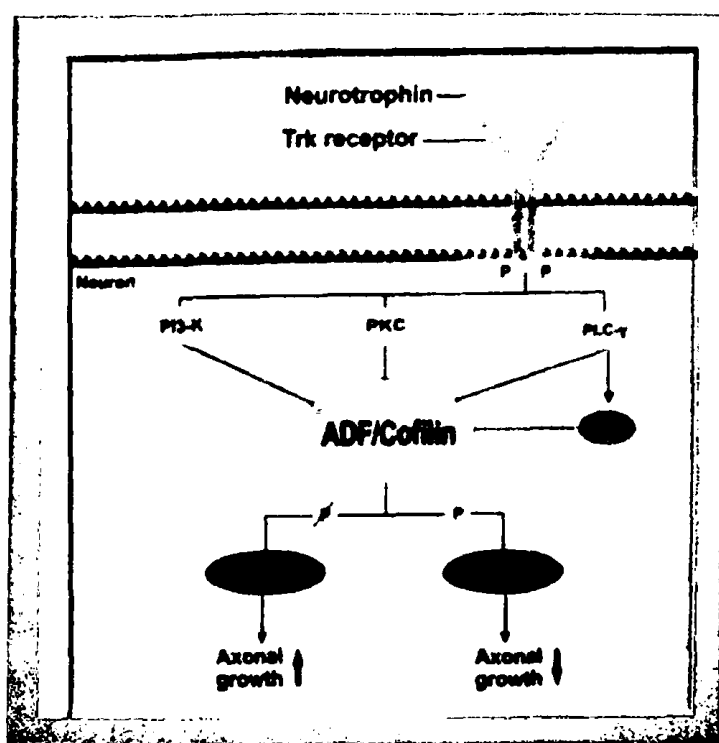
Στην οικογένεια των νευροτροφινών ανήκουν: ο παράγοντας ανάπτυξης των νεύρων(NGF), ο επαγωγικός του εγκεφάλου παράγοντας(BDNF), η νευροτροφίνη 3 (NT-3), η νευροτροφίνη 4/5(NT-4/5).

Οι νευροτροφίνες, σε ό,τι αφορά την χημική τους δομή, περίπου τα μισά από τα αμινοξέα που έχουν, είναι κοινά, ενώ όλες έχουν έξι μόρια κυστεΐνης στην ίδια ακριβώς θέση, σχηματίζοντας δισουλφιδικούς δεσμούς. Οι νευροτροφίνες συνδέονται με δυο τύπους μεμβρανικών υποδοχέων: α) Υποδοχείς της τυροσινικής κινάσης, TrkA, TrkB και TrkC β)Τον κοινό νευροτροφικό υποδοχέα p75 (p75NTR), ο οποίος ανήκει στην οικογένεια των παραγόντων νέκρωσης των ιστών(62,63)

Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, βρίσκονται σε χαμηλά επίπεδα στον νευρικό κορμό αλλά η συγκέντρωσή τους αυξάνει σημαντικά μετά από τραυματισμό του νεύρου.(62) Μεταφέρονται στο κυτταρικό σώμα του νεύρου με ανάστροφη αξονική ροή και δρουν ως ειδικοί τροφικοί παράγοντες που αυξάνουν την αναγέννηση του περιφερικού νεύρου. Πιο συγκεκριμένα, η δράση των νευροτροφικών παραγόντων μετά τον τραυματισμό του νεύρου, εντοπίζεται αρχικά στους κώνους ανάπτυξης. Οι τελευταίοι, είναι πλούσιοι σε ινίδια ακτίνης(F-actin) τα οποία δημιουργούν συνεχώς κυτταρικές προβολές, τα φιλοπόδια, που εντοπίζονται στο τελικό άκρο του κώνου και λειτουργούν σαν ανιχνευτές νευροτροφικών παραγόντων. Τα ινίδια της ακτίνης πολυμερίζονται και μεταφέρονται από την άκρη στο κέντρο του κώνου, όπου αποπολυμερίζονται. Συνεπώς, ο ρυθμός της επιμήκυνσης του κώνου και επομένως της αξονικής αναγέννησης, εξαρτάται από τον ρυθμό αυτής της κυκλικής διαδικασίας.(64) Η διαδικασία αυτή καθορίζεται από παράγοντες όπως η ADF(Actin-Depolymerized Factor) και η κοφιλίνη (ADF/Cofilin) Έχει βρεθεί ότι οι νευροτροφίνες διεγείρουν την αξονική αναγέννηση δρώντας ως μεσολαβητές και επιταχύνοντας την παραπάνω διαδικασία.(65)



Η σύνδεση των νευροτροφινών με τους Trk υποδοχείς, οδηγεί στην αυτοφωσφορυλίωση των υποδοχέων με αποτέλεσμα την παραγωγή τριών ενζύμων που θεωρούνται οι ρυθμιστές της αξονικής αναγέννησης: Πρωτεϊνική κινάση A (PKA), κινάση της φωσφατιδυλο-ινοσιτόλης 3 (P1-3K) και η φωσφολιπάση C (PLC- γ), οι οποίες σχετίζονται άμεσα με την παραγωγή της πρωτεΐνης ADF/Cofilin.(65) Η διεγερτική επίδραση των νευροτροφινών στην νευρική αναγέννηση, επιτυγχάνεται και μέσω της μείωσης της φωσφορυλίωσης της πρωτεΐνης, ADF/Cofilin, γεγονός που οδηγεί σε πολυμερισμό της ακτίνης και άρα αύξηση του ρυθμού ανάπτυξης των νευραξόνων.(Εικ.19)



Εικ.19 Η επίδραση των νευροτροφινών στην αξονική αναγέννηση.(Lykissas MG, Batistatou A, Charalabopoulos K, Beris A. The role of neurotrophins in axonal growth, guidance, and regeneration. Current Neurovascular Research 2007;4(2):1-9)

Ο πρώτος νευροτροφικός παράγοντας που ανακαλύφθηκε είναι ο νευρικός παράγοντας ανάπτυξης, **NGF**, ένα μη γλυκοζυλιωμένο πολυπεπτίδιο με μοριακό βάρος 26-kD που συνδέεται με τον διαμεμβρανικό υποδοχέα TrkA.(66) Αναφέρεται ότι ο παράγοντας NGF είναι ο πιο σημαντικός για την επιβίωση τόσο των εμβρυϊκών γαγγλίων των οπισθίων ριζών όσο και για την πλειονότητα των αισθητικών και συμπαθητικών νευρώνων κατά την διάρκεια της ανάπτυξης.(67)



Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες τα επίπεδα του παράγοντα βρίσκονται σε χαμηλή συγκέντρωση αλλά έπειτα από λίγες ώρες από την νευρική κάκωση, παρατηρείται παρατεταμένη αύξηση των επιπέδων του mRNA του παράγοντα μέσω της δράσης ενεργοποιημένων μακροφάγων και ιντερλευκίνης-1 στο περιφερικό κολόβωμα του νεύρου.(67) Έχει βρεθεί πειραματικά, ότι η άμεση έκθεση των κώνων ανάπτυξης στον παράγοντα είναι απαραίτητη για την ολοκλήρωση της διαδικασίας της αναγέννησης.(68) Η εξωγενής χορήγηση του παράγοντα, αυξάνει την αξονική αναγέννηση και προλαμβάνει τον κυτταρικό θάνατο των αισθητικών νευρώνων που εκφράζουν τον υποδοχέα TrkA. Το γεγονός ότι οι κινητικοί νευρώνες δεν εκφράζουν τον συγκεκριμένο υποδοχέα, θα έπρεπε να περιορίζει την δράση του παράγοντα μόνο σε αισθητικούς και συμπαθητικούς νευρώνες. Εντούτοις, έχει αποδειχτεί πειραματικά, ότι προάγει την νευρική αναγέννηση κινητικών νευραξόνων, γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι ο παράγοντας παίζει ένα γενικότερο ρόλο στην νευρική αναγέννηση.(69) Σε καλλιέργειες κινητικών νευρώνων, η τοπική εφαρμογή του παράγοντα προάγει την ανάπτυξη των νευραξόνων, πιθανά μέσω της αλληλεπίδρασης με τα αστροκύτταρα.

Σε νεότερες πειραματικές μελέτες, ο παράγοντας NGF αποδείχτηκε ότι μπορεί να διεγείρει την αξονική αναγέννηση όταν εφαρμόζεται μαζί με νευρικά μοσχεύματα(70,71), όταν χορηγείται συστηματικά ή τοπικά με ωσμωτική αντλία(72), ή με αγωγό σιλικόνης(73).

Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι η συνεχής χορήγηση του NGF, μπορεί να καθυστερεί την έναρξη της νευρικής αναγέννησης χωρίς όμως να παρεμβαίνει στο ρυθμό της, γεγονός που υποδεικνύει ότι η αρχική απώλεια του παράγοντα μετά την νευρική κάκωση, μπορεί να δρα ως ερέθισμα για την έναρξη της διαδικασίας της νευρικής αναγέννησης.(74)

Ο επαγωγικός του εγκεφάλου παράγοντας ανάπτυξης (**BDNF**) δρα μέσω της σύνδεσής του με τον υποδοχέα της τυροσίνης Trk B και με τον μηχανισμό που περιγράφηκε παραπάνω, προστατεύει τον κυτταρικό θάνατο του νευρώνα μετά από τραυματισμό in vivo,(75) προάγει την διαφοροποίηση και την επιβίωση των κινητικών νευρώνων in vitro,(76) και ρυθμίζει την λειτουργία των αναπτυσσόμενων νευρομυϊκών συνάψεων(77).Μελέτες υποστηρίζουν ότι ο παράγοντας βελτιώνει την λειτουργική αποκατάσταση μετά από τραυματισμό περιφερικού νεύρου (78,79)



Πιο συγκεκριμένα, μετά από διατομή του ισχιακού νεύρου του επίμουσ, η χορήγηση του παράγοντα μέσω αντλίας, είχε σαν αποτέλεσμα την αύξηση της διαμέτρου των αναγεννώμενων νευραξόνων και την βελτίωση του ρυθμού και του βαθμού της λειτουργικής αποκατάστασης του νεύρου σε σχέση με τις ομάδες στις οποίες δεν είχε χορηγηθεί ο παράγοντας.(78) Η ευεργετική επίδραση του παράγοντα στην αξονική αναγέννηση είναι δόσοεξαρτώμενη.(80) Επιπλέον, η σύνθεση και η μεταφορά του παράγοντα από τους αισθητικούς νευρώνες αυξάνει μετά από αξονότμηση, καθώς το mRNA του παράγοντα εκφράζεται και από TrkA νευρώνες.(81)

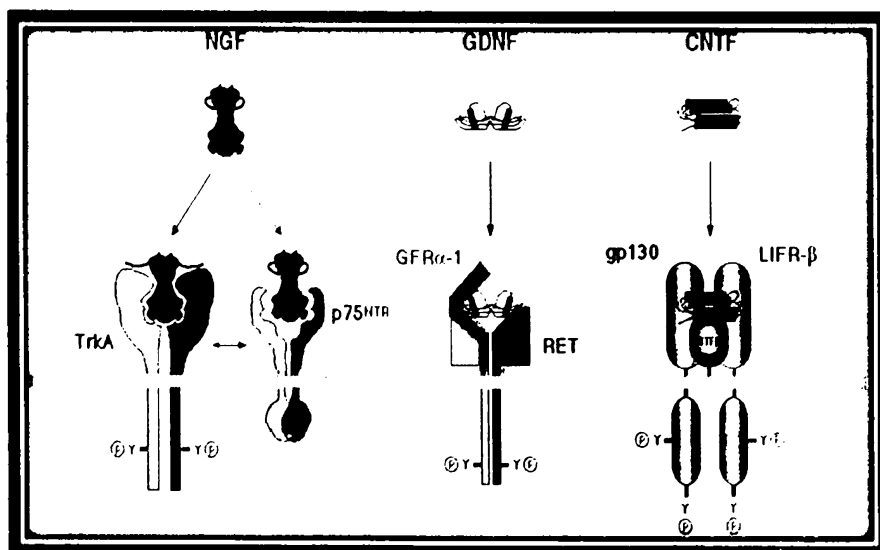
Ο κροσσωτός νευροτροφικός παράγοντας **CNTF**(Ciliary Neurotrophic Factor) είναι μια πρωτεΐνη με μοριακό βάρος 22-kD, που εκφράζεται από τα κύτταρα του Schwann στο περιφερικό νευρικό σύστημα και από τα αστροκύτταρα του κεντρικού νευρικού συστήματος.(82) Σε υγιή περιφερικά νεύρα, ο παράγοντας εντοπίζεται κυρίως στα κύτταρα του Schwann σε υψηλές συγκεντρώσεις, υποδεικνύοντας έτσι, τον ρόλο που έχει στην ομοίωση των διαφοροποιημένων νευρώνων.(82) Υποδοχείς για τον παράγοντα έχουν βρεθεί και σε σκελετικούς μυς.(82) Μετά την αξονότμηση, το mRNA του παράγοντα πέφτει κατά πολύ και δεν επανέρχεται στα φυσιολογικά επίπεδα, παρά μόνο, όταν ολοκληρωθεί η διαδικασία της αναγέννησης.(83) Η μείωση των επιπέδων του παράγοντα CNTF τόσο στο περιφερικό τμήμα του νευρικού κολοβώματος, όσο και στο επίπεδο της νευρομυϊκής συμβολής, οδήγησε στην σκέψη της εξωγενούς χορήγησης CNTF η οποία πιθανά να βοηθούσε στην νευρική αναγέννηση. Πράγματι, η ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση του παράγοντα μετά από αξονότμηση, βελτίωσε την αναγέννηση του τραυματισμένου περιφερικού νεύρου(84) ενώ βοήθησε και στην διατήρηση της μυϊκής μάζας.(85) Σε παρόμοιο μοντέλο, η χρήση του παράγοντα ήταν ευεργετική για την λειτουργική αποκατάσταση του ισχιακού νεύρου.(86) Επιπλέον, η χορήγηση CNTF και BDNF είχε καλύτερα λειτουργικά αποτελέσματα μετά από διατομή και αποκατάσταση, από ότι η θεραπεία μόνο με BDNF.(87)

Λειτουργικά, ο παράγοντας CNTF προάγει την ανάπτυξη των νευραξόνων αισθητικών και συμπαθητικών νευρώνων,(88) προλαμβάνει τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο κινητικών νευρώνων(89) και μειώνει την ατροφία, λόγω απονεύρωσης, των μυών.(90)



Οι νευροτροφικοί παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στην ομοιοστάση αλλά και στην αναγέννηση των περιφερικών νεύρων. Η επιβίωση τόσο των αισθητικών αλλά και των κινητικών νευρώνων εξαρτάται από την δράση τους. Η εξωγενής χορήγηση αυτών των παραγόντων επιταχύνει και βελτιώνει το τελικό λειτουργικό των ενδογενών νευροτροφικών παραγόντων που δρουν είτε συνεργικά, είτε διαδοχικά αλλά με καθορισμένη αλληλουχία. Η αποφυγή της συστηματικής τους χορήγησης λόγω πιθανών ανεπιθύμητων παρενεργειών και ο καθορισμός του δοσολογικού σχήματος και του τρόπου τοπικής εφαρμογής, είναι θέματα που πρέπει να αξιολογηθούν πριν προχωρήσει η κλινική εφαρμογή.

Σημαντικό ρόλο επίσης παίζει και η αναγνώριση της μοριακής δομής των υποδοχέων των νευροτροφικών παραγόντων καθώς και ο μηχανισμός με τον οποίο αλληλεπιδρούν, γεγονός που θα βοηθήσει στην εξερεύνηση νέων θεραπευτικών δυνατοτήτων. (Εικ.20)



Εικ20. Το σύστημα των υποδοχέων των νευροτροφικών παραγόντων. Ο παράγοντας NGF, συνδέεται με τον υποδοχέα TrkA και με τον νευροτροφικό υποδοχέα p75. Νεύρα με μεγάλη αναγεννητική ικανότητα παρουσιάζουν μεγάλη αύξηση στην έκφραση του υποδοχέα p75 μετά από τραυματισμό. Η σύνδεση των νευροτροφικών παραγόντων με τους υποδοχείς τους οδηγεί είτε με την δράση των κινασών Trk-A και RET, είτε με κυτταροπλασματικές κινάσες (gp 130, LIFR- β), στην φωσφορυλίωσή τους και επομένως στην ενεργοποίησή τους. (Ibanez C. Emerging themes in structural biology of neurotrophic factors. Emerging Themes.)



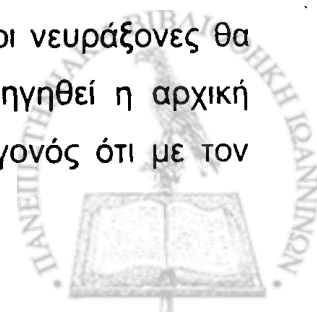
***Η ΕΛΑΧΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΜΕΤΑΤΡΑΥΜΑΤΙΚΟΥ ΘΑΝΑΤΟΥ ΤΟΥ ΝΕΥΡΩΝΑ**

Απαραίτητη προϋπόθεση για την αξονική αναγέννηση είναι η επιβίωση των νευρικών κυττάρων μετά τον τραυματισμό. Σε πειραματικά μοντέλα, έχει αποδειχτεί ότι με την τοπική εφαρμογή νευροτροφικών ουσιών, όπως ο NGF (91,92), ο παράγοντας NT-3 (93) και η ιντερλευκίνη-1(94) μπορεί να αποφευχθεί ο θάνατος της οπίσθιας ρίζας των νωτιαίων γαγγλίων. Επίσης, η απώλεια των κινητικών νευρώνων μπορεί να μειωθεί με την χορήγηση GDNF ή BDNF (95,96,97)

Επιπλέον, ο χρόνος της συρραφής επηρεάζει το λειτουργικό αποτέλεσμα. Η αποκατάσταση ενός τραυματισμένου νεύρου είναι προτιμότερο να γίνεται άμεσα. Πειραματική μελέτη έχει αποδείξει ότι αν η επιδιόρθωση γίνει μέσα σε 24 ώρες μετά τον τραυματισμό, μειώνεται σημαντικά η πιθανότητα μετεγχειρητικού θανάτου του νευρώνα.(98) Ο θάνατος του αισθητικού νευρώνα μετά από διατομή του νεύρου, ξεκινά σε 24 ώρες από τον τραυματισμό, παρουσιάζει τον μέγιστο ρυθμό 2 εβδομάδες αργότερα και ολοκληρώνεται μετά από 2 μήνες.(98) Αν η επιδιόρθωση γίνει μέσα σε 24 ώρες, τα αγγεία του επινευρίου μπορούν ακόμα να χρησιμοποιηθούν ως οδηγία σημεία για την επιβεβαίωση του σωστού προσανατολισμού των νευρικών κολοβωμάτων τα οποία δεν έχουν προλάβει να συσπαστούν ενώ το κυτταρικό οίδημα είναι ακόμα περιορισμένο. Σε πειραματικό μοντέλο, η διατομή χωρίς επιδιόρθωση, του ισχιακού νεύρου επίμυος, οδήγησε στον κυτταρικό θάνατο 21% των νευρώνων. Η άμεση συρραφή είχε νευροπροστατευτικά αποτελέσματα, καθώς το αντίστοιχο ποσοστό μειώθηκε στο 4,8% ενώ η καθυστερημένη, μετά από μια εβδομάδα συρραφή, είχε ως αποτέλεσμα απώλεια νευρικών κυττάρων σε ποσοστό 12,4%.(99) Συμπερασματικά, όσο αυξάνει ο χρόνος που μεσολαβεί για την αποκατάσταση, τόσο τα μετεγχειρητικά αποτελέσματα χειροτερεύουν καθώς επέρχεται ίνωση του περιφερικού κολοβώματος, ατροφία των κυττάρων του Schwann και προοδευτική απώλεια των νευρώνων. Καθυστέρηση 18-24 μηνών στην αποκατάσταση, οδηγεί σε μη αναστρέψιμες βλάβες στο μυϊκό κύτταρο.(100,101)

***ΕΠΑΝΑΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΗ ΔΙΑΤΟΜΗ**

Σε πειραματικά μοντέλα, έχει βρεθεί ότι αν υπάρξει τραυματισμός του νεύρου ο οποίος επαναληφθεί μέσα σε μέρες ή εβδομάδες, οι αναγεννώμενοι νευράξονες θα έχουν καλύτερο μοντέλο αναγέννησης από το αν δεν είχε προηγηθεί η αρχική κάκωση.(102-104) Η ερμηνεία του φαινομένου στηρίζεται στο γεγονός ότι με τον



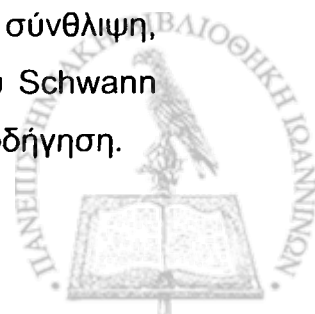
πρώτο τραυματισμό, ξεκινά η διαδικασία επιδιόρθωσης της βλάβης, με την αύξηση της έκφρασης του mRNA για την δημιουργία στοιχείων που θα αποτελέσουν το ικρίωμα για τους νέους νευράξονες. Με όλη αυτή τη διαδικασία ο νευρώνας είναι προετοιμασμένος για τη νέα κάκωση. Η αρχικός τραυματισμός δεν είναι απαραίτητο να είναι η πλήρης διατομή του νεύρου. Ακόμα και πιο ήπιοι τραυματισμοί αρκούν ώστε να διεγείρουν τον μηχανισμό της επιδιόρθωσης της βλάβης και να αυξήσουν την αναγεννητική ικανότητα των νευραξόνων. Το φαινόμενο αναπαράγεται και σε περίπτωση που το νεύρο υποστεί σύνθλιψη(105). Το ελάχιστο χρονικό διάστημα που πρέπει να παρεμβάλλεται ώστε να είναι αποτελεσματικό το φαινόμενο, είναι 2 με 3 ημέρες.(106)

***ΤΟ ΕΠΙΠΕΔΟ ΤΗΣ ΚΑΚΩΣΗΣ**

Δεδομένου ότι ο ρυθμός αναγέννησης ενός νεύρου είναι 1-2 mm/μέρα, γίνεται σαφές ότι όσο υψηλότερα εντοπίζεται το επίπεδο της κάκωσης, τόσο μεγαλύτερος ο χρόνος που χρειάζεται για να ολοκληρωθεί η επανανεύρωση του οργάνου-στόχου.(107,108) Σε διατομή δακτυλικού νεύρου, τα λειτουργικά αποτελέσματα είναι συνήθως καλά, εφόσον η απόσταση των αναγεννώμενων νευραξόνων από τα τελικά όργανο είναι μικρή. Τραυματικές κακώσεις στο μέσο νεύρο στην περιοχή του καρπού απαιτούν 3-4 μήνες μέχρι να εμφανιστούν τα πρώτα σημεία επανανεύρωσης. Σε τραυματικές κακώσεις νεύρων που είναι μακριά από τα τελικά όργανα, εφαρμόζονται μεταφορές νεύρων, προκειμένου να μειωθεί ο απαιτούμενος χρόνος για την έγκαιρη επανανεύρωσή τους. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν οι κακώσεις του βραχιονίου πλέγματος, όπου η επανανεύρωση της άκρας χειρός σπάνια συμβαίνει. Στις περιπτώσεις αυτές, στόχος είναι η επανανεύρωση μυών της περιοχής του αγκώνα ή του ώμου.(109-112) Γενικά, κάθε μηχανισμός που οδηγεί σε μείωση του χρόνου επανανεύρωσης έχει ευεργετικά αποτελέσματα στο επίπεδο της λειτουργικής αποκατάστασης.

***Ο ΤΥΠΟΣ ΤΗΣ ΒΛΑΒΗΣ**

Οι περιπτώσεις διατομής του νεύρου, έχουν πτωχότερα λειτουργικά αποτελέσματα συγκρινόμενες με τις σύνθλιπτικές κακώσεις. Η αξονική αναγέννηση στην σύνθλιψη, πραγματοποιείται με ταχύτερους ρυθμούς ενώ επιπλέον, τα κύτταρα του Schwann και η βασική τους μεμβράνη, αποτελούν τους αγωγούς για την σωστή καθοδήγηση.



^ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΕΛΛΕΙΜΜΑΤΩΝ

Παρά την μεγάλη πρόοδο που σημειώθηκε τις τελευταίες δεκαετίες στον ερευνητικό τομέα για την κατανόηση των βιολογικών μηχανισμών που ρυθμίζουν την αναγέννηση του νεύρου, οι κακώσεις των περιφερικών νεύρων αποτελούν ακόμη, ένα από τα πιο δύσκολα επανορθωτικά προβλήματα.

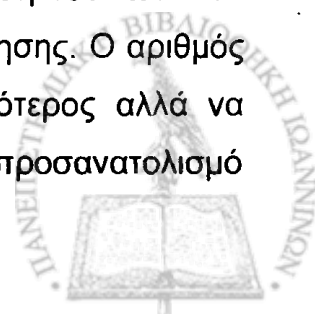
Από βιολογικής απόψεως, το αποτέλεσμα μετά από μια κάκωση περιφερικού νεύρου εξαρτάται από παράγοντες όπως η έκταση της βλάβης του νευρώνα, ο ρυθμός και η ποιότητα της νευρικής αναγέννησης, ο προσανατολισμός των αναγεννώμενων νευραξόνων, η επιβίωση και η γενική κατάσταση των τελικών οργάνων και η διαδικασία της επαναδιοργάνωσης στους σωματοαισθητικούς υποδοχείς και στον κινητικό φλοιό του εγκεφάλου. Είναι προφανές ότι ο ρόλος του χειρουργού είναι περιορισμένος στην εξέλιξη αυτών των φαινομένων. Ο χειρουργός μπορεί να επηρεάσει τα αποτελέσματα από τον τρόπο που χειρίζεται το τραυματισμένο νεύρο και από την μέθοδο που θα επιλέξει για την αποκατάστασή του. Σκοπός όλων των τεχνικών της νευρικής συρραφής είναι η αποκατάσταση της συνέχειας του νευρικού κορμού ώστε να επιτευχθεί η όσο το δυνατό καλύτερη επανανεύρωση του οργάνου -στόχου.

1. ΤΕΛΙΚΟΤΕΛΙΚΗ ΣΥΡΡΑΦΗ

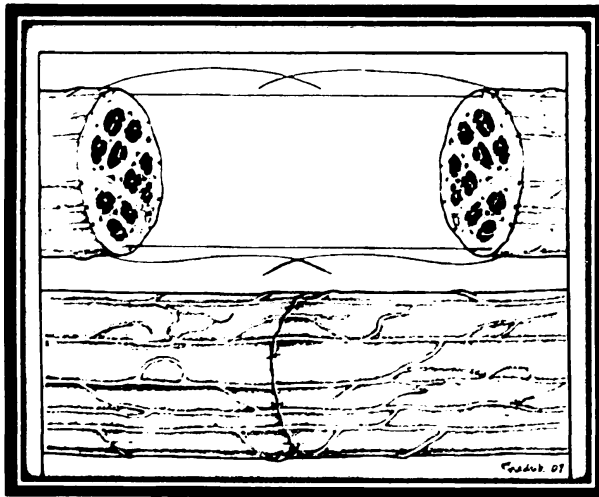
Η τελικοτελική συρραφή αποτελεί την μέθοδο εκλογής για την αποκατάσταση τραυματισμών των περιφερικών νεύρων. Η συρραφή μπορεί να είναι επινευρική ή δεσμιδική.

Θ ΕΠΙΝΕΥΡΙΚΗ ΣΥΡΡΑΦΗ

Η επινευρική συρραφή αποτελεί την κλασσική μέθοδο αποκατάστασης.(113-115) Το πρώτο σημαντικό βήμα είναι ο χειρουργικός καθαρισμός των νεκρωμένων τμημάτων των νευρικών κολοβωμάτων. Η επιμήκης πορεία των αγγείων του επινευρίου είναι οδηγό σημείο για την εξασφάλιση του σωστού προσανατολισμού των νευρικών κολοβωμάτων. Η επινευρική συρραφή πραγματοποιείται υπό μεγέθυνση, με την τοποθέτηση μη απορροφήσεων ραμμάτων (8/0 έως 10/0). Τα αρχικά ράμματα τοποθετούνται στο επινεύριο και των δυο κολοβωμάτων σε απόσταση 180° ώστε να αποφευχθεί η στροφική μετακίνηση κατά την διάρκεια της κινητοποίησης. Ο αριθμός των επικουρικών ραμμάτων οφείλει να είναι όσο το δυνατό λιγότερος αλλά να εξασφαλίζει την ακριβή συμπλησίαση και να διατήρει τον αρχικό προσανατολισμό



των νευρικών κολοβωμάτων. Αυτό επιτυγχάνεται αφήνοντας ένα κενό μεταξύ των δυο κολοβωμάτων. Η τοποθέτηση των ραμμάτων οφείλει να είναι χαλαρή, λόγω του μετεγχειρητικού οιδήματος που αναπτύσσεται και το οποίο μπορεί να στραγγαλίσει τα νευρικά κολοβώματα αλλά και για την αποφυγή κακού προσανατολισμού των δεσμίδων. Το πλεονέκτημα της επινευρικής συρραφής είναι η ευκολία στην εφαρμογή της και η ελάχιστη απαιτούμενη παρασκευή. Το μειονέκτημα είναι ότι παρά την άριστη συμπλησίαση που επιτυγχάνεται στηριζόμενη στην εξωτερική πορεία των αγγείων του επινευρίου, η τεχνική μπορεί να προξενήσει σημαντική μετακίνηση και κακό προσανατολισμό των δεσμίδων. (Εικ.21)(5) Παρόλ' αυτά, η επινευρική συρραφή δεν εξασφαλίζει το απόλυτο ταίριασμα των νευρικών δεσμίδων κάτι που επιτυγχάνεται με την δεσμιδική συρραφή.



Εικ.21 Επινευρική συρραφή. Η συμπλησίαση επιτυγχάνεται με μεμονωμένα επινευρικά ράμματα. Άριστη συμπλησίαση μπορεί να επιτευχθεί, αλλά ο εσωτερικός προσανατολισμός των δεσμίδων μπορεί να μην είναι σωστός. (Lundborg G. A 25-year perspective of peripheral nerve surgery: Evolving neuroscientific concepts and clinical significance. J Hand Surg. 2000;25A:391-414)

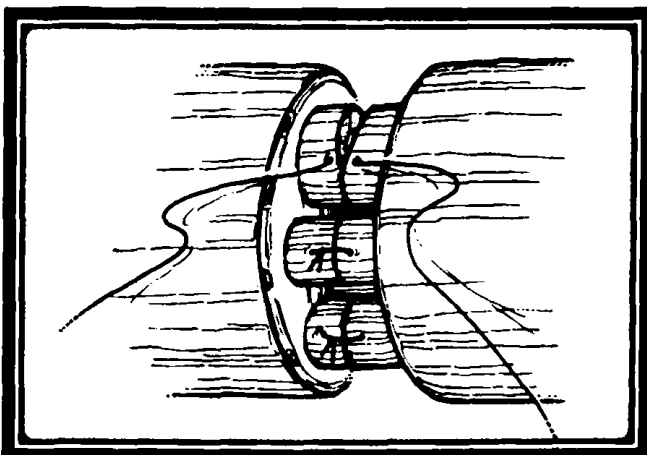
⊙ ΔΕΣΜΙΔΙΚΗ ΣΥΡΡΑΦΗ ΚΑΤΑ ΟΜΑΔΕΣ

Αποτελεί τεχνική που χαρακτηρίζεται από μεγαλύτερη ακρίβεια, συγκρινόμενη με την επινευρική συρραφή. Εφαρμόζεται σε περιπτώσεις μικτών νεύρων όπου οι δεσμίδες που αντιπροσωπεύουν μια συγκεκριμένη λειτουργία είναι καλά σχηματισμένες και αναγνωρίσιμες μέσα στον κύριο νευρικό κορμό, όπως συμβαίνει στο μέσο και στο ωλένιο νεύρο στο ύψος του καρπού, όπου τα κινητικά και αισθητικά στοιχεία είναι σαφώς προσδιορισμένα Άλλο παράδειγμα όπου μπορεί να εφαρμοστεί αυτή η

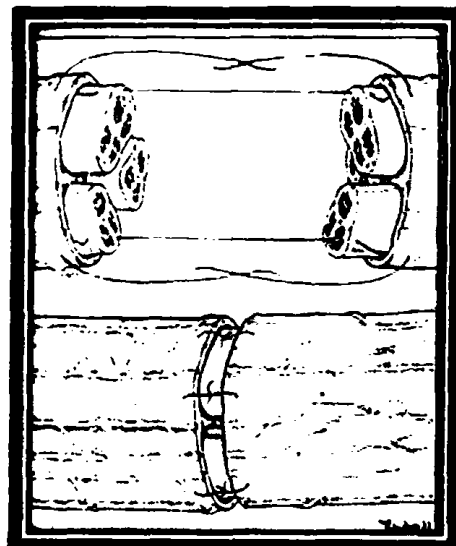


τεχνική, είναι τα νεύρα που αποτελούνται από δυο κύριες ομάδες δεσμίδων, που μπορούν εύκολα να αναγνωριστούν, όπως το κερκιδικό νεύρο πάνω από τον αγκώνα.(113,114)

Αρχικά, το επινεύριο αφαιρείται σε μικρή έκταση, στο σημείο πάνω από τα νευρικά κολοβώματα επιτυγχάνοντας έτσι, και την αφαίρεση του αντιδραστικού συνδετικού ιστού του νεύρου και διευκολύνοντας το ταίριασμα των δεσμίδων. Τα τραυματισμένα νευρικά κολοβώματα πρέπει να καθαρίζονται μέχρις ότου εμφανιστούν ομάδες υγιών δεσμίδων. Στη συνέχεια, γίνεται η αναγνώριση και η χωρίς τάση συμπλησίαση των αντίστοιχων δεσμιδικών ομάδων με μη απορροφήσιμα ράμματα στο ενδοδεσμιδικό επινεύριο. Συνήθως 2-3 ράμματα είναι επαρκή για κάθε ομάδα δεσμίδων καθώς ο μεγαλύτερος αριθμός είναι πιθανό να οδηγήσει σε σχηματισμό ουλώδους ιστού. (Εικ.22) Η δεσμιδική κατά ομάδες και η επινευρική συρραφή, μπορεί να συνδυαστούν.(Εικ.23) Αν είναι δυνατό να διατηρηθεί ένα τμήμα του επινευρίου τότε η επινευρική συρραφή, θα διατηρήσει τον κύριο προσανατολισμό των δομών και οι περινευρικές ραφές θα εξασφαλίσουν τη σωστή θέση των δεσμίδων. Η διατομή του μέσου νεύρου στην περιοχή του καρπού, μπορεί να αντιμετωπιστεί με ξεχωριστές ραφές στις κινητικές δεσμίδες και επινευρικές ραφές στην υπόλοιπη ανατομική περιοχή.



Εικ.22 Δεσμιδική συρραφή κατά ομάδες



Εικ.23 Συνδυασμός επινευρικής-δεσμιδικής συρραφής

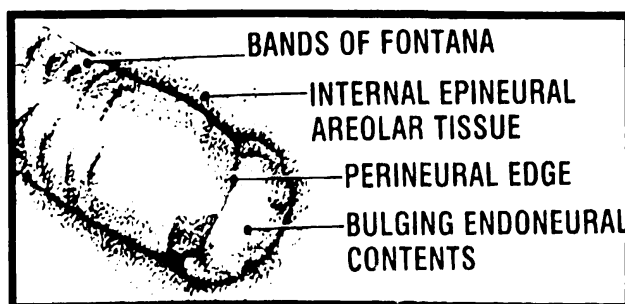
(Gelbermann R. Operative nerve repair and reconstruction. J.B Lippincott)



⊙ ΔΕΣΜΙΔΙΚΗ ΣΥΡΡΑΦΗ

Στην περίπτωση της δεσμιδικής συρραφής συμπλησιάζονται οι αντίστοιχες δεσμίδες του περιφερικού και του κεντρικού κολοβώματος επιτυγχάνοντας τον καλύτερο δυνατό προσανατολισμό. Στα ολιγοδεσμιδικά και στα μονοδεσμιδικά νεύρα, η δεσμιδική συρραφή εφαρμόζεται πιο εύκολα. Τα μερικώς τραυματισμένα νεύρα μπορούν να αποκατασταθούν με την τεχνική αυτή, έχοντας όμως το μειονέκτημα ότι η επιδιόρθωση είναι χρονοβόρα και ότι η απαιτούμενη εκτεταμένη παρασκευή, μπορεί να οδηγήσει σε ενδοδεσμιδικό σχηματισμό ουλώδους ιστού.(113-115)

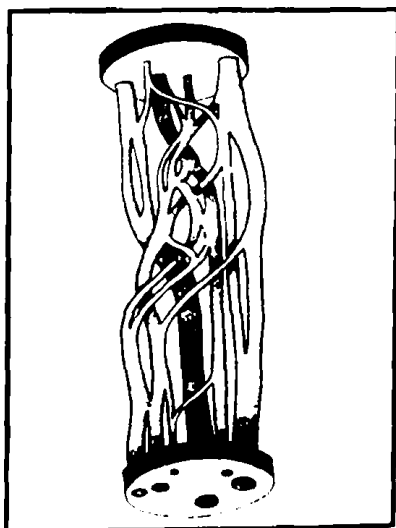
Το επινεύριο αφαιρείται σε μήκος όσο περίπου το διπλάσιο της διαμέτρου του νεύρου ενώ οι γειτονικοί ιστοί γύρω από το νεύρο, οφείλουν να διατηρούνται διότι αποτελούν στρώμα που περιέχει αγγεία και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να καλύψουν την περιοχή της επιδιόρθωσης. Ο χαλαρός συνδετικός ιστός και τα αγγεία μεταξύ των δεσμιδων διαχωρίζονται προσεκτικά, ώστε να μην τραυματιστούν οι δεσμίδες. Δύο έως τρία μη απορροφήσιμα ράμματα σε κάθε δεσμίδα είναι αρκετά, ενώ πρέπει να τοποθετούνται σε απόσταση 120° - 180° και μόνο στο περινεύριο. Κάθε δεσμίδα, αναγνωρίζεται από τις σπειροειδείς μπάντες του Fontana που βρίσκονται στο περινεύριο και οι οποίες παίζουν ρόλο στη διατήρηση της σωστής δεσμιδικής δομής, προάγοντας τη ελαστικότητα του περινευρίου και προδίδοντάς του αντοχή σε παραμορφώσεις. Όταν υπάρχει αυξημένη τάση στο περινεύριο, οι μπάντες αυτές εξαφανίζονται, υποδεικνύοντας έτσι στον χειρουργό ότι οφείλει να επανεξετάσει τα νευρικά κολοβώματα και να ελαττώσει την τάση στο σημείο συρραφής.(Εικ.24)



Εικ.24 Οι σπειροειδείς μπάντες του Fontana.(κόκκινο βέλος) (Gelbermann R. Operative nerve repair and reconstruction. J.B Lippincott)

Τα μειονεκτήματα της δεσμιδικής συρραφής συγκρινόμενη με την κατά ομάδες δεσμιδική συρραφή, είναι ότι με την πρώτη είναι πιο δύσκολο να διατηρηθεί η ανατομική αντιστοίχιση των δεσμίδων του νεύρου λόγω των πολλών χειρισμών που γίνονται για την παρασκευή των δεσμίδων. Επιπλέον, οι άμεσοι τραυματισμοί που γίνονται στο περινεύριο, λόγω των ραμμάτων, επάγουν την πρόπτωση ενδονευρικού περιεχομένου με αποτέλεσμα αλλαγή στο τοπικό φυσιολογικό μικροπεριβάλλον.

Συμπερασματικά, η επινευρική συρραφή ενώ είναι ευκολότερη τεχνικά, λιγότερο χρονοβόρα και απαιτεί λιγότερους χειρισμούς στην εσωτερική δομή του νεύρου, αδυνατεί να εξασφαλίσει τον σωστό προσανατολισμό των δεσμίδων. Το πλεονέκτημα της δεσμιδικής συρραφής είναι η δυνατότητα αναγνώρισης και αντιστοίχισης των δεσμίδων που επιτυγχάνεται διεγχειρητικά με τη βοήθεια οπτικής μεγέθυνσης και επομένως η αυξημένη πιθανότητα οι αναγεννώμενες ίνες να κατευθυνθούν στα σωστά ενδονευρικά κανάλια. Νευροφυσιολογικές διεγχειρητικές τεχνικές καταγραφής καθώς και τεχνικές που χρησιμοποιούν ιστοχημικές χρώσεις έχουν περιγραφεί, με σκοπό την διευκόλυνση της διαδικασίας. Όμως, η εκτομή του επινευρίου σε συνδυασμό με τον διαχωρισμό των δεσμιδικών ομάδων, μπορεί να προκαλέσει σημαντικό ιστικό τραύμα, συμπεριλαμβάνοντας αγγειακό τραυματισμό και μετεγχειρητικό οίδημα. Μεταξύ των πιο σημαντικών παραγόντων που επηρεάζουν κάθε φορά την επιλογή της κατάλληλης μεθόδου είναι το επίπεδο τραυματισμού, τα διαθέσιμα ποσά επινευρικού ή δεσμιδικού ιστού και ο διαθέσιμος χειρουργικός χρόνος. (116-118) Η σχέση των δεσμίδων των περιφερικών νεύρων αλλάζει κατά μήκος της πορείας τους στο άκρο. Οι δεσμίδες διαπλέκονται μεταξύ τους, φαινόμενο που είναι έντονο κεντρικά αλλά μειώνεται όσο πλησιάζει στην περιφέρεια. (Εικ.25)



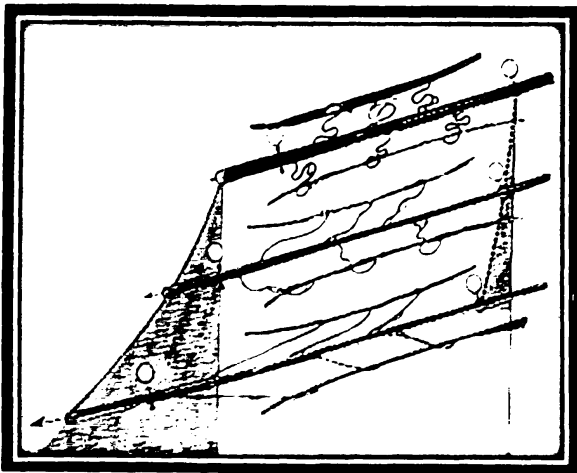
(Εικ.25) Αλλαγή της δεσμιδικής τοπογραφίας κατά μήκος του νευρικού κορμού. Η δεσμιδική συρραφή είναι προτιμότερο να εφαρμόζεται σε πιο περιφερικά επίπεδα, όπου οι δεσμίδες είναι διαχωρισμένες με πιο σαφή τρόπο. (Sunderland SS. Nerves and nerve Injuries. 2nd Ed. Churchill Livingstone 1978.)



Λ ΝΕΥΡΙΚΑ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΑ

Σε περιπτώσεις όπου το νευρικό έλλειμμα είναι μεγάλο, η τελικοτελική συρραφή δεν είναι δυνατό να επιτευχθεί χωρίς τάση. Η εφαρμογή τάσης μπορεί να προκαλέσει διαταραχή στην ενδονευρική μικροαγγειακή ροή και να παρεμποδίσει την τροφική παροχή των νευρικών κολοβωμάτων.(119-122) (Εικ26) Ο Millesi και οι συν, συμπέραναν ότι η τάση στο σημείο συρραφής αυξάνει τον σχηματισμό του ουλώδους ιστού και μειώνει την ποιότητα της αξονικής αναγέννησης.(123)

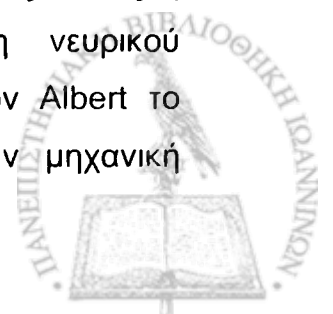
Η ωρίμανση του ουλώδους ιστού, θα οδηγήσει σε ρίκνωση των νευρικών ινών και θα επιδεινώσει την κατάσταση, δημιουργώντας νεύρωμα σε συνέχεια. Επιπλέον, η ανάπτυξη ουλώδους ιστού στο περιφερικό τμήμα της συρραφής, θα μπλοκάρει την δίοδο των νευραξόνων από το μόσχευμα, στο περιφερικό κολόβωμα.



Εικ.26 Επίδραση της αυξημένης τάσης στην μικροκυκλοφορία των νεύρων. Τα αγγεία τεντώνονται και στρίβουν. Η εγκάρσια επιφάνεια των νεύρων μειώνεται οδηγώντας σε αυξημένη ενδονευρική πίεση. Αποτέλεσμα: Η ελάττωση ή ο αποκλεισμός της ενδονευρικής κυκλοφορίας (Goran Lundborg: Nerve injury and repair. Elsevier eds)

Πειραματικές μελέτες έχουν δείξει ότι επιμήκυνση του ισχιακού νεύρου του κονίκλου κατά 8% αντιπροσωπεύει το κατώτερο όριο, πέρα από το οποίο αρχίζουν οι αγγειακές διαταραχές.(16) Η περαιτέρω αύξηση της τάσης οδηγεί σε μείωση της αιματικής ροής τόσο στα αρτηριόλια όσο και στα τριχοειδή και όταν η επιμήκυνση φτάσει στο 15%, σταματά η παροχή της αιματικής ροής. Το όριο για την επιμήκυνση που μπορεί να εφαρμοστεί σε ένα νεύρο, όπως συμβαίνει σε περιπτώσεις όπου γίνεται συρραφή του νεύρου με τάση, είναι από 8% έως 10%, σημείο πέρα από το οποίο, η αιματική ροή μειώνεται κατά 50%.

Επομένως, σε περιπτώσεις όπου η τελικοτελική, χωρίς τάση συρραφή δεν είναι εφικτή, η αποκατάσταση της νευρικής βλάβης γίνεται με άλλες μεθόδους, όπως η χρήση των αυτόλογων νευρικών μοσχευμάτων. Χρησιμοποίηση νευρικού μοσχεύματος σε άνθρωπο, περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Albert το 1876.(124) Τα νευρικά μοσχεύματα χρησιμοποιούνται τόσο για την μηχανική

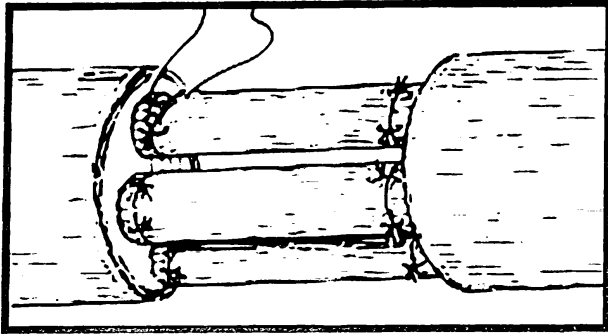


υποστήριξη όσο και ως ιδανικό περιβάλλον για την ανάπτυξη των νευραξόνων. Τα κύτταρα του Schwann των μοσχευμάτων και η βασική τους μεμβράνη, παίζουν ουσιαστικό ρόλο καθώς έχουν την δυνατότητα να παράγουν νευροτροφικούς παράγοντες και τα κατάλληλα μόρια προσκόλλησης. Επιπλέον, η λαμινίνη που εντοπίζεται στην μεμβράνη των κυττάρων του Schwann προάγει την νευρική αναγέννηση. Τα κύτταρα του Schwann σε ένα νευρικό μόσχευμα επιβιώνουν μέσω διάχυσης από τους γειτονικούς ιστούς με την προϋπόθεση ότι το μόσχευμα είναι αρκετά λεπτό και ότι βρίσκεται σε ένα καλά αγγειούμενο υπόστρωμα, μέχρις ότου αρχίσει η επαναγγείωσή του, την τρίτη μετεγχειρητική ημέρα.(125)

Η βιολογική συμπεριφορά των νευρικών μοσχευμάτων μετά από την λήψη τους μοιάζει με εκείνη του περιφερικού κολοβώματος ενός τραυματισμένου νεύρου. Δηλαδή, υφίστανται βαλλεριανή εκφύλιση, ενώ οι νευράξονες και τα έλυτρα της μυελίνης εξαφανίζονται. Οι αξονικές εκβλαστήσεις, που κατευθύνονται προς το εγγύς τμήμα του μοσχεύματος εκτείνονται στις ίδιες συνθήκες με εκείνες που επικρατούν στο περιφερικό κολόβωμα.(126) Η μοναδική διαφορά από την τελικοτελική συρραφή είναι ότι θα πρέπει να κατευθυνθούν και από το περιφερικό τμήμα του μοσχεύματος προς το περιφερικό κολόβωμα του νεύρου. Η διαδικασία αυτή αποτελεί την νευρο-νευρο αναγέννηση.(126) Η επαναγγείωση των νευρικών μοσχευμάτων επιτυγχάνεται με τυχαίο τρόπο από τα αγγεία της δέκτριας περιοχής η οποία πρέπει να έχει επαρκή αγγείωση. Αν το μόσχευμα επιβιώσει, τα κύτταρα του Schwann επιβιώνουν επίσης και το μόσχευμα συμπεριφέρεται σαν το περιφερικό κολόβωμα. Σε αντίθετη περίπτωση, τα κύτταρα του Schwann δεν επιβιώνουν και το μόσχευμα υφίσταται ίνωση.

Ο πιο καθοριστικός παράγοντας για την επιβίωση του μοσχεύματος, είναι η διάμετρος του. Όταν νεύρα μεγάλης διαμέτρου χρησιμοποιούνται ως νευρικά μοσχεύματα, το κεντρικό τους τμήμα είναι πιθανό να μην αγγειώνεται και να καταλήξει σε νέκρωση με αποτέλεσμα, πτωχή νευρική αναγέννηση και επομένως αποτυχία του μοσχεύματος. Τα μικρής διαμέτρου μοσχεύματα, τρέφονται άμεσα και επαναγγειώνονται μέσω διαχύσεως, σε σχετικά μικρό χρονικό διάστημα.(127) Επομένως, για τον τραυματισμό μεγάλων νεύρων, πολλαπλά μικρής διαμέτρου νευρικά μοσχεύματα, αποτελούν την μέθοδο εκλογής. **(Εικ.27)**



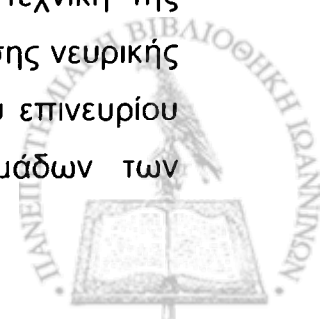


Εικ.27 Μοσχεύματα μικρής διαμέτρου για γεφύρωση του νευρικού ελλείμματος. (Gelbermann R. Operative nerve repair and reconstruction. J.B Lippincott)

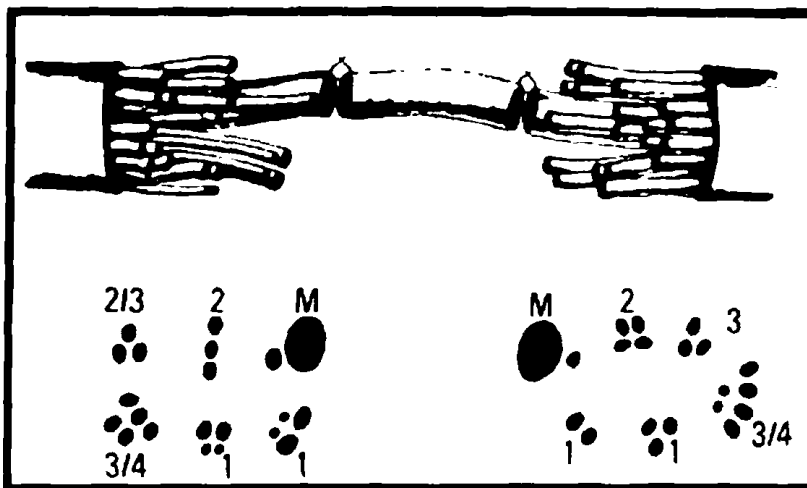
Η ηλικία του ασθενούς, το μήκος του ελλείμματος, η καθυστέρηση στη συρραφή και το επίπεδο της κάκωσης αποτελούν, όπως και στην περίπτωση της άμεσης συρραφής, καθοριστικούς παράγοντες για την επιβίωση του μοσχεύματος. Το μήκος του ελλείμματος και η καθυστέρηση στη συρραφή είναι πιο σημαντικοί παράγοντες σε περιπτώσεις αποκατάστασης αισθητικού νεύρου ενώ το επίπεδο της βλάβης είναι ο πιο σημαντικός παράγοντας σε περιπτώσεις αποκατάστασης κινητικού νεύρου.

Σε γενικές γραμμές, επειδή η έκταση της νευρικής βλάβης είναι πιο εύκολο να εκτιμηθεί 3 εβδομάδες μετά την κάκωση για αυτό και η πρωτογενής τοποθέτηση νευρικών μοσχευμάτων πρέπει να αποφεύγεται. Η τελευταία, δικαιολογείται μόνο σε περιπτώσεις εκτεταμένων τραυματισμών σε περιοχές με πολλαπλές ανατομικές δομές όπως οστά και αγγεία, που είναι δύσκολο αλλά και επικίνδυνο να επαναδιερευνηθούν. Αν το χρονικό διάστημα που παρεμβάλλεται ανάμεσα στην κάκωση και στην αποκατάσταση είναι μεγαλύτερο από 6 μήνες, η πιθανότητα για καλή λειτουργική αποκατάσταση είναι μειωμένη, αν και ο Millesi και οι συν, υποστηρίζουν ότι υπάρχει κάποια πιθανότητα για αποκατάσταση ακόμα και μετά από 1-1.5 χρόνια.(128) Η πιθανότητα για αποκατάσταση της προστατευτικής αισθητικότητας είναι λιγότερο ανεξάρτητη από το χρονικό διάστημα που παρεμβάλλεται. Στις περιπτώσεις αυτές, ακόμα και μετά από παρέλευση ετών, υπάρχει πιθανότητα αποκατάστασης.

Η χειρουργική αποκατάσταση του ελλείμματος ξεκινά με την παρασκευή από τους υγιείς ιστούς προς τους παθολογικούς. Οι αρχές και η χειρουργική τεχνική της τοποθέτησης νευρικών μοσχευμάτων είναι παρόμοιες με εκείνες της άμεσης νευρικής συρραφής. Αφού αποκαλυφθούν τα κολοβώματα, γίνεται αφαίρεση του επινευρίου από κάθε πλευρά, ώστε να διευκολυνθεί η αναγνώριση των ομάδων των



δεσμίδων.(129) Από το σημείο που οι δεσμίδες χάνουν την φυσιολογική τους δομή αρχίζει η χειρουργική τους αφαίρεση. Για την αποφυγή κυκλοτερούς ουλής, κάθε ομάδα δεσμίδων διατέμνεται σε διαφορετικό επίπεδο, τόσο στο κεντρικό όσο και στο περιφερικό κολόβωμα του νεύρου.(Εικ.28) Χρησιμοποιώντας υψηλή μεγέθυνση, γίνεται η αναγνώριση και η χαρτογράφηση των αντίστοιχων δεσμιδικών ομάδων. Η διαδικασία αυτή περιπλέκεται από το γεγονός ότι το μοντέλο των δεσμίδων του νεύρου δεν διατηρείται το ίδιο σε όλη την πορεία του. Στη συνέχεια γίνεται η εκτίμηση του μεγέθους του ελλείμματος με τις αρθρώσεις σε πλήρη έκταση ώστε να εξασφαλιστεί το κατάλληλο μέγεθος του μοσχεύματος που θα επιτρέψει την χωρίς τάση συρραφή.



Εικ.28. Επιδιόρθωση σε διαφορετικά επίπεδα, των τραυματισμένων δεσμίδων με νευρικά μοσχεύματα.(Sakellaridis H. Bridging long nerve defects: a review of microscopic nerve grafting standards and practices.www.medscape.com)

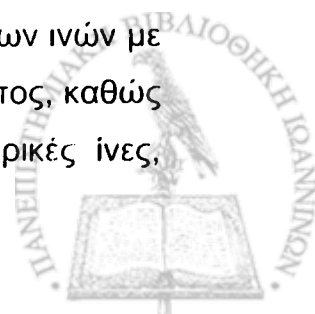
Το μήκος του μοσχεύματος πρέπει να είναι περίπου 10% μακρύτερο από το έλλειμμα που δημιουργείται, συνυπολογίζοντας με τον τρόπο αυτό και την ρίκνωση που θα υποστεί.(129) Συνεπώς, όταν χρησιμοποιούνται νευρικά μοσχεύματα, η μεγιστοποίηση της απόστασης μεταξύ των δύο κολοβωμάτων, με τις γειτονικές αρθρώσεις σε έκταση, αποτελούν τις καλύτερες συνθήκες για αποτελεσματικότερη επούλωση. Με τον τρόπο αυτό, η συμπλησίαση θα πραγματοποιηθεί χωρίς τάση στις ζώνες συρραφής. Τα αγγειούμενα νευρικά μοσχεύματα είναι λιγότερο ευάλωτα στην τάση διότι διατηρούν ιστική επιφάνεια που δεν χρειάζεται συμφύσεις για την επαναγγείωση τους.



Ακολουθεί η λήψη του μοςχεύματος το οποίο πρέπει να βρίσκεται σε καλό αγγειακό υπόστρωμα. Το μόςχευμα παρεμβάλλεται μεταξύ των αντίστοιχων ομάδων των δεσμίδων και ακολουθεί η χωρίς τάση συμπλησίαση με μη απορροφήσιμα ράμματα. Η τοποθέτηση των μοςχευμάτων πρέπει επίσης να γίνεται σε καλά αγγειούμενο έδαφος που θα υποστηρίξει τροφικά το μόςχευμα και θα ελαχιστοποιήσει τον κίνδυνο σχηματισμού ουλώδους ιστού. Η ανάπτυξη ουλώδους ιστού στο περιφερικό τμήμα της νευρορραφής αποτελεί πρόβλημα, καθώς μπορεί να παρεμποδίσει το πέρασμα των αναγεννώμενων νευραξόνων από το μόςχευμα, στο περιφερικό άκρο του κολοβώματος, φαινόμενο συχνό στο παρελθόν, που όμως έχει ελαχιστοποιηθεί λόγω της εφαρμογής μικροχειρουργικών τεχνικών. Όταν όμως συμβεί, αναγνωρίζεται κλινικά με την παρουσία ενός επίμονου, για 2-3 μήνες, σημείου Tinell στο επίπεδο του περιφερικού άκρου του μοςχεύματος. Στην περίπτωση αυτή, γίνεται εκ νέου διερεύνηση, αφαίρεση της περιφερικής συρραφής και δημιουργία νέας.(125)

Η γνώση της ενδονευρικής τοπογραφίας έχει μεγάλη σημασία για ένα καλό λειτουργικό αποτέλεσμα. Μελέτες έχουν επιτρέψει την καταγραφή της τοπογραφίας των δεσμίδων σε όλη την πορεία ενός νεύρου. Ο Sunderland παρατήρησε ότι στο μυοδερματικό νεύρο, το μέγιστο μήκος όπου η ανατομική τοπογραφία των δεσμίδων παρέμενε ίδια ήταν 15 mm.(130) Παρά το γεγονός ότι οι δεσμίδες διαπλέκονται μεταξύ τους και αλλάζουν κατά μήκος του νεύρου, οι λειτουργικές μονάδες φαίνεται ότι παραμένουν στο ίδιο τεταρτημόριο για μεγάλες αποστάσεις. Το γεγονός αυτό, κάνει εφικτή την σύνδεση αντίστοιχων λειτουργικών μονάδων που βρίσκονται σε διαφορετικά επίπεδα του νευρικού κορμού με την χρήση νευρικών μοςχευμάτων(131).

Επιπλέον, έχουν περιγραφεί ιστοχημικές τεχνικές που επιτρέπουν τον διαχωρισμό των κινητικών νευρικών ινών (ακετυλοχολινεστεράση, ακευλτρανσφεράση) από τις αισθητικές νευρικές ίνες (καρβονική ανυδράση). Παρά το γεγονός ότι οι κλασικές τεχνικές απαιτούν για την ολοκλήρωσή τους 24 ώρες, οι νέες τεχνικές έχουν μειώσει τον απαιτούμενο χρόνο σε 1 ώρα.(132) Οι τεχνικές αυτές, είναι πιο χρήσιμες στο κεντρικό κολόβωμα του νεύρου καθώς η ενζυμική δραστηριότητα είναι διαρκώς παρούσα, σε αντίθεση με την δραστηριότητα του περιφερικού κολοβώματος η οποία είναι ενεργός, μόνο μέχρι και 5 ημέρες μετά την κάκωση. Ο διαχωρισμός των ινών με την βοήθεια ιστοχημικών χρώσεων, είναι σε ορισμένες περιπτώσεις αδύνατος, καθώς υπάρχουν κινητικοί κλάδοι νεύρων, που περιέχουν και αισθητικές νευρικές ίνες,

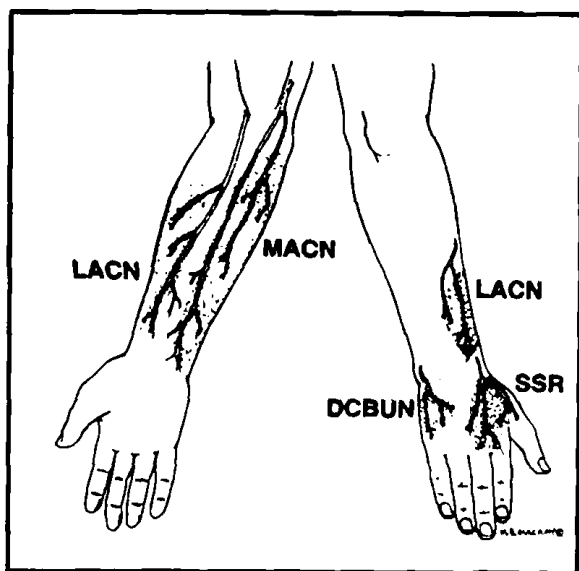


όπως ο εν τω βάθει κινητικός κλάδος του ωλενίου νεύρου που περιέχει περισσότερο από 60% αισθητικές ίνες.(133)

Η τεχνική της διέγερσης με τον ασθενή ξύπνιο απαιτεί συνεργασία ιατρού, ασθενούς και αναισθησιολόγου, αλλά με την κατάλληλη επιλογή ασθενούς, μπορεί να παρέχει σημαντικές πληροφορίες. Ο ασθενής βρίσκεται υπό την επίδραση ενδοφλέβιας περιοχικής ή μικρής διάρκειας αναισθησίας. Η εφαρμογή της ισχαίμου περίδεσης περιορίζεται στα 30 λεπτά γιατί διαφορετικά, μπορεί να προκαλέσει παροδική νευραπραξία. Η διέγερση αισθητικών ινών γίνεται αντιληπτή από τον ασθενή ως οξύς πόνος στην περιοχή που κατανέμεται το νεύρο, ενώ των κινητικών ινών ως αμβλύς πόνος, που εντοπίζεται στον αντίστοιχο μυ.

Η ακινητοποίηση που ακολουθεί, οφείλει να ολοκληρώνεται σε 3 εβδομάδες καθώς μεγαλύτερης διάρκειας ακινητοποίηση μπορεί να οδηγήσει σε σχηματισμό ουλώδους ιστού κατά μήκος του μοσχεύματος. Στη φάση αυτή, ο καρπός τοποθετείται σε ουδέτερη θέση και ο αγκώνας σε ελαφρά κάμψη, περίπου 30° έως 40° (129).

Τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα ως μοσχεύματα είναι το γαστροκνημιαίο νεύρο, το μέσο υποδόριο νεύρο του αντιβραχίου και το πλάγιο υποδόριο νεύρο του αντιβραχίου, το πλάγιο υποδόριο νεύρο του μηρού, ο επιπολής αισθητικός κλάδος του κερκιδικού και το σαφηνές νεύρο.(Εικ.29)



Εικ.29. Νεύρα-δότες

LACN: Πλάγιο υποδόριο ν. του αντιβραχίου

MACN: Μέσο υποδόριο ν. του αντιβραχίου

SSR: Επιπολής κλάδος του κερκιδικού ν.

DCBUN: Επιπολής ραχιαίος κλάδος του ωλενίου ν.

(Midha R: Peripheral nerve repair

and grafting techniques.www.emedecine.com)

Στην επιλογή του νεύρου που θα χρησιμοποιηθεί ως μόσχευμα, πρέπει να συνυπολογίζεται και η απώλεια της αισθητικότητας από την δότρια χώρα. Νεύρα που είναι υπεύθυνα για την αίσθηση σε σημαντικές περιοχές και που η χρησιμοποίησή τους θα δημιουργούσε σημαντικό μετεγχειρητικό πρόβλημα, όπως μόνιμη



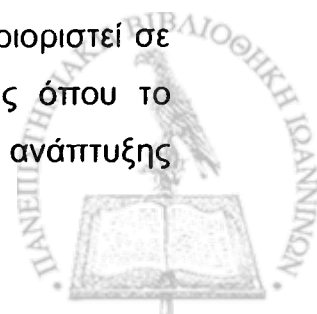
αναισθησία, πρέπει να αποφεύγονται ως μοσχεύματα.(Πιν.3) Επιπλέον, η περιοχή που νευρώνεται από το νεύρο-μόσχευμα πρέπει να μη γεινιάζει με την περιοχή του αισθητικά υποστηρίζεται από το τραυματισμένο νεύρο γιατί στην περίπτωση αυτή, ελαττώνεται σημαντικά η αισθητικότητα στην περιοχή.(134)

ΝΕΥΡΙΚΟ ΜΟΣΧΕΥΜΑ	ΜΗΚΟΣ(εκ)	ΝΟΣΗΡΟΤΗΤΑ	ΔΥΣΚΟΛΙΑ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ
Γαστροκνημιαίο	30-50	+	+
Πλάγιο υποδόριο του αντιβραχίου	10-12	++	+
Μέσο υποδόριο του αντιβραχίου(πάχω από αγκώνα)	10-12	+	++
Μέσο υποδόριο του αντιβραχίου(κάτω από αγκώνα)	8-10	+	+
Επιπολής κλάδος του κερκιδικού	20-30	++	++
Πλάγιο υποδόριο νεύρο του μηρού	15-20	+++	+++

Πιν.3 Νευρικά μοσχεύματα-δότες. (Midha R: Peripheral nerve repair and grafting techniques. www.emedecine.com)

Επομένως, κάτω από ιδανικές συνθήκες: 1.Το νεύρο-μόσχευμα πρέπει να είναι υποδόριο και συνεπώς η παρασκευή και η λήψη του να μην εμπλέκονται με σημαντικά ανατομικά στοιχεία. 2. Η καλύτερη περιοχή για λήψη μοσχεύματος θεωρείται εκείνη που βρίσκεται στο ίδιο άκρο με το νεύρο που έχει υποστεί την κάκωση και επομένως μπορεί να γίνει περιοχική αναισθησία. 3. Η διαταραχή της αισθητικότητας της περιοχής που νευρώνεται από το νεύρο-δότη να είναι ελάχιστη.

Όσο για τα ελεύθερα αγγειούμενα νευρικά μοσχεύματα, έχουν το θεωρητικό πλεονέκτημα των ότι παρέχουν άμεση και επαρκή ενδονευρική διάχυση σε ένα πτωχά αγγειούμενο υπόστρωμα και ότι μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την κάλυψη μεγάλων νευρικών ελλειμμάτων. Σήμερα, η χρήση τους έχει περιοριστεί σε κακώσεις του βραχιονίου πλέγματος (135) καθώς και σε περιπτώσεις όπου το υπόστρωμα της δέκτριας χώρας είναι πτωχά αγγειούμενο λόγω ανάπτυξης



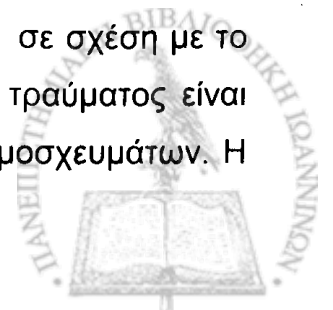
ουλώδους ιστού. Οι λόγοι που έχουν περιορίσει την χρήση τους είναι η τεχνική δυσκολία που παρουσιάζουν στην εφαρμογή τους και το γεγονός ότι είναι χρονοβόρα στη λήψη τους. Γενικά, τα αγγειούμενα νευρικά μόσχευματα είναι χρήσιμα σε πτωχά υποστρώματα αλλά δεν έχει αποδειχτεί ότι είναι ανώτερα από ένα τεχνικά άριστο μη αγγειούμενο μόσχευμα.(128) Οι Breidenbach και Terzis, μελέτησαν σε πτωματικά παρασκευάσματα την ανατομία των αγγείων των νεύρων –δοτών και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το σαφηνές νεύρο ήταν το καλύτερο αγγειούμενο μόσχευμα λόγω του μήκους του, της ανατομίας του και μικρής αισθητικής δυσλειτουργίας που προκαλεί η αφαίρεσή του.(136) Ενώ τα αρχικά αποτελέσματα ήταν ενθαρρυντικά και παρά το γεγονός ότι έχουν εισαχθεί εδώ και περισσότερο από μια εικοσαετία, ο ρόλος τους στην κλινική πράξη δεν έχει ακόμα εδραιωθεί.(137)

^ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΕΛΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΜΕ ΑΓΩΓΟΥΣ

Το ιδανικό μοντέλο γεφύρωσης νευρικών ελλειμμάτων θα πρέπει να αποτελείται από:1.Κατάλληλο μέσο που θα αποτελεί το ικρίωμα και θα προσφέρει καθοδήγηση για την αναγέννηση των νευραξόνων. 2.Κύτταρα μέσα στο υλικό, τα οποία θα έχουν την ικανότητα να παράγουν αυξητικούς παράγοντες και να δημιουργούν ιδανικό τοπικό μικροπεριβάλλον για την ανάπτυξη των νευραξόνων.3.Αυξητικούς παράγοντες που θα προέρχονται ή από το τοπικό περιβάλλον ή που θα έχουν την δυνατότητα να εφαρμοστούν με άλλες μεθόδους πχ, να απελευθερώνονται μέσω κάποιου βιοενεργού υλικού ή να προστίθενται μέσω εξωγενών πηγών.(138)

Παρά το γεγονός ότι τα νευρικά μόσχευματα πληρούν τις παραπάνω προϋποθέσεις για την αποκατάσταση νευρικών ελλειμμάτων και ουσιαστικά αποτελούν την μέθοδο εκλογής, η χρήση τους απαιτεί να θυσιάστούν υγιή νεύρα, με κίνδυνο την εμφάνιση νοσηρότητας στην δότρια χώρα, γεγονός που περιλαμβάνει:1.Απώλεια της λειτουργίας του νεύρου-δότη 2.Εμφάνιση ενοχλητικής παραισθησίας στην περιοχή που νευρώνεται αισθητικά από το συγκεκριμένο νεύρο 3.Πιθανότητα σχηματισμού επώδυνου νευρώματος που συνοδεύεται από δυσαισθησίες στην περιοχή ακόμη και μετά από μικρούς τραυματισμούς .

Επιπλέον, το μέγεθος του ελλείμματος, η διαθεσιμότητα των νεύρων –δοτών, η διαφοροποίηση στην αρχιτεκτονική των δεσμίδων του μόσχευματος σε σχέση με το νεύρο-δέκτη και η ποιότητα του υποστρώματος στην περιοχή του τραύματος είναι παράγοντες που περιορίζουν την επιτυχή εφαρμογή των νευρικών μόσχευμάτων. Η



ανάγκη αποφυγής της θυσίας ενός αυτόλογου νεύρου, οδήγησε στην αναζήτηση άλλων υλικών, βιοαπορροφήσιμων και μη, που θα παίζουν τον ρόλο του αγωγού στην γεφύρωση των νευρικών ελλειμμάτων.

ΑΓΩΓΟΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Α. ΦΛΕΒΙΚΑ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΑ

Τα φλεβικά μοσχεύματα αποτελούν σωληνώδεις δομές που έχουν τις προδιαγραφές ώστε να μπορέσουν να γεφυρώσουν νευρικά ελλείμματα. Σε πειραματικά μοντέλα, ελλείμματα μήκους 4mm έως 15 mm, έχουν γεφυρωθεί με επιτυχία με την χρήση φλεβικών μοσχευμάτων.(138-141) Ο Strauch και οι συν, ανέφεραν ότι καλή αξονική αναγέννηση μπορούσε να επιτευχθεί και με φλεβικά μοσχεύματα έως 3 cm σε μήκος.(142) Οι ίδιοι συγγραφείς παρατήρησαν ότι για ελλείμματα μεταξύ 3.5 cm και 6cm η αναγέννηση ήταν μικρή. Επιπλέον, σε πειραματικό επίπεδο αποδείχτηκε ότι η σταθεροποίηση του περιφερικού τμήματος του φλεβικού μοσχεύματος στο νευρικό κολόβωμα, για ελλείμματα από 1-3 cm είχε καλό λειτουργικό αποτέλεσμα, συγκρινόμενο με την πτωχή αξονική αναγέννηση που παρατηρήθηκε όταν το περιφερικό άκρο του μοσχεύματος ήταν ελεύθερο.(143) Τα αποτελέσματα της πειραματικής μελέτης υποστηρίζουν την νευροτροφική επίδραση που ασκεί το περιφερικό κολόβωμα στην αξονική αναγέννηση. (Εικ.30)



Εικ30. Κλειστά και ανοιχτά φλεβικά μοσχεύματα για ελλείμματα 1 και 3 cm.(Strauch B. Determining the maximal length of a vein conduit used as interposition graft for nerve regeneration. *Journal of Reconstructive Microsurgery*. 1996;12:521-527)

Τα καλά αποτελέσματα της εφαρμογής των φλεβικών μοσχευμάτων σε πειραματικό επίπεδο, ενέπνευσαν και την χρήση τους στην κλινική πράξη. Ο Chiu και οι συν, αξιολόγησαν την χρησιμότητά τους σε ασθενείς και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα φλεβικά μοσχεύματα είχαν δυνατότητα κλινικής εφαρμογής σε ελλείμματα αισθητικών νεύρων μέχρι και 3 cm. Το μοντέλο της επανανεύρωσης ήταν παρόμοιο ποιοτικά με το αντίστοιχο των νευρικών μοσχευμάτων.(144) Ο Tang και οι συν, σε κλινική μελέτη, ανέφεραν ότι είχαν αξιόπιστα αποτελέσματα με την χρήση φλεβικών μοσχευμάτων για ελλείμματα αισθητικών νεύρων μέχρι 4.5 cm, με την παρεμβολή νευρικού ιστού.(145) Παρόμοια αποτελέσματα είχε η κλινική εφαρμογή φλεβικών μοσχευμάτων για την γεφύρωση ελλειμμάτων από 1 έως 3 cm, σε δακτυλικά νεύρα.(146) Ενώ αρχικές μελέτες είχαν περιορίσει την χρήση των μοσχευμάτων μόνο στην οξεία φάση της κάκωσης και όχι σε καθυστερημένες κακώσεις, ο Chiu και οι συν, απέδειξαν την αποτελεσματικότητά τους και στις δυο περιπτώσεις. (147)

Το μειονέκτημα της χρήσης των φλεβικών μοσχευμάτων είναι η σύμπτωση των τοιχωμάτων τους λόγω της σύστασης και λόγω της εξωτερικής πίεσης από τους ιστούς που τα περιβάλλουν. Η τοποθέτηση φρέσκου μυός στο εσωτερικό της φλέβας, έδωσε λύση στο πρόβλημα. Το σκεπτικό της προσθήκης του μυός, ήταν ότι η παρουσία του θα απέτρεπε την σύμπτωση των τοιχωμάτων της φλέβας και ότι θα παρείχε βασική μεμβράνη που είναι απαραίτητη για την αναγέννηση των νευραξόνων.(148,149) Η μέθοδος εφαρμόστηκε σε ελλείμματα 1-2 cm σε πειραματικά μοντέλα στο ισχιακό νεύρο του ποντικιού και ήταν επιτυχής.(150) Ενθαρρυντικά ήταν και τα αποτελέσματα της κλινικής εφαρμογής της μεθόδου. (151) Η μέθοδος εφαρμόστηκε σε περισσότερες από είκοσι κλινικές περιπτώσεις ασθενών που παρακολούθηθηκαν για ένα χρόνο, με ενθαρρυντικά αποτελέσματα.

Β.ΑΓΩΓΟΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΒΑΣΙΚΗ ΜΕΜΒΡΑΝΗ ΤΩΝ ΜΥΩΝ

Η χρήση των μυών για την γεφύρωση νευρικών ελλειμμάτων, στηρίζεται στην παρουσία της βασικής τους μεμβράνης, η οποία διαθέτει λαμινίνη και φιμπρονεκτίνη, στοιχεία ιδανικά, για την υποστήριξη της νευρικής αναγέννησης. Τα μυϊκά μοσχεύματα, είναι εύκολα στη λήψη και στην προετοιμασία τους, δεν υπάρχει κίνδυνος απόρριψής τους από τον οργανισμό εφόσον είναι αυτομοσχεύματα και λόγω του μεγέθους τους, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ακόμα και σε περιπτώσεις ελλειμμάτων μεγάλων νεύρων. Σε αυτές τις παρατηρήσεις στηρίχτηκε η



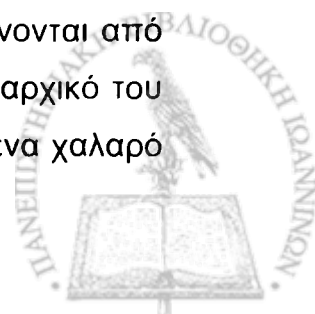
αρχική ιδέα για την χρήση τους. Η διαδικασία για την προετοιμασία είναι απλή: Ο μυς αρχικά παγώνεται σε υγρό άζωτο και στη συνέχεια ξεπαγώνει σε αποσταγμένο νερό. Η τεχνική μετατρέπει τον μυ σε ακυτταρικό υλικό με κύριο συστατικό την βασική μεμβράνη.(152) Η βασική μεμβράνη μπορεί επίσης να απομονωθεί με διάσπαση της βιολογικής δομής του μυός (153) ή με αφαίρεση των κυτταρικών στοιχείων με Triton X-100.(154)

Βρέθηκε ότι για μικρά ελλείμματα, τα μυϊκά αυτομοσχεύματα, έχουν ικανοποιητικά αποτελέσματα καθώς επιτρέπουν το πέρασμα των αναγεννώμενων νευραξόνων στο περιφερικό κολόβωμα του νεύρου.(155,156) Ωστόσο, η κλινική εφαρμογή τους είναι μικρή και περιορίζεται για την κάλυψη μικρών νευρικών ελλειμμάτων και κυρίως για την επιδιόρθωση τραυματισμένων δακτυλικών νεύρων.(157,158) Η αδυναμία των μοσχευμάτων να καλύπτουν μεγάλα ελλείμματα, πιθανά να στηρίζεται στην μειωμένη ικανότητα που έχουν τα ίδια τα μοσχεύματα να υποστηρίξουν με νευροτροφικές ουσίες τον εαυτό τους για μεγάλες αποστάσεις.(159,160)

Η αναγεννητική ικανότητα των μυϊκών μοσχευμάτων μπορεί να ενισχυθεί με πολλούς τρόπους. Σε πειραματικά μοντέλα, η εισαγωγή μικρού τμήματος νεύρου στο μέσο του μυϊκού μοσχεύματος («μόσχευμα σάντουιτς»), αυξάνει την αναγεννητική ικανότητα των νευραξόνων καθώς παρέχεται και μια επιπλέον πηγή κυττάρων του Schwann.(161,162) Η χρησιμοποίηση των μυών σαν μοσχεύματα με την μορφή που περιγράφηκαν, αποτελεί ενδιαφέρουσα ιδέα καθώς υπάρχει απεριόριστη πρόσβαση σε τέτοιο υλικό. Η προσθήκη κυττάρων του Schwann σε μυϊκά μοσχεύματα μπορεί να βελτιώσει το λειτουργικό αποτέλεσμα.(163) Επιπλέον, η παρουσία του αγγειακού ενδοθηλιακού παράγοντα ανάπτυξης, σε ακυτταρικά μυϊκά μοσχεύματα διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και υποστηρίζει την αξονική αναγέννηση, σε περιπτώσεις νευρικών ελλειμμάτων στο ισχιακό και στο περονιαίο νεύρο του επίμου.(164,165)

Γ.ΙΝΕΣ ΚΟΛΛΑΓΟΝΟΥ

Σε πειραματικό επίπεδο, οι ίνες κολλαγόνου έχει αποδειχτεί ότι μπορούν να γεφυρώσουν αποτελεσματικά νευρικά ελλείμματα μέχρι 3cm.(166-168) Στο πειραματικό μοντέλο του Brand και συν.(163) οι ίνες κολλαγόνου λαμβάνονται από τον τένοντα της ουράς του επίμου, ο οποίος χρησιμοποιείται είτε με το αρχικό του σχήμα ή αποσπάται και στη συνέχεια περιστρέφεται ώστε να σχηματίσει ένα χαλαρό



κύλινδρο από κολλαγόνο που θα καλύψει ένα έλλειμμα 1,5 cm. Τέσσερις εβδομάδες αργότερα, πολυάριθμοι νευράξονες βρέθηκαν να διαπερνούν τον τενόντιο κύλινδρο, μεταξύ των ινών κολλαγόνου. Το λειτουργικό αποτέλεσμα εκτιμήθηκε 12 εβδομάδες αργότερα, περιλάμβανε μετρήσεις της δύναμης του γαστροκνημίου μυός και της μορφομετρίας του περονιαίου νεύρου και ήταν συγκρίσιμο με την ομάδα της οποίας το έλλειμμα καλύφθηκε με κατεψυγμένα και αποψυγμένα μυϊκά μοσχεύματα. Όταν τα τενόντια μοσχεύματα αποικίστηκαν με *in vitro* καλλιέργειες κυττάρων του Schwann, η αναγέννηση των νευραξόνων είχε αυξηθεί σημαντικά.(169)

Δ. ΝΕΥΡΙΚΑ ΑΛΛΟΜΟΣΧΕΥΜΑΤΑ

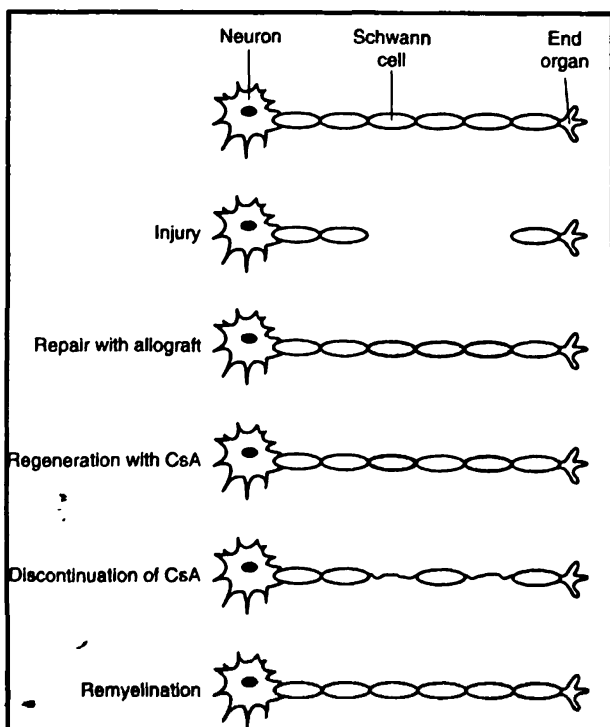
Τα νευρικά αυτομοσχεύματα χρησιμοποιήθηκαν εκτεταμένα σε πειραματικό επίπεδο, αλλά η βαριά ανοσοκαταστολή που ήταν απαραίτητη ώστε να αποφευχθεί η αποβολή του μοσχεύματος και η αποτυχία της νευρικής αναγέννησης, προβλημάτισαν τους επιστήμονες για την ευρύτερη εφαρμογή τους. Το 1885, ο Albert χρησιμοποίησε για πρώτη φορά αλλομόσχευμα, με σκοπό την αποκατάσταση τραυματικού ελλείμματος του μέσου νεύρου, αλλά με πτωχά λειτουργικά αποτελέσματα.(124) Τα τελευταία χρόνια, τα νέα δεδομένα για την ανοσοκαταστολή μικρής διάρκειας, η παρατήρηση ότι η ανοσοκαταστολή του δέκτη στην ουσία αυξάνει την νευρική αναγέννηση καθώς και η εξέλιξη των μικροχειρουργικών τεχνικών, έδωσαν μια πιο ελπιδοφόρα εικόνα για την πιθανότητα κλινικής εφαρμογής τους.(171,172)

Για να είναι επιτυχής η νευρική αναγέννηση με αλλομόσχευμα, απαιτείται η κατάλληλη προετοιμασία του αλλομοσχεύματος και η σωστή ανοσοκαταστολή του δέκτη. Το αλλομόσχευμα πρέπει να διατηρήσει τα κύτταρα του Schwann και την βασική μεμβράνη αλλά να παρουσιάζει μειωμένη έκφραση των αντιγόνων ιστοσυμβατότητας (MHC) με σκοπό να ελαττωθεί ο κίνδυνος απόρριψής του. Αυτό επιτυγχάνεται με τοποθέτηση των μοσχευμάτων σε θερμοκρασία 4⁰ έως 5⁰ C σε ειδικό διάλυμα που περιέχει και αντιβιοτικά, για 1 εβδομάδα. Το ειδικό διάλυμα είναι αποτελεσματικό στη μείωση των αντιγόνων ιστοσυμβατότητας χωρίς όμως να μειώνει τον αριθμό των κυττάρων του Schwann.(173) Η ανοσολογική απάντηση του οργανισμού στο αλλομόσχευμα, σχετίζεται άμεσα με την αναγνώριση των αντιγόνων του δότη από τα T-λεμφοκύτταρα. Οι Nacaso και Mackinnon, χρησιμοποίησαν μονοκλωνικά αντισώματα στην κυτταρική επιφάνεια των μορίων προσκόλλησης,



ώστε να μπορέσουν να αυξήσουν την αντοχή τους στα αντιγόνα του ξενιστή. Με τον τρόπο αυτό, κατάφεραν τα αλλομοσχεύματα να παρουσιάζουν ένα μοντέλο νευρικής αναγέννησης παρόμοιο με εκείνο των αυτομοσχευμάτων.(174)

Αμέσως μετά την μεταμόσχευση, τα αλλομοσχεύματα επαναγγειώνονται και στη συνέχεια αντιμετωπίζουν τα κυτταρικά στοιχεία του λήπτη. Αν δεν υπάρξει ανοσοκαταστολή, τα μη συμβατά μοσχεύματα απορρίπτονται σε 7-9 ημέρες από την τοποθέτησή τους. Τα μακροφάγα και τα κύτταρα του Schwann του δέκτη, φαγοκυτταρώνουν τους νευράξονες και την μυελίνη, οδηγώντας σε πλήρη αποσύνθεση του αλλομοσχεύματος. Τελευταία καταστρέφεται η βασική μεμβράνη των κυττάρων του Schwann του αλλομοσχεύματος. Κάτω από αυτές τις συνθήκες, η νευρική αναγέννηση είναι σαφώς κατώτερη σε σχέση με τα αυτομοσχεύματα. Έχει βρεθεί ότι τα κύτταρα του Schwann ευθύνονται για την απόρριψη του μοσχεύματος με την έννοια της καταστροφής των κυττάρων του Schwann του δότη ακόμα και όταν η ανοσοκαταστολή είναι επαρκής.(175) Στην τελευταία περίπτωση, απλά δεν καταστρέφεται η αρχιτεκτονική του νεύρου.(176) Η ιδιαιτερότητα των νευρικών αλλομοσχευμάτων εντοπίζεται στο γεγονός ότι μπορούν να λειτουργήσουν ως βιολογικοί αγωγοί ακόμα και μετά την απόρριψή τους. (177) Τελικά, όταν η διαδικασία της νευρικής αναγέννησης ολοκληρωθεί, τα νευρικά στοιχεία που υπάρχουν στο μόσχευμα, προέρχονται όλα από τον δέκτη.(Εικ.31)



Εικ.31 Σχηματική αναπαράσταση

κάκωσης περιφερικού νεύρου που αντιμετωπίστηκε με αλλομόσχευμα.

Τα κύτταρα του Schwann του δότη αντικαθίστανται από τα κύτταρα του Schwann του δέκτη, πριν και κατά την διάρκεια της ανοσοκαταστολής με κυκλοσπορίνη Α.

(Doolabh VB, Mackinnon SE. Transplantation of the peripheral nerve allograft. In: Hewitt CW, Black KS, eds. Composite tissue transplantation. Austin, RG Landes.1999)



Η σταδιακή απώλεια της αντιγονικότητας του αλλομοσχεύματος, αποτελεί πλέον το βασικό πεδίο έρευνας στον τομέα των μεταμοσχεύσεων.(170) Η εμπειρία από την κλινική εφαρμογή των αλλομοσχευμάτων είναι ακόμα περιορισμένη.(178,179) Σε ασθενείς με μεγάλα νευρικά ελλείμματα, η χρησιμοποίηση νευρικών αλλομοσχευμάτων είχε καλά λειτουργικά αποτελέσματα στο 85% των περιπτώσεων.(178) Πρόσφατα, η θεραπεία ανοσοκαταστολής με κυκλοσπορίνη, έχει αντικατασταθεί με το ταρκολίνιο FK506. Σε πειραματικό επίπεδο, φαίνεται ότι βοηθά στην αξονική αναγέννηση με λιγότερες επιπλοκές(170,180,181)

Οι ενδείξεις για την χρησιμοποίηση αλλομοσχευμάτων περιορίζονται σε μεγάλες τραυματικές κακώσεις νεύρων. Τα πλεονεκτήματα από την εφαρμογή των αλλομοσχευμάτων είναι η δυνατότητα επιδιόρθωσης μεγάλων νευρικών ελλειμμάτων και η ελαχιστοποίηση της ανάγκης για λήψη αυτόλογων μοσχευμάτων, με ό,τι αυτό συνεπάγεται, δηλαδή την μείωση νοσηρότητας στη δότρια χώρα και τον πιθανό σχηματισμό νευρώματος. Η μείωση των παρενεργειών από την δράση των ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων και η βαθύτερη κατανόηση των μηχανισμών της ανοσολογικής απάντησης του οργανισμού, αν επιτευχθούν, θα οδηγήσουν και στην ευρύτερη εφαρμογή των αλλομοσχευμάτων.

ΑΓΩΓΟΙ ΣΥΝΘΕΤΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

A.ΜΗ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΙΜΟΙ

I.ΑΓΩΓΟΙ ΑΠΟ ΣΙΛΙΚΟΝΗ

Στις αρχές της δεκαετίας του '80, ο Lundborg και οι συν, χρησιμοποίησαν αγωγούς σιλικόνης με σκοπό να γεφυρώσουν μικρά νευρικά ελλείμματα.(182) Η βασική ιδέα ήταν ότι η τοποθέτηση των νευρικών κολοβωμάτων μέσα σε ένα αγωγό που βρίσκεται σε φυσιολογικό βιολογικό περιβάλλον, η απουσία ραμμάτων και η συγκέντρωση νευροτροφικών παραγόντων μέσα σε αυτόν, θα βοηθούσε την νευρική αναγέννηση. Οι πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι σε χρονικό διάστημα 4 εβδομάδων και για νευρικά ελλείμματα μέχρι 1cm, η χρήση του αγωγού σιλικόνης οδηγούσε σε τυχαίο σχηματισμό νευρικής δομής που γεφύρωνε τελικά το έλλειμμα.(Εικ.32) Ενώ η εφαρμογή των αγωγών σιλικόνης ήταν επιτυχής για την κάλυψη μικρών νευρικών ελλειμμάτων, το μοντέλο ήταν αναποτελεσματικό για μεγαλύτερα νευρικά ελλείμματα.(183,184) Επιπλέον, αποδείχτηκε επίσης πειραματικά, ότι για μεγάλα νευρικά ελλείμματα η προσθήκη μικρού τμήματος

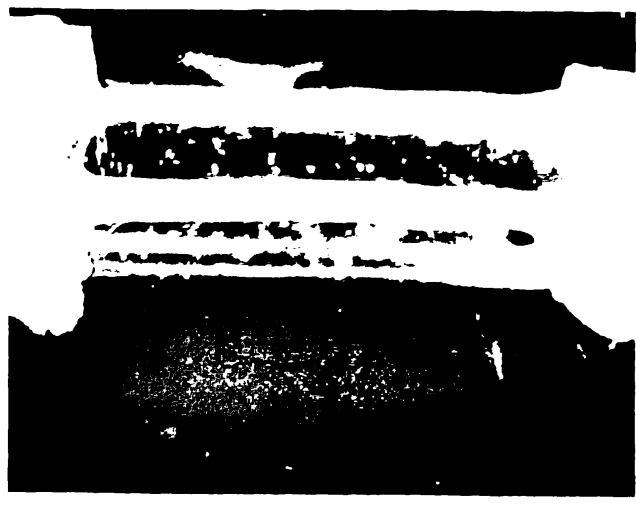
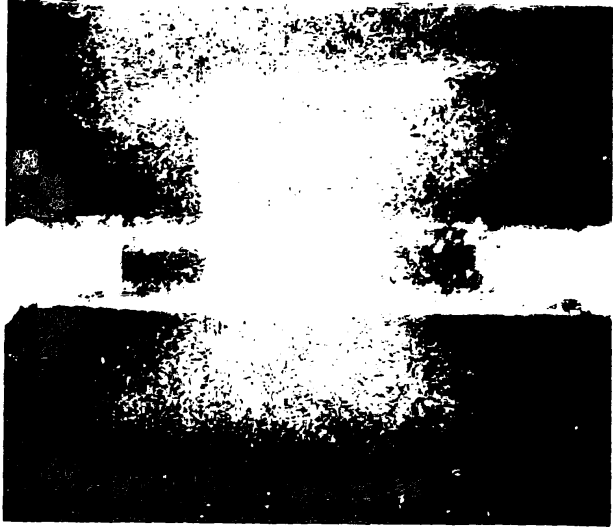


νευρικού ιστού μέσα σε αγωγό σιλικόνης, είχε επιτυχή αποτελέσματα.(185) Στην ίδια μελέτη υποστηρίζεται ότι η παρουσία των κυττάρων του Schwann ήταν καθοριστική για την καλή λειτουργική αναγέννηση.

Η κλινική εφαρμογή της σιλικόνης περιορίστηκε για την γεφύρωση μικρών (3-4mm) ελλειμμάτων του μέσου και του ωλενίου νεύρου και των δακτυλικών νεύρων (186,187) Για ελλείμματα μέχρι 5mm που για να αποκατασταθούν τελικοτελικά απαιτούν τάση, οι αγωγοί σιλικόνης μπορεί να χρησιμοποιηθούν με καλά λειτουργικά αποτελέσματα.(188) Για μεγαλύτερα ελλείμματα, η αδιαβατότητα της σιλικόνης σε οξυγόνο και άλλα θρεπτικά υλικά την κάνει ακατάλληλη για κλινική χρήση. Επιπλέον, η φλεγμονή ή η ινώδης αντίδραση που εμποδίζει την ομαλή λειτουργία του νεύρου και ο ερεθισμός στην περιοχή που απαιτεί την αφαίρεση του υλικού, είναι παράγοντες που δρουν περιοριστικά στην κλινική εφαρμογή της σιλικόνης.

Ο μηχανισμός με τον οποίο επιτυγχάνεται η νευρική αναγέννηση μέσα στον αγωγό σιλικόνης περιλαμβάνει μια συγκεκριμένη αλληλουχία γεγονότων που τελικά οδηγούν στον σχηματισμό της νέας νευρικής δομής που γεφυρώνει το έλλειμμα. Τις πρώτες ώρες μετά το χειρουργείο, παρατηρείται συσσώρευση υγρού στο εσωτερικό του αγωγού που περιέχει νευροτροφικούς παράγοντες, όπως ο κροσσωτός(CNTF) και ο νευρικός παράγοντας ανάπτυξης(NGF) , φλεγμονώδη κύτταρα και κυτοκίνες.(189) Η μέγιστη συγκέντρωση των νευροτροφικών ουσιών παρατηρείται 3-6 ώρες μετά την διατομή του νεύρου. Τις επόμενες ημέρες αρχίζει να σχηματίζεται μεταξύ των δυο άκρων του αγωγού, ένας επιμήκως προσανατολισμένος θρόμβος ινικής που περιέχει λαμινίνη, φιμπρονεκτίνη και μακροφάγα,(Εικ.32) Η διήθηση του θρόμβου από κύτταρα του Schwann, ινοβλάστες και μικροαγγεία, οδηγεί στον σχηματισμό νευραξόνων που γεφυρώνουν τελικά το έλλειμμα σε διάστημα 4 εβδομάδων.(190) Όταν το έλλειμμα είναι μικρό, τα κύτταρα και τα αγγεία προλαβαίνουν να δράσουν, πριν διαλυθεί ο θρόμβος. Το γεγονός αυτό, ερμηνεύει γιατί η χρήση των αγωγών σιλικόνης δεν είναι αποτελεσματική για μεγαλύτερα ελλείμματα, καθώς στις περιπτώσεις αυτές, ο θρόμβος έχει διαλυθεί πριν αρχίσει η δράση των κυτταρικών και αγγειακών στοιχείων.





Εικ.32 Μοντέλο νευρικής αναγέννησης μέσα σε αγωγό σιλικόνης . Το έλλειμμα είναι 10mm. Στην δεύτερη εικόνα, 4 εβδομάδες αργότερα, μια νέα δομή έχει σχηματιστεί, που γεφυρώνει τα δυο άκρα.(Goran Lundborg et al: Nerve regeneration in silicon chambers: influence of gap length and of distal stump components. Experimental Neurology.1982;76(a):361-375)

II. ΠΟΛΥΦΛΟΥΡΟΑΙΘΥΛΕΝΗ(PTFE)

Ο Stanec και οι συν, αξιολόγησαν την αποτελεσματικότητα της πολυφλουροαιθυλένης (PTFE) στην αποκατάσταση νεύρων σε κλινικό επίπεδο. Παρατήρησαν ότι για νευρικά ελλείμματα μέχρι 40 mm, η χρήση του υλικού είχε καλά λειτουργικά αποτελέσματα στους ασθενείς(79% των περιπτώσεων) αλλά για μεγαλύτερα ελλείμματα, το ποσοστό επιτυχίας έπεφτε στο 13%. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο ότι οι αγωγοί από PTFE, μπορούν να χρησιμοποιηθούν με επιτυχία στην αποκατάσταση ελλειμμάτων($\leq 40\text{mm}$) του μέσου και του ωλενίου νεύρου σε διάφορα επίπεδα στο άνω άκρο.(191)

Αντίθετα, ο Porgel και οι συν, μετά από την εφαρμογή του υλικού για την αποκατάσταση κακώσεων κρανιοπροσωπικών νεύρων, κατέληξαν ότι το δεν ήταν αποτελεσματικό παρά μόνο σε περιπτώσεις μικρών νευρικών ελλειμμάτων($\leq 30\text{mm}$), γεγονός αξιοσημείωτο δεδομένου ότι τα συγκεκριμένα νεύρα είναι γνωστά για την εξαιρετική δυνατότητα λειτουργικής αποκατάστασης. Οι συγγραφείς απέδωσαν τα άπωχα αποτελέσματα, στο γεγονός ότι πιθανά το υλικό να προκαλεί φαινόμενα πίεσης που δεν επιτρέπουν την αναγέννηση των νευρικών ινών.(192)



ΑΓΩΓΟΙ ΣΥΝΘΕΤΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

B. ΒΙΟΑΠΟΡΡΟΦΗΣΙΜΟΙ

Η ιδέα της χρησιμοποίησης των συνθετικών υλικών ως αγωγοί για την κάλυψη νευρικών ελλειμμάτων, στηρίζεται στο γεγονός ότι μπορούν να απομονώνουν τους αναγεννώμενους νευράξονες από στοιχεία του τοπικού περιβάλλοντος που είναι υπεύθυνα για τον σχηματισμό ουλώδους ιστού και στο ότι επιτρέπουν την δίοδο οξυγόνου και θρεπτικών υλικών από τους γύρω ιστούς. Με τον τρόπο αυτό, δημιουργείται βαθμιαία ένα νεοπερινεύριο που ενσωματώνεται στους γειτονικούς ιστούς. Αγωγοί από διάφορα βιοαπορροφήσιμα υλικά έχουν χρησιμοποιηθεί τόσο σε πειραματικό όσο και σε κλινικό επίπεδο με το σκεπτικό ότι είναι δομές που επιτρέπουν την νευρική αναγέννηση και οι οποίες εφόσον απορροφώνται δεν απαιτούν χειρουργική αφαίρεση.

Οι Mackinnon και Dellon, χρησιμοποίησαν αγωγό από βιοαπορροφήσιμο **πολυγλυκολικό οξύ (PGA)** για την γεφύρωση ελλειμμάτων μέχρι 30mm σε δακτυλικά νεύρα και έδειξαν ότι τα κλινικά του αποτελέσματα ήταν συγκρίσιμα με εκείνα της εφαρμογής νευρικών μοσχευμάτων(193). Ο Weber και οι συν, πραγματοποίησαν μια προοπτική τυχαιοποιημένη πολυκεντρική μελέτη που περιλάμβανε 136 κλινικές περιπτώσεις διατομής αισθητικών νεύρων στην άκρα χείρα με έλλειμμα έως 30 mm και ο μέσος χρόνος παρακολούθησης ήταν οι 12 μήνες(194). Η κλινική εκτίμηση ανέδειξε εξαιρετικά αποτελέσματα σε 91% των περιστατικών της ομάδας με το PGA σε αντίθεση με το 49% της ομάδας με την τελικοτελική συρραφή. Επιπλέον, για ελλείμματα >8 mm, η χρήση του PGA είχε επίσης καλύτερα λειτουργικά αποτελέσματα. Η μελέτη του Casana και των συν, σε 17 περιστατικά με χρόνιες βλάβες στα δακτυλικά νεύρα, απέδειξε ότι η χρήση αγωγών PGA ήταν αποτελεσματική ακόμα για ελλείμματα μεγαλύτερα των 2 cm.(195)

Το **πολύ-3-υδροξυβουτυρικό (PHB)** είναι βιοαπορροφήσιμο πολυμερές φυσικής προέλευσης. Στην μελέτη των Young και συν, χρησιμοποιώντας το περονιαίο νεύρο του επίμου, το υλικό υποστήριζε την αξονική αναγέννηση σε νευρικό έλλειμμα 40mm, αλλά η λειτουργική επανανεύρωση του οργάνου στόχου, δεν ήταν εφικτή.(196) Στην ίδια μελέτη, η επαναγγείωση του υλικού έγινε σε αρχικά στάδια μετά την τοποθέτησή του, γεγονός που επιταχύνει την λειτουργική αποκατάσταση,



καθώς διευκολύνει την μεταφορά πολύτιμων κυττάρων και θρεπτικών συστατικών στους αναγεννώμενους νευράξονες. Η αναγεννητική ικανότητα του υλικού μπορεί να αυξηθεί με την προσθήκη κυττάρων του Schwann(197) ή με την συμμετοχή του αυξητικού παράγοντα GGF (glial growth factor)(198). Η παρουσία του παράγοντα GGF μέσα στον αγωγό από PHB, είχε σαν αποτέλεσμα την σταδιακή και αξιόλογη βελτίωση της ποιότητας των κυττάρων του Schwann και του ρυθμού της αξονικής αναγέννησης .

Οι αγωγοί από το βιοαπορροφήσιμο υλικό **PLC**(L-Lactide-co-6-caprolactone) επιτρέπουν ταχύτερα και καλύτερα επίπεδα επανεύρωσης από ότι οι αγωγοί με σιλικόνη ή κολλαγόνο. Στο συμπέρασμα αυτό ,κατέληξαν ο Navarro και οι συν, μετά από εφαρμογή των υλικών σε πειραματικό επίπεδο.(199) Οι αγωγοί αυτοί, αποδομούνται σταδιακά σε διάστημα ενός έτους και προκαλούν μικρού βαθμού αντίδραση ξένου σώματος. Είναι κατάλληλοι για την κάλυψη μικρών νευρικών ελλειμμάτων αλλά και για μεγαλύτερα ελλείμματα (7mm) έχουν αποδειχτεί αποτελεσματικοί και μάλιστα σε βαθμό που η επίδρασή τους στην ποιότητα και στον ρυθμό της νευρικής αναγέννησης να θεωρείται καλύτερη από ότι τα αυτόλογα νευρικά μοσχεύματα.(200) Η προσθήκη απονευρωμένου μυός μέσα στον αγωγό, οδήγησε σε ταχύτερη λειτουργική αποκατάσταση σε σχέση με τα αυτόλογο νευρικό μόσχευμα, όταν χρησιμοποιήθηκε για κάλυψη ελλείμματος 15mm.(201)

Ο Dellon, παρουσιάζοντας τις απόψεις του για την επιτυχή νευρική συρραφή πρότεινε για ελλείμματα $\leq 3\text{cm}$ τη χρήση βιοσυνθετικών αγωγών, ενώ για μεγαλύτερα ελλείμματα, κατέληξε ότι τα αυτόλογα νευρικά μοσχεύματα είναι η καλύτερη λύση. Φαίνεται ότι η κλινική χρήση των μη απορροφήσιμων αγωγών τείνει να εγκαταλειφθεί ενώ τα βιοαπορροφήσιμα υλικά κερδίζουν έδαφος αλλά χωρίς να έχουν την δυνατότητα να γεφυρώσουν μεγάλα νευρικά ελλείμματα. Γίνεται επομένως επιτακτική η ανάγκη αναζήτησης ενός αγωγού που θα επιτρέπει με ασφάλεια την συμπλησίαση των νευρικών κολοβωμάτων.



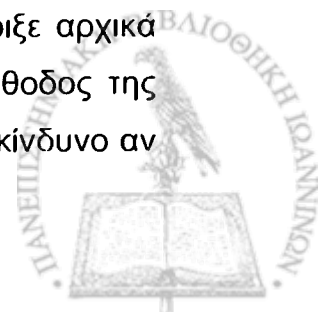
^ ΤΕΛΙΚΟΠΛΑΓΙΑ ΣΥΡΡΑΦΗ

Παρά το γεγονός ότι η χρήση των αυτόλογων μοσχευμάτων αποτελεί μέχρι σήμερα την μέθοδο εκλογής για τους τραυματισμούς των νεύρων, η τεχνική αυτή παρουσιάζει μειονεκτήματα όπως η νοσηρότητα της δότριας χώρας και ο περιορισμένος αριθμός διαθέσιμων μοσχευμάτων. Επιπλέον, η χρήση των αυτόλογων μοσχευμάτων καθίσταται αδύνατη σε περιπτώσεις που το κεντρικό κολόβωμα του τραυματισμένου νεύρου είναι κατεστραμμένο ή αδύνατο να βρεθεί. Η τελικοπλάγια συρραφή θα μπορούσε να είναι χρήσιμη στις παραπάνω περιπτώσεις καθώς και στην περίπτωση μεγάλων νευρικών ελλειμμάτων που η χωρίς τάση αποκατάστασή τους θα ήταν αδύνατη. Συμπλησιάζοντας το περιφερικό άκρο του νευρικού κολοβώματος σε ένα υγιές νεύρο, αποφεύγεται η καταστροφή ενός υγιούς νεύρου και για μεγάλα ελλείμματα, μειώνεται ο χρόνος που απαιτείται για τους αναγεννώμενους νευράξονες να φτάσουν στο όργανο-στόχο.

^ ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Η τεχνική περιγράφηκε στις αρχές του 19^{ου} αιώνα από τον Letievan σε βιβλίο του με τίτλο «*Traite des Sections Nerveuses*» το 1873.(202) Ο συγγραφέας, περιέγραψε τις διαφορετικές τεχνικές χειρουργικής αντιμετώπισης της πλήρους διατομής ενός νεύρου και πρότεινε για μεγάλα νευρικά ελλείμματα την συμπλησίαση του περιφερικού κολοβώματος του τραυματισμένου νεύρου σε γειτονικό υγιές νεύρο. Η τεχνική δεν βρήκε κλινική εφαρμογή παρά 3 χρόνια αργότερα, όταν ο Despres συμπλησίασε το τραυματισμένο μέσο νεύρο ασθενούς, στο ωλένιο και ανέφερε ότι μετεγχειρητικά παρατηρήθηκε κάποιου βαθμού λειτουργική αποκατάσταση.(203,204) Την ίδια εποχή ο Manasse(205) και ο Huber(206) χρησιμοποίησαν την τελικοπλάγια συρραφή για την αποκατάσταση νευρικών ελλειμμάτων σε σκύλους με ενθαρρυντικά αποτελέσματα.

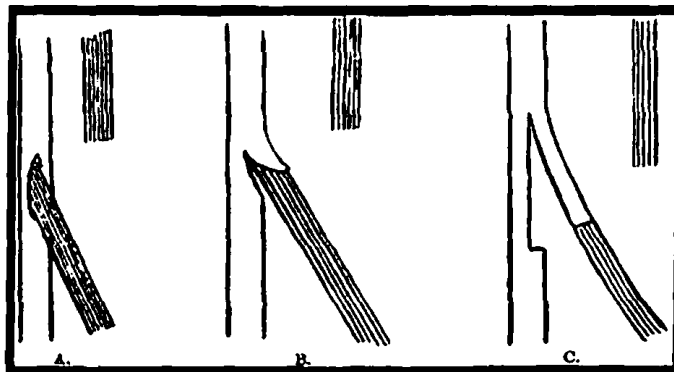
Το 1901 ο Kennedy ανέφερε την περίπτωση ασθενούς με διατομή του προσωπικού νεύρου, στον οποίο το περιφερικό κολόβωμα του νεύρου συμπλησιάστηκε με το παραπληρωματικό νεύρο. Το λειτουργικό αποτέλεσμα ήταν αποδεκτό αλλά το μειονέκτημα ήταν η σύσπασση των μιμικών μυών του προσώπου όταν ο ασθενής σήκωνε τον ώμο του.(207) Και ενώ ο Kennedy υποστήριξε αρχικά την κλινική εφαρμογή της μεθόδου, 2 χρόνια αργότερα δήλωνε ότι η μέθοδος της τελικοπλάγιας συρραφής σε κακώσεις του βραχιονίου πλέγματος έχει τον κίνδυνο αν



αποτύχει, να στοιχήσει στον ασθενή επιπλέον και την απώλεια της λειτουργικότητας των φυσιολογικών μυών.(208) Ο Balance το 1903, χρησιμοποίησε την μέθοδο για αποκατάσταση χρόνιας παράλυσης του προσωπικού νεύρου. Χρησιμοποίησε σε 6 περιστατικά το παραπληρωματικό και σε ένα το υπογλώσσιο νεύρο για να καταλήξει στο συμπέρασμα ότι με την μέθοδο, η παράλυση του προσωπικού νεύρου μπορεί εν μέρει να αποκατασταθεί.(209)

Την ίδια χρονιά, η μέθοδος εφαρμόστηκε σε 3 περιστατικά για την αντιμετώπιση παράλυσης προσωπικού νεύρου και ενώ οι συγγραφείς υποστήριξαν ότι η τελικοπλάγια συρραφή θα μπορούσε να είναι χρήσιμη σε τέτοιες κακώσεις, τα λειτουργικά αποτελέσματα ήταν πτωχά.(210) Την ίδια εποχή ο Powers, έκανε μια ανασκόπηση που αφορούσε την κλινική εφαρμογή της μεθόδου, κατέληξε στο συμπέρασμα ότι στο 50% των περιπτώσεων τα αποτελέσματα ήταν ενθαρρυντικά.(203)

Ο Sherren, στο σύγγραμμά του για την χειρουργική αντιμετώπιση των κακώσεων των περιφερικών νεύρων, πρότεινε τρεις διαφορετικούς τύπους τελικοπλάγιας συρραφής και θεώρησε ως πιο αποτελεσματικό, τον τύπο B.(Εικ.33) (204)



Εικ.33 Οι τρεις τύποι τελικοπλάγιας συρραφής. Α. Οριζόντιο παράθυρο στο νεύρο δότη. Β Βαθύτερη κάθετη τομή γίνεται στο νεύρο-δότη με σκοπό να γίνει και διήνυση των ινών του . Γ. Μικρό νευρικό μόσχευμα κινητοποιείται από το νεύρο-δότη.(Sherren J. Some points in the surgery of the peripheral nerves. Edinburg Med J.1906;20:297-316)

Επιπλέον, έδωσε έμφαση στο γεγονός ότι η μετεγχειρητική παρακολούθηση των ασθενών οφείλει να είναι μακροχρόνια ώστε η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων να είναι ασφαλής. Το 1923, ο Gatta (211) σε πειραματικό μοντέλο, σύγκρινε την τελικοπλάγια με την πλαγιοπλάγια συρραφή και παρατήρησε ότι μεγαλύτερη αναγέννηση νευραξόνων παρατηρήθηκε στην τελευταία ομάδα. Παρά τα θετικά



αποτελέσματα από την κλινική εφαρμογή της τελικοπλάγιας συρραφής, η τεχνική εγκαταλείφθηκε για πολλά χρόνια. Το 1968, ο Sunderland στο βιβλίο του «*Nerves and Nerve injuries*», κριτικάρει την τεχνική και καταλήγει στο ότι δεν έχει τίποτα να προσφέρει στον τομέα της αποκατάστασης και πως δεν αξίζει περαιτέρω προσοχής.(212) Τελικά, μετά από σχεδόν 50 χρόνια από την τελευταία κλινική εφαρμογή της μεθόδου, ο Viterbo(213,214) και ο Lundborg(215), επανεισήγαγαν την τεχνική και παρουσίασαν ενδιαφέρουσες πιθανές μελλοντικές εφαρμογές της. Αργότερα, ο Viterbo υποστήριξε ότι η τελικοπλάγια συρραφή μπορεί να είναι αποτελεσματική χωρίς να γίνει επινευροτομή στο νεύρο-δότη και εφάρμοσε την μέθοδο σε ασθενή με παράλυση προσωπικού χρησιμοποιώντας επιπλέον και μικροχειρουργικές τεχνικές.(216) Ο Lundborg, σε μια ανασκόπηση για την τελικοπλάγια συρραφή, καταλήγει στο ότι είναι χρήσιμο θεραπευτικό εργαλείο για την αντιμετώπιση τραυματικών κακώσεων των νεύρων που δεν μπορούν να αντιμετωπιστούν με τις συνήθεις χειρουργικές τεχνικές, όπως τα νευρικά μοσχεύματα. Τα αποτελέσματα από τις κλινικές εφαρμογές της μεθόδου είναι ποικίλα και μόνο η ιστορία θα αποδείξει τελικά αν ο αρχικός ενθουσιασμός θα αντανakλά και σε μόνιμα θετικά κλινικά αποτελέσματα. (217)

Λ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΤΕΛΙΚΟΠΛΑΓΙΑΣ ΣΥΡΡΑΦΗΣ

Ενώ η εφαρμογή της τελικοπλάγιας νευρορραφής μπορεί να οδηγήσει σε καλή αναγέννηση των νευραξόνων και να παρέχει ικανοποιητική λειτουργική αποκατάσταση σε τραυματισμένα νεύρα, το ερώτημα που οφείλει να απαντηθεί είναι ο μηχανισμός με τον οποίο αυτό επιτυγχάνεται. Οι πιθανοί μηχανισμοί είναι δύο:

A) Οι νευράξονες προέρχονται από νευρικές ίνες του "νεύρου -δότη"(Εικ.34)

B) Οι νευράξονες προέρχονται από το κεντρικό κολόβωμα του τραυματισμένου νεύρου.

A) Ο Lundborg και οι συν, επιβεβαίωσαν την παρουσία νευραξόνων στο κολόβωμα του περνιαίου νεύρου στο σημείο της τελικοπλάγιας συρραφής του στο κνημιαίο, με ανοσοιστοχημικές και ιστολογικές μεθόδους.(215) Η παρουσία των νευραξόνων στο σημείο της νευρορραφής, ερμηνεύτηκε ότι οφείλεται στην πλάγια εκβλάστηση από το κνημιαίο νεύρο-δότη. Πιθανολογείται ότι ο πολλαπλασιασμός

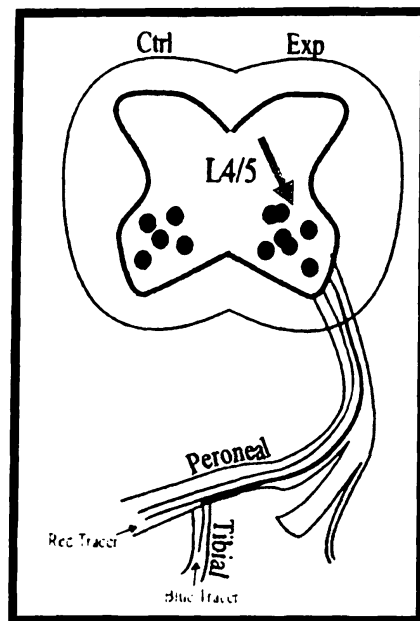


των κυττάρων του Schwann στο περιφερικό κολόβωμα κοντά στο σημείο συρραφής, ασκεί νευροτροφική δράση που προάγει την πλάγια εκβλάστηση.

Ο Zhang και οι συν. για την διερεύνηση του μηχανισμού που επάγει την νευρική αναγέννηση, χρησιμοποίησαν την τεχνική της διπλής ταυτοποίησης με φλουορεσκίνη σε μοντέλο τελικοπλάγιας συρραφής του περονιαίου νεύρου στο κνημιαίο νεύρο επίμυος.(218) Οκτώ και δώδεκα μήνες μετά το χειρουργείο, στον πρόσθιο κνημιαίο μυ και στον γαστροκνήμιο έγινε έγχυση με δύο διαφορετικές ουσίες(true blue & diamidino yellow) αντίστοιχα. Τα γάγγλια των οπισθίων ριζών του νωτιαίου μυελού από τις Ο3 και Ο6, αφαιρέθηκαν και ακολούθησαν τμηματικές εκτομές και μικροσκόπιο φθορισμού. Παρουσία νευρώνων με διπλή σκιαγράφιση παρατηρήθηκε στα πειραματόζωα που είχε εφαρμοστεί η τελικοπλάγια συρραφή ανεξάρτητα αν είχε προηγηθεί περινευροτομή ή όχι. Συνεπώς, οι δυο διαφορετικές φθορίζουσες ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν, μεταφέρθηκαν από διαφορετικούς άξονες στο ίδιο μητρικό κύτταρο και στο οποίο εντοπίζονται ξεχωριστά με τη βοήθεια του μικροσκοπίου φθορισμού. Το γεγονός επιβεβαιώνει την υπόθεση ότι οι αναγεννώμενοι νευράξονες προέρχονται από το νεύρο-δότη και για αυτό οι δυο διαφορετικές ουσίες εντοπίζονται στον ίδιο νευρώνα. Σύμφωνα με τους συγγραφείς, ο μηχανισμός που επάγει την νευρική αναγέννηση στο μοντέλο της τελικοτελικής συρραφής μπορεί να προέρχεται από αλλαγές στο μικροπεριβάλλον του νεύρου-δότη. Επιπλέον, η επαφή του περιφερικού κολοβώματος του περονιαίου νεύρου με το κνημιαίο μπορεί να πυροδοτεί μια σειρά αλλαγών στο κεντρικό νευρικό σύστημα, με αποτέλεσμα την μετανάστευση των κυττάρων του Schwann από το περιφερικό κολόβωμα του περονιαίου, στο κνημιαίο. Εκεί, τα κύτταρα του Schwann προβάλλουν την κατάλληλη επιφάνεια, ως υπόστρωμα για την καθοδήγηση των νέων νευραξόνων.(219)

Ένας άλλος πιθανός μηχανισμός που μπορεί να ερμηνεύσει το φαινόμενο, είναι η έκκριση νευροτροφικών ουσιών από το περιφερικό κολόβωμα του περονιαίου νεύρου καθώς και από τους μυς που νευρώνονται από αυτό. Οι νευροτροφικοί παράγοντες μεταφέρονται με ανάστροφη ροή στο κυτταρικό σώμα από όπου πυροδοτούν την έναρξη της διαδικασίας της πλάγιας εκβλάστησης και συγχρόνως συμβάλουν στην επανεύρωση των νευραξόνων.





Εικ.34 Σχηματική αναπαράσταση της πιθανής προέλευσης των νευραξόνων στην τελικοπλάγια συρραφή. Η διπλή σκιαγράφηση των νευρώνων(κίτρινο βέλος) αποτελεί ενδεικτικό στοιχείο της πλάγιας εκβλάστησης νευραξόνων από το νεύρο-δότη, στο τραυματισμένο νεύρο.(Pannucci Ch.et al. End-to-side nerve repair: Review of the literature. Res Neurol Neurosci. 2007;25:45-63)

Ο Matsumoto και οι συν, παρουσίασαν ένα μοντέλο τελικοτελικής συρραφής στο ισχιακό νεύρο του επίμουσ, στο οποίο για την αποφυγή μηχανικού τραυματισμού του νεύρου-δότη, χρησιμοποίησαν αγωγό σιλικόνης σε σχήμα Υ. Και στην περίπτωση αυτή τα αποτελέσματα έδειξαν πλάγια εκβλάστηση.(220) Στην ίδια μελέτη, υποστηρίχτηκε ότι τα κύτταρα του Schwann στο περιφερικό κολόβωμα παράγουν μια σειρά παραγόντων που προάγουν την αξονική αναγέννηση. Το πιο σημαντικό βήμα για την επαγωγή της πλάγιας εκβλάστησης είναι η μετανάστευση των κυττάρων του Schwann στο επινευρικό στρώμα του νεύρου-δότη. Από εκεί, οι παράγοντες που θα παραχθούν, θα περάσουν μέσω διάχυσης στο περινεύριο και θα πυροδοτήσουν την πλάγια εκβλάστηση των νευραξόνων. Σε παρόμοιο πειραματικό μοντέλο όπου χρησιμοποιήθηκε αγωγός σιλικόνης με μαλακά μόρια χωρίς όμως την παρουσία κυττάρων του Schwann, δεν παρατηρήθηκε πλάγια εκβλάστηση, γεγονός που αποδεικνύει τον ουσιαστικό ρόλο που παίζουν.

Αναγέννηση νευραξόνων στο μοντέλο της τελικοπλάγιας συρραφής έχει παρατηρηθεί και όταν χρησιμοποιούνται αγωγοί όπως μυσ ή φλεβικά μοσχεύματα, εφόσον εκεί υπάρχουν και δρουν τα κύτταρα του Schwann.(221,222)



Σύμφωνα με τα αποτελέσματα μελετών με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ο Al-Qattan και οι συν, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η νευρική αναγέννηση μετά από τελικοπλάγια συρραφή, είναι όμοια με την διαδικασία αναγέννησης μετά από την κλασσική τελικο-τελική συρραφή.(223)

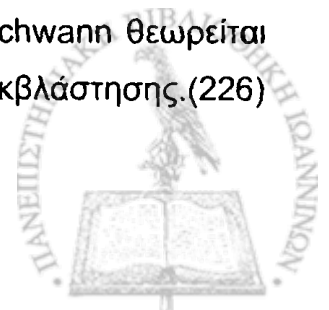
Οι μοριακοί μηχανισμοί που είναι υπεύθυνοι για την νευρική αναγέννηση στο μοντέλο της τελικοπλάγιας συρραφής δεν έχουν πλήρως διευκρινιστεί.

Ο Yamauchi και οι συν, για την διερεύνηση του μηχανισμού που είναι υπεύθυνος για την πλάγια εκβλάστηση σε τελικοπλάγια συρραφή, χρησιμοποίησε ανοσοϊστοχημικές μεθόδους για την εντόπιση των κώνων ανάπτυξης, με την βοήθεια αντι-GAP 43 αντισωμάτων.(224) Τα αντισώματα GAP 43, (Growth-associated protein) είναι μεμβρανικές πρωτεΐνες που παράγονται όταν οι νευράξονες επεκτείνονται και αποτελούν βασικό στοιχείο των κώνων ανάπτυξης. Σε ώριμους νευρώνες, η πρωτεΐνη εντοπίζεται σε αμύελους νευράξονες και σε κύτταρα Schwann. Μετά από διατομή του νευράξονα, η έκφραση της πρωτεΐνης καθορίζεται από αλληλεπιδράσεις μεταξύ του νευράξονα και των κυττάρων του Schwann και η έκφρασή της μειώνεται σταδιακά σε περίοδο τριών εβδομάδων.(225). Με βάση τα δεδομένα αυτά ο Yamauchi χρησιμοποίησε αντι-GAP 43 αντισώματα με σκοπό να προσδιορίσει την προέλευση των νευραξόνων με ανοσοϊστοχημική μέθοδο. Τα αποτελέσματα υποδείκνυαν ότι η κατεύθυνση των κώνων ανάπτυξης ήταν από το ανέπαφο νεύρο-δότη προς το περιφερικό κολόβωμα. Επιπλέον, στο ίδιο πειραματικό μοντέλο, διαπιστώθηκε ότι ο νευροτροφικός παράγοντας 3 (neurotrophin -3) καθώς και ο υποδοχέας του Trk-C, αυξάνονται σημαντικά στο σημείο της συρραφής, πριν ακόμα ανιχνευτεί η GAP 43, αποδεικνύοντας έτσι, την συμμετοχή του νευροτροφικού παράγοντα στην διαδικασία της πλάγιας εκβλάστησης σε κινητικά νεύρα .(224)

Αντίστοιχα, σε αισθητικούς νευράξονες, η πλάγια εκβλάστηση μπορεί να λάβει χώρα με τρεις διαφορετικούς μηχανισμούς:

- Από παράγοντες που προέρχονται από τα απονευρωμένα όργανα στόχους.
- Από παράγοντες που απελευθερώνονται από τα αποδομημένα νευρικά στοιχεία.

Τα κύτταρα του Schwann μετά τον τραυματισμό πολλαπλασιάζονται γρήγορα και εκκρίνουν μια σειρά χημειοτακτικών ουσιών, όπως ο νευροτροφικός παράγοντας NGF. Σύμφωνα με τον Barjonι, η παρουσία των κυττάρων του Schwann θεωρείται απαραίτητη για την επαγωγή και την διατήρηση της πλάγιας εκβλάστησης.(226)



Θεωρεί ότι για τους αισθητικούς νευράξονες τα κύτταρα του Schwann χρειάζονται περισσότερο χρόνο για την έναρξη της διαδικασίας.

- Από ενδονευρικά σήματα μέσα στα γάγγλια των οπισθίων ριζών του νωτιαίου μυελού. Με βάση τον τελευταίο μηχανισμό, ο νευρώνας του τραυματισμένου νεύρου επικοινωνεί άμεσα ή έμμεσα με άλλους μη τραυματισμένους νευρώνες της ίδιας ραχιαίας ρίζας. Αυτή η νευρωνική αλληλεπίδραση είναι ουσιώδους σημασίας για την επαγωγή της πλάγιας εκβλάστησης.(226) Επιπλέον, σε πρόσφατες μελέτες βρέθηκε ότι οι η σύνθεση NGF από τους τραυματισμένους νευράξονες, μπορεί με παρακρινή τρόπο, να επάγει την έκφραση υποδοχέων NGF στην επιφάνεια μη τραυματισμένων νευρώνων στην ίδια ρίζα του νωτιαίου μυελού.(227,228) Σε in vivo μελέτη έχει βρεθεί ότι καὶ άλλοι παράγοντες όπως ο κροσσωτός νευροτροφικός παράγοντας CNTF και ο βασικός ινοβλαστικός παράγοντας FGF-1, προάγουν την πλάγια εκβλάστηση από ανέπαφα νεύρα.(229)

B) Ένας δεύτερος πιθανός μηχανισμός που εξηγεί την αναγέννηση των νευραξόνων στο μοντέλο της τελικοπλάγιας συρραφής είναι οι νευράξονες να προέρχονται από το εγγύς κολόβωμα του τραυματισμένου νεύρου και να χρησιμοποιούν το επινεύριο του νεύρου-δότη ως αγωγό (230) Σε μια προσπάθεια ανεύρεσης της πηγής των νευραξόνων, χρησιμοποιήθηκε πειραματικό μοντέλο στο οποίο ένα τμήμα από το ισχιακό νεύρο του επίμουσ από την μια πλευρά, μεταφέρθηκε και συμπλησιάστηκε τελικοπλάγια στο ισχιακό νεύρο της άλλης πλευράς.(231) Στην περίπτωση αυτή δεν υπήρχε κεντρικό κολόβωμα νεύρου το οποίο θα μπορούσε να αποτελεί την πηγή των νέων νευραξόνων. Για την ανάδειξη της προέλευσης των νέων νευραξόνων χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της διπλής σκιαγράφησης με ένα ιχνηλάτη(Diamidino yellow) για το τμήμα του νεύρου που μεταφέρθηκε και συμπλησιάστηκε τελικοπλάγια και ένα δεύτερο(Fast Blue) για το άλλο ισχιακό νεύρο. Τα αποτελέσματα έδειξαν διπλή σκιαγράφηση για τους νευρώνες των οπισθίων ριζών και τους κινητικούς νευρώνες, αποδεικνύοντας έτσι την πλάγια εκβλάστηση τόσο των κινητικών όσο και των αισθητικών νευραξόνων. Ανάλογα πειραματικά μοντέλα έχουν περιγραφεί και από άλλες ομάδες (223,232)

▲ ΤΕΛΙΚΟΠΛΑΓΙΑ ΣΥΡΡΑΦΗ & ΕΠΙΝΕΥΡΙΚΟ ΠΑΡΑΘΥΡΟ

Ένας άλλος σημαντικός παράγοντας που μπορεί να επηρεάσει την αξονική αναγέννηση στην τελικο-πλάγια συρραφή, είναι η παρουσία επινευρικού ή περινευρικού παραθύρου. Ο Viterbo και οι συν, το 1992 παρατήρησαν ότι στην



τελικοπλάγια συρραφή χωρίς επινευροτομή, η διατήρηση του επινευρίου δεν αποτελούσε εμπόδιο στο πέρασμα των νευραξόνων από την πλάγια επιφάνεια του κνημιαίου νεύρου στο περιφερικό κολόβωμα του περνιαίου.(216) Σε μια μελέτη τελικοπλάγιας συρραφής που χρησιμοποιήθηκε αγωγός σχήματος Υ και έγιναν αντινευροϊνδιακές και S-100 χρώσεις, ο Matsumoto και οι συν, παρατήρησαν ότι τα κύτταρα του Schwann δεν μπορούσαν να διαπεράσουν το περινεύριο. Αντίθετα, οι νέοι νευράξονες μπορούσαν να διαπεράσουν το περινευρικό στρώμα και να έρθουν σε επαφή με κύτταρα του Schwann, που είχαν μεταναστέψει στο επινεύριο.(220)

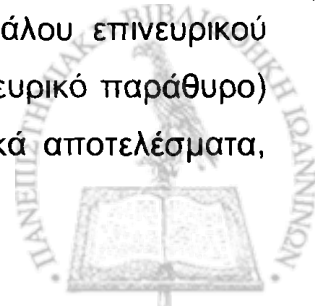
Από την άλλη μεριά, ο Bertelli και οι συν, δεν αφαίρεσαν επινεύριο αλλά πραγματοποίησαν την συμπλησίαση του περιφερικού κολοβώματος του περνιαίου νεύρου στον κορμό του κνημιαίου, με κόλα ινικής. Δεν παρατηρήθηκε ούτε κινητική αλλά ούτε και αισθητική αποκατάσταση στο μοντέλο αυτό, γεγονός που οδήγησε στο συμπέρασμα ότι τα στρώματα που περιβάλλουν το νεύρο αποτελούν και φραγμό για την νευρική αναγέννηση.(233)

Ο Lundborg και οι συν, παρατήρησαν ότι η τελικοπλάγια συρραφή είναι πιο αποτελεσματική με την δημιουργία επινευρικού παραθύρου, με την προϋπόθεση ότι γίνεται με προσοχή ώστε να μη δημιουργηθεί ζημιά στις δεσμίδες του νεύρου-δότη.(232)

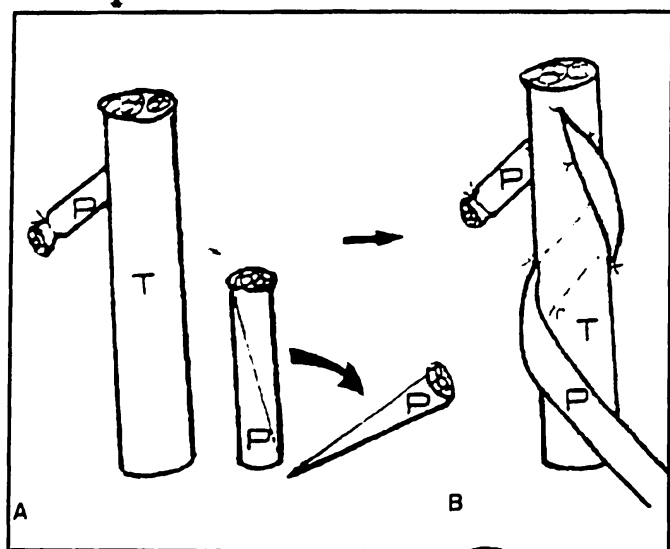
Σε μια συγκριτική μελέτη με ηλεκτροφυσιολογικές δοκιμασίες και ιστολογικές εκτιμήσεις ο Zhao και οι συν, παρατήρησαν ότι οι αναγεννώμενες νευρικές ίνες, μετά από τελικοπλάγια συρραφή έχουν την ικανότητα να διαπερνούν το ενδονεύριο, το περινεύριο και το επινεύριο και ότι το μοντέλο της αναγέννησης των νευραξόνων ήταν καλύτερο στην περίπτωση που είχε γίνει αφαίρεση του επινευρίου.(234)

Ο Yksel και οι συν, σε πειραματικό μοντέλο πλάγιο-πλάγιας συρραφής, δημιούργησαν επινευρικό παράθυρο στο κνημιαίο αλλά και στο περνιαίο νεύρο. Με ιστομορφομετρικές μελέτες και με ανάλυση βάδισης, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η παρουσία των επινευρικών παραθύρων οδήγησε σε καλύτερα λειτουργικά αποτελέσματα.(235)

Η ελικοειδής τεχνική αποτελεί ένα τροποποιημένο μοντέλο τελικοπλάγιας συρραφής που εισήγαγαν ο Ji-Genh Yan και οι συν. **(Εικ.35)** Σύμφωνα με τους συγγραφείς, η ελικοειδής τεχνική βασίζεται στην δημιουργία μεγάλου επινευρικού παραθύρου και συγκρινόμενη με την κλασική τεχνική (μικρό επινευρικό παράθυρο) αποδείχτηκε ότι οδηγεί σε καλύτερα λειτουργικά και μορφομετρικά αποτελέσματα,



χωρίς να έχει βλαπτική επίδραση στο νεύρο-δότη. Οι συγγραφείς πιστεύουν ότι με την ελικοειδή τεχνική, πιθανά να αυξάνεται η συγκέντρωση των κυττάρων του Schwann στην περιοχή και επομένως και η έκκριση νευροτροφικών ουσιών που επάγουν την αξονική αναγέννηση. Η τεχνική εφαρμόζεται από τους συγγραφείς στην κλινική πράξη όταν υπάρχει μεγάλο νευρικό έλλειμμα και διαθέσιμο υγιές γειτονικό νεύρο.(236)



Εικ.35 Ελικοειδής τεχνική. Η δημιουργία μεγάλου επινευρικού παραθύρου δεν βλάπτει το νεύρο-δότη και οδηγεί σε καλύτερα λειτουργικά αποτελέσματα.

Yan JG et al. A modified end-to-side model for peripheral nerve repair: large epineurial window helicoid technique versus small epineurial window standard end-to-side technique. J Hand Surg (Am) 2002;27:484-492

Ο ρόλος του περινευρικού παραθύρου στην αξονική αναγέννηση μετά από τελικοπλάγια συρραφή, αποτέλεσε αντικείμενο πολλών πειραματικών μελετών. Ο Zhang και οι συν, χρησιμοποιώντας την τεχνική της διπλής σκιαγράφησης πιστοποίησαν την παρουσία πλάγιας εκβλάστησης στην τελικοπλάγια συρραφή και κατέληξαν στο ότι η συγκεκριμένη διαδικασία δεν εξαρτάται από την παρουσία ή όχι περινευρικού παραθύρου.(218) Ο Noah και οι συν, μετά από πειραματική μελέτη κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η παρουσία του επινευρίου και του περινευρίου αποτελεί φραγμό στην αξονική αναγέννηση και ότι η περινευρική συρραφή είναι πιο αποτελεσματική.(10) Ο Walker και συν, αξιολόγησαν την επίδραση του μεγέθους του περινευρικού παραθύρου στην διαδικασία της πλάγιας εκβλάστησης, στην αρχιτεκτονική του αιματο-νευρικού φραγμού και στην λειτουργικότητα του νεύρο-δότη σε πειραματικό μοντέλο τελικοπλάγιας συρραφής.(237) Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το μεγάλο περινευρικό παράθυρο(5mm) έχει μεγαλύτερη επίδραση στην αναγέννηση των νευραξόνων σε σχέση με το μικρό (1mm), χωρίς να προκαλεί ζημιά στο νεύρο-δότη και χωρίς να επηρεάζει την λειτουργική του αποκατάσταση.



Οι Okajima και Terzis αξιολόγησαν με την βοήθεια ηλεκτρονικού μικροσκοπίου, την αξονική αναγέννηση σε πειραματικό μοντέλο τελικοπλάγιας συρραφής κατά τις πρώτες 48 ώρες. Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι στην ομάδα όπου έγινε απλή συρραφή χωρίς περινευρικό παράθυρο, μέσα στις πρώτες 48 ώρες δεν παρατηρήθηκε αξονική αναγέννηση κάτι που διαπιστώθηκε στην ομάδα με την περινευρική συρραφή. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η δημιουργία περινευρικού παραθύρου αποτέλεσε το ερέθισμα για την έγκαιρη έναρξη της αναγεννητικής διαδικασίας.(238)

Α ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΑΞΟΝΙΚΗ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ ΣΤΗΝ ΤΕΛΙΚΟΠΛΑΓΙΑ ΣΥΡΡΑΦΗ

⇒ Ο τύπος του αγωγού που χρησιμοποιείται

Η τελικοπλάγια συρραφή αποτελεί εναλλακτική μέθοδο γεφύρωσης νευρικών ελλειμμάτων αλλά σε περιπτώσεις που το περιφερικό κολόβωμα δεν αρκεί για να γίνει η συρραφή, η χρήση μοσχευμάτων θεωρείται επιβεβλημένη. Η μελέτη του Uikur και των συν, απέδειξε ότι η χρήση νευρικών μοσχευμάτων στην τελικοπλάγια συρραφή, είναι εφικτή και επιπλέον συγκρίσιμη με την χρήση άλλων τύπων μοσχευμάτων όπως το απλό φλεβικό μόσχευμα και το φλεβικό μόσχευμα που είναι γεμάτο με μυ.(239) Στο συγκεκριμένο πείραμα, το ένα άκρο του μοσχεύματος συμπλησιάστηκε τελικοπλάγια με το κνημιαίο νεύρο και το άλλο άκρο με το περιφερικό κολόβωμα του τραυματισμένου νεύρου. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης βάδισης και των ιστολογικών παραμέτρων, ήταν ικανοποιητικά για την ομάδα του νευρικού μοσχεύματος, απογοητευτικά για την ομάδα με την φλέβα και τον μυ ενώ τα καλύτερα αποτελέσματα παρουσίασε η ομάδα στην οποία χρησιμοποιήθηκε φλεβικό μόσχευμα.

Η χρήση φλεβικών μοσχευμάτων παρέχει καλύτερα αποτελέσματα συγκρινόμενη με τα νευρικά μοσχεύματα στην τελικοπλάγια συρραφή, όπως προκύπτει και από την πειραματική μελέτη του Smith και συν.(240) Παρά το γεγονός ότι η χρήση φλεβικών μοσχευμάτων με μυ, έδειξε καλά αποτελέσματα στην τελικοτελική συρραφή και άλλη μελέτη επιβεβαιώνει ότι στην τελικοπλάγια, τα λειτουργικά και μορφομετρικά αποτελέσματα παραμένουν πτωχά (148)

Επιπλέον, ο Lundborg παρατήρησε ότι ο ρυθμός της αξονικής αναγέννησης ήταν μεγαλύτερος στις περιπτώσεις που το μόσχευμα είχε υποστεί Βαλλεριανή εκφύλιση,



σε σχέση με τα φρέσκα μοσχεύματα.(215) Η ερμηνεία που δόθηκε στο φαινόμενο ήταν ότι στην πρώτη περίπτωση λόγω της έναρξης της αποδόμησης του μοσχεύματος, έχει ήδη αρχίσει η λειτουργία των κυττάρων του Schwann και επομένως η αύξηση της συγκέντρωσης των νευροτροφικών παραγόντων, πριν ακόμα γίνει η συμπλησίαση του μοσχεύματος με το νεύρο-δότη. Μια άλλη πιθανή ερμηνεία είναι η αύξηση της έκφρασης και της δραστηριότητας των μεταλλοπρωτεασών.(241) Παρόλ'αυτά, πιο πρόσφατες μελέτες δεν έδειξαν σημαντική διαφορά μεταξύ των τελικοπλαγίων συρραφών που έγιναν με φρέσκα ή με προεκφυλισμένα(predenerated) (1-2 εβδομάδων) μοσχεύματα, όπως αυτό προέκυψε με βάση της ταχύτητα αγωγής της ώσης, το βάρος του επανανευρωμένου μυός και την βίτρωση των αναγεννώμενων νευραξόνων σε διάστημα 2-8 μηνών από την εφαρμογή του πειράματος.(242-244)

Στην περίπτωση που ως μόσχευμα χρησιμοποιήθηκαν αγωγοί σιλικόνης που περιείχαν μαλακά μόρια, δεν παρατηρήθηκε κανένα σημείο νευρικής αναγέννησης. Το περιεχόμενο του αγωγού της σιλικόνης αποτελούσαν αγγεία, συνδετικός ιστός και φλεγμονώδη κύτταρα. Η απουσία των κυττάρων Schwann,ερμηνεύει στην προκειμένη περίπτωση την αποτυχία της νευρικής αναγέννησης. (223)

☛ Η σύνδεση του περιφερικού άκρου του νεύρου σε ένα τελικό όργανο

Η σύνδεση του περιφερικού κολοβώματος του νεύρου σε τελικό όργανο μπορεί να διεγείρει την έκκριση νευροτροφικών παραγόντων και νευροτροφικών ουσιών που με την δράση τους είναι δυνατό να ενισχύσουν το τελικό λειτουργικό αποτέλεσμα.(223)

☛ Η δημιουργία επινευρικού ή περινευρικού παραθύρου

Όπως περιγράφηκε και πιο πάνω, ο ρυθμός της αξονικής αναγέννησης είναι καλύτερος όταν δημιουργείται επινευρικό ή περινευρικό παράθυρο. Επιπλέον, ο Al-Qattan και οι συν, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι στην τελικοπλάγια συρραφή, η δημιουργία περινευρικού παραθύρου επάγει σε μεγαλύτερο βαθμό την νευρική αναγέννηση συγκρινόμενη με το επινευρικό παράθυρο.(223) Βέβαια, η μεγαλύτερη επίδραση που έχει η περινευρική συρραφή στην αναγέννηση, θα μπορούσε να προέρχεται και από το γεγονός ότι αυτός ο τρόπος της συρραφής προκαλεί μεγαλύτερη ζημιά στο νεύρο-δότη.

☛ Οι νευροτροφικοί παράγοντες

Η τελικοπλάγια συρραφή, όπως κάθε τύπος νευρικής συρραφής βρίσκεται κάτω από την επίδραση νευροτροφικών παραγόντων. Τα κύτταρα του Schwann στο



περιφερικό κολόβωμα του νεύρου, πολλαπλασιάζονται και παράγουν μια σειρά παραγόντων με νευροτροφικό ρόλο για την αναγέννηση των νευραξόνων, όπως ο NGF παράγοντας. Ο παράγοντας NGF στην τελικοπλάγια συρραφή, αυξάνει την νευρική αναγέννηση και προάγει την πλάγια εκβλάστηση(245,246) Ο ποσοτικός προσδιορισμός του mRNA μετά από τελικοπλάγια συρραφή, έδειξε ότι παρατηρείται αύξηση της έκφρασης του mRNA του IGF-1 στο επινεύριο και του IGF-2 στο περινεύριο και στο ενδονεύριο. (247) Πειραματικές μελέτες έχουν αποδείξει ότι η χορήγηση των συγκεκριμένων νευροτροφικών παραγόντων επιδρά στην αξονική αναγέννηση και βελτιώνει την λειτουργική αποκατάσταση.(248,249)

Ο επαγωγικός παράγοντας του εγκεφάλου (BDNF) και ο νευροτροφικός παράγοντας της γλοίας (GDNF), βρέθηκε ότι όταν εφαρμόζονται μετά τον τραυματισμό, αυξάνουν την αναγέννηση των νευραξόνων και προστατεύουν το κυτταρικό σώμα του νεύρου από την απόπτωση (250-253)

Συνδυασμός του παράγοντα NGF και του κροσσωτού νευροτροφικού παράγοντα CNTF, σε πειραματικό μοντέλο τελικοπλάγιας συρραφής, βελτίωσε την αναγέννηση των νευραξόνων.(254)

➔ Ο χρόνος αποκατάστασης της βλάβης

Σε πειραματικό μοντέλο τελικοπλάγιας συρραφής αξιολογήθηκε η επίδραση της άμεσης και της καθυστερημένης συρραφής στην αξονική αναγέννηση. Το αποτέλεσμα ήταν ότι στην ομάδα που έγινε άμεση συρραφή, ο αριθμός των αναγεννημένων νευραξόνων ήταν σημαντικά αυξημένος σε σχέση με την ομάδα της καθυστερημένης συρραφής.(255) Επιπλέον, η Western blot ανάλυση και η αντίδραση της αλυσιδωτής πολυμεράσης rPCR, αποδεικνύουν ότι οι νευροτροφικοί παράγοντες BDNF και GDNF και οι υποδοχείς τους, εκφράζονται σε συγκεκριμένες χρονικές στιγμές και σε πρώιμες φάσεις μετά την κάκωση. Σε χρόνιους τραυματισμούς νεύρων, η έκφραση των κυττάρων του Schwann και των νευροτροφινών τους, είναι ελαττωμένη, γεγονός που συνεπάγεται ότι και σε περιπτώσεις καθυστερημένης αποκατάστασης ενός νεύρου, είναι απίθανο η ενδογενής υπερπαραγωγή των νευροτροφινών, να επάγει πλάγια εκβλάστηση μετά από τελικοπλάγια συρραφή του νεύρου.(250,251,252)

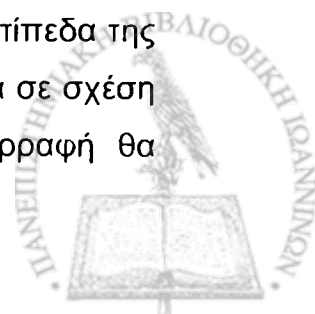


▲ ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΕΠΑΝΑΝΕΥΡΩΣΗ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΤΕΛΙΚΟΠΛΑΓΙΑ ΣΥΡΡΑΦΗ

Η εφαρμογή της τελικοπλάγιας συρραφής στην κινητική επανανεύρωση, έχει αντικρουόμενα αποτελέσματα. Υπάρχουν πειραματικές μελέτες που υποστηρίζουν ότι η λειτουργική αποκατάσταση είναι ελάχιστη (255,256) ή απύουσα (257) και άλλες που έχουν παρουσιάσει αξιοσημείωτη κινητική αποκατάσταση.(258-260) Ο De Sa ανέφερε μια σταδιακή και συνεχή βελτίωση του δείκτη SFI χωρίς σημαντική διαφορά ανάμεσα στην ομάδα της τελικοπλάγιας συρραφής με την ομάδα στην οποία έγινε τελικοτελική συρραφή.(258) Σε πειραματικό μοντέλο, ο Zhao και οι συν, καταγράφοντας κύματα M από τον πρόσθιο κνημιαίο μυ του επίμουσ, μετά από ηλεκτρική διέγερση του ισχιακού νεύρου και μετρώντας την ταχύτητα αγωγής της ώσης καταλήξανε στο συμπέρασμα ότι η νευρική αναγέννηση είναι εφικτή με την τελικο-τελική συρραφή.(234)

Σε άλλο μοντέλο που χρησιμοποιήθηκε το μέσο νεύρο το οποίο συμπλησιάστηκε τελικοπλάγια με το ωλένιο, με επινευρικό παράθυρο, παρουσιάστηκε σε διάστημα 28 εβδομάδων, 20% επαναφορά της δύναμης σύλληψης.(256) Σε παρόμοιο πείραμα, με τα ίδια νεύρα αλλά με περινευρικό παράθυρο η δύναμη σύλληψης ήταν στο 70%, σε 16 εβδομάδες μετά την συρραφή.(261) Στο ίδιο πείραμα διαπιστώθηκε ότι η λειτουργική αποκατάσταση είναι καλύτερη όταν το νεύρο που επιλέγεται ως δότης, νευρώνει συνεργικές ομάδες μυών. Το αποτέλεσμα υποστηρίχτηκε και από άλλες μελέτες.(262,263) Επίσης, η αξονική αναγέννηση μπορεί να βελτιωθεί αν το τραυματισμένο νεύρο και το νεύρο-δότης προέρχονται από το ίδιο επίπεδο στο νωτιαίο μυελό.(264)

Η λειτουργική αποκατάσταση κινητικών νεύρων είναι εφικτή με το μοντέλο της τελικοπλάγιας συρραφής και αποδεικνύεται με την μέτρηση της δραστηριότητας της ακετυλοχολινεστεράσης (ChAT)(265,266) Η ChAT είναι ένζυμο που καταλύει τον σχηματισμό της ακετυλοχολίνης (Ach), συντίθεται στον νευρώνα και μεταφέρεται στους άξονες όπου γίνεται η κατάλυση. Επειδή ανιχνεύεται σε μεγάλες ποσότητες στα κινητικά νεύρα σε σχέση με τα αισθητικά νεύρα, μετρήσεις του ενζύμου χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της λειτουργικού επιπέδου των κινητικών νεύρων στην κλινική πράξη και επομένως και για την αξιολόγηση του βαθμού της νευρικής αναγέννησης. Τα πειραματικά μοντέλα απέδειξαν τελικά, ότι τα επίπεδα της ChAT στην τελικοτελική συρραφή δεν είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τα επίπεδα της τελικοπλάγιας και επομένως η τελικοπλάγια συρραφή θα



μπορούσε να αποτελέσει εναλλακτική λύση για την αντιμετώπιση κακώσεων περιφερικών νεύρων.

Η τελικοπλάγια συρραφή μπορεί να εφαρμοστεί και σε αισθητικά νεύρα. Στο συμπέρασμα αυτό, κατέληξαν ο Tarasidis και οι συν, με τη χρήση της ανίχνευσης με υπεροξειδάση (horseradish peroxidase) με την οποία εντοπίστηκαν ίχνη στην οπίσθια ρίζα του νωτιαίου μυελού, ενώ δεν υπήρχαν καθόλου ίχνη στους κινητικούς νευρώνες αποδεικνύοντας ότι η πλάγια εκβλάστηση μόνο των αισθητικών νευρώνων είναι εφικτή στην τελικοπλάγια συρραφή.(267)

^ ΤΕΛΙΚΟΠΛΑΓΙΑ ΣΥΡΡΑΦΗ & ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

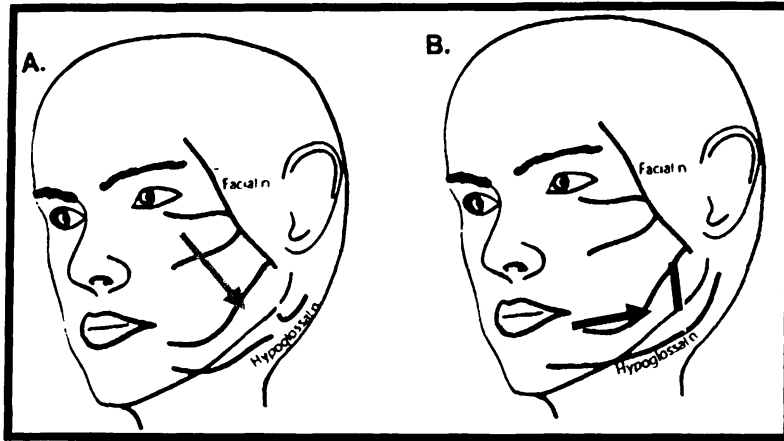
Η τελικοπλάγια συρραφή έχει χρησιμοποιηθεί στην κλινική πράξη για την αποκατάσταση παράλυσης προσωπικού νεύρου, για παραλύσεις βραχιονίου πλέγματος και για τραυματισμούς δακτυλικών νεύρων με ικανοποιητικά ή αποδεκτά αποτελέσματα.

Η μεγαλύτερη σειρά κλινικών εφαρμογών της μεθόδου, ανήκει στον Mennen, ο οποίος αναφέρει ότι χρησιμοποίησε την τελικοπλάγια συρραφή σε 50 περιστατικά για την αποκατάσταση ωλενίου, μέσου, μυοδερματικού και δακτυλικών νεύρων. Το αποτέλεσμα ήταν μείωση του σχηματισμού επώδυνου νευρώματος, ηλεκτροφυσιολογική απόδειξη κινητικής και αισθητικής επανανεύρωσης και βελτίωση της στατικής διάκρισης των δυο σημείων.(268) Η τελικοπλάγια συρραφή παρουσιάζει ικανοποιητικά κλινικά αποτελέσματα όταν εφαρμόζεται για την αποκατάσταση τραυματικών κακώσεων των δακτυλικών νεύρων.(269,270) Οι Amir και Moharram χρησιμοποίησαν την τελικοπλάγια συρραφή σε 11 περιστατικά με κακώσεις του βραχιονίου πλέγματος με ικανοποιητικά λειτουργικά αποτελέσματα.(271)

Ιδιαίτερο κλινικό ενδιαφέρον παρουσιάζει η χρησιμοποίηση της τελικοπλάγιας συρραφής για την αποκατάσταση παράλυσης προσωπικού νεύρου. Το υπογλώσσιο νεύρο χρησιμοποιείται ως μόσχευμα που συμπλησιάζεται τελικοπλάγια με τον κλάδο του προσωπικού νεύρου. Ο May και οι συν, ανέφεραν ότι τα μετεγχειρητικά αποτελέσματα που συμπεριλάμβαναν στην αξιολόγηση τις μιμικές κινήσεις του προσώπου, την συμμετρία του χαμόγελου, το κλείσιμο των οφθαλμών και τον τόνο των μυών, ήταν άριστα στο 80% των περιπτώσεων.(272) Η μερική νευρεκτομή του υπογλωσσίου νεύρου και η χρησιμοποίησή του ως μόσχευμα δεν μειώνει τα



λειτουργικά αποτελέσματα και επιπλέον διατηρεί και ένα μέρος της λειτουργικότητας του νεύρου-δότη.(Εικ.36)



Εικ.36 Η τελικοπλάγια συρραφή βρίσκει κλινική εφαρμογή σε παράλυση του προσωπικού νεύρου. Χρησιμοποιείται το υπογλώσσιο νεύρο κατόπιν μερικής νευρεκτομής ή μικρής επινευροτομής (κίτρινο βέλος) ή κλάδος του νεύρου (κόκκινο βέλος) που συμπλησιάζεται τελικοπλάγια με τον τραυματισμένο κλάδο του προσωπικού νεύρου.(May M, et al. Hypoglossal-facial nerve interpositional-jump graft for facial reanimation without tongue atrophy. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1991;104:818-825)

Η τελικοπλάγια συρραφή έχει εφαρμοστεί και για την αντιμετώπιση επώδυνων νευρωμάτων σε πειραματικό αλλά και σε κλινικό επίπεδο με ενθαρρυντικά αποτελέσματα.(273,274) Σύμφωνα με πρόσφατη μελέτη, η εφαρμογή της τελικοπλάγιας συρραφής μπορεί να παρακάμψει την περιοχή του νευρώματος, να διευκολύνει την λειτουργική αναγέννηση και επομένως θα μπορούσε να αποτελέσει μια ενδιαφέρουσα εναλλακτική λύση σε παρόμοιες περιπτώσεις.

Μια παραλλαγή της τελικοπλάγιας συρραφής αποτελεί η πλαγιοπλάγια συρραφή η οποία αρχικά εφαρμόστηκε σε πειραματικό επίπεδο, παρουσίασε καλύτερα λειτουργικά αποτελέσματα από την τελικοπλάγια(275) και επιπλέον βρήκε και κλινική εφαρμογή. Ο Yuksel και οι συν την χρησιμοποίησαν για την αποκατάσταση της μειωμένης προστατευτικής αισθητικότητας με αποδεκτά αποτελέσματα.(276)

Η πλαγιοπλάγια συρραφή θα μπορούσε ίσως να εφαρμοστεί σε περιπτώσεις εκτομής όγκων όπου η διατήρηση της λειτουργικότητας του νεύρου θα είχε ιδιαίτερη σημασία.



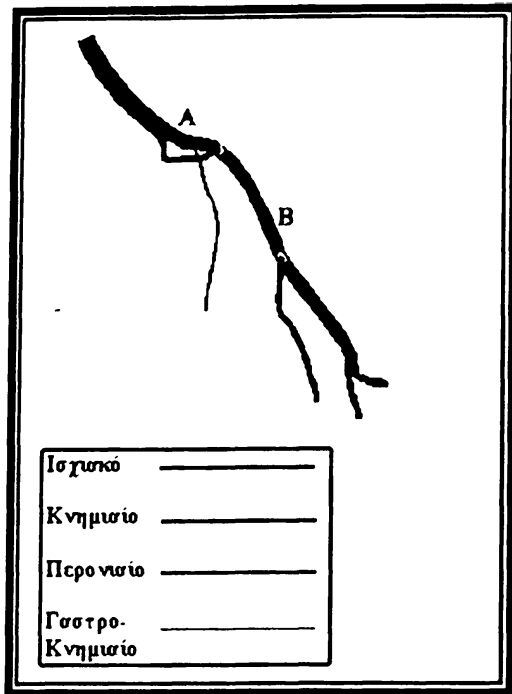
Ο Gatta σύγκρινε την τελικοπλάγια με την πλαγιοπλάγια τεχνική σε πειραματικό μοντέλο κονίκλου. Η ιστολογική μελέτη απέδειξε την παρουσία καλύτερου μοντέλου αναγέννησης νευρικών ινών στην ομάδα με την πλαγιοπλάγια συρραφή.(277)

Τελικά, η τελικοπλάγια συρραφή των περιφερικών νεύρων είναι σημαντικό θεραπευτικό μέσο που μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε ειδικές περιπτώσεις όπου οι αποδεκτές χειρουργικές μέθοδοι όπως τα νευρικά μοσχεύματα δεν είναι δυνατό να εφαρμοστούν. Με βάση τα διεθνή βιβλιογραφικά δεδομένα η κλινική εφαρμογή της τελικοπλάγιας συρραφής τουλάχιστον ως μέθοδος ρουτίνας, δεν έχει καθιερωθεί. Μόνο ο χρόνος θα μπορέσει να αποδείξει την αποτελεσματικότητά της και να την εντάξει στην φαρέτρα του χειρουργού για την αντιμετώπιση των κακώσεων των περιφερικών νεύρων.

Λ ΔΙΠΛΗ ΤΕΛΙΚΟΠΛΑΓΙΑ ΣΥΡΡΑΦΗ

Παρά την πρόοδο που έχει σημειωθεί στον τομέα της μοριακής βιολογίας τόσο για την καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών της νευρικής αναγέννησης όσο και για την σύσταση των υλικών που μπορεί να χρησιμοποιηθούν αποτελεσματικά για την αντιμετώπιση κακώσεων των περιφερικών νεύρων, δεν έχει βρεθεί ακόμη ο κατάλληλος αγωγός που θα έχει την δυνατότητα να καλύπτει αποτελεσματικά τα νευρικά ελλείμματα και να εξασφαλίζει το ιδανικό περιβάλλον για την αποκατάστασή τους. Ο μοναδικός αγωγός που θα μπορούσε να παρέχει μηχανική υποστήριξη στους αναγεννώμενους νευράξονες καθώς και το ιδανικό βιολογικό υπόστρωμα για την ασφαλή γεφύρωση του νευρικού ελλείμματος δεν θα μπορούσε να είναι άλλος από τον κορμό ενός υγιούς νεύρου. Έτσι γεννήθηκε η ιδέα της διπλής τελικοπλάγιας συρραφής. Στην περίπτωση αυτή, τόσο το κεντρικό όσο και το περιφερικό τμήμα του νεύρου που έχει διατμηθεί, συμπλησιάζονται με τελικοπλάγιο τρόπο, στον κορμό ενός υγιούς γειτονικού νεύρου.(Εικ.37)



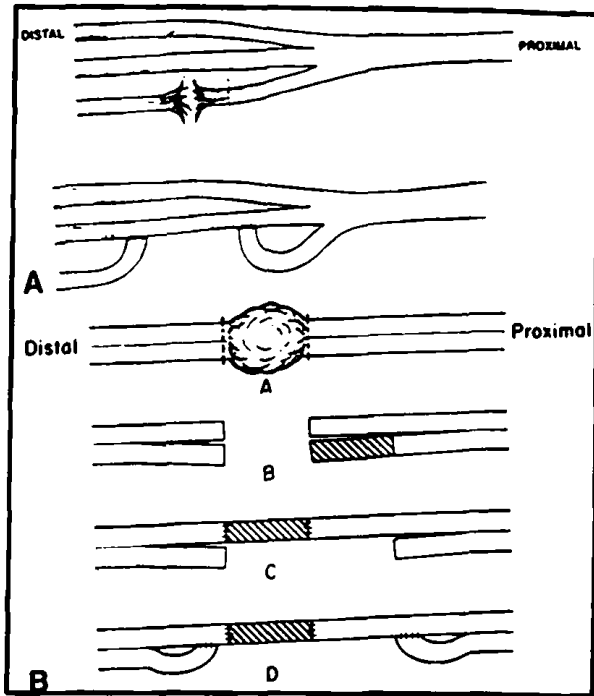


Εικ.37 Μοντέλο διπλής τελικοπλάγιας συρραφής. Το κεντρικό και το περιφερικό κολόβωμα του τραυματισμένου νεύρου, συμπλησιάζονται τελικοπλάγια στον κορμό του υγιούς νεύρου.

Η τεχνική αυτή, θεωρητικά εξασφαλίζει ένα άριστο περιβάλλον για τους νευράξονες και ένα φυσικό αγωγό που θα γεφυρώσει αλλά και θα προσανατολίσει τους νευράξονες ανάμεσα στο κεντρικό και το περιφερικό κολόβωμα. Η διπλή τελικοπλάγια συρραφή θα μπορούσε να αποτελέσει μια εναλλακτική μέθοδο για την γεφύρωση των νευρικών ελλειμμάτων ώστε να περιοριστεί η χρήση των νευρικών μοσχευμάτων με ό,τι αυτό συνεπάγεται.

Η μέθοδος πρωτοεφαρμόστηκε γύρω στα 1920, σε πειραματικό επίπεδο από διαφορετικούς ερευνητές, οι οποίοι απέδειξαν την αποτελεσματικότητα της μεθόδου για την κάλυψη νευρικών ελλειμμάτων.(278,279)

Με σκοπό να μελετήσει την αποτελεσματικότητα της διπλής τελικοπλάγιας συρραφής στην πρόληψη και την θεραπεία επώδυνων νευρωμάτων, ο Al-Qattan, εφάρμοσε το μοντέλο αρχικά σε πειραματικό επίπεδο, συμπλησιάζοντας το περιφερικό και το κεντρικό κολόβωμα κνημιαίου νεύρου στο περωναίο.(274) Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι στο περιφερικό άκρο του κνημιαίου νεύρου, υπήρχαν σημεία αξονικής αναγέννησης.(**Εικ.38**)



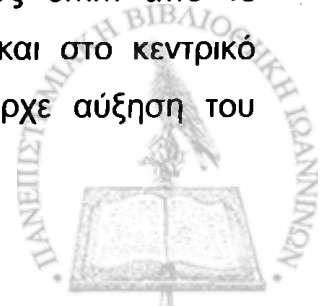
Εικ.38 Η διπλή τελικοπλάγια συρραφή προτείνεται για την πρόληψη και την θεραπεία επώδυνων νευρωμάτων.

A. Τραυματισμός που επηρεάζει ένα κλάδο του επιπολής κερκιδικού ν.
B. Νεύρωμα στον βασικό κορμό του επιπολής κερκιδικού ν.

(Al-Qattan MM. Prevention and treatment of painful neuromas of the superficial radial nerve by end-to-side nerve repair concept: An experimental study and preliminary clinical experience. *Microsurgery*. 2000;20:99-104)

Δεδομένου ότι τα πειραματικά αποτελέσματα ήταν ενθαρρυντικά, το μοντέλο εφαρμόστηκε στη συνέχεια και στην κλινική πράξη, όπου περιφερικό και κεντρικό κολόβωμα του επιπολής κλάδου του κερκιδικού συμπλησιάστηκε τελικοπλάγια με γειτονικό κλάδο. Η μετεγχειρητική παρακολούθηση των ασθενών διήρκησε 16 μήνες, οι ασθενείς δεν ανέφεραν πόνο και σε καμία περίπτωση δεν παρουσιάστηκε υποτροπή του νευρώματος.(274) Με βάση τα κλινικά αποτελέσματα, υποστηρίζεται ότι η τεχνική είναι κατάλληλη να εφαρμοστεί σε συνθλιπτικές κακώσεις περιφερικών νευρών ή σε επώδυνα νευρώματα που αφορούν τον κύριο κορμό των αισθητικών νευρών.

Αντί για υγιές γειτονικό νεύρο, ο Kassabian και συν, χρησιμοποίησαν ως αγωγό, αυτόλογο νευρικό μόσχευμα (by-pass graft). Αυτή η παραλλαγή της μεθόδου, εφαρμόστηκε σε ένα νεαρό ασθενή με νεύρωμα σε συνέχεια του περνιαίου νεύρου, μετά από αρθροσκοπικό χειρουργείο, με καλά λειτουργικά αποτελέσματα.(280) Ωστόσο, χωρίς ιστολογική επιβεβαίωση, δεν είναι ξεκάθαρο αν οι αναγεννώμενοι νευράξονες περνάνε από την περιοχή της τελικοπλάγιας συρραφής ή διαμέσω του νευρώματος. Η ίδια επιστημονική ομάδα, χρησιμοποίησε αυτή τη μέθοδο και σε πειραματικό μοντέλο σύνθλιψης.(281) Στην προκειμένη περίπτωση, το ισχιακό νεύρο του επίμουσ υπέστη σύνθλιψη και ένα μόσχευμα μήκους 8mm από το κερκιδικό νεύρο, συμπλησιάστηκε τελικοπλάγια στο περιφερικό και στο κεντρικό τμήμα του ισχιακού νεύρου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υπήρχε αύξηση του



αριθμού των μυελινοποιημένων νευραξόνων στο περιφερικό άκρο του ισχιακού νεύρου, ότι αξονική ανάπτυξη παρατηρήθηκε στο ίδιο το νευρικό μόσχευμα και ότι υπήρξε βελτίωση της λειτουργικότητας του άκρου, σε σχέση με την ομάδα ελέγχου(απλή σύνθλιψη).

Ο McCallister και οι συν, παρουσίασαν επίσης αποτελέσματα από την εφαρμογή της μεθόδου σε πειραματικό μοντέλο επίμουσ.(282) Το περονιαίο νεύρο είχε διατμηθεί και τα δυο κολοβώματα είχαν συρραφεί τελικοπλάγια στον κορμό του κνημιαίου νεύρου, χωρίς την δημιουργία επινευρικού παραθύρου.

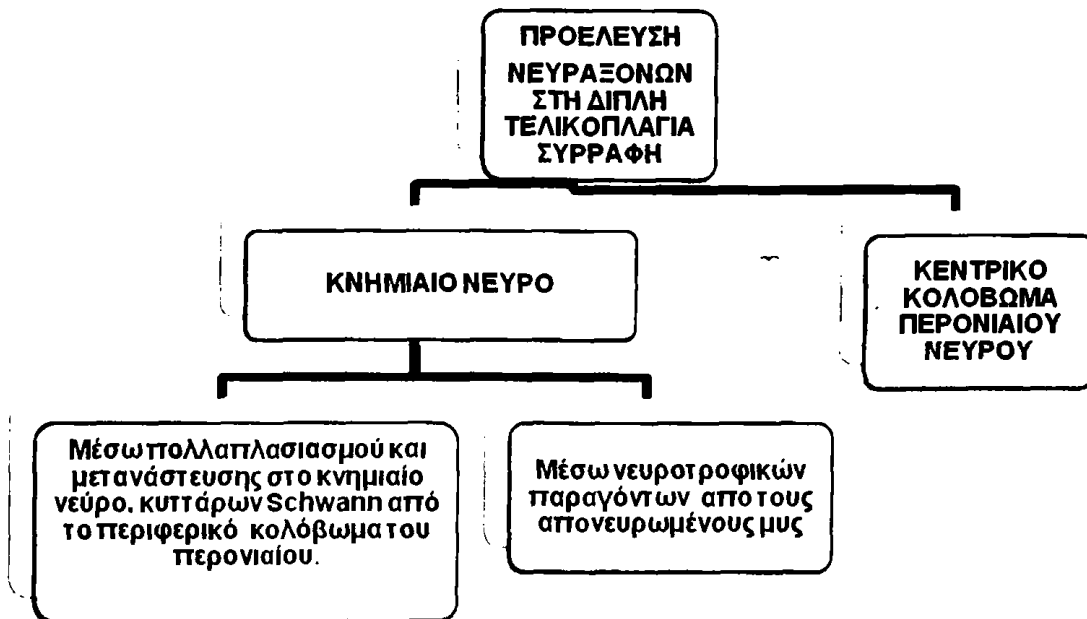
Οι εκτιμήσεις έγιναν 12 εβδομάδες μετά το πέρας του χειρουργείου και οι συγγραφείς κατέληξαν σε 3 βασικά συμπεράσματα: Ότι το επινεύριο ενός υγιούς νεύρου μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την γεφύρωση νευρικών ελλειμμάτων, ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στην λειτουργική αποκατάσταση του νεύρου όταν η μέθοδος της διπλής τελικοπλάγιας συρραφής συγκριθεί με την χρήση αυτόλογων μοσχευμάτων και ότι με βάση τα αποτελέσματα των ιστολογικών εξετάσεων, η μέθοδος δεν προκαλεί βλάβη στο κνημιαίο νεύρο. Οι συγγραφείς συμπεραίνουν ότι η μέθοδος θα μπορούσε να αποτελεί εναλλακτική λύση για την αντιμετώπιση νευρικών ελλειμμάτων.

Ο Ozbek και οι συν, επανέλαβαν το πειραματικό μοντέλο που περιγράφηκε δημιουργώντας επινευρικά παράθυρα στα σημεία συρραφής των κολοβωμάτων του περονιαίου με το κνημιαίο. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο αριθμός των μυελινοποιημένων νευραξόνων ήταν σημαντικά μεγαλύτερος στην ομάδα της διπλής τελικοπλάγιας συρραφής συγκρινόμενος με την απλή τελικοπλάγια και με την ομάδα με το αυτόλογο νευρικό μόσχευμα. Η λειτουργική αποκατάσταση του περονιαίου νεύρου, ήταν παρόμοια μεταξύ της ομάδας με την διπλή συρραφή και της ομάδας με το μόσχευμα.(283)

Πρόσφατη πειραματική μελέτη που χρησιμοποιεί το μοντέλο της διπλής τελικοπλάγιας συρραφής, απαντά στο ερώτημα αν η μέθοδος μπορεί να εφαρμοστεί για να γεφυρώσει νευρικά ελλείμματα στους επίμους.(284) Με βάση τα λειτουργικά, μορφομετρικά και ιστολογικά αποτελέσματα, το συμπέρασμα που προκύπτει είναι ότι η μέθοδος μπορεί να παρέχει ικανοποιητική λειτουργική ανάνηψη του τραυματισμένου νεύρου, χωρίς να προκαλεί βλάβη στο νεύρο-δότη. Στην ίδια μελέτη, ο Eren και οι συν, προκειμένου να εντοπίσουν την προέλευση των ινών στο περιφερικό κολόβωμα, χρησιμοποίησαν την τεχνική της σήμανσης με υπεροξειδάση



(horseradish peroxidase). Μετά την σήμανση των αξόνων στο περιφερικό κολόβωμα, μεγάλη συγκέντρωση σεσημασμένων ινών παρατηρήθηκε στα σημεία συρραφής και κυρίως στο κεντρικό κολόβωμα του περονιαίου νεύρου, ενώ στο τμήμα του κνημιαίου πάνω από την κεντρική συρραφή, δεν υπήρχαν ίχνη. Η μελέτη απέδειξε ότι οι ίνες του περιφερικού κολοβώματος προέρχονται κυρίως από το κεντρικό κολόβωμα του περονιαίου νεύρου που χρησιμοποίησε τον κορμό του κνημιαίου νεύρου ως αγωγό. Καθώς στο παρόν πειραματικό μοντέλο, εμπεριέχεται η τελικοπλάγια συρραφή, δεν αποκλείεται η προέλευση κάποιων νευραξόνων να είναι από το ίδιο το κνημιαίο νεύρο. Δηλαδή, η επαφή του περιφερικού κολοβώματος του περονιαίου νεύρου με το κνημιαίο, να πυροδότησε μια αλληλουχία γεγονότων: Τον πολλαπλασιασμό και την μετανάστευση των κυττάρων του Schwann στο σημείο επαφής με το κνημιαίο νεύρο και την έναρξη της διαδικασίας αναγέννησης.(Εικ.39) Επιπλέον, νευροτροφικοί παράγοντες από τους απονευρωμένους μυς και το περιφερικό νευρικό κολόβωμα, μπορεί να επάγουν και να ενισχύουν την νευρική αναγέννηση. Επίσης, πειραματικές μελέτες έχουν δείξει ότι στην τελικοπλάγια συρραφή, το επινευρικό παράθυρο οδηγεί σε αύξηση του ρυθμού αναγέννησης των νευραξόνων με την προϋπόθεση ότι γίνεται επιμελώς ώστε να αποφευχθεί ζημιά στο νεύρο-δότη.(22)



Εικ 39. Πιθανές πηγές προέλευσης των αναγεννώμενων νευραξόνων στο μοντέλο της διπλής τελικοπλάγιας συρραφής.



ΛΟ ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ

Η ερυθροποιητίνη, αρχικά αναγνωρίστηκε ως αιμοποιητικός παράγοντας που επιδρά στην επιβίωση και στην διαφοροποίηση των ερυθροκυττάρων, αναστέλλοντας την απόπτωση των πρόδρομων μορφών των κυττάρων στον μυελό των οστών και υποστηρίζοντας την διαφοροποίησή τους σε νορμοβλάστες, καθώς τον πολλαπλασιασμό τους.(285) Η διαδικασία της ερυθροποίησης οδηγεί σε σταδιακή βελτίωση της παροχής των ιστών σε οξυγόνο.

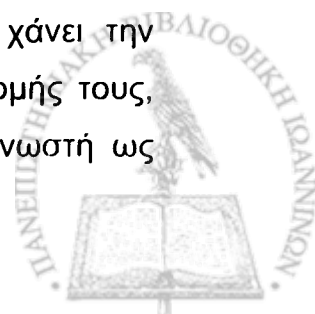
Η ουσία πρωτοπεριγράφηκε από τους Carnot και Deflandre, το 1906 και ενώ υπήρξαν στη συνέχεια αρκετές μελέτες που υποστήριζαν τα ευρήματά τους, η τελική επιβεβαίωση για τον ρόλο και την δράση της ως αιμοποιητικού παράγοντα, έγινε το 1936 από τον Hjort.(286-287)

Το 1985, δημιουργήθηκε η ανασυνδυασμένη ανθρώπινη ερυθροποιητίνη με την κλωνοποίηση του γονιδίου και έκτοτε αναγνωρίστηκε από τον Εθνικό Οργανισμό Φαρμάκων, σαν ουσία που μπορεί να χορηγείται για την αντιμετώπιση της αναιμίας ασθενών με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, του καρκίνου, των χρονίων φλεγμονωδών νόσων και της μόλυνσης από τον ιό της ανοσοανεπάρκειας.(288,289) Η ερυθροποιητίνη παράγεται όχι μόνο από τους νεφρούς αλλά και από άλλους ιστούς συμπεριλαμβανομένου και του νευρικού συστήματος.

ΛΗΜΙΚΗ ΔΟΜΗ

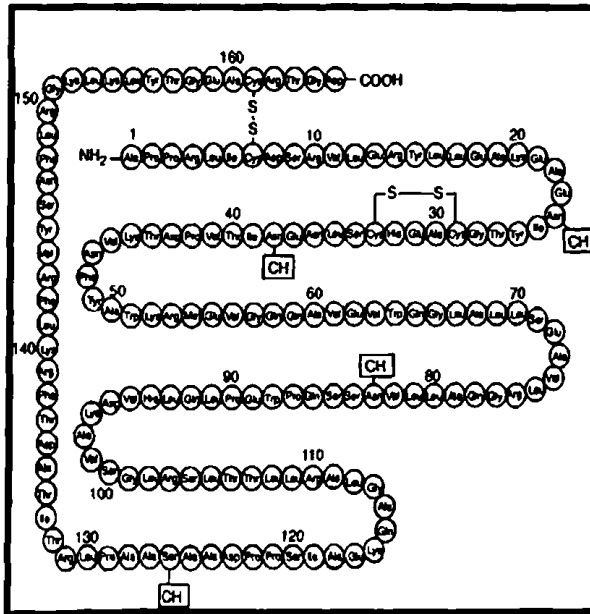
Η ερυθροποιητίνη είναι γλυκοπρωτεΐνη που αποτελείται από 165 αμινοξέα και 4 καρβοξυλικές ομάδες.(Εικ.40) Αποτελεί μέλος της ευρύτερης ομάδας των κυτοκινών που περιλαμβάνει την ορμόνη ανάπτυξης (GH), την προλακτίνη, τις ιντερλευκίνες 2 και 7, τον ανασταλτικό παράγοντα της λευχαιμίας και τον κροσσωτό νευροτροφικό παράγοντα.(290,291)

Ένα σημαντικό στοιχείο στη δομή της, είναι η παρουσία δύο δισουλφιδικών δεσμών, ενός που συνδέει την κυστεΐνη του αμινοξέος 6 με την κυστεΐνη του αμινοξέος 161, και ενός δεύτερου δεσμού, που συνδέει τις κυστεΐνες 29 και 33. Οι δισουλφιδικοί δεσμοί, είναι λειτουργικά πολύ σημαντικοί γιατί η παρουσία τους εξασφαλίζει το σωστό σχήμα του μορίου που του επιτρέπει να συνδεθεί με τον αντίστοιχο υποδοχέα. Αν κάποιος από αυτούς τους δεσμούς σπάσει, το μόριο χάνει την βιολογική του δραστηριότητα. Τα μόρια της ερυθροποιητίνης λόγω της δομής τους, έχουν την τάση να συναθροίζονται, μέσω μιας διαδικασίας που είναι γνωστή ως



υδροφοβική αλληλεπίδραση. Όταν αυτό συμβεί, τα μόρια της ερυθροποιητίνης χάνουν ένα μεγάλο μέρος της δραστητικότητάς τους.

Περίπου το 60% του μορίου της ερυθροποιητίνης είναι πρωτεϊνικό και το υπόλοιπο καρβοξυλικό. Κάθε μία από τις τέσσερις καρβοξυλικές ομάδες αποτελείται από μικρές αλυσίδες σακχάρων, κάποιες από τις οποίες καταλήγουν σε σιαλικό οξύ. Η παρουσία του σιαλικού οξέος στις καρβοξυλικές ομάδες σχετίζεται με τον ρυθμό κάθαρσης της ερυθροποιητίνης από το ήπαρ.

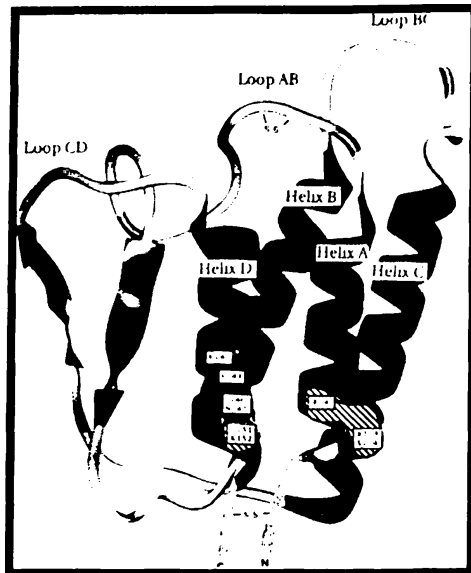


Εικ.40 Η βασική δομή του μορίου της ερυθροποιητίνης. (Lappin T: The cellular biology of erythropoietin receptors. The oncologist 2003;8:15-18)

Σε μια προσπάθεια να προσδιοριστούν τα πιο σημαντικά λειτουργικά τμήματα της ερυθροποιητίνης, ο Went και οι συν. αντικατέστησαν αμινοξέα από συγκεκριμένες θέσεις των ελίκων της ερυθροποιητίνης, με άλλα, ώστε να διαπιστωθεί αν υπάρχει ή όχι αλλαγή στη βιοενεργότητα του μορίου.(292) Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η αργινίνη στη έλικα A, η αργινίνη και η σερίνη στην έλικα C, η λυσίνη και η γλυκίνη στην έλικα D, σχετίζονται άμεσα με την βιολογική δραστηριότητα του μορίου και ότι η αντικατάστασή τους είχε σαν αποτέλεσμα την μείωση της δραστητικότητας του μορίου.

(Εικ.41)



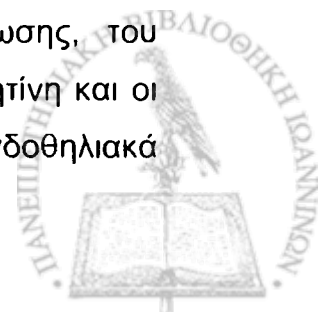


Εικ.41 Τρισδιάστατη δομή της ερυθροποιητίνης. Παρουσιάζονται οι λειτουργικά σημαντικοί τομείς. Η Arg¹⁴ στην έλικα A, η Arg¹⁰³ και η Ser¹⁰⁴ στην έλικα C, Gly¹⁵¹, Lys¹⁵² στην έλικα D. (Went και συν: Erythropoietin structure-Function relationships. J Biol Chem. 1994; 269: 22839-22846)

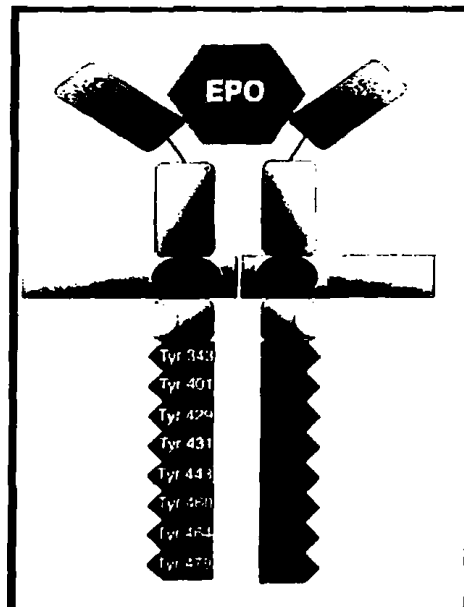
Ο υποδοχέας της ερυθροποιητίνης είναι κυτοκίνη, ανήκει στην οικογένεια των κυτοκινών-υποδοχέων τύπου I, όπου κάθε μέλος της οικογένειας συνδέεται με ένα συγκεκριμένο αυξητικό παράγοντα ή με μια ορμόνη. Αποτελείται από ένα εξωκυττάριο, ένα διαμεμβρανικό και ένα ενδοκυττάριο τμήμα. (Εικ.42) Η μελέτη της δομής του υποδοχέα ανέδειξε δυο διακριτές δομές στο εξωπλασματικό τμήμα του:

Μια δομή με αλληλουχία 4 κυστεϊνών στη σειρά και μια δεύτερη, διαμεμβρανική με 20 αμινοξέα με την επαναλαμβανόμενη αλληλουχία Trp-Ser-X-Trp-Ser όπου X: οποιοδήποτε αμινοξύ. (293) Οι δομικές περιοχές που σχετίζονται άμεσα με την λειτουργικότητα του υποδοχέα είναι δυο και παρουσιάζουν αντίθετη δράση: Μια περιοχή με 100 αμινοξέα κοντά στη κυτταρική μεμβράνη ικανή για την επαγωγή σημάτων (πχ. πολλαπλασιασμός κυττάρων) και μια δεύτερη προς το εξωκυττάριο τμήμα του μορίου, που αναστέλλει την έκφραση των παραπάνω σημάτων. (293)

Ένα μόριο ερυθροποιητίνης συνδέεται με δύο υποδοχείς στην κυτταρική επιφάνεια. Αυτό, έχει ως αποτέλεσμα την φωσφορυλίωση των τυροσινών στο ενδοκυττάριο τμήμα και την έναρξη ενός καταρράκτη αντιδράσεων που οδηγούν στην έκφραση των γονιδίων στον πυρήνα και επομένως στη ρύθμιση της επιβίωσης, του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των κυττάρων. Η ερυθροποιητίνη και οι υποδοχείς της, εκφράζονται και σε άλλους ιστούς συμπεριλαμβάνοντας ενδοθηλιακά



κύτταρα, κύτταρα του εντερικού σωλήνα, μυς, (σκελετικούς, λείους και καρδιακούς) κύτταρα που παράγουν ινσουλίνη, πλακουντιακά κύτταρα και κύτταρα του νευρικού συστήματος.(294-298)

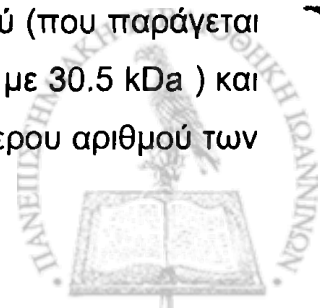


Εικ.42 Η δομή των υποδοχέων της ερυθροποιητίνης. (Lappin T: The cellular biology of erythropoietin receptors. The oncologist 2003;8(suppl 1):15-18)

Α ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗ & ΝΕΥΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Η έκφραση της ερυθροποιητίνης στο νευρικό σύστημα, γίνεται από νευρώνες, ενδοθηλιακά και νευρογλοιακά κύτταρα του εγκεφάλου και αλλάζει σημαντικά κατά την διάρκεια της ανάπτυξης του εγκεφάλου, αποδεικνύοντας την σπουδαιότητα της ουσίας στην νευροανάπτυξη και στην ομοίωση του εγκεφάλου.(299)

Η απουσία των υποδοχέων της ερυθροποιητίνης κατά την διάρκεια της εμβρυογένεσης οδηγεί σε μείωση του αριθμού των πρόδρομων μορφών των νευρικών κυττάρων και στην αύξηση της νευρωνικής απόπτωσης.(290) Έκφραση του mRNA των υποδοχέων της ερυθροποιητίνης, έχει βρεθεί σε καλλιέργειες ανθρώπινων νευρώνων, σε αστροκύτταρα και μικρογλοία.(291) Η συγκέντρωση των υποδοχέων της ερυθροποιητίνης στον εγκέφαλο του ενήλικα είναι 30 φορές μικρότερη από την συγκέντρωση στους αιμοποιητικούς ιστούς. Η ερυθροποιητίνη που παράγεται από τον εγκέφαλο, συγκρινόμενη με εκείνη του ορού (που παράγεται από τους νεφρούς) είναι μικρότερη σε μέγεθος (30.3kDa σε σχέση με 30.5 kDa) και πιο ενεργή in vitro σε μικρότερες συγκεντρώσεις, λόγω του μικρότερου αριθμού των



σιαλικών οξέων στις καρβοξυλικές ομάδες. Στον εγκέφαλο, τα αστροκύτταρα παράγουν ερυθροποιητίνη, η οποία τελικά συνδέεται και δρα σε γειτονικά κύτταρα λειτουργώντας με παρακρινή τρόπο ενώ συγχρόνως υπάρχουν και κύτταρα του εγκεφάλου που δημιουργούν την δική τους ερυθροποιητίνη, η οποία δρα με αυτοκρινή τρόπο. Η παρακρινής δράση της ερυθροποιητίνης, δεν επιτρέπει στο μόριο να εισέλθει στην κυκλοφορία και να αποβληθεί από τους νεφρούς, καθιστώντας έτσι την ύπαρξη περισσότερων ομάδων σιαλικού οξέος μη απαραίτητη, δεδομένου ότι το σιαλικό οξύ είναι απαραίτητο για την κάθαρση του μορίου από το ήπαρ.

^ ΝΕΥΡΟΤΡΟΦΙΚΟΣ & ΝΕΥΡΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ

Ο πιο γνωστός νευροπροστατευτικός ρόλος της ερυθροποιητίνης είναι η έμμεση προστασία που παρέχει στην λειτουργία του εγκεφάλου από την υποξία. Σύμφωνα με ηλεκτροφυσιολογικές και νευροφυσιολογικές μελέτες, η χορήγηση της ανθρώπινης ανασυνδυασμένης ερυθροποιητίνης, αυξάνει προοδευτικά τον αιματοκρίτη και επομένως προστατεύει τον εγκέφαλο από την υποξία. Παρόλ' αυτά, υπάρχουν μελέτες που υποστηρίζουν ότι η ουσία μπορεί να έχει έναν άμεσο νευροτροφικό και νευροπροστατευτικό ρόλο.

Ο Chin και οι συν, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η υποξία *in vitro* και η αναιμία *in vivo* είναι δυο παράγοντες που επάγουν την έκφραση της ερυθροποιητίνης και των υποδοχέων της και πιθανώς αυξάνουν την ευαισθησία των υποδοχέων της ΕΠΟ στην ερυθροποιητίνη.(300) Το γεγονός αυτό συνεπάγεται ότι σε περιοχές που περιέχουν νευρώνες ευάλωτους σε νευρική βλάβη όπως ο ιππόκαμπος και ο κροταφικός λοβός, σε περιπτώσεις υποξίας, ισχαιμίας ή εγκεφαλικής αιμορραγίας, η ερυθροποιητίνη θα μπορούσε να δράσει ως νευροπροστατευτικός και νευροτροφικός παράγοντας.

Σε περιπτώσεις υποξίας, υπογλυκαιμίας και ισχαιμίας, η αύξηση του γλουταμικού είναι ο κύριος παράγοντας που ευθύνεται για τον θάνατο του νευρώνα. Η αύξηση του παράγοντα στις περιπτώσεις αυτές, οδηγεί σε ενδοκυττάρια αύξηση της συγκέντρωσης του ασβεστίου με αποτέλεσμα την έναρξη ενός καταρράκτη ενζυματικών αντιδράσεων που οδηγούν στον κυτταρικό θάνατο.(301) Ο Morishida και οι συν, απέδειξαν ότι η ερυθροποιητίνη προστατεύει καλλιέργειες νευρώνων από την τοξικότητα του γλουταμικού με δοσοεξαρτώμενο τρόπο: Μικρή περίοδος



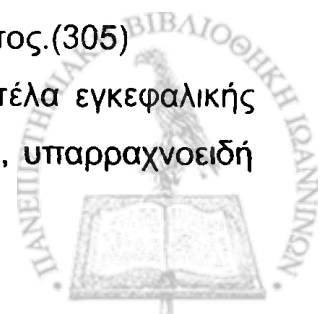
επώασης των κυττάρων (5 min) με ερυθροποιητίνη, επάγει νευροπροστατευτικά φαινόμενα ενάντια στη τοξικότητα από το γλουταμικό, αν και μακρά περίοδος επώασης (8ώρες) είναι απαραίτητη για να μπορέσουν τα κύτταρα να γίνουν ανθεκτικά στο γλουταμικό, υποδεικνύοντας ότι η σύνθεση του RNA και των πρωτεϊνών είναι απαραίτητη για αυτή την διαδικασία. (302)

Ο Vairano και οι συν, μελέτησαν τις νευροτροφικές και νευροπροστατευτικές ιδιότητες της ερυθροποιητίνης, σε πρωτογενείς καλλιέργειες μικρογλιακών κυττάρων και αστροκυττάρων.(303) Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι η ερυθροποιητίνη παρουσιάζει διεγερτική δράση σε ότι αφορά τον αριθμό και την βιωσιμότητα των μικρογλιακών κυττάρων *in vitro*, ενώ εμφανίζει ασθενέστερη επίδραση στα αστροκύτταρα. Η έκκριση τροφικών παραγόντων από τα αστροκύτταρα είναι απαραίτητη για την εξασφάλιση της βιωσιμότητας των μικρογλιακών κυττάρων και επομένως η αφαίρεσή τους από την καλλιέργεια θα έπρεπε να ταυτίζεται με απόπτωση των μικρογλοιακών κυττάρων, γεγονός όμως που αποτρέπεται από την νευροπροστατευτική δράση της ερυθροποιητίνης.

Ο Siren και οι συν, αξιολόγησαν την επίδραση και τον πιθανό νευροπροστατευτικό ρόλο της ερυθροποιητίνης στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο, σε πειραματικό μοντέλο επίμυος, με την απόφραξη της μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας. Κατέληξαν ότι η συστηματική χορήγηση της ερυθροποιητίνης, μειώνει την εμφάνιση θετικών TUNEL κυττάρων και προλαμβάνει την ιστολογική βλάβη των εγκεφαλικών δομών που αιματώνονται από την αποφραγμένη αρτηρία, στοιχεία που υποδηλώνουν και την αναστολή του φαινομένου της νευρωνικής απόπτωσης.(304) Επιπλέον από την μελέτη προέκυψε ότι οι περισσότεροι νευρώνες παραμένουν ζωντανοί για 3 ώρες και λιγότεροι για 6 ώρες από την έναρξη της ισχαιμίας, φαινόμενο που οφείλεται στην καθυστέρηση της ενεργοποίησης της απόπτωσης. Οι νευρώνες αυτοί, μπορούν να σωθούν αν η έναρξη της χορήγησης της κυτοκίνης γίνει μέσα σε αυτό το χρονικό περιθώριο.

Σε *in vitro* μελέτες, αποκαλύφθηκε μια συγκεκριμένη αλληλουχία 17 αμινοξέων στο μόριο της ερυθροποιητίνης που είναι υπεύθυνη για την διαφοροποίηση και την αύξηση της δραστηριότητας της ακετυλοτρανσφεράσης καθώς και για την προστασία από τον κυτταρικό θάνατο σε μοντέλο ανθρώπινου νευροβλαστώματος.(305)

Σε πολλές *in vivo* πειραματικές μελέτες, που περιλαμβάνουν μοντέλα εγκεφαλικής ισχαιμίας, τραυματικές κακώσεις του εγκεφάλου, ισχαιμικές βλάβες, υπαρραχνοειδή



αιμορραγία, τραύμα στην σπονδυλική στήλη και σε περιφερικά νεύρα, έχει αποδειχτεί ότι η εφαρμογή της ερυθροποιητίνης, βελτιώνει την νευρωνική λειτουργία και είναι αποτελεσματική ως νευροπροστατευτικός παράγοντας.(299)

▲ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗ & ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟ ΝΕΥΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Εκτός από την δράση της στο κεντρικό νευρικό σύστημα η ερυθροποιητίνη αποτέλεσε αντικείμενο μελέτης και σε πειραματικά μοντέλα στο περιφερικό νευρικό σύστημα.

Ο Campana και οι συν, χρησιμοποίησαν δυο διαφορετικά πειραματικά μοντέλα επώδυνης νευροπάθειας στο ισχιακό νεύρο επίμυος (σύνθλιψη και χρόνια συμπίεση) και αναγνώρισαν με ανοσοϊστοχημικές μεθόδους τον τρόπο με τον οποίο αλλάζει η κατανομή της ερυθροποιητίνης και των υποδοχέων της μετά την νευρική βλάβη.(306)

Η ερυθροποιητίνη παράγεται από τους νευρώνες και τους νευράξονες στις οπίσθιες ρίζες του νωτιαίου μυελού κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, ενώ οι υποδοχείς της, εκφράζονται επιπλέον σε ενδοθηλιακά κύτταρα και κύτταρα του Schwann. Η παρουσία της ερυθροποιητίνης και των υποδοχέων της στους φυσιολογικούς νευράξονες, υποδηλώνει ότι αποτελούν αναπόσπαστο κομμάτι της νευρικής λειτουργίας.

Μετά τον τραυματισμό, η κατανομή της ερυθροποιητίνης, είναι διαφορετική από εκείνη των υποδοχέων της, αποδεικνύοντας ότι η μεταξύ τους σύνδεση δεν αποτελεί τον μοναδικό μηχανισμό που ερμηνεύει την δράση της κυτοκίνης στους ιστούς. Συγκεκριμένα, στα κύτταρα του Schwann, μετά τον τραυματισμό του νεύρου, ιδίως στο μοντέλο της νευροπάθειας με την χρόνια σύνθλιψη, η έκφραση της ερυθροποιητίνης αυξάνεται, ενώ οι υποδοχείς της δεν υφίστανται καμία αλλαγή σε σχέση με το φυσιολογικό νεύρο. Η αύξηση της ερυθροποιητίνης μετά τον τραυματισμό, είναι αναμενόμενη, δεδομένου ότι κάτω από συνθήκες υποξίας, όπως συμβαίνει στην περίπτωση της σύνθλιψης και της χρόνιας συμπίεσης, αυξάνεται το m- RNA στα αστροκύτταρα και τους νευρώνες.

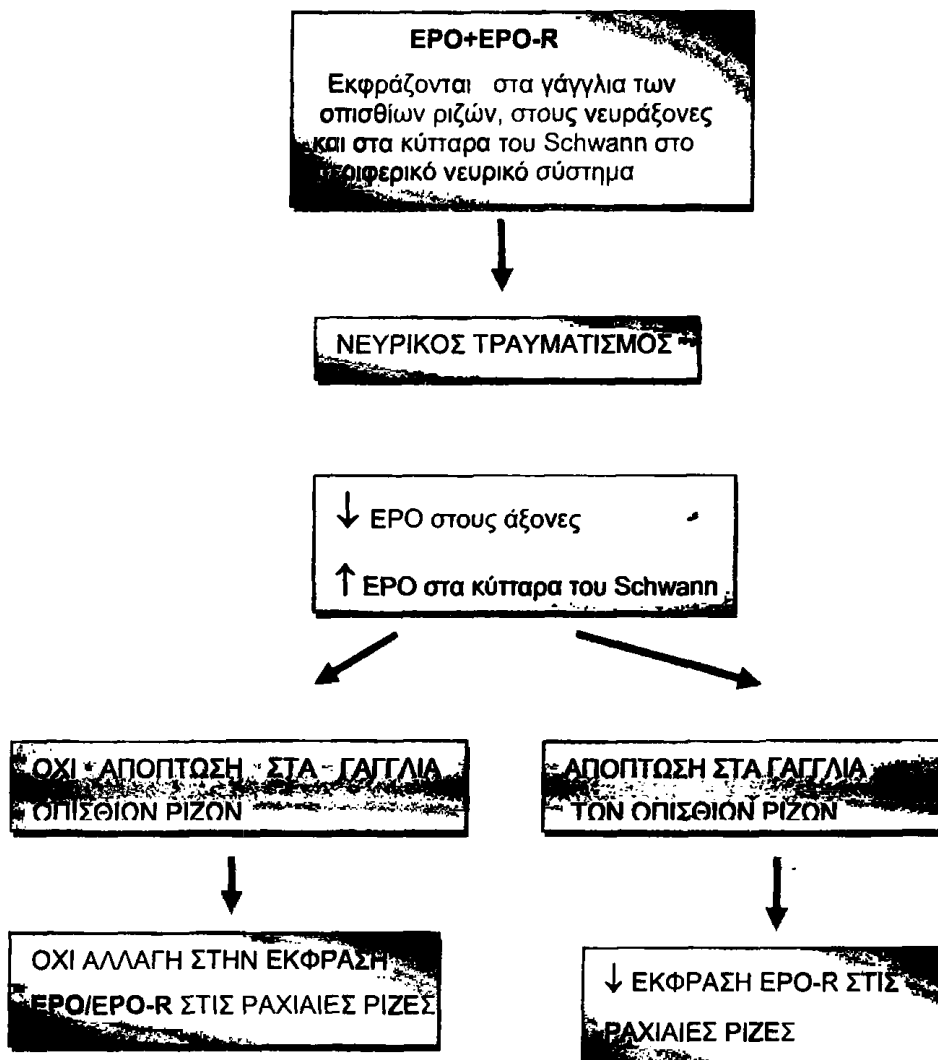
Η αυξημένη παραγωγή της κυτοκίνης στο σημείο τραυματισμού έχει ως αποτέλεσμα:

- Την πυροδότηση μέσω αυτοκρινούς μηχανισμού του πολλαπλασιασμού των κυττάρων του Schwann τα οποία αναγνωρίζουν την βλάβη και συνθέτουν αυξητικούς παράγοντες.



♦ Την ανάστροφη μεταφορά του συμπλέγματος EPO-EPO-R σε ειδικούς υποπληθυσμούς των νευρώνων με αποτέλεσμα την δημιουργία ενός καταρράκτη αντιδράσεων, με σκοπό την προστασία της νευρωνικής δραστηριότητας.

Στο μοντέλο της νευροπάθειας (σύνθλιψη) όπου διαπιστώθηκαν πολλοί νευρώνες να χρωματίζονται με TUNEL (σημείο απόπτωσης) η έκφραση των υποδοχέων της ερυθροποιητίνης ήταν μειωμένη ενώ στο άλλο μοντέλο της χρόνιας συμπίεσης, στο οποίο ήταν λίγοι οι νευρώνες που χρωματίστηκαν με TUNEL, η έκφραση των υποδοχέων της ερυθροποιητίνης, δεν είχε επηρεαστεί. (Εικ.43)



Εικ 43. Σχηματική αναπαράσταση των αλλαγών που υφίσταται η ερυθροποιητίνη (EPO) και οι υποδοχείς της (EPO-R), μετά από κάκωση περιφερικού νεύρου. (Campana.M. Erythropoietin and erythropoietin receptors in the peripheral nerve system: changes after nerve injury. The FASEB Journal. 2001;15:1804-1807)



Οι ίδιοι συγγραφείς με σκοπό να μελετήσουν την επίδραση της ερυθροποιητίνης στην απόπτωση και στην συμπεριφορά του πόνου, δημιούργησαν πειραματικό μοντέλο επώδυνης νευροπάθειας προκαλώντας συνθλιπτική βλάβη στο 05 οσφυϊκό νεύρο και κατόπιν χορήγησαν ανασυνδυσασμένη ερυθροποιητίνη.(307)

Οι κεντρικοί νευρώνες, απαντούν σε κακώσεις περιφερικών νεύρων με πολύπλοκους μηχανισμούς και σε ορισμένες περιπτώσεις, ακόμα και με κυτταρικό θάνατο. Μετά την νευρική βλάβη, συμβαίνουν άμεσες και απώτερες αλλαγές που αφορούν στην έκφραση των γονιδίων, σε μεταγραφικές διαδικασίες, στην σύνθεση πολυπεπτιδικών ομάδων, με ό,τι αυτή η διαδικασία συνεπάγεται, συμπεριλαμβάνοντας κινητικές διαταραχές αν η βλάβη αφορά τους νευρώνες στα πρόσθια κέρατα του νωτιαίου μυελού, ή την ανάπτυξη χρόνιου πόνου αν αφορά τις οπίσθιες ρίζες.

Αν η νευρική βλάβη είναι σχετικά μικρή και όχι σε μεγάλη απόσταση από τον νευρώνα, οι μεταγραφικές διαδικασίες είναι αναστρέψιμες, που σημαίνει ότι οι νευρώνες θα επανέλθουν στην φυσιολογική τους λειτουργία, αφού ολοκληρωθεί η εκφύλιση και η αναγέννηση. Αντιθέτως, αν η κάκωση είναι σοβαρή, στους νευρώνες μπορεί να επέλθει κυτταρικός θάνατος(απόπτωση). Παρά το γεγονός ότι η απόπτωση είναι μη αναστρέψιμη διαδικασία, υπάρχει κάποια πιθανότητα αν γίνει έγκαιρη παρέμβαση με νευροπροστατευτικές ουσίες, να μειωθεί ο αριθμός των νευρώνων που θα υποστούν απόπτωση. Οι συγγραφείς κατέληξαν ότι η συστηματική υποδόρια χορήγηση 2680IU/Kg ερυθροποιητίνης, διευκόλυνε σημαντικά την αποκατάσταση από την μηχανική αλλοδυνία και ελάττωσε την απόπτωση των νευρώνων των οπισθίων ριζών. Τα αποτελέσματα από τη δράση της ερυθροποιητίνης στην αντιμετώπιση του πόνου, άρχισαν να εκδηλώνονται σε διάστημα 4 ημερών από την έναρξη της χορήγησης. Το διάστημα αυτό ήταν απαραίτητο για να μπορέσει η κυτοκίνη να διεγείρει ενδοκυττάριους μηχανισμούς και την μεταγραφή γονιδίων κατά την διάρκεια της Βαλλεριανής εκφύλισης, έτσι ώστε να επιτευχθεί η νευροπροστασία και η παραγωγή προφλεγμονωδών κυτονινών που εμπλέκονται στην διαδικασία μείωσης του πόνου.

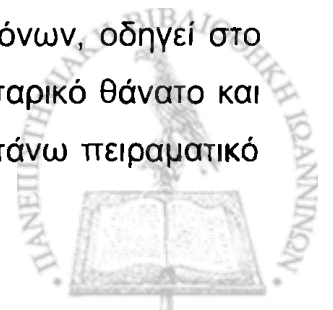
Παρόμοιο πειραματικό μοντέλο περιγράφηκε από τον Sekiguchi και τους συν, οι οποίοι προκάλεσαν συνθλιπτική κάκωση στην 05 ρίζα και στη συνέχεια χορήγησαν ανασυνδυσασμένη ερυθροποιητίνη.(308) Η χορήγηση της κυτοκίνης μείωσε την απόπτωση των νευρώνων στα πρόσθια και στα οπίσθια κέρατα του νωτιαίου μυελού,(κινητικών και αισθητικών νευρώνων) σε σχέση με τον αριθμό των



αποπτωτικών νευρώνων στην ομάδα που δεν χορηγήθηκε η ουσία. Επιπλέον, η ομάδα που έλαβε ερυθροποιητίνη, εμφάνισε και ταχύτερη αποκατάσταση από την μηχανική αλλοδυνία.

Για να διαπιστωθεί ο πιθανός μηχανισμός της δράσης της κυτοκίνης, αναγνωρίστηκε με ανοσοφθορισμό η παρουσία της προφλεγμονώδους κυτοκίνης TNF-T[alpha] στα πρόσθια κέρατα, μια ημέρα μετά τον τραυματισμό. Η κυτοκίνη TNF-T[alpha] ανήκει στις ουσίες που επάγουν το αίσθημα του πόνου. Η παρουσία της κυτοκίνης διαπιστώθηκε στους κινητικούς νευρώνες της ομάδας που δεν εφαρμόστηκε ερυθροποιητίνη. Αντίθετα, στην ομάδα που χορηγήθηκε συστηματικά ερυθροποιητίνη, η παρουσία της κυτοκίνης TNF-T[alpha] ήταν ελάχιστη έως καθόλου, αποδεικνύοντας ότι η ερυθροποιητίνη ρυθμίζει την παραγωγή της ουσίας αναστέλλοντάς την και επομένως ελέγχει την συμπεριφορά του πόνου. Ο νευροπροστατευτικός ρόλος της ερυθροποιητίνης και η συμβολή της στην μείωση του άλγους, οδήγησαν τους συγγραφείς στο συμπέρασμα ότι η εξωγενής χορήγηση της κυτοκίνης θα μπορούσε να έχει και κλινική εφαρμογή σε ασθενείς με άλγος στην σπονδυλική στήλη συνεπεία τραυματισμού ή κήλης μεσοσπονδυλίου δίσκου. Η καλύτερη κατανόηση των νευροπροστατευτικών μηχανισμών δράσης της κυτοκίνης σε ό,τι αφορά τον νευρωνικό θάνατο και τις συμπεριφορές του πόνου, θα αποτελέσει ίσως και την επιστημονική βάση για την ασφαλή και αποτελεσματική χορήγηση της ουσίας.

Η επίδραση της ερυθροποιητίνης σε κινητικούς νευρώνες νεογνών ποντικών, μετά από διατομή του ισχιακού νεύρου, ήταν ο σκοπός της μελέτης του Iwasaki και των συν.(309) Είναι γνωστό ότι οι κινητικοί νευρώνες πεθαίνουν μετά από αξονότμηση εξαιτίας της απώλειας νευροτροφικών παραγόντων που προέρχονται από τα όργανα-στόχους ή από τα κύτταρα του Schwann. Η απώλεια των νευρώνων σε παρόμοιες περιπτώσεις, μπορεί να αποφευχθεί με την χορήγηση αιμοποιητικών παραγόντων και κυτοκινών, όπως ο κροσσωτός νευροτροφικός παράγοντας (CNTF), ο νευροτροφικός παράγοντας από τα κύτταρα της γλοίας (GDNF), ο ανασταλτικός παράγοντας της λευχαιμίας (LIF) και ο επαγωγικός παράγοντας του εγκεφάλου(BDNF). Το γεγονός ότι ένας αριθμός διαφορετικών φαρμακολογικών παραγόντων μπορεί να επιδρά θετικά στην επιβίωση των νευραξόνων, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι υπάρχει κοινό μονοπάτι που καταλήγει στον κυτταρικό θάνατο και στο οποίο παρεμβάλλεται η δράση αυτών των ουσιών. Στο παραπάνω πειραματικό



μοντέλο, μετά από διατομή του ισχιακού νεύρου σε νεογνούς ποντικούς, χορηγήθηκαν ενδοπεριτοναϊκά, καθημερινά για 14 ημέρες, διαφορετικές δόσεις ερυθροποιητίνης αλλά και ιντερλευκίνης -3(IL-3). Μετά το τέλος της θεραπείας, μετρήθηκε ο αριθμός των κινητικών νευρώνων στο ύψος της O4 και αποδείχτηκε ότι η χορήγηση της ερυθροποιητίνης, απέτρεψε σε σημαντικό βαθμό την απώλεια των κινητικών νευρώνων. Η νευροπροστατευτική δράση των δυο ουσιών ήταν δόσοεξαρτώμενη και οι δυο ουσίες επηρέασαν την επιβίωση των νευρώνων με παρόμοιο τρόπο, γεγονός που υποδηλώνει ότι πιθανά να δρουν μέσω κοινών υποδοχέων.

Σε πρόσφατο in vivo μοντέλο, αναιμικών ασθενών σε αιμοδιάλυση, με περιφερική πολυνευροπάθεια, η χορήγηση της ανασυνδυασμένης ερυθροποιητίνης, βελτίωσε σημαντικά την ταχύτητα αγωγής της κινητικής ώσης περιφερικών νεύρων, σημείο ενδεικτικό της πιθανής επαναμυελινοποίησης των νεύρων.(310) Το γεγονός ότι δεν υπήρξε συσχετισμός ανάμεσα στην βελτίωση της λειτουργικότητας των νεύρων και στην αύξηση των επιπέδων του αιματοκρίτη, οδήγησε τους ερευνητές στη σκέψη ότι πιθανά η δράση της κυτοκίνης να περιορίζεται τοπικά, να δρα στον αντίστοιχο υποδοχέα του ενδοθηλίου των αγγείων και να βελτιώνει την αγγειογένεση και επομένως την τοπική αιματική ροή. Από την άλλη, υπήρξε η σκέψη μήπως υπήρχαν υποδοχείς ερυθροποιητίνης στο περιφερικό νευρικό σύστημα, στους οποίους η κυτοκίνη να ασκούσε άμεση επίδραση με αποτέλεσμα την έναρξη της επαναμυελινοποίησης μέσω ενεργοποίησης και πολλαπλασιασμού των κυττάρων του Schwann. Η υπόθεση επαληθεύτηκε, όταν τμήματα από νωτιαία νεύρα, μονιμοποιήθηκαν και με ανοσοϊστοχημική χρώση αποδείχτηκε η παρουσία υποδοχέων ερυθροποιητίνης στο στρώμα της μυελίνης και επομένως στα κύτταρα του Schwann των περιφερικών νεύρων.(311) Η παρουσία των υποδοχέων της ερυθροποιητίνης στα ανθρώπινα περιφερικά νεύρα, αποδεικνύει ότι το μόριο πέρα από τις αιμοποιητικές έχει και άλλες, πιθανά νευροπροστατευτικές ιδιότητες οι οποίες μπορεί μελλοντικά να χρησιμοποιηθούν για την αντιμετώπιση περιφερικών πολυνευροπαθειών ή τραυματισμών των περιφερικών νεύρων.

Ο ρόλος της ερυθροποιητίνης στην τελικοπλάγια συρραφή ήταν το αντικείμενο της πειραματικής μελέτης των Λυκίσσα και συν.(312) Στη μελέτη αυτή, έγινε ιστολογική και μορφομετρική αξιολόγηση μεταξύ 4 ομάδων:1)Τελικοπλάγια νευρορραφή 2)Τελικοπλάγια νευρορραφή και χορήγηση ερυθροποιητίνης 3)Τελικοτελική συρραφή



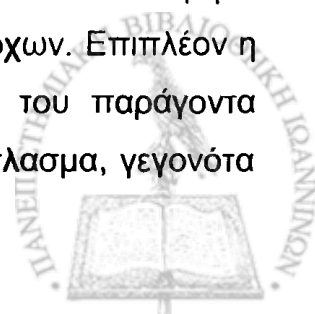
και 4) Διατομή του νεύρου χωρίς επιδιόρθωση. Τα αποτελέσματα της μελέτης ήταν ενθαρρυντικά σε ό,τι αφορούσαν την χορήγηση της κυτοκίνης, η οποία τουλάχιστον στην αρχική φάση της χορήγησής της, διευκόλυνε λειτουργικά την αναγέννηση του περιφερικού νεύρου. Περαιτέρω μελέτες είναι απαραίτητες για να προσδιοριστεί ο ακριβής μηχανισμός της δράσης της κυτοκίνης σε αυτό το μοντέλο έτσι ώστε να μπορέσει να διατηρήσει για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα τα ευεργετικά αποτελέσματα στην αξονική αναγέννηση.

^ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ

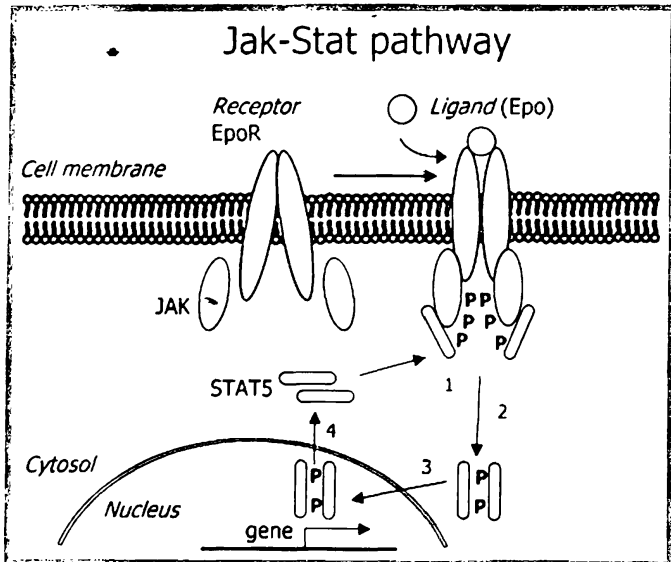
Ο ακριβής μηχανισμός της νευροπροστατευτικής δράσης της ερυθροποιητίνης δεν έχει διευκρινιστεί. Η ερυθροποιητίνη μπορεί να λειτουργήσει σε πολλαπλά επίπεδα, ελαττώνοντας την παραγωγή μορίων που βλάπτουν τους ιστούς όπως το γλουταμικό οξύ, μειώνοντας την απόπτωση και ενεργοποιώντας νευροπροστατευτικά γονίδια. Πιθανώς, ο συνδυασμός των παραπάνω μηχανισμών να έχει ως αποτέλεσμα την προστασία των νευρώνων.

☑ Ο μηχανισμός με τον οποίο η ερυθροποιητίνη και οι υποδοχείς της προστατεύουν τους αισθητικούς νευρώνες από το φαινόμενο της απόπτωσης είναι η ενεργοποίηση του JAK2 μηχανισμού. Όταν η ερυθροποιητίνη συνδέεται με τον υποδοχέα της, προκαλεί διμερισμό του υποδοχέα, ενεργοποιεί ένα ενδοκυττάριο καταρράκτη αντιδράσεων που οδηγεί στην αυτοφωσφορυλίωση της κινάσης JAK-2 (Janus – tyrosine-kinase και σε ενεργοποίηση του υποδοχέα.(299) Η κύρια λειτουργία της ενεργοποίησης του υποδοχέα στο κύτταρο-στόχο είναι ο πολλαπλασιασμός, η διαφοροποίηση και η αναστολή της απόπτωσής του.(313)

Η ενεργοποίηση της κινάσης JAK2, είναι το ενδιάμεσο στάδιο για την έναρξη της φωσφορυλίωσης των μετατροπέων σημάτων και ενεργοποιητών της μεταγραφής STAT-5, της κινάσης MARK (Ras-mitogen activated protein kinase) & της κινάσης φωσφατιδιλο-ινοσιπόλης PI(3)K καθώς και για την νουκλεϊκή μετάθεση του παράγοντα μεταγραφής NFκB. Ο παράγοντας NFκB σε συνθήκες ηρεμίας είναι συνδεδεμένος με την ανασταλτική πρωτεΐνη ikB. Από τη στιγμή που θα ενεργοποιηθεί, θα αποδεσμευτεί από την πρωτεΐνη και θα μεταφερθεί στον πυρήνα του κυττάρου με σκοπό την έναρξη της έκφρασης των γονιδίων-στόχων. Επιπλέον η ερυθροποιητίνη επάγει με δόσοεξαρτώμενο τρόπο, την αύξηση του παράγοντα μεταγραφής NFκB στον πυρήνα και την μείωσή του στο κυτταρόπλασμα, γεγονός



απαιτούμενα για την έναρξη της νευροπροστασίας.(314) Οι παράγοντες STAT-5 και NFκB μετατίθενται στον πυρήνα, όπου συνδέονται με τον DNA, γεγονός που οδηγεί σε ενεργοποίηση της έκφρασης νευροπροστατευτικών γονιδίων όπως *bcl-XL* & *bcl-2*, τα οποία επιπλέον προάγουν την νευρική αναγέννηση και την ανάπτυξη των νευραξόνων.(Εικ.44)



Εικ.44 Η σύνδεση της ερυθροποιητίνης στον υποδοχέα της, προκαλεί διμερισμό του και αυτοφωσφορυλίωση, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του παράγοντα μεταγραφής STAT.

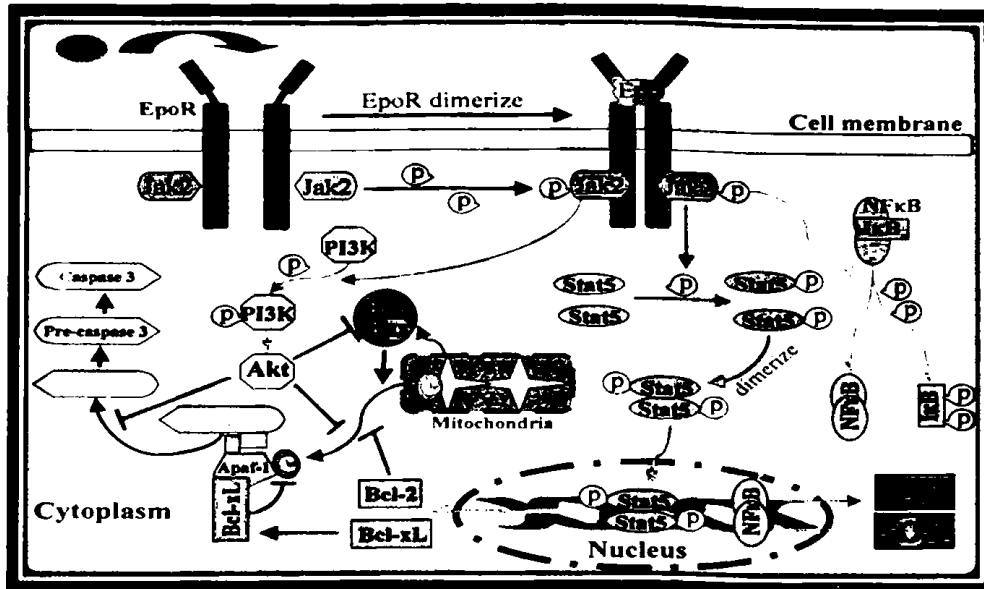
Ο STAT είναι ανενεργός ως μονομερές και η ενεργοποίησή του περιλαμβάνει την φωσφορυλίωση και τον διμερισμό του. Στη συνέχεια μεταναστεύει στον πυρήνα του κυττάρου, όπου συνδέεται με επαγωγείς των γονιδίων στόχων.

(Klipp and Liebermeister: The role of erythropoietin. *BMC Neuroscience* 2006; 7:1-10)

☑ Η ερυθροποιητίνη τροποποιεί την έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με φαινόμενα απόπτωσης. Σε πειραματικό μοντέλο ελευθέρων ριζών, διαπιστώθηκε ότι η ερυθροποιητίνη ρυθμίζει την έκφραση της μεμβρανικής πρωτεΐνης φωσφατιδιλοσερίνης(PS), φωσφορυλιώνει και επομένως ανενεργοποιεί την προ-αποπτωτική πρωτεΐνη Bad και διατηρεί την ακεραιότητα της λειτουργίας του DNA του νευρώνα με την αναστολή της απελευθέρωσης ουσιών όπως η κασπάση-1, κασπάση -8 και κασπάση-3 που συνδέονται με το κυτόχρωμα c.(315)

Επιπλέον, η κυτοκίνη αυξάνει την έκφραση αντιαποπτωτικών γονιδίων *bcl-XL* και μειώνει την έκφραση του προαποπτωτικού γονιδίου *bak* σε καλλιέργειες PC12 κυττάρων, ευρήματα που δηλώνουν ότι η νευροπροστατευτική δράση της ερυθροποιητίνης επιτυγχάνεται και με την ρύθμιση της ισορροπίας στην έκφραση μεταξύ των προ- και αντι-αποπτωτικών γονιδίων.(Εικ.45)(316) Η ερυθροποιητίνη μπορεί να τροποποιήσει την σχέση *Bcl-2/Bax* σε καλλιέργειες μικρογλοιακών κυττάρων προς όφελος των αντιαποπτωτικών φαινομένων ενώ μπορεί να προλάβει τον θάνατο των νευρώνων του ιπποκάμπου, διεγείροντας την έκφραση του γονιδίου *bcl-XL*, δεδομένου ότι το συγκεκριμένο γονίδιο διευκολύνει την επιβίωση των νευρώνων.(303)





Εικ.45 Σχηματική παράσταση του ρόλου της ερυθροποιητίνης στην απόπτωση. Η σύνδεση του μορίου με τον υποδοχέα, οδηγεί σε ενδοκυττάριο καταρράχτη αντιδράσεων με αποτέλεσμα την έκφραση του αντιαποπτωτικού γονιδίου bcl-XL και την τροποποίηση της σχέσης bcl-X/Bax, προς όφελος του πρώτου. Επιπλέον, ανενεργοποιεί την προ-αποπτωτική πρωτεΐνη Bad και διατηρεί την ακεραιότητα της δομής του DNA του νευρώνα με την αναστολή της απελευθέρωσης ουσιών όπως η κασπάση-6, κασπάση -8 και κασπάση-3 που συνδέονται με το κυτόχρωμα c. (Sola A et al: Potential for Protection and Repair Following Injury to the Developing Brain: A Role for Erythropoietin? Pediatric Research. 2005; 57(5):110 - 117)

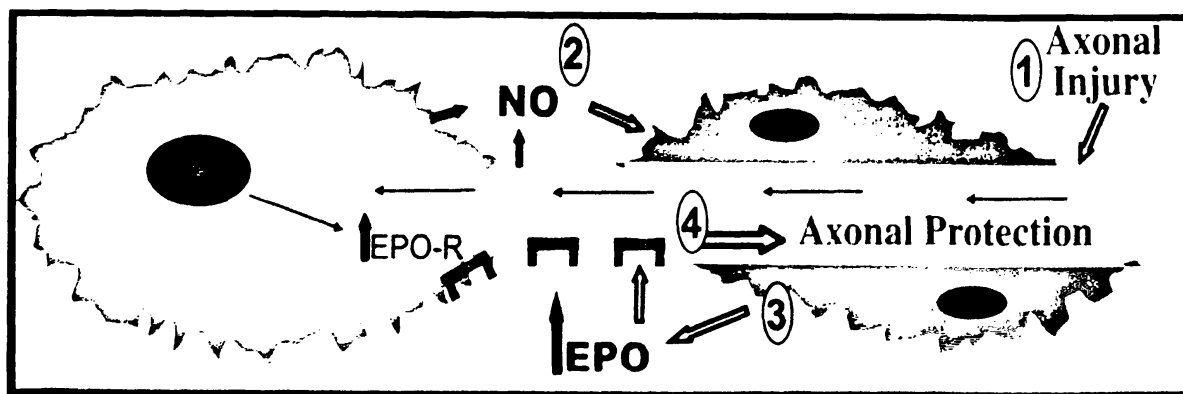
☑ Έχει βρεθεί ότι αρκετές από τις λειτουργίες της ερυθροποιητίνης στο νευρικό σύστημα, οφείλονται στην ενεργοποίηση διαύλων ασβεστίου. Μελέτες που έγιναν σε ανθρώπινα κύτταρα νευροβλαστώματος, απέδειξαν την παρουσία διαύλων ασβεστίου T-τύπου, εξαρτώμενων από την τάση. Η προσθήκη της ερυθροποιητίνης στο περιβάλλον είχε σα συνέπεια την διαρκή αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάρου $[Ca^{2+}]$. Επομένως η ερυθροποιητίνη μπορεί να επηρεάσει την διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης στο Ca^{2+} και έμμεσα να ρυθμίσει την ομοίωση του νευρώνα.(317) Πειραματικές μελέτες που έγιναν σε PC -12 κύτταρα που εκφράζουν υποδοχείς ερυθροποιητίνης, απέδειξαν ότι η παρουσία της κυτοκίνης οδηγεί σε αποπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης, σε ενεργοποίηση διαύλων ασβεστίου(T-type voltage dependent Ca^{2+} channel) και των μετατροπένων MARK, ενώ συγχρόνως αυξάνει την σύνθεση μονοξειδίου του αζώτου.(318) Από τη στιγμή που τα τελευταία διεγείρει την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών, όπως το γ-αμινοβουτυρικό οξύ, η ακετυλοχολίνη και η ντοπαμίνη, κατά συνέπεια και η ερυθροποιητίνη με έμμεσο

τρόπο επάγει την παραγωγή αυτών των ουσιών και διεγείρει την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών, επιβεβαιώνοντας τον νευροτροφικό της ρόλο.

Επιπλέον, η ερυθροποιητίνη μειώνει μέσω των διαύλων ασβεστίου την απελευθέρωση του γλουταμικού οξέος. Η ενεργοποίηση των υποδοχέων της ερυθροποιητίνης προστατεύει τους νευρώνες με την αναστολή της απελευθέρωσης του γλουταμικού, όπως έδειξαν *in vivo* και *in vitro* μελέτες σε πειραματικά μοντέλα σύνθλιψης περιφερικού νεύρου.(302,319) Επομένως, η εξωγενής χορήγηση της ερυθροποιητίνης μπορεί να αποτρέψει την απόπτωση των κυττάρων στα πρόσθια αλλά και στα οπίσθια κέρατα του νωτιαίου μυελού, μετά από νευρική κάκωση.

☑ Ένας από τους κυτταροπροστατευτικούς μηχανισμούς δράσης της κυτοκίνης είναι η αντιοξειδωτική δραστηριότητα, που εκφράζεται είτε με το να αναστέλλει τον σχηματισμό ελεύθερων ριζών που σχετίζονται με το μονοξειδίο του αζώτου(*NO-mediated free radicals*) είτε με το να ανταγωνίζεται την έκφραση της τοξικότητάς τους. (320) Επιπλέον, η ερυθροποιητίνη μπορεί να αυξάνει την δραστικότητα αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και η καταλάση, παρέχοντας στους νευρώνες αποτελεσματική προστασία.

Ο μηχανισμός με τον οποίο η ερυθροποιητίνη δρα νευροπροστατευτικά μετά από κάκωση περιφερικού νεύρου περιγράφεται παρακάτω.(321) (Εικ.46)



Εικ.46 Σχηματική αναπαράσταση του νευροπροστατευτικού ρόλου της ερυθροποιητίνης μετά από διατομή περιφερικού νεύρου. Ο τραυματισμός του νεύρου(1), οδηγεί σε αύξηση της παραγωγής του μονοξειδίου του αζώτου (2) το οποίο διεγείρει την έκκριση της ερυθροποιητίνης από τα γειτονικά κύτταρα του Schwann(3). Η σύνδεση της κυτοκίνης με τους υποδοχείς της (4) έχει ως αποτέλεσμα να προλαμβάνεται η αξονική αποδόμηση. Η αξονότμηση, οδηγεί και σε πενταπλάσια αύξηση της έκφρασης του mRNA της κυτοκίνης από τα κύτταρα του Schwann καθώς και σε αύξηση του mRNA των υποδοχέων της, στις



οπίσθιες ρίζες του νωτιαίου μυελού.(Keswani SC et al. A novel endogenous erythropoietin mediated pathway prevents axonal degeneration. Ann Neurol. 2004;56:815-826)

ΛΑΣΙΑΛΟΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗ

Οι ερευνητικές μελέτες, αποδεικνύουν ότι η συστηματική χορήγηση ερυθροποιητίνης έχει νευροπροστατευτική δράση και ότι η ουσία θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως θεραπευτικό μέσο για την πρόληψη διαταραχών του κεντρικού νευρικού συστήματος όπως η εγκεφαλική ισχαιμία, η υποξία, οι φλεγμονώδεις διαταραχές και νευροεκφυλιστικές παθήσεις.

Η ερυθροποιητίνη, αν και έχει νευροπροστατευτικές ιδιότητες δεν θα μπορούσε να χορηγηθεί με ασφάλεια για μεγάλο χρονικό διάστημα γιατί αυτό θα σήμαινε αύξηση του αιματοκρίτη και επομένως αυξημένη πιθανότητα θρομβώσεων. Επομένως ο στόχος είναι η ερυθροποιητίνη να διατηρήσει τον νευροπροστατευτικό ρόλο αλλά χωρίς την ανεπιθύμητη ερυθροποιητική δράση.

Ο προβληματισμός αυτός, οδήγησε στην ανακάλυψη της ασιαλοερυθροποιητίνης, που προέρχεται μετά από ενζυματική αφαίρεση των σιαλικών οξέων. Η ασιάλο-EPO συνδέεται στον γνωστό υποδοχέα, έχει τον μισό χρόνο ημίσειας ζωής από την κλασική ερυθροποιητίνη γεγονός που σημαίνει ότι εφόσον δεν παραμένει στο πλάσμα για μεγάλο χρονικό διάστημα, δεν προλαβαίνει να διεγείρει τον μηχανισμό της ερυθροποίησης και άρα δεν αυξάνει τον αιματοκρίτη, αλλά διατηρεί τις νευροπροστατευτικές της ιδιότητες. Η αφαίρεση των σιαλικών οξέων από το μόριο της ερυθροποιητίνης, έχει ως αποτέλεσμα την μείωση του χρόνου κάθαρσης της ουσίας.

Σε in vitro μελέτη, έχει επιβεβαιωθεί η ακολουθία των πεπτιδίων στη δομή του μορίου της ερυθροποιητίνης που είναι υπεύθυνη για τις νευροπροστατευτικές της ιδιότητες και από την οποία προέκυψε ότι το μόριο έχει δυο ξεχωριστούς τομείς έναν υπεύθυνο για τον αιμοποιητική και ένα δεύτερο για την νευροτροφική λειτουργία (322) Σε πειραματικό μοντέλο εκφυλιστικής νόσου των κινητικών νευρώνων που οδηγεί σε σταδιακή μυϊκή δυσλειτουργία, η χορήγηση ασιάλο-EPO, αποδείχτηκε ότι παρουσιάζει νευροπροστατευτικές ιδιότητες και ότι μειώνει την κυτταρική φλεγμονή στα πρόσθια κέρατα του νωτιαίου μυελού, χωρίς να αυξάνει τα επίπεδα του αιματοκρίτη.(323)



Στο ίδιο μοντέλο, η χορήγηση της CEPO είχε ακόμα πιο ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Η καρβοξυλιωμένη ερυθροποιητίνη(CEPO), συνδέεται σε διαφορετικό υποδοχέα από την ερυθροποιητίνη και οι νευροπροστατευτικές της ιδιότητες απαιτούν την παρουσία β-αλύσου που είναι κοινή και για τις ιντερλευκίνες 3 και 5. Το μεγάλο πλεονέκτημα της CEPO είναι η δυνατότητα χορήγησής της για μεγάλα χρονικά διαστήματα χωρίς να επηρεάζεται η τιμή του αιματοκρίτη.

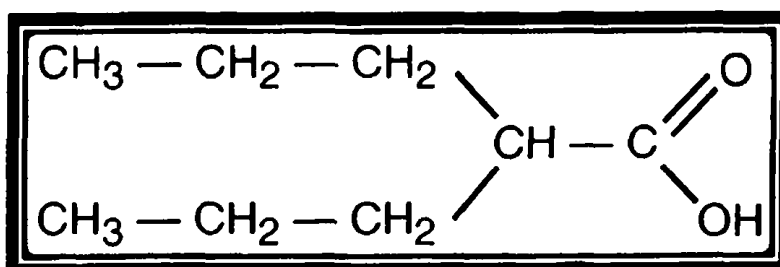
Η χορήγηση της ασιάλο-ΕΠΟ, παρουσιάζει ένα ευρύ φάσμα νευροπροστατευτικών ιδιοτήτων, όπως αποδείχτηκε σε μοντέλα εγκεφαλικής ισχαιμίας, συμπίεσης της σπονδυλικής στήλης και σύνθλιψης του ισχιακού νεύρου. Στο μοντέλο της συμπίεσης του νωτιαίου μυελού, η χορήγηση ήταν αποτελεσματική με ημερήσιο σχήμα τριών δόσεων, καθώς οι αλλαγές που συμβαίνουν σε κάκωση της σπονδυλικής στήλης, γίνονται σε συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα που διαρκούν μερικές εβδομάδες. Στην αρχική φάση (τις πρώτες ώρες), η χορήγηση της ουσίας προλαμβάνει την κυτταρική νέκρωση, την ισχαιμία και τον σχηματισμό ελευθέρων ριζών, όπως αποδείχτηκε και ιστολογικά. Στη δεύτερη φάση (8-14ημέρες), η δυσλειτουργία των νευραξόνων γίνεται μόνιμη λόγω του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου των ολιγοδενδριτών. Η νευροπροστατευτική δράση της ασιάλο-ΕΠΟ στην αρχική φάση, τροποποιεί και την απάντηση των νευρώνων στο τραύμα, κατά την διάρκεια της δεύτερης φάσης.



^ ΤΟ ΒΑΛΠΡΟΪΚΟ ΟΞΥ

Το βαλπροϊκό οξύ είναι ευρέως φάσματος αντιεπιληπτικό φάρμακο που χρησιμοποιείται αποτελεσματικά για την θεραπεία των γενικευμένων αλλά και των εστιακών επιληπτικών κρίσεων, καθώς και για την αντιμετώπιση της μανίας σε διπολικές διαταραχές.(324) Στον ανθρώπινο εγκέφαλο, το βαλπροϊκό οξύ ενισχύει την δράση του νευροδιαβιβαστή γ-αμινοβουτυρικού οξέος(GABA), αυξάνοντας τη σύνθεσή του και αναστέλλοντας την αποδόμησή του.(325,326) Επιπλέον, ελαττώνει την παραγωγή γλουταμικού οξέος και αυξάνει την παραγωγή της σεροτονίνης.

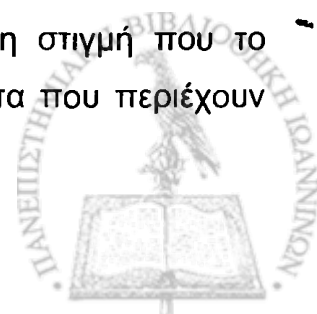
Το όνομά του προκύπτει από το 2-προπυλβαλερικό οξύ, που είναι η χημική του ονομασία.(Εικ.47) Το βαλερικό οξύ είναι συνώνυμο με το πενταοϊκό οξύ που προκύπτει μετά από χημική επεξεργασία από το φυτό *Valeriana officinalis*. Το βαλπροϊκό οξύ, συντέθηκε για πρώτη φορά από τον B.S.Burton(1882), ο οποίος έψαχνε για οργανικούς διαλύτες.(327) Η στροφή στην χρήση του ως φάρμακο, έγινε το 1963 όταν ο Pierre Eymard και οι συνεργάτες του, ενώ το χρησιμοποιούσαν αρχικά ως διαλύτη για μόρια που πιθανολογούσαν ότι είχαν αντιεπιληπτική δράση, συνειδητοποίησαν ότι το βαλπροϊκό οξύ από μόνο του δρούσε αποτελεσματικά ως αναστολέας των επιληπτικών κρίσεων.(328)



Εικ.47 Χημική δομή του βαλπροϊκού οξέος.(Valproic acid, a molecular lead to multiple regulatory pathways. (Kostrouchova M. et al: Folia Biologica 2007;53:37-39)

ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ ΤΟΥ ΒΑΛΠΡΟΪΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

Παρά το γεγονός ότι το βαλπροϊκό οξύ είναι λιπαρό οξύ, οι χημικές του ιδιότητες επιτρέπουν την εύκολη μεταφορά του στον οργανισμό και στα κύτταρα. Είναι ελάχιστα διαλυτό στο νερό, αλλά έχει αυξημένη διαλυτότητα σε οργανικούς διαλύτες και επιπλέον, είναι σταθερό σε θερμοκρασία δωματίου. Από τη στιγμή που το βαλπροϊκό οξύ διατίθεται σε διαλυτή μορφή, σε υδατικά διαλύματα που περιέχουν



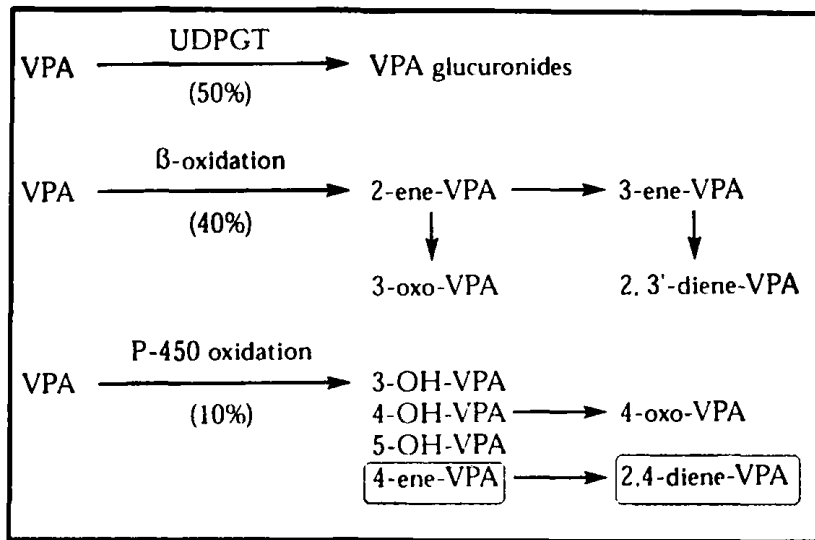
αλκαλικά μέταλλα, μπορεί εύκολα να χορηγηθεί στον οργανισμό με την μορφή αλάτων νατρίου ή μαγνησίου που είναι διαλυτά στο νερό.(329) Το βαλπροϊκό οξύ μπορεί να χορηγηθεί από το στόμα, ενδοφλέβια ή ενδοπεριτοναϊκά. Μετά την χορήγηση από το στόμα, το φάρμακο απορροφάται ταχύτατα και πλήρως. Η εκτιμώμενη βιοδιαθεσιμότητά του όταν συγκρίνεται με την ενδοφλέβια χορήγηση, κυμαίνεται από 90% έως 100%.(326) Η χορήγηση του οξέος από το στόμα μαζί με γεύματα, παρατείνει τον χρόνο που απαιτείται για την μέγιστη συγκέντρωση του φαρμάκου στο πλάσμα(T_{max}) αλλά δεν μπορεί να επηρεάσει τον βαθμό της απορρόφησης. Το βαλπροϊκό οξύ, αποκτά μια σταθερή συγκέντρωση στο πλάσμα μετά από 3-5 ημέρες συνεχούς χορήγησης. Πάντως, ανεξάρτητα από την οδό χορήγησης, το βαλπροϊκό οξύ καταλήγει τελικά στο πλάσμα με την μορφή ιόντων τα οποία αποτελούν και την ενεργό μορφή του φαρμάκου. Η συγκέντρωση των κυκλοφορούντων ιόντων στο πλάσμα σχετίζεται άμεσα και με την δραστηριότητα του φαρμάκου.

Το βαλπροϊκό οξύ συνδέεται με τις πρωτεΐνες του πλάσματος και κυρίως με τις αλβουμίνες, με μια μη γραμμική, εξαρτώμενη από την συγκέντρωση, σχέση η οποία επηρεάζει και την κάθαρση του φαρμάκου. Η παρακολούθηση των τιμών του φαρμάκου στον ορό, αποτελεί αξιόπιστο δείκτη και για την ενεργό μορφή του φαρμάκου. Το ποσό του βαλπροϊκού που συνδέεται με τις πρωτεΐνες του πλάσματος μειώνεται σε καταστάσεις που μπορούν να επηρεάσουν τα επίπεδα των πρωτεϊνών στο πλάσμα, όπως η ηπατική και η νεφρική ανεπάρκεια.

Το φάρμακο μεταβολίζεται στο ήπαρ, αποβάλλεται από τους νεφρούς και λιγότερο από 3% της χορηγούμενης δόσης αποβάλλεται με την αρχική του μορφή. Η συγκέντρωση των μεταβολιτών στο πλάσμα που θα μπορούσε να ενισχύσει τα φαρμακολογικά φαινόμενα της χορηγούμενης δόσης είναι 100 φορές χαμηλότερη από ό,τι του αρχικού μορίου και επομένως πολύ χαμηλή ώστε να έχει κλινική σημασία. Το βαλπροϊκό οξύ μεταβολίζεται συχνότερα συνδεδεμένο με γλυκουρονικό οξύ, με την βοήθεια γλυκουρονοτρανσφερασών (UDPGTs). Η μιτοχονδριακή β-οξειδωση είναι ένα άλλο κύριο μεταβολικό μονοπάτι, μέσω του οποίου μεταβολίζεται το 40% της χορηγούμενης δόσης. Λιγότερο από 15-20% της δόσης αποβάλλεται με άλλους οξειδωτικούς μηχανισμούς. Δύο από αυτούς τους μεταβολίτες είναι ηπατοτοξικοί αλλά ευτυχώς κυκλοφορούν σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις στο πλάσμα.(Εικ.48) Ένα από τα χαρακτηριστικά του μορίου είναι η ικανότητα που έχει



να διαπερνά με ευκολία τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, λόγω του μικρού μοριακού βάρους.



Εικ.48. Τα βασικά μεταβολικά μονοπάτια του βαλπροϊκού οξέος. (Σε κύκλο έχουν σημειωθεί οι ηπατοτοξικοί μεταβολίτες). (DeVane CL. Pharmacokinetics, drug interactions and tolerability of valproate. *Psychopharmacology Bulletin*. 2003;37:25-42)

ΒΑΛΠΡΟΪΚΟ ΟΞΥ ΚΑΙ ΝΕΥΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Εκτός από την ευρεία χρήση ως αντιεπιληπτικό φάρμακο, το βαλπροϊκό οξύ, έχει βρεθεί ότι παρουσιάζει και νευροπροστατευτικές ιδιότητες.

Έχει αποδειχτεί ότι προστατεύει καλλιέργειες κυττάρων του ιπποκάμπου επίμυων από την νευροτοξικότητα του γλουταμικού. (330) Επιπλέον σε καλλιέργειες κυττάρων παρεγκεφαλίδας, εμφανίζει προστατευτικό ρόλο από την απόπτωση, ενεργοποιώντας το μονοπάτι της κινάσης φωσφατιδυλο-ινοσιτόλης-3. (331)

Ο Winkler και οι συν, σε πειραματικό μοντέλο, απέδειξαν την αποτελεσματικότητα του βαλπροϊκού και των αναλόγων του, στον νευροπαθητικό πόνο. (332) Ο πόνος μετά από τραυματισμό νεύρου, πιστεύεται ότι είναι το αποτέλεσμα μιας σειράς νευροβιολογικών γεγονότων που ξεκινούν από διαφορετικά μονοπάτια αλλά καταλήγουν τελικά σε υπερδιεγερσιμότητα του νευρώνα. Αυτά, περιλαμβάνουν μεταξύ άλλων, την αύξηση της έκφρασης καναλιών Na^+ και Ca^{++} στους τραυματισμένους αισθητικούς νευρώνες, την αύξηση των επιπέδων κυτοκινών και



άλλων υπεραναλγητικών ουσιών καθώς και την καταστολή της έκφρασης του νευροδιαβιβαστή του γ-αμινοβουτυρικού οξέος (GABA).(333-335)

Το βαλπροϊκό οξύ μπορεί να καταστείλει τον πόνο, μέσω πολλαπλών μηχανισμών δράσης: Μπλοκάρει τα κανάλια Na^+ , διεγείρει την παραγωγή του γ-αμινοβουτυρικού οξέος, ανενεργοποιεί την δράση των υποδοχέων NMDA που σχετίζονται με την παραγωγή του γλουταμικού και πιθανώς ενεργοποιεί την σεροτονίνη (5HT-R).(332)

Στο συγκεκριμένο πείραμα, τα 05 και 06 νωτιαία νεύρα επίμυος, απομονώθηκαν απολινώθηκαν και κόπηκαν σε απόσταση περίπου 8 mm από το αντίστοιχο γάγγλιο της οπίσθιας νωτιαίας ρίζας. Το συμπέρασμα μετά την ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση θεραπευτικών δόσεων του βαλπροϊκού και κυρίως των δυο αναλόγων του(VCD & DID) ήταν ελπιδοφόρο σε ό,τι αφορά την κλινική τους χρήση στο μέλλον, για την θεραπεία του άλγους μετά από τραυματισμό νεύρου. Με την χορήγηση των ουσιών, παρατηρήθηκε αναστροφή της αλλωδυνίας της αφής(tactile allodynia) με δοσοεξαρτώμενο τρόπο. Τα δύο από τα επτά χρησιμοποιούμενα ανάλογα που είναι μη τερατογόνα και μη ηπατοτοξικά, παρουσίασαν ελάχιστες κινητικές και κατασταλτικές παρενέργειες ενώ σε αναλγητικές δόσεις, αποδείχτηκαν το ίδιο αποτελεσματικά με την γαμπαπεντίνη (Gabapentin GBP) η οποία θεωρείται το φάρμακο εκλογής για την θεραπεία του νευροπαθητικού πόνου.

Αν και η μακροχρόνια χρήση του βαλπροϊκού οξέος περιορίζεται από δυο σημαντικές παρενέργειες, την ηπατοτοξικότητα και την τερατογένεση, η μοριακή του δομή προσφέρει πολλές δυνατότητες για χημική τροποποίηση κατά τέτοιο τρόπο ώστε να διατηρούνται οι νευροπροστατευτικές του ιδιότητες χωρίς τον κίνδυνο παρενεργειών, όπως αποδείχτηκε στην πειραματική μελέτη.

Πρόσφατα ο Yuan και οι συν, σε καλλιέργειες ανθρώπινων (SH-SY5Y) κυτάρων νευροβλαστώματος απέδειξαν ότι το βαλπροϊκό οξύ σε κλινικά θεραπευτικές συγκεντρώσεις, εμφανίζει δράση παρόμοια με εκείνη των νευροτροφικών παραγόντων και πώς αυτό επιτυγχάνεται μέσω της ενεργοποίησης της κινάσης ERK(Extracellular signal-regulated kinase)(336)

Μετά από κακώσεις περιφερικών νεύρων, πυροδοτείται μια σειρά αντιδράσεων στους νευρώνες και στα νευρογλοιακά κύτταρα, που μπορεί να οδηγήσουν σε δυο διαφορετικές καταστάσεις: Τον κυτταρικό θάνατο ή την αναγέννηση των νευραξόνων. Η οικογένεια των κινασών MAPKs(mitogen-activated protein kinases), συμμετέχει σε αυτή την διαδικασία. Οι MAPKs είναι οικογένεια σερίνης-θειονίνης ειδικών κινασών,



που συλλέγει εξωκυτάρια ερεθίσματα και στη συνέχεια τροποποιεί την έκφραση των γονιδίων, δρώντας σε πολλαπλά επίπεδα, από τον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίηση των κυττάρων μέχρι την απόπτωση.(337)

Οι κινάσες ERK, JNK (c-Jun NH₂ –terminal kinase) και p38 (kinase p38), έχουν αναγνωρισθεί ως υποοικογένειες των MAPKs. Η ενεργοποίηση της ERK, είτε από ενδογενείς αυξητικούς παράγοντες, είτε από εξωγενή μόρια, θεωρείται απαραίτητη για την αναγέννηση των νευραξόνων. Στην πειραματική μελέτη αποδείχτηκε ότι:

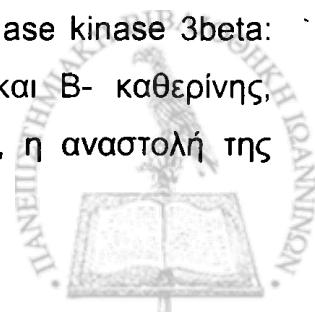
- Ο μηχανισμός με τον οποίο το βαλπροϊκό οξύ μπορεί και επιδρά στην επιβίωση των νευρικών κυττάρων και στην ανάπτυξη των νευραξόνων είναι η φωσφορυλίωση και επομένως η συνεχής ενεργοποίηση της ERK. Μέσω αυτής της διαδικασίας το φάρμακο αυξάνει την έκφραση του παράγοντα μεταγραφής AP-1. Αυτό, γίνεται μέσω δυο μηχανισμών: Η φωσφορυλίωση της ERK, οδηγεί σε έκφραση της πρωτεΐνης c-Fos που είναι μέλος της οικογένειας AP-1 με αποτέλεσμα και την αύξηση της δράσης του παράγοντα AP-1. Επιπλέον, γίνεται φωσφορυλίωση του παράγοντα c-Jun, γεγονός που οδηγεί σε αύξηση της έκφρασης του AP-1.

- Το βαλπροϊκό οξύ, προάγει την ανάπτυξη των νευριτών με τρόπο που εξαρτάται από τον χρόνο δράσης του και την συγκέντρωσή του.

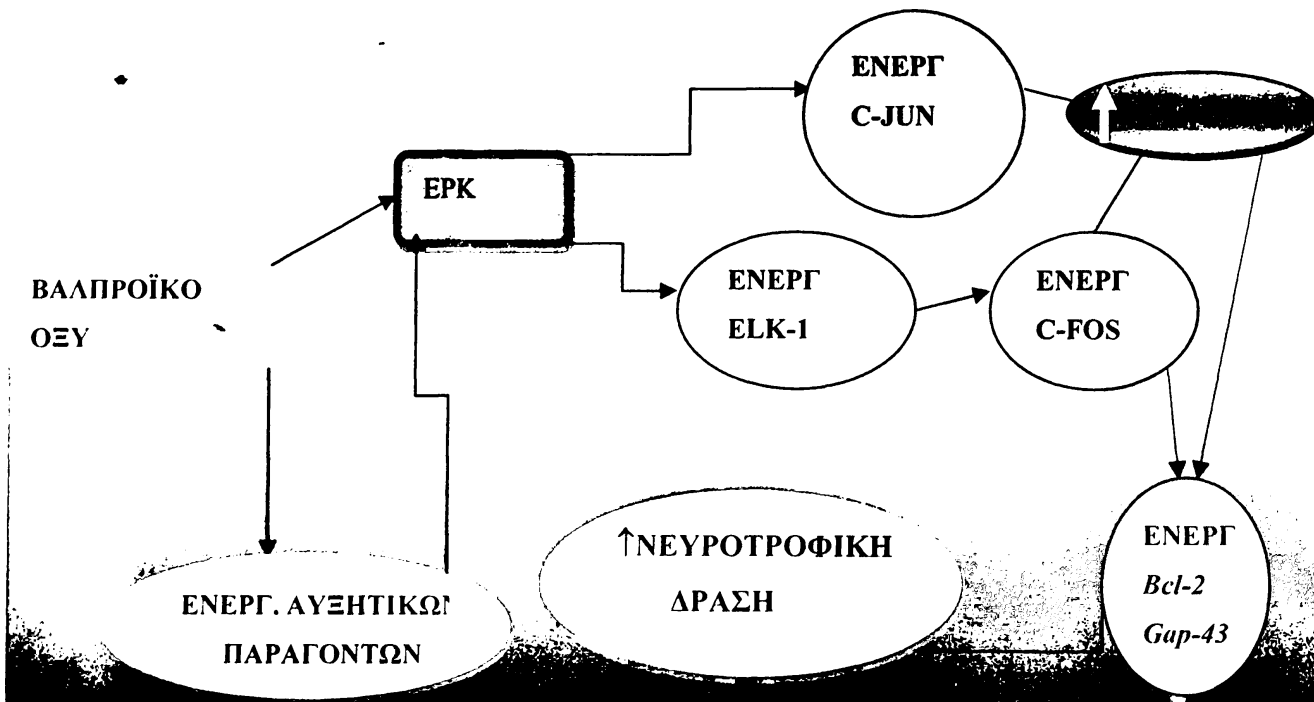
- Το βαλπροϊκό οξύ αυξάνει τα επίπεδα των προστατευτικών πρωτεϊνών *GAP-43* και *Bcl-2*, οι οποίες βοηθούν στην ανάπτυξη των νευριτών τόσο κατά την διάρκεια της νευροανάπτυξης όσο και σε περιπτώσεις νευρικής αναγέννησης.

Ωστόσο, δεν έχει αποδειχτεί ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο το φάρμακο επάγει την έκφραση της κινάσης ERK. Το γεγονός ότι η έναρξη της δράσης του οξέος γίνεται πιο αργά σε σχέση με άλλους νευροτροφικούς παράγοντες, όπως οι παράγοντες BDNF, IL-1 καθώς και η απουσία ειδικών υποδοχέων στις κυτταρικές μεμβράνες, υποδεικνύουν ότι πιθανά η επίδρασή του στην κινάση ERK να είναι έμμεση. Μπορεί το βαλπροϊκό οξύ να διεγείρει την σύνθεση και την παραγωγή άλλων νευροτροφικών παραγόντων, οι οποίοι να συνδέονται σε κατάλληλους υποδοχείς στην κυτταρική επιφάνεια του υποδοχέα της ERK, με αποτέλεσμα την ενεργοποίησή της. (Εικ.49)

Επιπλέον, το βαλπροϊκό οξύ μπορεί να μειώσει την δραστηριότητα της πρωτεΐνης PKC καθώς και την έκφραση διαφόρων ισομορφών της. Η πρωτεΐνη PKC είναι άμεσος ενεργοποιητής της κινάσης της γλυκόζης (glycogen synthase kinase 3β: GSK-3β) η οποία είναι ρυθμιστής της φωσφορυλιωμένης T και B- καθερίνης, πρωτεΐνες που οδηγούν σε νευροαποδόμηση. Κατά συνέπεια, η αναστολή της



δράσης της PKC από το βαλπροϊκό, συνεπάγεται και αύξηση της έκφρασης αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών όπως η *bcl-2*. Η τελευταία αποτρέπει την απελευθέρωση αποπτωτικών παραγόντων όπως το ασβέστιο και το κυτόχρωμα *c*, σταθεροποιεί την ακεραιότητα της κυτταρικής μεμβράνης και προστατεύει τους νευρώνες όταν υπερεκφράζεται.



Εικ.49 Μηχανισμός δράσης του βαλπροϊκού οξέος στο νευρικό σύστημα. Το βαλπροϊκό οξύ ενεργοποιεί διαφορετικά ενδοκυττάρια μονοπάτια με κοινό αποτέλεσμα την αύξηση της έκφρασης των νευροπροστατευτικών πρωτεϊνών *Bcl-2* και *Gap-43*.

Βασισμένοι στις παραπάνω παρατηρήσεις, και με σκοπό να διαπιστώσουν την επίδραση του βαλπροϊκού οξέος στην αξονική αναγέννηση, ο Cui και οι συν. χορήγησαν το βαλπροϊκό οξύ μετά από διατομή του ισχιακού νεύρου επίμυος (338) Η καθημερινή, από του στόματος χορήγηση, 300mg/Kg βαλπροϊκού για 4 εβδομάδες, απέδειξε ότι ήταν ευεργετική για την αναγέννηση των νευραξόνων και για την αποκατάσταση της κινητικής λειτουργίας. Πιο συγκεκριμένα, τόσο ο αριθμός των μυελινοποιημένων νευρικών ινών όσο και ο αριθμός των μυϊκών ινών που επανανευρώθηκαν, ήταν στατιστικώς σημαντικά μεγαλύτερος στην ομάδα του βαλπροϊκού σε σχέση με την ομάδα που δεν δέχτηκε θεραπεία. Επιπλέον, για την ομάδα του βαλπροϊκού, η κινητική αποκατάσταση άρχισε νωρίτερα (4^η εβδομάδα) και έφτασε σε επίπεδα plateau την 8^η εβδομάδα, σε αντίθεση με την ομάδα χωρίς

βαλπροϊκό που η κινητική βελτίωση ξεκίνησε την 8^η εβδομάδα και έφτασε σε επίπεδα plateau την 11^η εβδομάδα.

Πρόσφατες μελέτες αποκάλυψαν ότι το βαλπροϊκό οξύ και τα ανάλογά του, μπορούν να τροποποιήσουν την συμπεριφορά ορισμένων κακοήθων όγκων, αναστέλλοντας τον πολλαπλασιασμό τους, αυξάνοντας την απόπτωση και ελαττώνοντας την δυνατότητα αγγειογένεσης. Ο Regan και οι συν, ήταν οι πρώτοι που παρατήρησαν ότι το βαλπροϊκό οξύ μειώνει τον δείκτη μίτωσης σε καλλιέργειες κυττάρων νευροβλαστώματος (Neuro-2A) και γλειόματος (C6). (339) Θεραπεία κυττάρων νευροβλαστώματος με 1mM βαλπροϊκού οξέος οδήγησε σε αύξηση της έκφρασης της θρομβοσποντίνης-1 (thrombospondin-1) και της ακτιβίνης A (activin A) δυο αντι-αγγειογενετικών μορίων, αποδεικνύοντας ότι το οξύ μπορεί με έμμεσο τρόπο να αναστείλει την αγγειογένεση σε περιπτώσεις κακοήθων όγκων. (340)

Γίνεται σαφές ότι το βαλπροϊκό οξύ είναι ένα πολυδύναμο μόριο με πολλούς θεραπευτικούς στόχους. Η συμμετοχή του όμως στην αξονική αναγέννηση είναι ένα πεδίο με μεγάλο ενδιαφέρον που τώρα αρχίζει να εξερευνάται.



ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



▲ ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η αποκατάσταση των κακώσεων των περιφερικών νεύρων αποτελεί μέχρι σήμερα ένα πεδίο με ιδιαίτερο ενδιαφέρον καθώς η διαδικασία της νευρικής αναγέννησης και της επανανεύρωσης του οργάνου-στόχου είναι σύνθετη και επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες. Η μέθοδος που θα επιλεγεί για την αποκατάσταση, μπορεί να συνεισφέρει στην επίτευξη καλύτερου λειτουργικού αποτελέσματος. Τα νευρικά μοσχεύματα, η τελικοπλάγια συρραφή και η χρήση αγωγών, εφαρμόζονται σήμερα για την χωρίς τάση γεφύρωση των νευρικών ελλειμμάτων. Η ιδέα να χρησιμοποιηθεί ένας φυσικός αγωγός που να μπορεί να καλύψει τα νευρικά ελλείμματα και να παρέχει ένα άριστο περιβάλλον για την νευρική αναγέννηση, οδήγησε στην ιδέα της διπλής τελικοπλάγιας συρραφής.

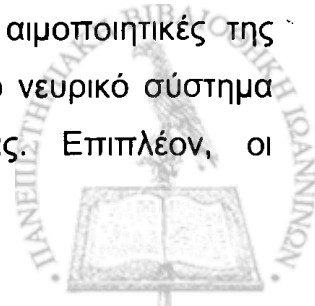
Σκοπός της παρούσας πειραματικής μελέτης είναι να αξιολογήσει και να συγκρίνει τα λειτουργικά (ανάλυση βάδισης) και τα ιστομορφομετρικά αποτελέσματα της διπλής τελικοπλάγιας συρραφής με τα αντίστοιχα της τελικοτελικής συρραφής που θεωρείται η μέθοδος εκλογής για νευρικά ελλείμματα και επομένως να αποδείξει την αποτελεσματικότητα της μεθόδου.

Επιπλέον, ο έλεγχος πιθανής βλάβης στο νεύρο-αγωγό είναι ουσιώδους σημασίας για την εφαρμογή της μεθόδου, δεδομένου ότι η θυσία ενός υγιούς νεύρου για την αποκατάσταση ενός άλλου, επιτυγχάνεται και με την χρήση νευρικών μοσχευμάτων και επομένως αν η μέθοδος προκαλεί βλάβη στο υγιές νεύρο, τότε δεν αποτελεί εναλλακτική λύση. Επομένως τα ερωτήματα που πρέπει να απαντηθούν είναι:

1. Μπορεί ο κορμός ενός υγιούς νεύρου να χρησιμοποιηθεί για την γεφύρωση νευρικών ελλειμμάτων;
2. Έχει η μέθοδος της διπλής τελικοπλάγιας συρραφής αξιολογήσιμα λειτουργικά αποτελέσματα;
3. Η μέθοδος επηρεάζει τη λειτουργικότητα του νεύρου-αγωγού;

Επιπροσθέτως, σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να αξιολογήσει τον ρόλο της ερυθροποιητίνης και του βαλπροϊκού οξέος, ως νευροπροστατευτικούς παράγοντες και ως ουσίες που μπορεί να επάγουν την νευρική αναγέννηση.

Η επιλογή της ερυθροποιητίνης, που είναι γνωστή για τις αιμοποιητικές της ιδιότητες, βασίστηκε αρχικά στο γεγονός ότι η παρουσία της στο νευρικό σύστημα αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι της νευρωνικής λειτουργίας. Επιπλέον, οι



νευροπροστατευτικές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες καθώς και η αντιαποπρωτική προστασία που παρέχει στους τραυματισμένους νευρώνες, αποτέλεσαν ισχυρά κριτήρια για την επιλογή της κυτοκίνης ως παράγοντα που πιθανά να επάγει την νευρική αναγέννηση. Η επιβεβαίωση της παρουσίας των υποδοχέων της ερυθροποιητίνης στο περιφερικό νευρικό σύστημα του ανθρώπου αποτέλεσε ενθαρρυντικό στοιχείο για την πειραματική εφαρμογή και για την μελέτη της επίδρασης της ουσίας σε ένα νέο πεδίο: Στις κακώσεις των περιφερικών νεύρων.

Το βαλπροϊκό οξύ, γνωστό αντιεπιληπτικό φάρμακο, έχει βρεθεί ότι σε κλινικά θεραπευτικές συγκεντρώσεις, οδηγεί μέσω της ενεργοποίησης ενός καταρράκτη αντιδράσεων, στην παραγωγή ουσιών με νευροτροφικό ρόλο. Ο ρόλος του στην αξονική αναγέννηση, είναι ένα από τα αντικείμενα της παρούσας μελέτης.

Η δράση των νευροτροφικών παραγόντων όταν χορηγούνται συστηματικά, περιορίζεται σημαντικά από την ενζυματική διάσπαση που υφίστανται στο αίμα, από την μειωμένη ικανότητά τους να περνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και από τις πιθανές παρενέργειες που σχετίζονται με την μακροχρόνια χορήγησή τους. Το βαλπροϊκό οξύ μπορεί να διέρχεται από τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και να χορηγείται με ασφάλεια για μεγάλο χρονικό διάστημα, οπότε αν αποδειχτεί ότι επάγει την νευρική αναγέννηση, τότε πιθανά να αποτελέσει ένα υποσχόμενο μόριο που θα βοηθά στη βελτίωση της λειτουργικής αποκατάστασης των τραυματικών κακώσεων των περιφερικών νεύρων.



▲ ΥΛΙΚΟ και ΜΕΘΟΔΟΣ

Στην παρούσα μελέτη, χρησιμοποιήθηκαν 50 αρσενικοί επίμυες (Wistar rats), βάρους 250-320gr (μέση τιμή 265 gr). Οι διαδικασίες που αφορούσαν την πραγματοποίηση της μελέτης έγιναν με βάση πρωτόκολλα αποδεκτά από την Κρατική Κτηνιατρική Υπηρεσία και τη Γενική Γραμματεία Ανάπτυξης, Νομαρχία Ιωαννίνων (αρ.πρωτ.2579).

Τα ζώα χωρίστηκαν σε 5 ομάδες, με 10 ζώα σε κάθε ομάδα.

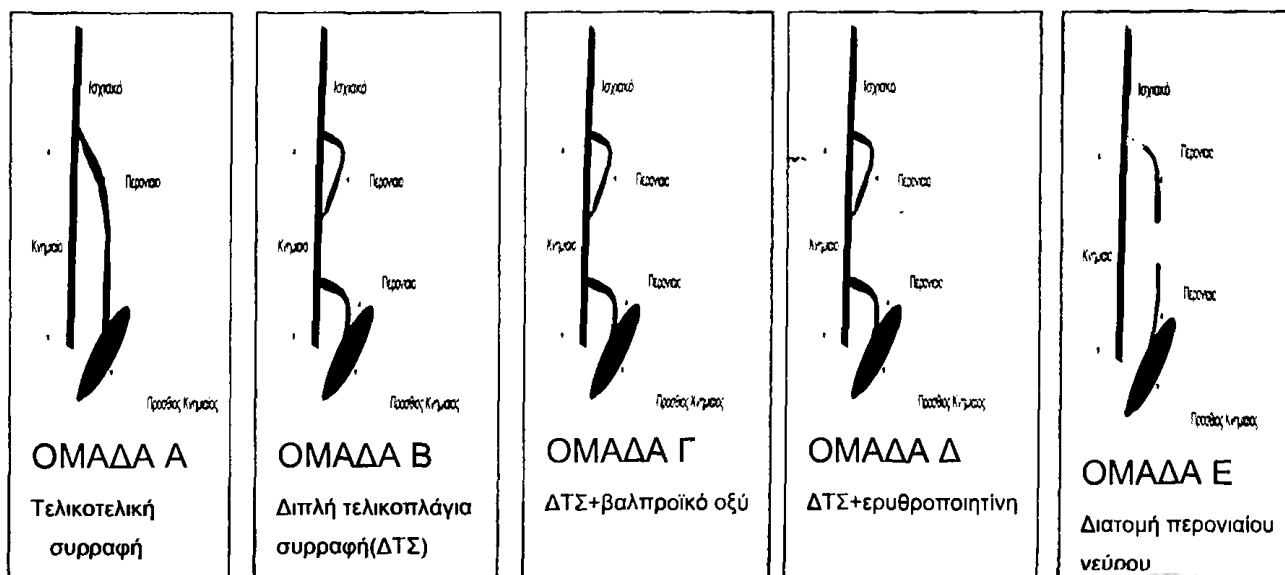
◆ **Ομάδα Α:** Διατομή του περνιαίου νεύρου και άμεση τελικοτελική συρραφή.

◆ **Ομάδα Β:** Το κεντρικό κολόβωμα του περνιαίου νεύρου συμπλησιάστηκε τελικοπλάγια στο κνημιαίο νεύρο. Το περιφερικό κολόβωμα, σε απόσταση 0.8cm από το κεντρικό, τοποθετήθηκε με τον ίδιο τρόπο στον κορμό του κνημιαίου νεύρου. (Διπλή τελικοπλάγια συρραφή)

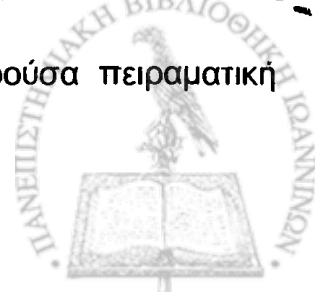
◆ **Ομάδα Γ:** Εφαρμόστηκε η προηγούμενη τεχνική και επιπλέον, σε όλα τα ζώα της ομάδας, χορηγήθηκαν ενδοπεριτοναϊκά 300mg/Kg βαλπροϊκού οξέος, καθημερινά για 16 εβδομάδες.

◆ **Ομάδα Δ:** Εφαρμόστηκε η διπλή τελικοπλάγια συρραφή και στα ζώα της ομάδας χορηγήθηκαν υποδορίως 2680 IU/Kg ερυθροποιητίνης για συνολικό διάστημα 20 ημερών.

◆ **Ομάδα Ε:** Διατομή του περνιαίου νεύρου. Τα κολοβώματα αφήνονται χωρίς επιδιόρθωση και ενταφιάζονται στους γειτονικούς μύς. (Σχ.1) (Φωτ.1-5)



Σχ.1 Αναπαράσταση των ομάδων που συμμετέχουν στην παρούσα πειραματική μελέτη.

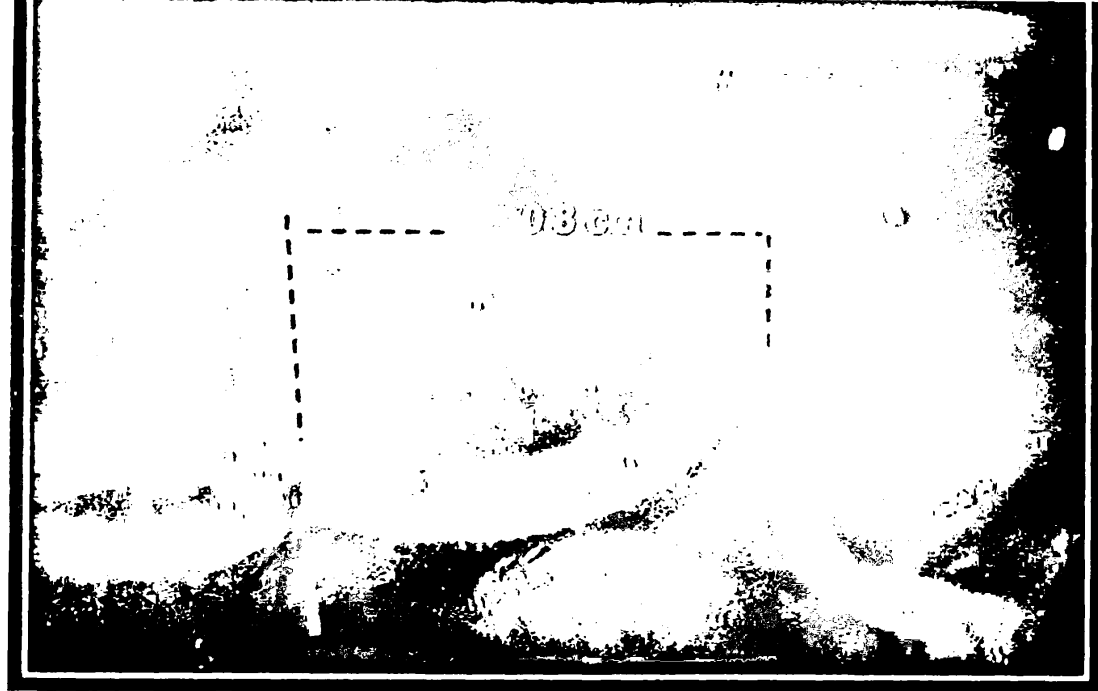




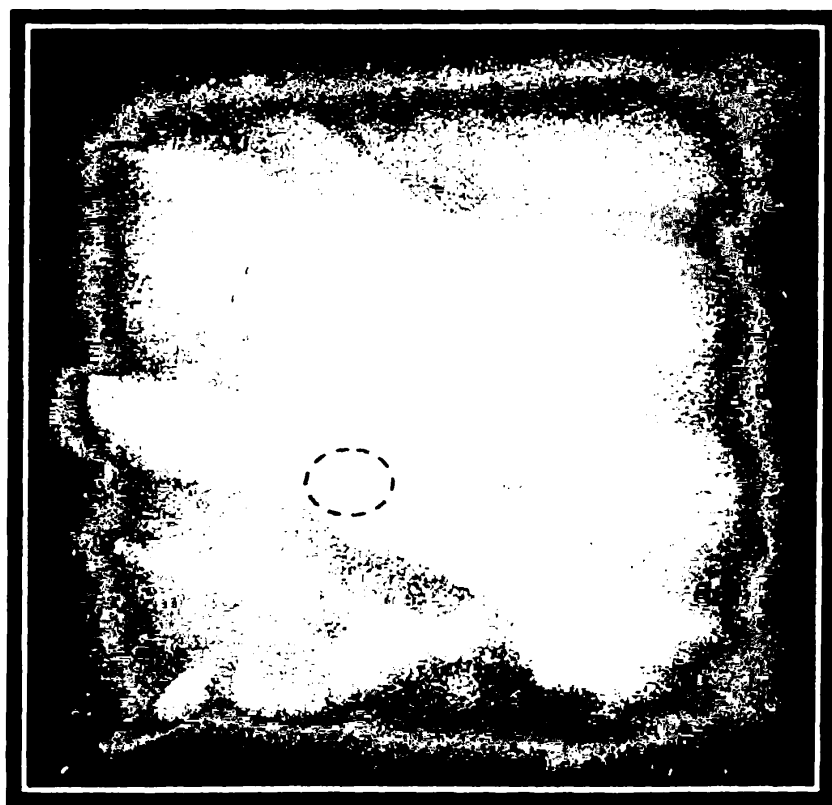
Φωτ.1 Το ισχιακό νεύρο(κίτρινο βέλος) και οι κλάδοι του: Το κνημιαίο βέλος), το περνιαίο νεύρο(γαλάζιο βέλος) και το γαστροκνημιαίο νεύρο(κόκκινο βέλος)



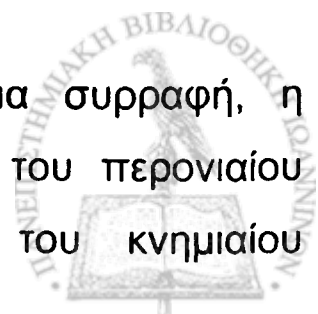
Φωτ.2 Στην ομάδα Α, το περνιαίο νεύρο μετά από τη διατομή του. Τελικοτελική (κίτρινο βέλος)



3 Στην ομάδα Β, εφαρμόστηκε η διπλή τελικοπλάγια συρραφή: Το κεντρικό και περιφερικό κολόβωμα του περονιαίου νεύρου (πράσινο βέλος), συμπλησιάστηκαν πλάγια με το κνημιαίο νεύρο. (κίτρινο βέλος)



4 Στις ομάδες που εφαρμόστηκε η διπλή τελικοπλάγια συρραφή, η αναστολή του περιφερικού και του κεντρικού κολοβώματος του περονιαίου νεύρου έγινε μετά από επινευροτομή 1mm στον κορμό του κνημιαίου νεύρου. (κύκλος)



Φωτ. 5 Στις ομάδες Γ και Δ, εφαρμόστηκε η διπλή τελικοπλάγια συρραφή. Επιπλέον χορηγήθηκαν βαλπροϊκό οξύ και ερυθροποιητίνη αντίστοιχα.



Φωτ.6 Στην ομάδα Ε, μετά την διατομή του περονιαίου νεύρου, τα κολοκύθια (κίτρινα βέλη) ενταφιάζονται σε παρακείμενους μυς.



^ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Τα ζώα αναισθητοποιήθηκαν με ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση 5 mg/Kg κεταμίνης (Narketan 10, 100mg/ml Vetoquinolag, Switzerland). Όλες οι χειρουργικές επεμβάσεις αφορούσαν το δεξιό κάτω άκρο των πειραματοζώων και πραγματοποιήθηκαν κάτω από άσηπτες συνθήκες, με την βοήθεια μικροσκοπίου (Zeiss-OPMI 7, Jena, Germany) και με μικροχειρουργική τεχνική.

Μέσω γλουτιαίας προσπέλασης, ανευρέθηκαν και παρασκευάστηκαν το ισχιακό νεύρο και οι τρεις κύριοι κλάδοι του το κνημιαίο, το περονιαίο και το γαστροκνημιαίο. Σε απόσταση 1cm από τον διχασμό του από το ισχιακό, το περονιαίο νεύρο, διατέμνεται εγκαρσίως.

Στην ομάδα Α, γίνεται άμεση αποκατάσταση με τελικοτελική συρραφή. Τοποθετούνται τρία μη απορροφήσιμα ράμματα 10/0 σε γωνία 120°. Η συρραφή γίνεται στο επινεύριο των δυο κολοβωμάτων έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η ακριβής συμπλησίαση και να διατηρείται ο αρχικός προσανατολισμός των νευρικών κολοβωμάτων.

Στις ομάδες Β, Γ, και Δ, εφαρμόζεται το μοντέλο της διπλής τελικοπλάγιας συρραφής, στην οποία το περιφερικό και κεντρικό κολόβωμα του περονιαίου νεύρου συρράπτονται τελικοπλάγια στον κορμό του κνημιαίου νεύρου, χρησιμοποιώντας τρία ράμματα 10/0 nylon τοποθετημένα σε απόσταση 120°. Όλες οι τελικοπλάγιες συρραφές, έγιναν αφού δημιουργήθηκε επινευρικό παράθυρο 1mm στο κνημιαίο νεύρο.

Στην ομάδα Ε, τα κολοβώματα του περονιαίου νεύρου, ενταφιάστηκαν σε γειτονικούς μυς και καθηλώθηκαν με ένα ράμμα 8/0 nylon.

Οι μυς, σε όλες τις ομάδες, συμπλησιάστηκαν με διακεκομμένα απορροφήσιμα ράμματα 4/0 ενώ η σύγκλειση των τραυμάτων του δέρματος έγινε με ράμματα 3/0 nylon.

Σε όλη την διάρκεια της πειραματικής μελέτης τα πειραματοζώα βρίσκονταν σε ξεχωριστά κλουβιά, σε σταθερές συνθήκες εργαστηρίου, με παροχή ειδικής τροφής και νερού, με 12ωρο κύκλο ημέρας και νύχτας.

Όλα τα ζώα παρέμειναν υγιή μέχρι το πέρας της μελέτης, χωρίς κλινικές ενδείξεις φλεγμονής του χειρουργικού τραύματος και χωρίς σημεία αυτοτραυματισμού ή ελκών στους άκρους πόδες.



Α ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ

Η επιλογή της υποδόριας χορήγησης της ανασυνδυασμένης ανθρώπινης ερυθροποιητίνης (rHuEpo), βασίστηκε στο γεγονός ότι είναι κλινικά πιο εύκολα εφαρμόσιμη και πιο αποτελεσματική από την ενδοφλέβια και την ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση.(341) Η υποδόρια χορήγησή της, έχει αποδειχτεί ότι είναι αποτελεσματική, ασφαλής και με ελάχιστες παρενέργειες, τουλάχιστον σε ό,τι αφορά στη θεραπεία της αναιμίας ασθενών με νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου.

Επιπλέον, όταν χορηγείται υποδορίως έχει χρόνο ημίσειας ζωής μεγαλύτερο από 24 ώρες, ενώ με την ενδοφλέβια χορήγηση ο χρόνος ημίσειας ζωής είναι 4 ώρες.(342) Το μοναδικά μειονέκτημα της υποδόριας χορήγησης είναι ο πόνος κατά την εφαρμογή της. Η προσθήκη της αιθυλικής αλκοόλης ως συντηρητικό μέσο και η χορήγηση της δόσης με σύριγγες μικρής διαμέτρου, είναι δυο μέτρα που μπορούν να ελαττώσουν τον πόνο χωρίς όμως να επηρεάσουν την αποτελεσματικότητα του φαρμάκου.(341)

Η καθημερινή χορήγηση της συγκεκριμένης δόσης (2680 IU/Kg), βασίστηκε σε βιβλιογραφικά δεδομένα για την κάθαρση και την βιοδιαθεσιμότητα της ουσίας που αναφέρουν ότι είναι πιο αποτελεσματική συγκρινόμενη τόσο με την χορήγηση υψηλών δόσεων(5000 IU/Kg) όσο και με τις χαμηλές δόσεις(1000 IU/Kg).(307-8)

Η χορήγηση μιας δόσης ερυθροποιητίνης μια ημέρα πριν το χειρουργείο σε όλα τα πειραματόζωα της ομάδας Δ, έγινε με βάση τη διαπίστωση ότι σε άλλα πειραματικά μοντέλα, η προεγχειρητική χορήγηση ήταν αποτελεσματική στο να προλαμβάνει την απόπτωση των γαγγλίων των οπισθίων ριζών μετά από κακώσεις περιφερικών νεύρων καθώς και την απόπτωση των νευρώνων σε περιπτώσεις εγκεφαλικής ισχαιμίας.(302,307)

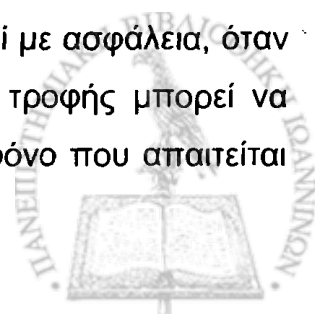


ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΤΟΥ ΒΑΛΠΡΟΪΚΟΥ

Στα πειραματόζωα της ομάδας Γ, χορηγήθηκαν ενδοπεριτοναϊκά 300mg/Kg άλατος του βαλπροϊκού οξέος (Sodium Valroate). Η χορήγηση ήταν καθημερινή και διήρκησε 16 εβδομάδες. Η δοσολογία χορήγησης βασίστηκε στο γεγονός ότι ενώ δράση του οξέος κατά της μανίας εμφανίζεται όταν η συγκέντρωση στο αίμα είναι πάνω από 50μg/ml και η τοξικότητα σε κλινικό επίπεδο εμφανίζεται όταν τα επίπεδα φτάσουν τα 200 μg/ml, (343) τα πειραματόζωα που λαμβάνουν βαλπροϊκό οξύ σε δόση 300mg/ml παρουσιάζουν στο πλάσμα επίπεδα της τάξεως των 50μg/ml.(344)

Επιπλέον, το βαλπροϊκό οξύ, συνδέεται με τις πρωτεΐνες του πλάσματος, κυρίως τις αλβουμίνες. Το ποσό του ιονισμένου(ελεύθερου οξέος) στο πλάσμα, ευθύνεται για όλα τα φαρμακολογικά φαινόμενα και τις ιδιότητες που παρουσιάζει το οξύ. Το ελεύθερο ποσό του βαλπροϊκού στο πλάσμα, αυξάνει από 10% όταν η συγκέντρωση είναι 40μg/ml σε 18.5% όταν η συγκέντρωση φτάσει τα 130μg/ml.(345).Συνεπώς, επειδή η σχέση σύνδεσης φαρμάκου-πρωτεϊνών δεν είναι γραμμική, κάτι που συμβαίνει και με τον μεταβολισμό του βαλπροϊκού, η χορήγηση του φαρμάκου στα ανώτερα θεραπευτικά όρια πιθανά να οδηγούσε σε μεγαλύτερη από την αναμενόμενη, μεταβλητότητα στην εκδήλωση των φαρμακολογικών αποτελεσμάτων, κάτι που συχνά εμφανίζεται όταν χορηγούνται οι ανώτερες θεραπευτικές δόσεις.(345) Συγκεντρώσεις υψηλότερες από 125μg/ml μπορεί να δημιουργήσουν παρενέργειες όπως τρόμο, υπεραντιδραστικότητα και υπνηλία. Στηριζόμενοι στις παραπάνω ιδιαιτερότητες της φαρμακοκινητικής του βαλπροϊκού, τελικά χορηγήθηκαν στα πειραματόζωα 300mg/Kg, έτσι ώστε να επιτευχθούν με ασφάλεια θεραπευτικά επίπεδα, αλλά χωρίς τον κίνδυνο εμφάνισης παρενεργειών. Με βάση πειραματικές μελέτες σε επίμυες, η χορήγηση του φαρμάκου είναι πιο ασφαλής όταν πραγματοποιείται σε δυο διαιρεμένες δόσεις αντί για μία, ώστε να αποφεύγεται η μέγιστη συγκέντρωση του φαρμάκου στο πλάσμα και επομένως να ελαττώνεται η πιθανότητα εμφάνισης παρενεργειών.(345)

Το βαλπροϊκό οξύ στα πειραματόζωα χορηγείται πιο συχνά ενδοπεριτοναϊκά ή από το στόμα διαλυμένο σε πόσιμο νερό. Στην παρούσα πειραματική μελέτη, προτιμήθηκε η ενδοπεριτοναϊκή οδός χορήγησης, για μεγαλύτερη ακρίβεια ώστε να εξασφαλιστεί η απαιτούμενη δόση οποία δεν μπορεί να επιτευχθεί με ασφάλεια, όταν το φάρμακο χορηγείται από το στόμα. Επιπλέον, η παρουσία τροφής μπορεί να καθυστερήσει τον ρυθμό απορρόφησης και να παρατείνει τον χρόνο που απαιτείται

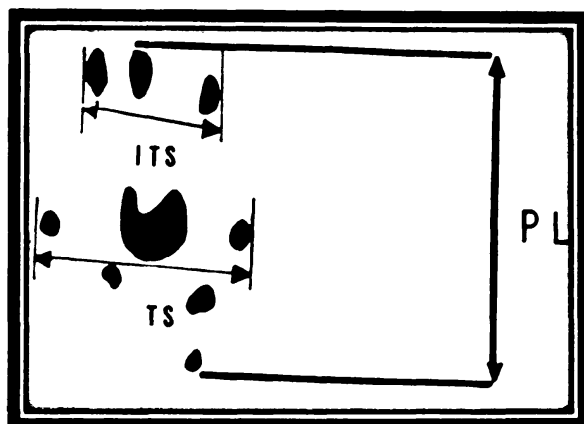


για την μέγιστη συγκέντρωση του φαρμάκου στο πλάσμα. Επίσης, στην περίπτωση που το φάρμακο χορηγείται από το στόμα, περνάει αρχικά από το ήπαρ πριν εισέλθει στην συστηματική κυκλοφορία. Αυτό σημαίνει ότι μια σημαντική ποσότητα του απορροφούμενου φαρμάκου ελαττώνεται λόγω του ηπατικού μεταβολισμού που υφίσταται. (first-pass effect or presystemic clearance)

^ ΑΝΑΛΥΣΗ ΒΑΔΙΣΗΣ

Η ανάλυση βάδισης είναι μια αξιόπιστη, μη επεμβατική μέθοδος με την οποία μπορεί να αξιολογηθεί η λειτουργική αποκατάσταση του νεύρου μετά από τραυματισμό του. Επιλέχτηκε ως μέθοδος, γιατί μπορεί να επαναληφθεί κατά την διάρκεια της μελέτης, να παρέχει κάθε φορά σημαντικές λεπτομέρειες για το επίπεδο της αποκατάστασης του τραυματισμένου νεύρου και γιατί επιπλέον βοηθά στο να προσδιοριστεί ο κατάλληλος χρόνος για την τελική ιστολογική αξιολόγηση της αναγέννησης. Θεωρείται ο καταλληλότερος δείκτης για την παρακολούθηση της σωστής επανανεύρωσης του οργάνου-στόχου.(346)

Οι απαραίτητες μετρήσεις περιλάμβαναν: Την απόσταση από την πτέρνα ως το μεσαίο δάκτυλο(PL), από το πρώτο δάκτυλο ως το πέμπτο δάκτυλο του ποδιού(TS) και η απόσταση από το δεύτερο δάκτυλο ως το τέταρτο(ITS).Οι μετρήσεις αφορούν το φυσιολογικό (Normal) άκρο και το τραυματισμένο(Experimental) .(Εικ.1)



Εικ.1 Μετρήσεις απαραίτητες για την εφαρμογή του μοντέλου της ανάλυσης βάδισης. (Dellon E and Dellon L: Functional assessment of neurologic impairment: Track analysis in diabetic and compression neuropathies. Plastic and Reconstructive Surgery. 1990;88(4):686-694)



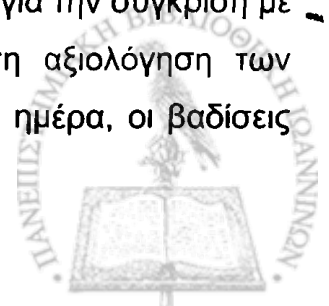
Για τον προσδιορισμό της λειτουργίας του περνιαίου νεύρου αλλά και για τη λειτουργία του κνημιαίου νεύρου, χρησιμοποιήθηκαν οι δείκτες Peroneal function index(PFI) και Tibial function index(TFI) αντίστοιχα, με βάση την φόρμουλα των Bain & Mackinnon.(347) (Πιν.1)

$PFI = 174.9 \left(\frac{EPL - NPL}{NPL} \right) + 80.3 \left(\frac{ETS - NTS}{NTS} \right) - 13.4$	$TFI = -37.2 \left(\frac{EPL - NPL}{NPL} \right) + 104.4 \left(\frac{ETS - NTS}{NTS} \right) + 45.6 \left(\frac{EIT - NIT}{NIT} \right) - 8.8$
---	---

Πιν.1 Φόρμουλα Bain & Mackinnon για τον υπολογισμό PFI και TFI. (EPL→Experimental print length, NPL→ Normal print length ,ETS→ Experimental toe spread , NTS→ Normal toe spread, EIT→ Experimental intermediary toe spread, NIT→ Normal intermediary toe spread) (Bain JR ,Mackinnon SE et al: Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. Plastic and Reconstructive Surgery. 1989;83(41):129-138)

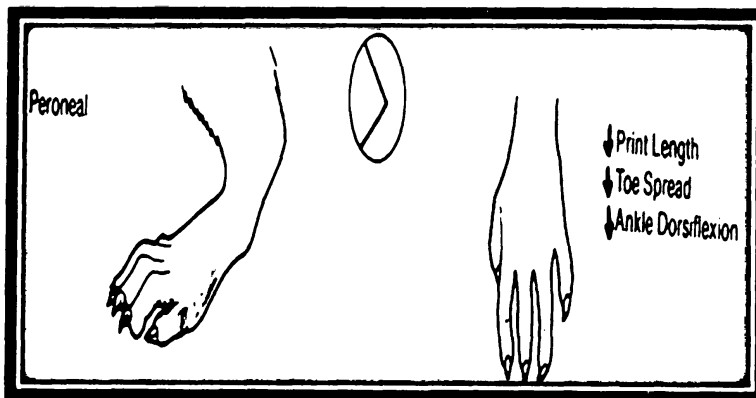
Το συγκεκριμένο μοντέλο βάδισης αναλύει τα αποτελέσματα του τραυματισμού σε συγκεκριμένο νεύρο συγκρίνοντας την τροποποιημένη νευρολογική λειτουργία, δηλαδή την βάδιση, στο άκρο με την νευρική κάκωση με το αντίθετο, μη τραυματισμένο άκρο. Από την φόρμουλα των Bain και Mackinnon, σε πειραματόζωα με διατομή του περνιαίου νεύρου η τιμή του δείκτη PFI ορίζεται στο -100 και σε μη χειρουργημένα ζώα η τιμή του δείκτη ορίζεται στο 0. Τα πειραματόζωα μετά από τραυματισμό του περνιαίου νεύρου, αναπτύσσουν ένα χαρακτηριστικό μοντέλο βάδισης (Εικ.2)

Στην παρούσα μελέτη, πριν από το χειρουργείο, τα πειραματόζωα όλων των ομάδων βάδισαν σε ειδικά διαμορφωμένο διάδρομο, 8 × 62 cm, έτσι ώστε να υπάρχουν οι προεγχειρητικές τιμές PFI και TFI (baseline values) για την σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές μετεγχειρητικά και για την πιο αξιόπιστη αξιολόγηση των αποτελεσμάτων. Την 15^η, 30^η, 60^η, 90^η και 120^η μετεγχειρητική ημέρα, οι βαδίσσεις



επαναλήφθηκαν. Ακολούθησαν οι μετρήσεις των δεικτών PFI και TFI, που έγιναν με ειδικό ψηφιακό πρόγραμμα. Ο δείκτης TFI και οι διαχρονικές μεταβολές του σε κάθε ομάδα, υπολογίστηκαν στις ίδιες χρονικές περιόδους για να αξιολογηθεί πιθανή λειτουργική βλάβη στο κνημιαίο νεύρο.

Σε κάθε μέτρηση, τα πέλματα των πειραματοζώων βάφονται με μελάνι, ώστε βαδίζοντας πάνω στον διάδρομο με το ειδικό χαρτί, να αφήνουν τα αποτυπώματα και να επιτρέπουν την καταγραφή των δεικτών. Τα πειραματόζωα εκπαιδεύονται στο να περπατούν πάνω στο διάδρομο χωρίς να σταματούν, ώστε να υπάρχουν αποτυπωμένες στο χαρτί τουλάχιστον τρεις συνεχόμενες βαδίσσεις.



Εικ.2 Η διατομή του περονιαίου νεύρου οδηγεί σε μείωση του δείκτη PL, λόγω της επικράτησης της δράσης των καμπτήρων των δακτύλων του ποδιού. Ο δείκτης TS, είναι ελάχιστα μειωμένος ενώ η απόσταση μεταξύ του δεύτερου και του τετάρτου δακτύλου (ITS) μένει σχετικά ανεπηρέαστη λόγω της φυσιολογικής λειτουργίας των αυτοχθόνων μυών του ποδιού. (Bain JR, Mackinnon SE et al: Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1989;83(41):129-138)

ΛΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

Μετά το τέλος της πειραματικής μελέτης, την 120^η μετεγχειρητική ημέρα, έγινε ευθανασία των ζώων με ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση θανατηφόρου δόσης πεντοβαρβιτάλης (100mg/Kg). Με προσθιοπλάγια προσπέλαση από τον μηρό, το περόνιαίο και το κνημιαίο νεύρο αναγνωρίστηκαν, παρασκευάστηκαν και αφαιρέθηκαν για την λήψη ιστοτεμαχίων για εξέταση. Στην ομάδα Α, από το περονιαίο νεύρο αφαιρέθηκαν ιστολογικά τεμάχια μήκους 0.5 cm, κάτω από την τελικοτελική συρραφή. Στις ομάδες Β, Γ και Δ, ιστοτεμάχια περονιαίου νεύρου



μήκους 0.5 cm λήφθησαν σε απόσταση επίσης 0.5 cm από το σημείο της τελικοπλάγιας συρραφής του περιφερικού κολοβώματος με το κνημιαίο νεύρο.

Επιπλέον, από τις ομάδες που εφαρμόστηκε η διπλή τελικοπλάγια συρραφή (Β, Γ και Δ), ελήφθησαν ιστοτεμάχια από τον κορμό του κνημιαίου νεύρου, δηλαδή από το τμήμα μεταξύ των δύο τελικοπλάγιων συρραφών και από το τμήμα κάτω από την περιφερική τελικοπλάγια συρραφή, ώστε να εκτιμηθούν: 1. Η ιστολογική εικόνα του κνημιαίου νεύρου και η αναζήτηση αναγεννώμενων νευραξόνων. 2. Πιθανή βλάβη στο νεύρο-αγωγό, που θα αξιολογηθεί με την ποιοτική εκτίμηση των ιστολογικών τομών αλλά και με ιστομορφομετρικά κριτήρια. Η ιστολογική εικόνα του κνημιαίου νεύρου θα δώσει πληροφορίες τόσο για την επίδραση της διπλής τελικοπλάγιας συρραφής όσο και για τον ρόλο της ερυθροποιητίνης και του βαλπροϊκού στο νεύρο-αγωγό.

Επιπλέον, ιστολογικές τομές λήφθησαν κοντά στα σημεία των δυο τελικοπλάγιων συρραφών. Η ποιοτική εκτίμηση της ιστολογικής εικόνας κυρίως στην κεντρική συρραφή μπορεί να δώσει πληροφορίες για την πιθανή προέλευση των νευραξόνων στο συγκεκριμένο πειραματικό μοντέλο.

Στο περιφερικό κολόβωμα του περονιαίου νεύρου, καταμετρήθηκαν οι αναγεννώμενοι νευράξονες όλων των ομάδων της πειραματικής μελέτης εκτός της ομάδας Ε (πλήρης διατομή του περονιαίου νεύρου). Καθώς ο απόλυτος αριθμός των νευραξόνων δεν ταυτίζεται πάντοτε με την λειτουργική αποκατάσταση, επιπλέον μελετήθηκαν ιστομορφομετρικοί παράμετροι, δηλαδή το πάχος και το εμβαδό της μυελίνης καθώς και η διάμετρος των μυελινοποιημένων νευρικών ινών. Η αξιολόγηση των παραμέτρων αυτών, βοηθά στην ποιοτική αλλά και ποσοτική εκτίμηση της νευρικής αναγέννησης.

Τα ιστολογικά τεμάχια σταθεροποιήθηκαν σε διάλυμα γλουταραλδεϋδης 2%, ξεπλύθηκαν σε ρυθμιστικό διάλυμα 0.2mmol/L (pH 7.4) άλατος του κακοδυλικού οξέος, στη συνέχεια σταθεροποιήθηκαν σε διάλυμα τετροξειδίου του οσμίου 1%, υδρολύθηκαν με διαλύματα αιθανόλης διαβαθμισμένης συγκέντρωσης (30%, 50%, 70%, 95% και 100%) και μονιμοποιήθηκαν σε εποξική ρητίνη για τον υπολογισμό του αριθμού των νευραξόνων. Από τα νευρικά τμήματα, έγιναν λήψεις πάχους 1-μm με την βοήθεια υπερηχητικού μαχαιριού Reichert-Jung (Reichert-Jung, Weiss, Austria). Η χρώση των ιστοτεμαχίων έγινε με τολουϊδίνη μπλέ και η εξέτασή τους με μικροσκόπιο (Axioscop, Zeiss, Munich, Germany) Για τον υπολογισμό των νευραξόνων και των



υπολοίπων ιστομορφομετρικών παραμέτρων, χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα NIH Image (<http://rsb.info.nih.gov/nih-image/>).

Λ ΜΥΪΚΟ ΒΑΡΟΣ

Η λήψη του προσθίου κνημιαίου μυός έγινε από το χειρουργημένο αλλά και από το υγιές μέλος, από όλα τα πειραματόζωα. Το βάρος του μυός καταγράφηκε αμέσως μετά την λήψη του και μελετήθηκε ως λόγος του βάρους του πειραματικού μέλους προς το υγιές, της αντίθετης πλευράς που χρησιμεύει ως control. Τεμάχια από κάθε μυ, εμβαπτίστηκαν σε διάλυμα φορμόλης 10% πριν γίνει η μονιμοποίησή τους σε αιματοξυλίνη-ηωσίνη, για την ιστολογική τους εξέταση.

Λ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

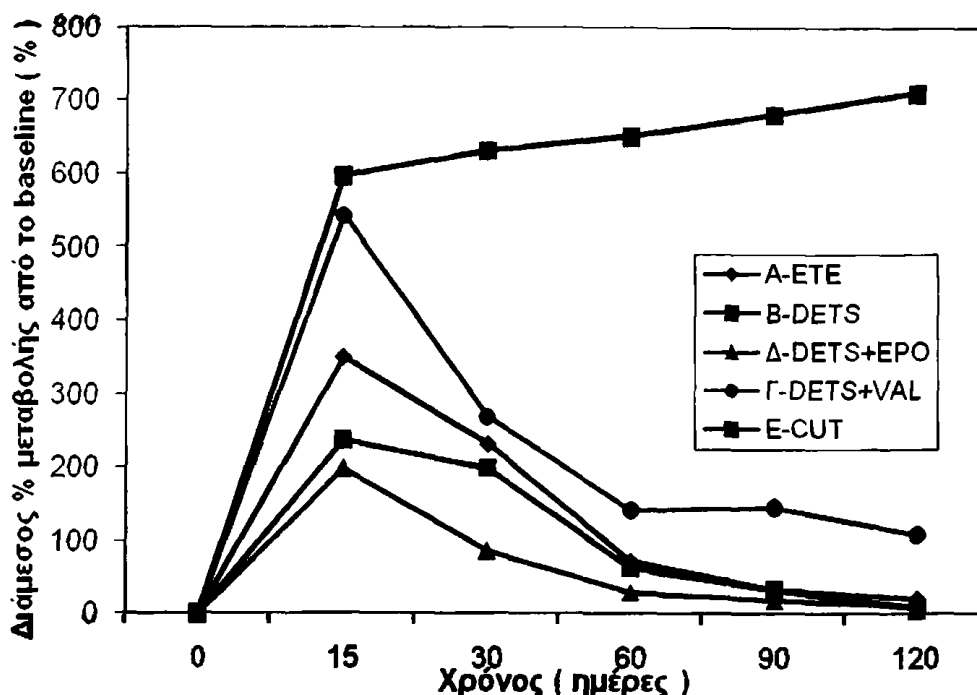
Οι τιμές των μεταβλητών παρουσιάζονται χρησιμοποιώντας των αριθμό των συμμετεχόντων (N) , τις μέσες τιμές (μ.τ), τις διαμέσους και τις τυπικές αποκλίσεις (τ.α) Οι συγκρίσεις των παθολογοανατομικών μεταβλητών (μέτρηση των νευραξόνων, το βάρος του προσθίου κνημιαίου μυός και οι ιστομορφομετρικοί παράμετροι) μεταξύ των ομάδων, πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας το μοντέλο της ανάλυσης διακύμανσης κατά ένα παράγοντα χωρίς επαναληπτικές μετρήσεις (One way ANOVA). Για τις πολλαπλές συγκρίσεις ανάμεσα στις ομάδες ανά 2 (pairwise multiple comparisons) χρησιμοποιήθηκε το Bonferroni test.

Για την ανάλυση της βάρδισης, ο έλεγχος της ποσοστιαίας μεταβολής του δείκτη PFI από το baseline μέχρι και τον 4^ο μήνα πραγματοποιήθηκε με το μη παραμετρικό Mann-Whitney τεστ για όλες τις ομάδες της πειραματικής μελέτης. Το αποτέλεσμα θα εκφραστεί σαν διάμεση και όχι σαν μέση τιμή λόγω της μεγάλης διασποράς των τιμών και την καταστρατήγηση της κανονικής κατανομής. Για την διαχρονική σύγκριση των μεταβλητών ανά ομάδα (αρχική τιμή vs τιμή 15^{ης} ημέρας vs τιμή 1^{ου} μήνα vs τιμή 2^{ου} μήνα vs τιμή 3^{ου} μήνα vs τιμή 4^{ου} μήνα) χρησιμοποιήσαμε το μοντέλο της ανάλυσης διακύμανσης κατά ένα παράγοντα με επαναληπτικές μετρήσεις (One factor Repeated Measures ANOVA).

Επίσης, χρησιμοποιήθηκε το μικτό μοντέλο της ανάλυσης διακύμανσης κατά δύο παράγοντες για να ελέγξουμε αν διαχρονικά η TFI μεταβάλλεται με τον ίδιο τρόπο μεταξύ των ομάδων. Όλα τα τεστ είναι διπλής κατεύθυνσης (two-sided), με επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0.05$. Όλες οι αναλύσεις έγιναν με την χρήση SPSS, version 13.00(SPSS Inc,Chicago, I)



ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΠΟΣΟΣΤΙΑΙΑΣ ΜΕΤΑΒΟΛΗΣ ΤΟΥ ΡFI ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΙΣ ΟΜΑΔΕΣ



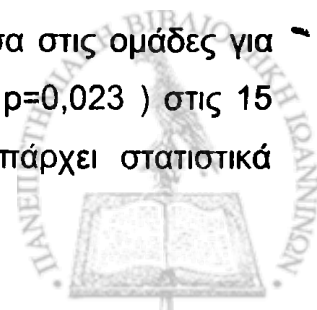
Εικ.3 Ποσοστιαία μεταβολή του δείκτη PFI μεταξύ των ομάδων Α, Β, Γ, Δ, Ε.

Με βάση τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης, στο τέλος της πειραματικής μελέτης, οι ομάδες Α, Β, Δ, δεν έχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους αλλά έχουν με την ομάδα Γ. ($p < 0.0005$) Επίσης, όλες οι ομάδες, έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά με την ομάδα Ε. ($p < 0.0005$) (ΕΤΕ:τελικοτελική συρραφή, DETS:Διπλή τελικοπλάγια, ΕΡΟ:Ερυθροποιητίνη, VAL:Βαλπροϊκό)

Πιο αναλυτικά, η μεταβολή του δείκτη PFI μεταξύ των ομάδων για τις πρώτες 15 ημέρες, παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα.

ΟΜΑΔΕΣ	N	Διάμεσος	B	Γ+VAL	Δ+ΕΡΟ
			N.S	N.S	0.015
A	10	349,62	---	0.05	N.S
B	10	237,25	---	---	---
Γ+VAL	10	542,26	---	---	---
Δ+ΕΡΟ	10	198,21	---	0.007--	---
Overall Sig.	$p = 0,023$				

Παρατηρούμε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες για την ποσοστιαία μεταβολή από το baseline της μεταβλητής PFI ($p = 0,023$) στις 15 ημέρες. Από τις συγκρίσεις κατά ζεύγη συμπεραίνουμε ότι υπάρχει στατιστικά



σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες A και Δ-EPO, B και Δ-EPO με την Γ+VAL αντίστοιχα.

ΟΜΑΔΕΣ	Baseline-1 ^{ος} μήνας					
	N	Διάμεσος				
			B	Γ+VAL	Δ+EPO	E+cut
A	10	230,99	N.S	N.S	0.05	0,002
B	10	235,73	---	N.S	0,010	0,03
Γ+VAL	10	268,44	---	---		N.S
Δ+EPO	10	86,49	---	0.005	---	0,002
E+cut	10	345,41	---	----	---	---
Overall Sig.	p =0,003					

Παρατηρούμε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες για την ποσοστιαία μεταβολή από το baseline της μεταβλητής PFI ($p=0,003$) στις 30 ημέρες. Από τις συγκρίσεις κατά ζεύγη συμπεραίνουμε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες A, B και Γ+VAL με την Δ-EPO. Όλες οι ομάδες εκτός της Γ+ VAL, έχουν στατιστική σημαντική διαφορά με την ομάδα E-cut.

ΟΜΑΔΕΣ	Baseline-2 ^{ος} μήνας					
	N	Διάμεσος				
			B	Γ+VAL	Δ+EPO	E+cut
A	10	72,18	N.S	0,015	N.S	0,002
B	10	62,89	---	0,038	N.S	0,002
Γ+VAL	10	142, 41	---	---		N.S
Δ+EPO	10	30,03	---	0.001	---	0,002
E+cut	10	487,63	---	----	---	---
Overall Sig.	.p <0,0005					

Παρατηρούμε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες για την ποσοστιαία μεταβολή από το baseline της μεταβλητή PFI ($p<0,0005$) στις 60 ημέρες. Από τις συγκρίσεις κατά ζεύγη συμπεραίνουμε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες A, B και Δ-EPO με τις E+cut και Γ+VAL.



ΟΜΑΔΕΣ	Baseline-3 ^{ος} μήνας					
	N	Διάμεσος				
			B	Γ+VAL	Δ+EPO	E+cut
A	10	33,32	N.S	0,003	N.S	0,002
B	10	33,49	---	0,015	N.S	0,002
Γ+VAL	10	146,08	---	---		0,002
Δ+EPO	10	18,62	---	0.001	---	0,03
E+cut	10	603,83	---	----	---	---
Overall Sig.	p <0,0005					

Παρατηρούμε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες για την ποσοστιαία μεταβολή από το baseline της μεταβλητής PFI ($p < 0,0005$) στις 90 ημέρες. Από τις συγκρίσεις κατά ζεύγη συμπεραίνουμε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες A, B και Δ-EPO με Γ+VAL. Όλες οι ομάδες έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά με την E-cut.

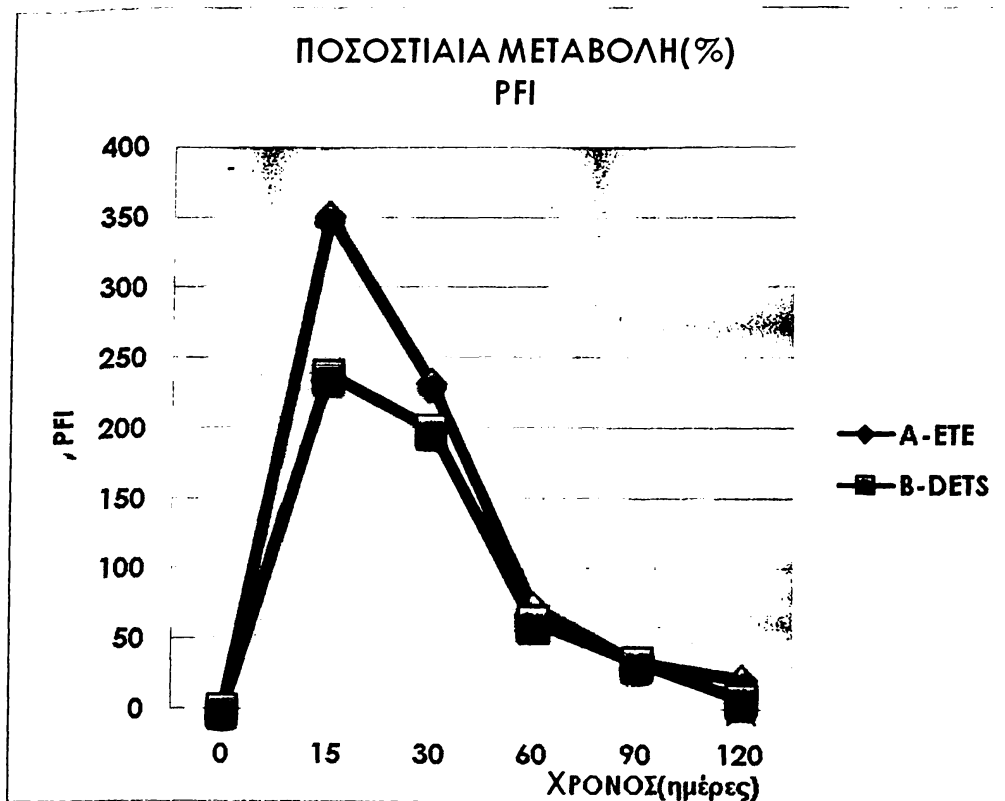
Παρατηρούμε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες για την ποσοστιαία μεταβολή από το baseline της μεταβλητής PFI ($p < 0,0005$) στις 120 ημέρες. Από τις συγκρίσεις κατά ζεύγη συμπεραίνουμε ότι υπάρχει στατιστικά

ΟΜΑΔΕΣ	Baseline-4 ^{ος} μήνας					
	N	Διάμεσος				
			B	Γ+VAL	Δ+EPO	E+cut
A	10	21,28	N.S	0,005	N.S	0,002
B	10	8,08	---	0,007	N.S	0,002
Γ+VAL	10	108,44	---	---		0,05
Δ+EPO	10	8,67	---	0.001	---	0,002
E+cut	10	516,10	---	----	---	---
Overall Sig.	p <0,0005					

σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες A, B και Δ-EPO με Γ+VAL. Όλες οι ομάδες έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά με την E-cut.

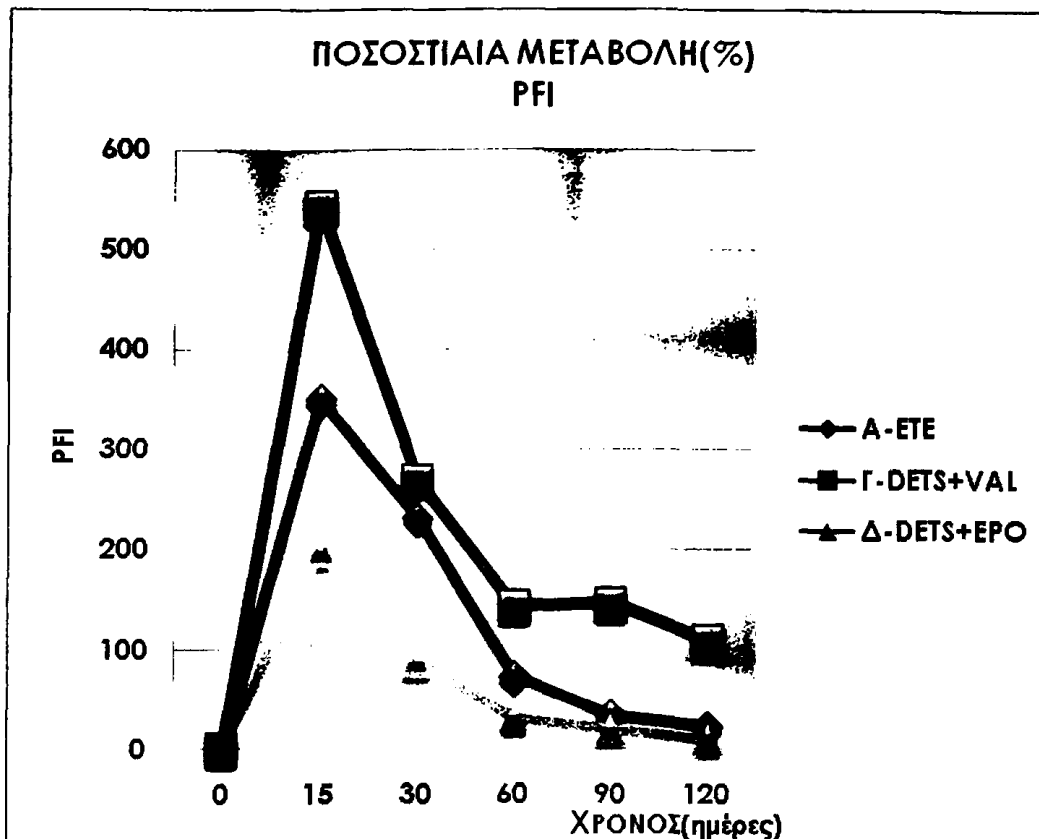


Στους παρακάτω πίνακες περιγράφεται η μεταβολή του δείκτη PFI για κάθε χρονική στιγμή μέτρησης (από την 15^η ημέρα μέχρι τον 4^ο μήνα) μεταξύ των ομάδων.



Εικ 4. Μεταβολή της ποσοστιαίας τιμής του δείκτη PFI μεταξύ των ομάδων Α και Β.(ETE: Τελικοτελική συρραφή, DETS:Διπλή τελικοπλάγια)

Από τις συγκρίσεις, προέκυψε ότι η τιμή του δείκτη PFI για τις δυο ομάδες δεν έχει στατιστικά σημαντικές διαφορές σε καμία από τις χρονικές στιγμές της μέτρησης. Αυτό σημαίνει ότι το μοντέλο της λειτουργικής αποκατάστασης του τραυματισμένου περονιαίου νεύρου τουλάχιστον όπως προκύπτει από την ανάλυση βάδισης, είναι παρόμοιο μεταξύ των δυο τεχνικών, δηλαδή της διπλής τελικοπλάγιας συρραφής και της τελικοτελικής συρραφής, η οποία θεωρείται μέθοδος εκλογής για την αποκατάσταση κακώσεων περιφερικών νεύρων. Ωστόσο, για να είναι πιο αξιόπιστη η αξιολόγηση είναι απαραίτητη και η συσχέτιση με τις ιστολογικές παραμέτρους ώστε να υπάρξουν ασφαλή συμπεράσματα.



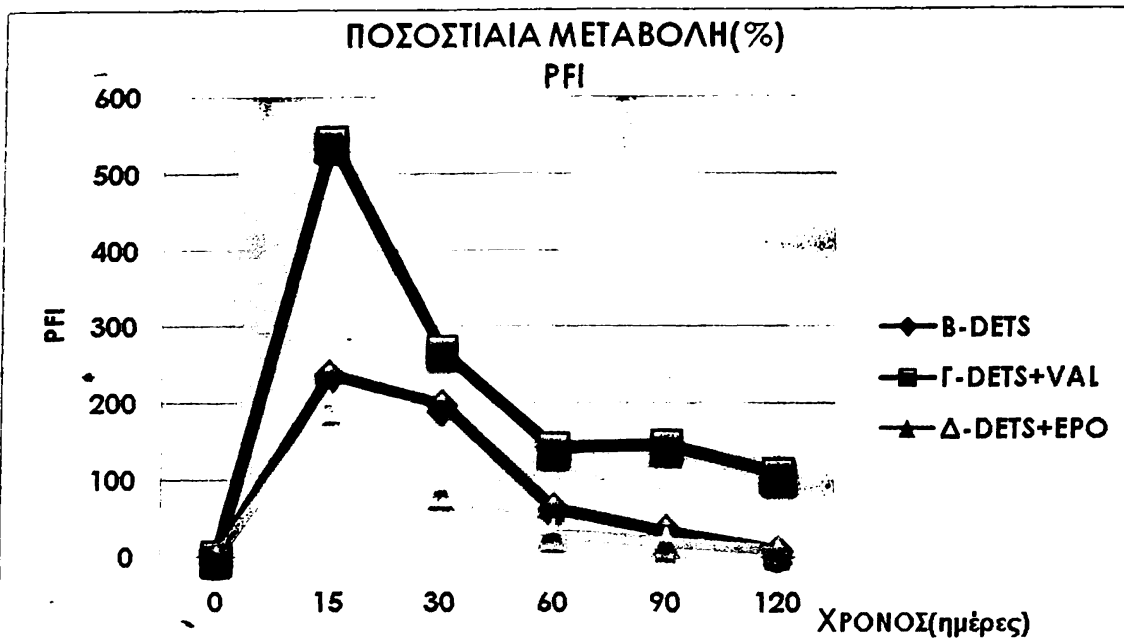
Εικ.5 Μεταβολή της ποσοστιαίας τιμής του δείκτη PFI μεταξύ των ομάδων Α, Γ και Δ.

Στη συνέχεια μελετάται η μεταβολή του δείκτη μεταξύ των ομάδας Α (τελικοτελική συρραφή) και των ομάδων Γ και Δ (διπλή τελικοτελική συρραφή με προσθήκη βαλπροϊκού και ερυθροποιητίνης αντίστοιχα)

Στις 15 ημέρες, η ομάδα Δ, εμφανίζει στατιστικά σημαντική διαφορά με την ομάδα Α ($p=0.023$) Στον 1^ο μήνα, οι ομάδες Α και Γ έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά με την ομάδα Δ ($p=0.003$). Στον 2^ο, 3^ο, 4^ο μήνα οι ομάδες Α και Δ έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p<0.0005$) σε σύγκριση με την ομάδα Γ, αλλά δεν έχουν μεταξύ τους.

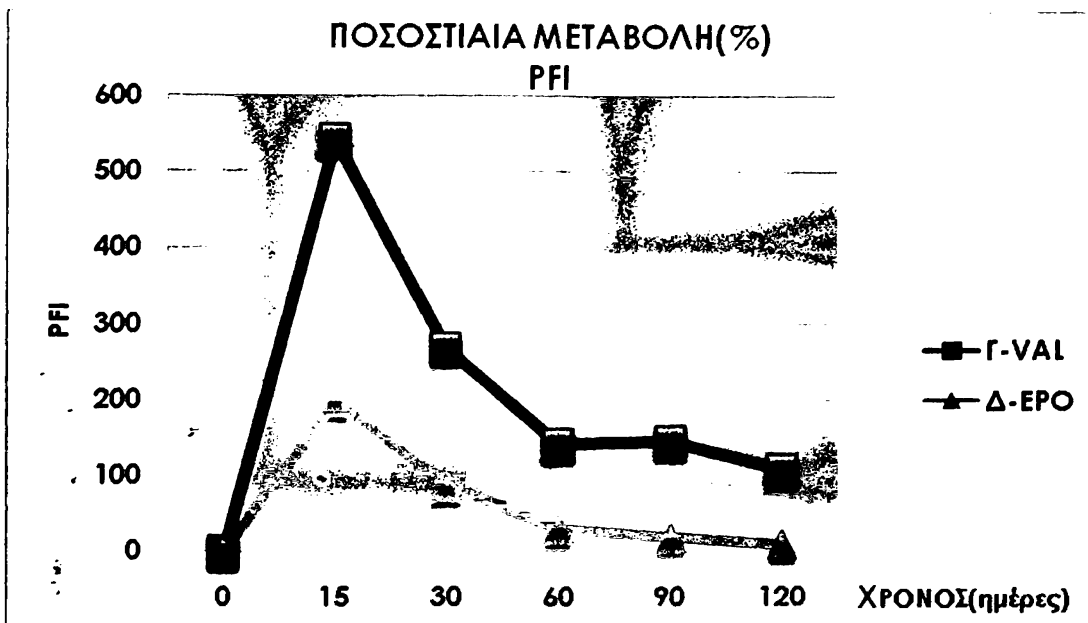
Η λειτουργική αποκατάσταση του μυός είναι καλύτερη στις 15 ημέρες για την ομάδα με την ερυθροποιητίνη, ακόμα και από την ομάδα με την τελικοτελική συρραφή, γεγονός που διατηρείται μέχρι το πέρας του πρώτου μήνα.

Από την άλλη, η ομάδα του βαλπροϊκού, δείχνει να υπολείπεται λειτουργικά των υπολοίπων ομάδων για κάθε χρονική στιγμή μέτρησης.



Εικ.6 Μεταβολή της ποσοστιαίας τιμής του PFI μεταξύ των ομάδων Β, Γ, Δ.

Από τις συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων που εφαρμόστηκε η διπλή τελικοπλάγια συρραφή προκύπτουν τα εξής: Στις δεκαπέντε ημέρες, οι ομάδες Β και Δ, έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά με την ομάδα Γ του βαλπροϊκού. Η ίδια εικόνα παρουσιάζεται και στον 2^ο μήνα και διατηρείται μέχρι το τέλος της πειραματικής μελέτης. Επιπλέον, στον 1^ο μήνα, η ομάδα της ερυθροποιητίνης έχει στατιστικά σημαντική διαφορά με τις ομάδες Β και Γ.



Εικ. 7 Μεταβολή της ποσοστιαίας τιμής του PFI μεταξύ των ομάδων Γ και Δ.

Σε κάθε χρονική μέτρηση, η ομάδα της ερυθροποιητίνης εμφανίζει στατιστικά σημαντική διαφορά του δείκτη PFI, σε σχέση με την ομάδα Γ.



Επόμενο βήμα είναι ο έλεγχος του δείκτη PFI διαχρονικά για κάθε ομάδα ξεχωριστά. Η ανάλυση θα γίνει χρησιμοποιώντας το μοντέλο της ανάλυσης διακύμανσης κατά ένα παράγοντα με επαναληπτικές μετρήσεις.(ANOVA)

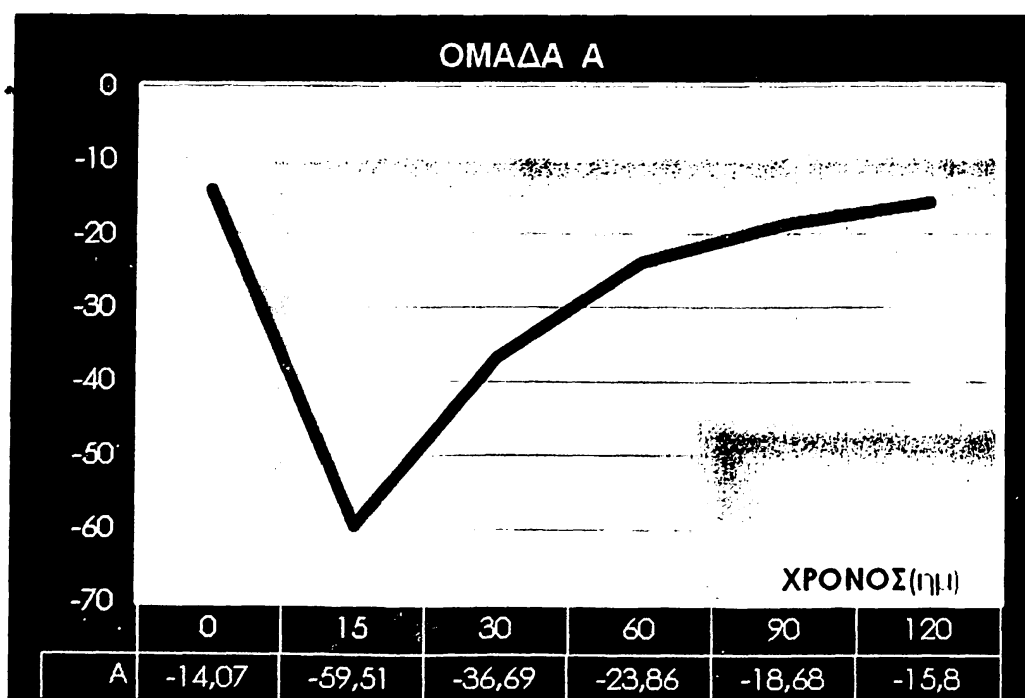
Με την μελέτη της μεταβολής του δείκτη για κάθε χρονική στιγμή, ελέγχεται ο ρυθμός της λειτουργικής αποκατάστασης σε κάθε πειραματικό μοντέλο ξεχωριστά. Επιπλέον, είναι δυνατός ο χρονικός προσδιορισμός όπου το κάθε μοντέλο αποκτά τις προεγχειρητικές (baseline)τιμές, γεγονός που σε συνδυασμό με τα ιστομορφομετρικά αποτελέσματα μπορεί να επιβεβαιώσει την αποτελεσματικότητα της μεθόδου. Επίσης, με την διαχρονική μεταβολή μπορεί να εξακριβωθεί ο ρόλος των ουσιών που χορηγήθηκαν στο παρόν πειραματικό μοντέλο, σε ότι αφορά την χρονική έναρξη και διάρκεια της δράσης τους.

ΟΜΑΔΑ A		Mean	SD				
Time			15 ημέρες	1 μήνας	2 μήνες	3 μήνες	4 μήνες
baseline	-14,07	5,60	<0.0005	0.004	0.005	N.S	N.S
15 ημέρες	-59,51	4,71	----	0.003	<0.0005	<0.0005	<0.0005
1 μήνας	-36,69	7,12	----	----	N.S	0.005	0.003
2 μήνες	-23,86	6,33	----	----	----	N.S	N.S
3 μήνες	-18,68	4,62	----	----	----	----	N.S
4 μήνες	-15,80	3,08	----	----	----	----	----
Overall Sig.			P<0,0005				

Παρατηρούμε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις απόλυτες μεταβολές της μεταβλητής PFI για την ομάδα A ($p < 0,0005$) . Από τις συγκρίσεις κατά ζεύγη παρατηρούμε ότι η μέτρηση των 15 ημερών και του 1^{ου} μήνα διαφέρουν με όλες τις χρονικές μετρήσεις , το baseline , ο 3^{ος} και ο 4^{ος} δεν διαφέρουν μεταξύ τους , ενώ ο 2^{ος} διαφέρει με το baseline και τις 15μέρες αλλά δεν διαφέρει με το 3^ο και 4^ο μήνα.



Αυτό σημαίνει ότι η λειτουργική βελτίωση ξεκινά μετά από την 15^η μετεγχειρητική ημέρα και ολοκληρώνεται μέσα στον δεύτερο μήνα. Έτσι, από τον τρίτο μήνα, οι τιμές του δείκτη PFI, επανέρχονται στα προεγχειρητικά επίπεδα, εφόσον δεν διαφέρουν στατιστικά από την αρχική, baseline τιμή.



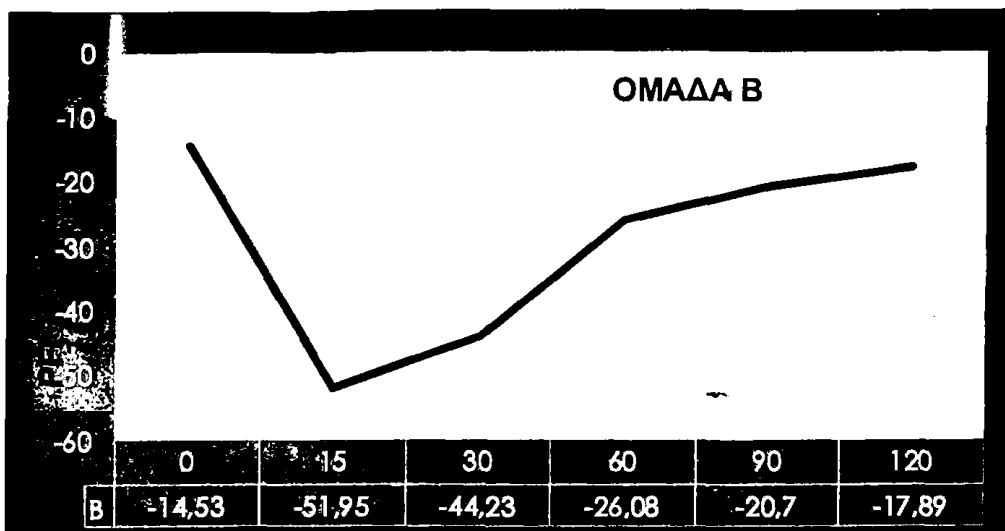
Εικ.8. Μεταβολή του δείκτη PFI, για κάθε χρονική στιγμή, για την ομάδα Α.

Παρουσιάζεται σταδιακή βελτίωση του δείκτη που φτάνει στην προεγχειρητική τιμή από τον τρίτο μήνα.

ΟΜΑΔΑ Β

Time	Mean	SD					
			15 ημ.	1 μήνας	2 μήνες	3 μήνες	4 μήνες
baseline	-14,53	3,09	0.005	0.001	0.005	N.S	N.S
15 ημέρες	-51,95	16,29	----	N.S	0.001	0.012	0.014
1 μήνας	-44,23	8,67	----	----	0.018	0.001	0.002
2 μήνες	-26,08	6,36	----	----	----	N.S	N.S
3 μήνες	-20,70	4,06	----	----	----	----	N.S
4 μήνες	-17,89	1,87	----	----	----	----	----
Overall Sig.	P<0,0005						

Παρατηρούμε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις απόλυτες χρονικές μετρήσεις εκτός από τον πρώτο μήνα, το baseline, ο 3^{ος} και ο 4^{ος} δεν διαφέρουν μεταξύ τους, ενώ ο 2^{ος} διαφέρει με το baseline, τις 15 ημέρες και τον 1^ο μήνα αλλά δεν διαφέρει με τον 3^ο και 4^ο μήνα.



Εικ.9. Μεταβολή του δείκτη PFI, για κάθε χρονική στιγμή για την ομάδα Β

Η ερμηνεία στατιστικών αποτελεσμάτων για την ομάδα Β είναι ότι η λειτουργική βελτίωση ξεκινά από τον πρώτο μήνα και ολοκληρώνεται μέσα στον δεύτερο μήνα. Από τον τρίτο μήνα μέχρι το τέλος της πειραματικής μελέτης, οι τιμές του δείκτη επανέρχονται στα φυσιολογικά προεγχειρητικά επίπεδα. Όπως και στην ομάδα της τελικοπλάγιας συρραφής, τα τελικά λειτουργικά αποτελέσματα είναι ικανοποιητικά,

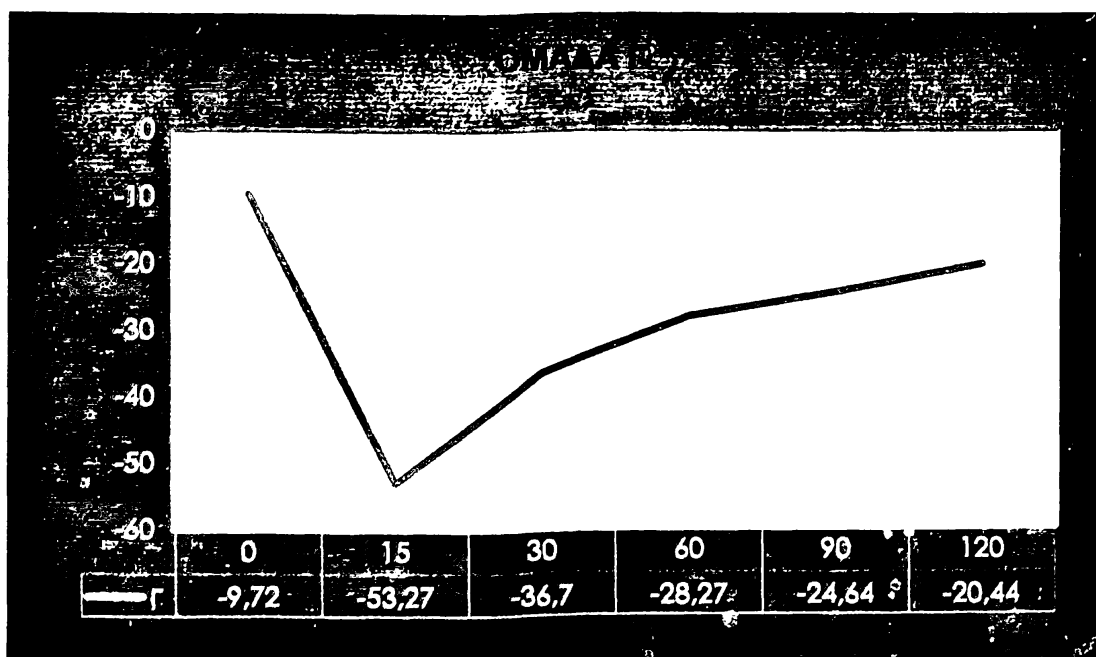


εφόσον οι τιμές του δείκτη ομαλοποιούνται και δεν διαφέρουν στατιστικά από 1 αντίστοιχες προεγχειρητικές τιμές.

ΟΜΑΔΑ Γ

Time	Mean	SD					
			15 ημέρες	1 μήνας	2 μήνες	3 μήνες	4 μήνες
baseline	-9,72	2,34	<0.0005	<0.0005	0.004	0.001	0.003
15 ημέρες	-53,27	1,81	----	0.006	0.001	<0.0005	<0.0005
1 μήνας	-36,70	2,98	----	----	0.004	0.004	0.001
2 μήνες	-28,27	3,21	----	----	----	N.S	N.S
3 μήνες	-24,64	2,33	----	----	----	----	N.S
4 μήνες	-20,44	2,37	----	----	----	----	----
Overall Sig.	P<0.0005						

Παρατηρούμε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις απόλυτε μεταβολές της μεταβλητής PFI για την ομάδα Γ ($p < 0,0005$). Από τις συγκρίσει κατά ζεύγη παρατηρούμε ότι όλες οι χρονικές μετρήσεις διαφέρουν μεταξύ του εκτός από τον 2^ο, 3^ο και 4^ο μήνα.



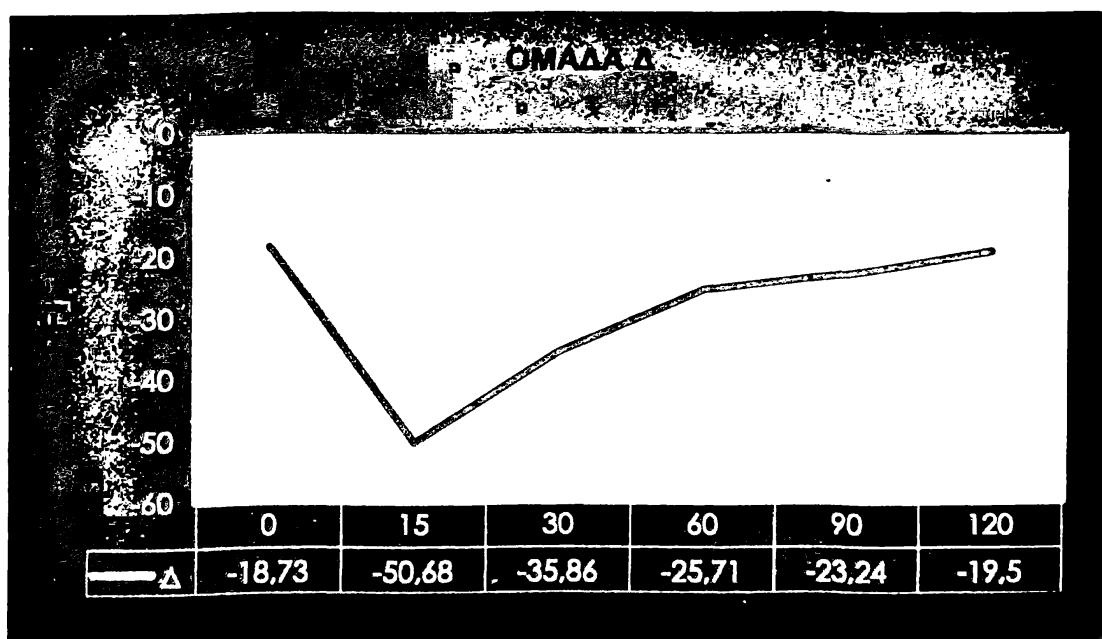
Εικ.10. Μεταβολή του δείκτη PFI ,για κάθε χρονική στιγμή για την ομάδα Γ.

Λειτουργικά, η ομάδα του βαλπροϊκού οξέος παρουσιάζει μια σταδιακή βελτίωση αλλά μέχρι το τέλος της πειραματικής μελέτης, η τιμή του δείκτη PFI, δεν επανέρχεται ποτέ στα προεγχειρητικά (baseline) επίπεδα.

ΟΜΑΔΑ Δ

Time	Mean	SD					
			15ημέρες	1 μήνας	2 μήνες	3 μήνες	4 μήνες
baseline	-18,73	5,08	<0.0005	0.002	N.S	N.S	N.S
15 ημέρες	-50,68	7,63	----	0.020	0.007	0.004	0.001
1 μήνας	-35,86	7,13	----	----	N.S	N.S	0.038
2 μήνες	-25,71	7,13	----	----	----	N.S	N.S
3 μήνες	-23,24	7,83	----	----	----	----	N.S
4 μήνες	-19,50	5,49	----	----	----	----	----
Overall Sig.	P<0,0005						

Παρατηρούμε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις απόλυτες μεταβολές της μεταβλητής PFI για την ομάδα Δ ($p < 0,0005$). Από τις συγκρίσεις κατά ζεύγη παρατηρούμε ότι η μέτρηση των 15 ημερών διαφέρει με όλες τις χρονικές μετρήσεις, το baseline, ο 2^{ος} , ο 3^{ος} και ο 4^{ος} δεν διαφέρουν μεταξύ τους, ενώ ο 1^{ος} διαφέρει με το baseline και τον 4^ο μήνα.



Εικ.11. Μεταβολή του δείκτη PFI, για κάθε χρονική στιγμή για την ομάδα Δ.



Η χορήγηση της ερυθροποιητίνης ήταν ωφέλιμη λειτουργικά, δεδομένου ότι ήδη από τον δεύτερο μήνα, οι τιμές του δείκτη PFI, έχουν επανέλθει σε προεγχειρητικά επίπεδα, κάτι που δεν συμβαίνει σε καμία από τις προηγούμενες ομάδες. Άρα, η χορήγηση της ερυθροποιητίνης κατάφερε να επαναφέρει την ομάδα Δ σε φυσιολογικά επίπεδα, νωρίτερα από τις υπόλοιπες ομάδες, ακόμα και από την ομάδα με την τελικοτελική συρραφή.

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΒΟΛΗΣ ΤΟΥ ΔΕΙΚΤΗ TFI

Επόμενο βήμα για τον έλεγχο πιθανής βλάβης στο κνημιαίο νεύρο που παίζει το ρόλο του αγωγού στις ομάδες της διπλής τελικοπλάγιας συρραφής, είναι η μέτρηση του δείκτη TFI διαχρονικά για κάθε ομάδα ξεχωριστά. Η ανάλυση γίνεται χρησιμοποιώντας το μοντέλο της ανάλυσης διακύμανσης κατά ένα παράγοντα με επαναληπτικές μετρήσεις.

Time	Mean	SD	ΟΜΑΔΑ Β(DETS)				
			15 ημ	1 μην	2 μην	3 μην	4 μην
baseline	-11,95	4,65	0.003	0.05	N.S	N.S	N.S
15 ημέρες	-44,49	15,30	----	N.S	0,05	0.05	0.018
1 μήνας	-31,80	10,72	----	----	N.S	N.S	0.05
2 μήνες	-20,44	7,93	----	----	----	N.S	N.S
3 μήνες	-17,58	6,22	----	----	----	----	N.S
4 μήνες	-12,90	3,74	----	----	----	----	----
Overall Sig. >	p < 0,0005						

Πιν.11 Μεταβολή του δείκτη TFI της ομάδας Β



Time	ΟΜΑΔΑ Γ+Val							
	N	Mean	SD					
				15 ημ	1 μην	2 μην	3 μην	4 μην
baseline	10	-10,94	7,73	0.05	0.05	N.S	N.S	N.S
15 ημέρες	10	-42,08	19,32	----	N.S	N.S	0,05	0,02
1 μήνας	10	-39,43	15,90	----	----	N.S	0,05	0,01
2 μήνες	10	-32,68	16,88	----	----	----	N.S	N.S
3 μήνες	10	-19,18	9,42	----	----	----	----	N.S
4 μήνες	10	-19,57	10,17	----	----	----	----	----
Overall	p <0,0005							

Πιν 12 Μεταβολή του δείκτη TFI της ομάδας Γ

Time	Mean	SD	ΟΜΑΔΑ Δ+ΕΡΟ				
			15 ημ	1 μην	2 μην	3 μην	4 μην
baseline	-9,88	6,67	0,004	<0.0005	N.S	N.S	N.S
15 ημέρες	-51,32	17,64	----	N.S	N.S	0.05	0.014
1 μήνας	-36,09	6,39	----	----	N.S	N.S	0.013
2 μήνες	-22,27	10,61	----	----	----	N.S	N.S
3 μήνες	-21,14	11,10	----	----	----	----	N.S
4 μήνες	-11,49	7,34	----	----	----	----	----
Overall Sig.	p <0,0005						

Πιν 13 Μεταβολή του δείκτη TFI της ομάδας Δ.

Συμπερασματικά, η μεταβολή του δείκτη TFI για κάθε ομάδα που εφαρμόστηκε η τελικοπλάγια συρραφή, έδειξε ότι όλες οι ομάδες ακολούθησαν ένα παρόμοιο μοντέλο λειτουργικής αποκατάστασης. Σημαντική βελτίωση των τιμών ξεκίνησε από τις πρώτες 15 ημέρες και η επαναφορά σε φυσιολογικά επίπεδα έγινε τον δεύτερο μήνα. Οι τιμές TFI στο τέλος του 4^{ου} μήνα, σε καμία από τις ομάδες δεν είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά από το baseline, που σημαίνει ότι η διπλή τελικοπλάγια συρραφή, δεν επηρεάζει την λειτουργία του κνημιαίου νεύρου.



Εφόσον η εφαρμογή της διπλής τελικοπλάγιας συρραφής δεν βλάπτει το κνημιαίο νεύρο που παίζει τον ρόλο του αγωγού, το επόμενο βήμα είναι ο έλεγχος της επίδρασης της ερυθροποιητίνης και του βαλπροϊκού στην λειτουργικότητα του νεύρου. Χρησιμοποιώντας το μοντέλο της ανάλυσης διακύμανσης κατά ένα παράγοντα χωρίς επαναληπτικές μετρήσεις (one way ANOVA) και το τεστ του Bonferroni για τις συγκρίσεις κατά ζεύγη, μπορούμε να ελέγξουμε αν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά της μεταβλητής TFI ανάμεσα στις ομάδες που εφαρμόστηκε η διπλή τελικοπλάγια συρραφή, σε κάθε χρονική στιγμή ξεχωριστά. Από την ανάλυση προκύπτει ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες Β,Γ,Δ για την μεταβλητή TFI για καμία από τις χρονικές στιγμές της μέτρησης.

Ομάδες	15 ημέρες					
	N	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση			
				B	Γ+VAL	Δ+EPO
B	10	-44,487	15,29	---	N.S	N.S
Γ+VAL	10	-51,32	17,63	---	---	N.S
Δ+EPO	10	-42,079	19,32	---	----	---
Overall Sig.	p =0,558					

Παρατηρούμε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες για την μεταβλητή TFI ($p=0,558$) στις 15 ημέρες.

Ομάδες	1 ^{ος} μήνας					
	N	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση			
				B	Γ+VAL	Δ+EPO
B	10	-31,80	10,72	---	N.S	N.S
Γ+VAL	10	-36,09	6,39	---	---	N.S
Δ+EPO	10	-39,43	15,90	---	----	---
Overall Sig.	p =0,438					

Παρατηρούμε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες για την μεταβλητή TFI ($p=0,438$) στον 1^ο μήνα .



Ομάδες	2 ^{ος} μήνας					
	N	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση			
				B	Γ+VAL	Δ+EPO
B	10	-20,44	7,93	—	N.S	N.S
Γ+VAL	10	-22,27	10,61	—	—	N.S
Δ+EPO	10	-32,68	16,88	—	—	—
Overall Sig.	p =0,128					

Παρατηρούμε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες για την μεταβλητή TFI ($p=0,128$) στον 2^ο μήνα.

Ομάδες	3 ^{ος} μήνας					
	N	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση			
				B	Γ+VAL	Δ+EPO
B	10	-17,58	6,22	—	N.S	N.S
Γ+VAL	10	-21,14	11,10	—	—	N.S
Δ+EPO	10	-19,18	9,42	—	—	—
Overall Sig.	p =0,741					

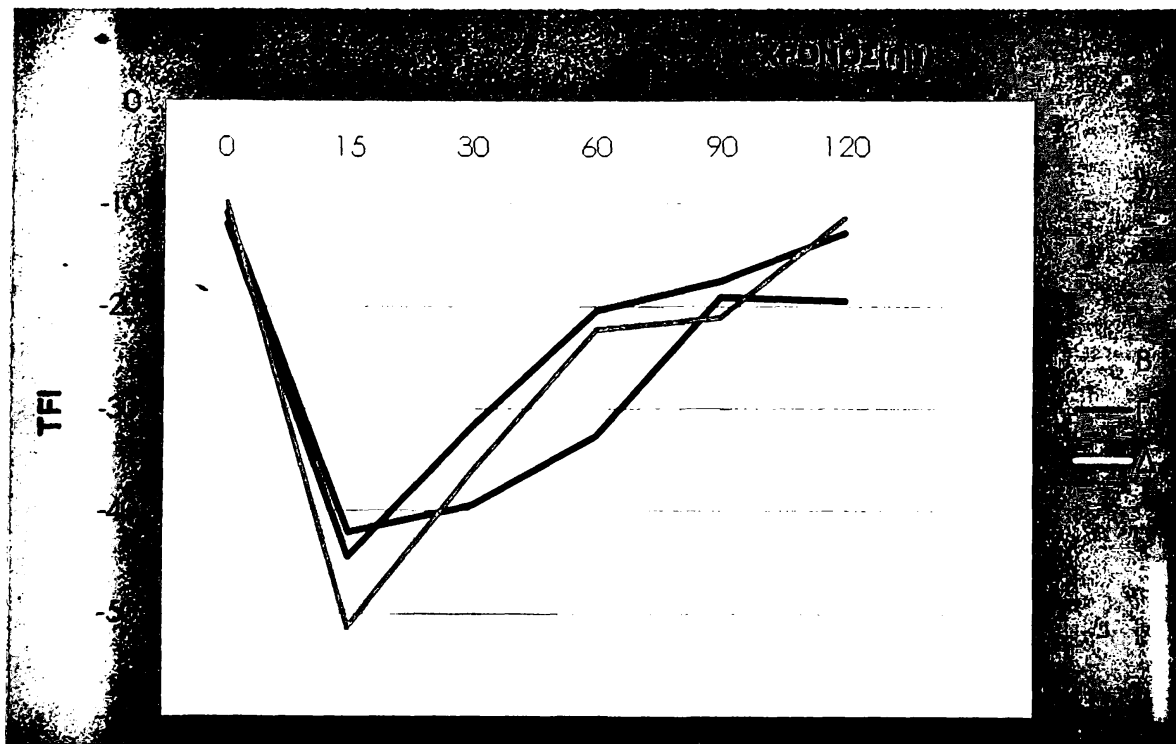
Παρατηρούμε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες για την μεταβλητή TFI ($p=0,741$) στον 3^ο μήνα .

Ομάδες	4 ^{ος} μήνας					
	N	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση			
				B	Γ+VAL	Δ+EPO
B	10	-12,90	3,74	—	N.S	N.S
Γ+VAL	10	-11,49	7,34	—	—	N.S
Δ+EPO	10	-19,57	10,17	—	—	—
Overall Sig.	p =0,097					

Παρατηρούμε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες για την μεταβλητή TFI ($p=0,097$) στον 4^ο μήνα .



Τα στατιστικά αποτελέσματα αποδεικνύουν ότι η μέθοδος της διπλής τελικοπλάγιας συρραφής είναι ασφαλής σε ό,τι αφορά το νεύρο-αγωγό και πως η χορήγηση των ουσιών δεν επηρέασε την λειτουργία του νεύρου. Η συνεκτίμηση με τα ιστολογικά αποτελέσματα θα επιβεβαιώσει τις παραπάνω διαπιστώσεις.

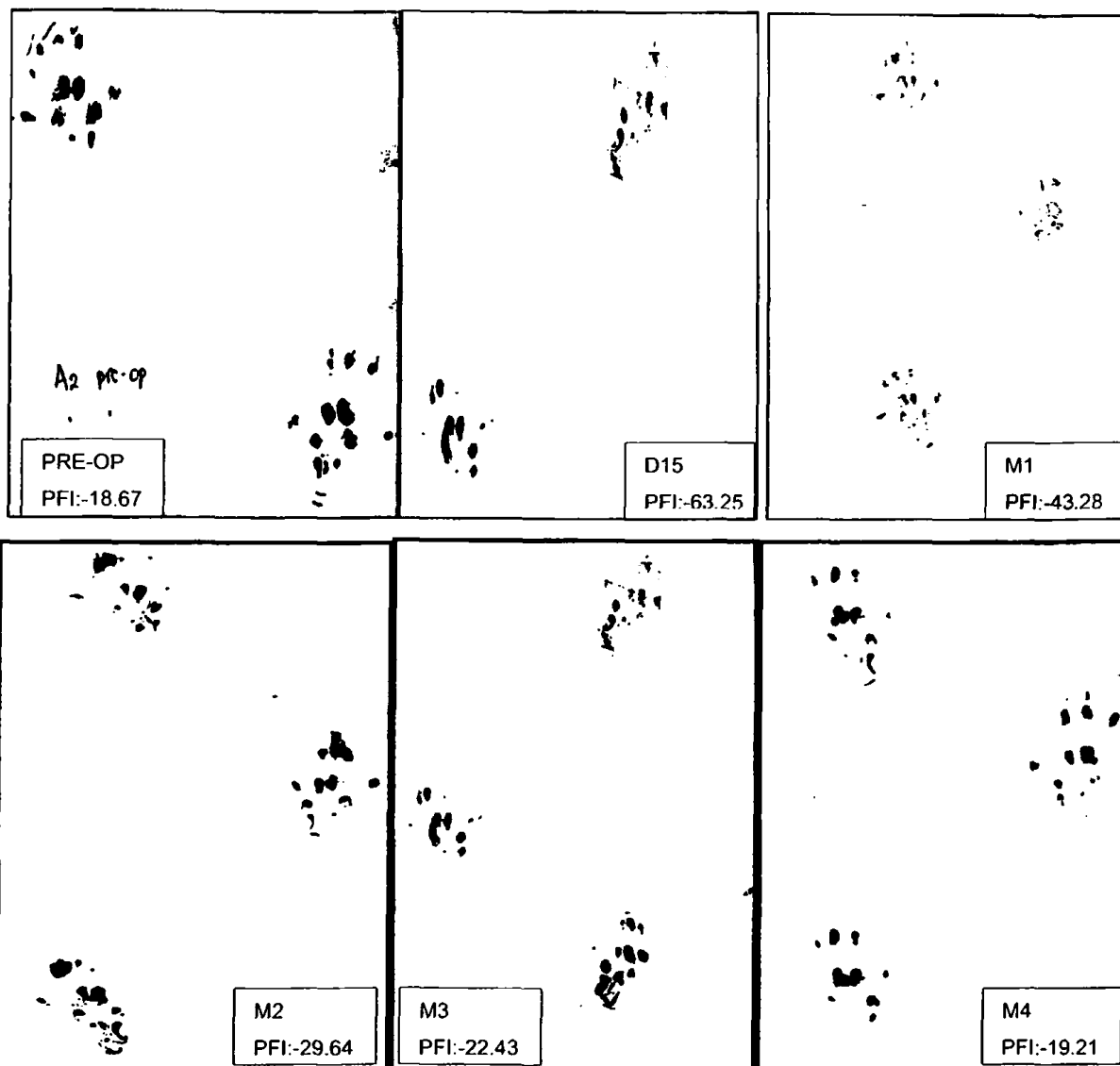


Εικ. 12 Μεταβολή του δείκτη TFI ανάμεσα στις ομάδες Β,Γ,Δ.

Παρατηρούμε ότι ενώ αρχικά ο δείκτης TFI επηρεάζεται σε όλες τις ομάδες, στο τέλος της μελέτης οι τιμές του είναι φυσιολογικές και χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων. Αυτό συνεπάγεται αφενός ότι η διπλή τελικοπλάγια συρραφή δεν προκαλεί ζημιά στο νεύρο-αγωγό και αφετέρου ότι η προσθήκη της ερυθροποιητίνης και του βαλπροϊκού οξέος δεν επηρεάζουν την λειτουργία του κνημιαίου νεύρου.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΒΑΔΙΣΗΣ

ΟΜΑΔΑ Α



Εικ.13 Αντιπροσωπευτικό μοντέλο ανάλυσης βάδισης της ομάδας Α (τελικoteλική συρραφή).

	Προεγχειρητικά	15 ^η ημέρα	1 ^{ος} μήνας	2 ^{ος} μήνας	3 ^{ος} μήνας	4 ^{ος} μήνας
PFI	-14,07±5,60	-59,51±4,71	-36,69±7,12	-23,86±6,33	-18,68±4,62	-15,8±3,08

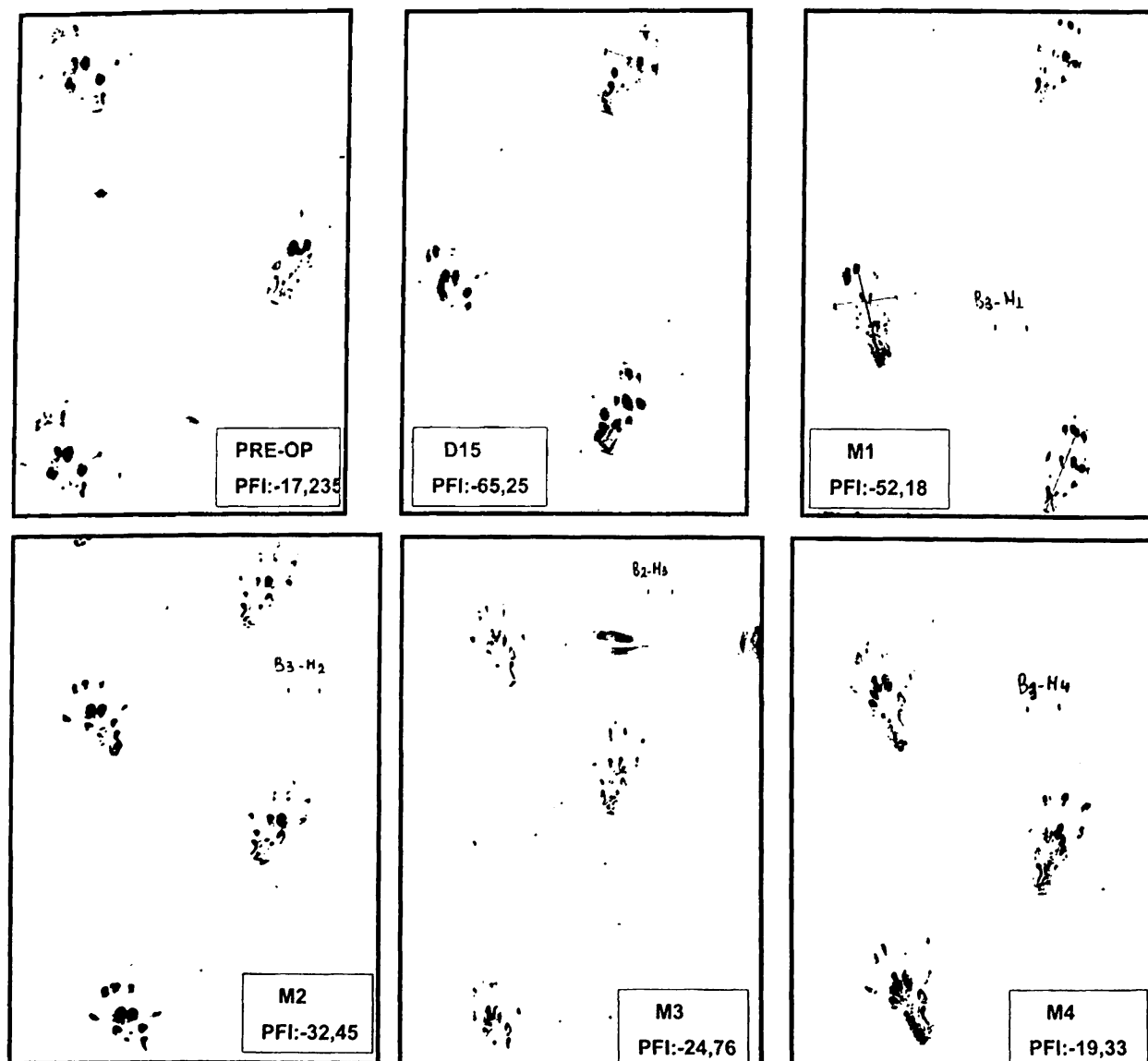
Πιν.14 Οι μεταβολές του δείκτη PFI για κάθε χρονική στιγμή μέτρησης για την ομάδα Α. εκφράζονται ως μέσες τιμές±τυπική απόκλιση

Από την ανάλυση βάδισης προκύπτει ότι η ομάδα Α, εμφανίζει τιμές βάδισης που δεν διαφέρουν στατιστικά από τις προεγχειρητικές τιμές, στον 3^ο μήνα, που σημαίνει ότι τότε λειτουργικά επανέρχεται στα αρχικά προεγχειρητικά επίπεδα.



ΑΝΑΛΥΣΗ ΒΑΔΙΣΗΣ

ΟΜΑΔΑ Β



Εικ.14 Αντιπροσωπευτικό μοντέλο ανάλυσης βάδισης ομάδας Β.

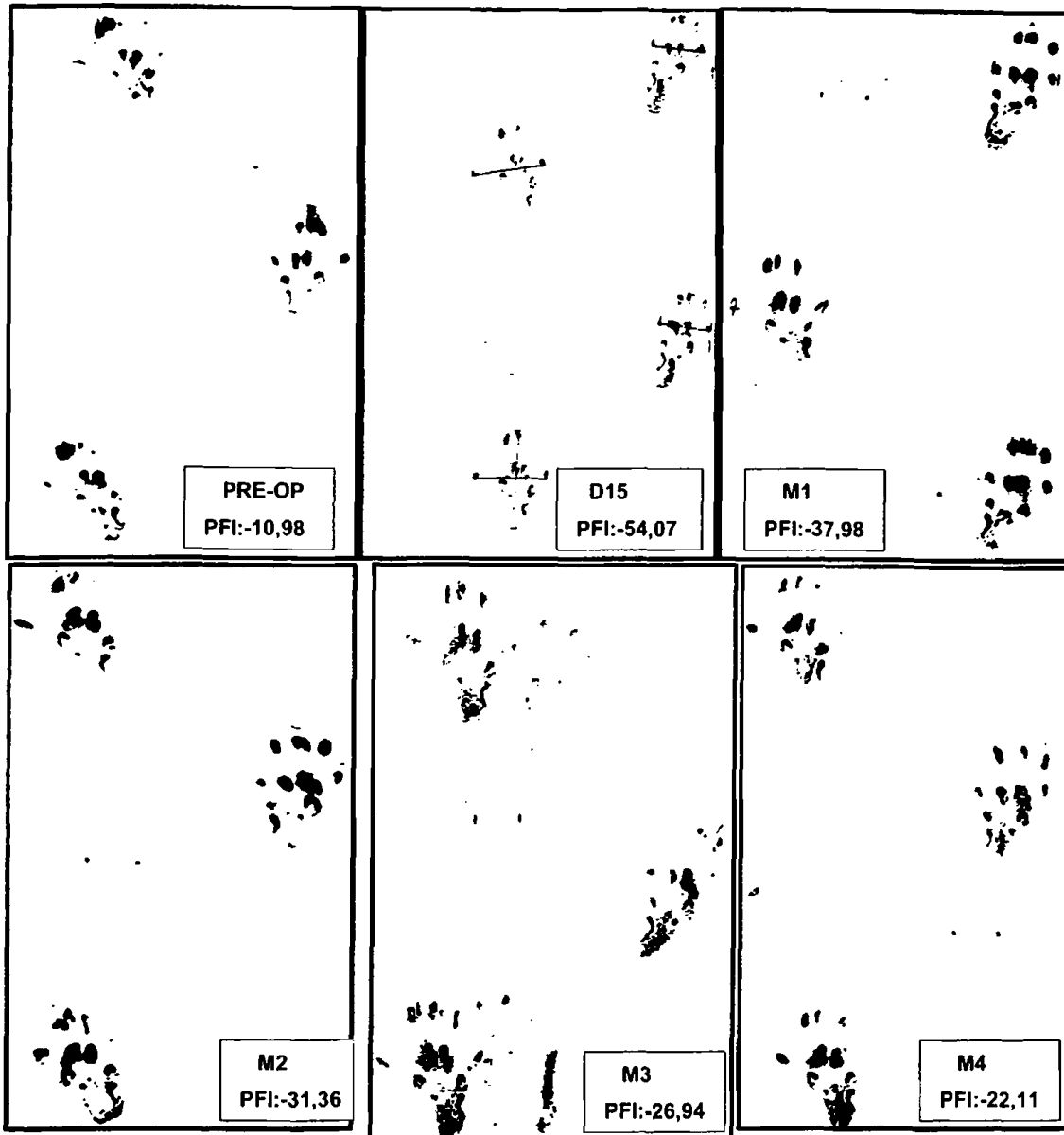
Από την ανάλυση βάδισης προκύπτει ότι και η ομάδα Β, εμφανίζει τιμές βάδισης που δεν διαφέρουν στατιστικά από το baseline, στον 3^ο μήνα, που σημαίνει ότι τότε λειτουργικά επανέρχεται στα αρχικά προεγχειρητικά επίπεδα.

	Προεγχειρητικά	15 ^η ημέρα	1 ^{ος} μήνας	2 ^{ος} μήνας	3 ^{ος} μήνας	4 ^{ος} μήνας
PFI	-14,53±3,09	-51,95±16,2	-44,23±8,87	-26,08±6,36	-20,7±4,06	-17,89±1,87
TFI	-11,95±4,65	-44,48±15,29	-31,80±10,7	-20,44±7,93	-17,58±6,22	-12,90±3,74

Πιν.15 Οι μεταβολές των δεικτών PFI και TFI διαχρονικά για την ομάδα Β εκφράζονται ως μέσες τιμές±τυπική απόκλιση.



ΑΝΑΛΥΣΗ ΒΑΔΙΣΗΣ
ΟΜΑΔΑ ΒΑΛΠΡΟΪΚΟΥ



Εικ. 15 Αντιπροσωπευτικό μοντέλο ανάλυσης βάδισης ομάδας Γ.

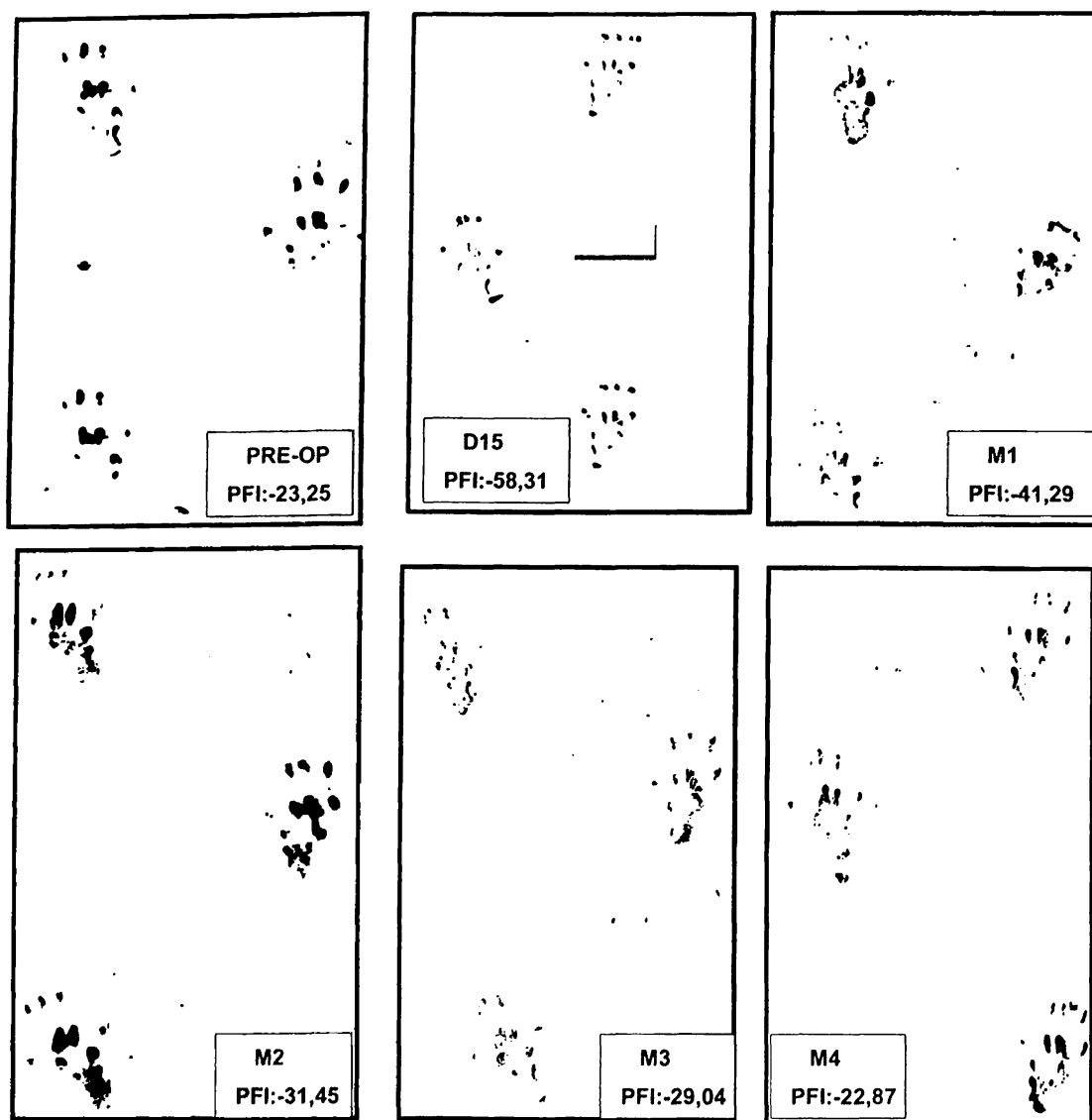
Η ανάλυση βάδισης για την ομάδα Γ, έδειξε ότι μέχρι το τέλος της μελέτης, η ομάδα δεν κατάφερε να επανακτήσει τις αρχικές τιμές βάδισης. Υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά όλων των μετρήσεων με την τιμή baseline για τον δείκτη PFI.

	Προεγχειρητικά	15 ^η ημέρα	1 ^{ος} μήνας	2 ^{ος} μήνας	3 ^{ος} μήνας	4 ^{ος} μήνας
PFI	-9,72±2,34	-53,27±1,81	-36,70±2,9	-28,27±3,21	-24,64±2,33	-20,44±2,37
TFI	-10,94±7,73	-42,08±19,32	-39,43±15,90	-32,68±16,8	-19,18±9,42	-19,57±10,17

Πιν16.Οι μεταβολές των δεικτών PFI και TFI διαχρονικά για την ομάδα Γ, εκφράζονται ως μέσες τιμές±τυπική απόκλιση.



ΑΝΑΛΥΣΗ ΒΑΔΙΣΗΣ
ΟΜΑΔΑ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ



Εικ.16 Αντιπροσωπευτικό μοντέλο ανάλυσης βάδισης της ομάδας με την ερυθροποιητίνη.

Από την ανάλυση της βάδισης προκύπτει ότι η ομάδα Δ, επανέρχεται σε baseline επίπεδα, από τον 2^ο μήνα. Η επίδραση της ερυθροποιητίνης οδήγησε σε ταχύτερη λειτουργική αποκατάσταση.

	Προεγχειρητικά	15 ^η ημέρα	1 ^{ος} μήνας	2 ^{ος} μήνας	3 ^{ος} μήνας	4 ^{ος} μήνας
PFI	-18,73±5,08	-50,68±7,63	-35,86±7,13	-25,71±7,13	-23,24±7,83	-19,5±5,49
TFI	-9,88±6,67	-51,32±17,63	-36,09±6,39	-22,27±10,61	-21,14±11,1	-11,49±7,34

Πιν.17 Οι μεταβολές των δεικτών PFI και TFI διαχρονικά για την ομάδα Δ, εκφράζονται ως μέσες τιμές±τυπική απόκλιση



^ ΙΣΤΟΜΟΡΦΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Στην ιστομορφομετρική ανάλυση, ο αριθμός των νευραξόνων (**AN**), η μέση διάμετρος των εμμέλων νευραξόνων(**MDN**), η μέση τιμή του πάχους της μυελίνης (**ΜΠΜ**), και το μέσο εμβαδό του νευράξονα(**MEN**), προσδιορίστηκαν για το περιφερικό κολόβωμα του περνιαίου νεύρου.

Οι ίδιες ιστομορφομετρικές παράμετροι προσδιορίστηκαν και για το μη χειρουργημένο (control) μέλος για το οποίο η στατιστική ανάλυση δεν αποκάλυψε σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων Α, Β, Γ, Δ.

	ΟΜΑΔΑ Α	ΟΜΑΔΑ Β	ΟΜΑΔΑ Γ	ΟΜΑΔΑ Δ
*Αριθμός νευραξόνων	1289 ± 0,134	1166 ± 112	996 ± 227	1088 ± 123
*Μέση Διάμετρος νευραξόνων (μ)	6,645 ± 0,682	6,806 ± 0,471	8,023 ± 1,923	6,974 ± 0,859
*Μέσο πάχος μυελίνης (μ)	1,108 ± 0,173	1,072 ± 0,111	1,206 ± 0,130	1,269 ± 0,075
*Μέσο εμβαδό μυελίνης(μ ²)	21,087± 3,848	21,091 ± 2,723	24,335 ± 5,616	23,668 ± 3,891

Πιν.18 Ποσοτική ανάλυση ιστομορφομετρικών χαρακτηριστικών του περνιαίου νεύρου από το control (υγιές) μέλος για όλες τις ομάδες.

	ΟΜΑΔΑ Α	ΟΜΑΔΑ Β	ΟΜΑΔΑ Γ	ΟΜΑΔΑ Δ
*Αριθμός νευραξόνων	2296 ± 184,46	2032±243,88	1677±419,05	1809±179,35
*Μέση διάμετρος νευραξόνων (μ)	3,722 ± 0,428	4,284 ± 0,537	3,902±0,797	3,829±0,372
*Μέσο πάχος μυελίνης (μ)	0,727 ± 0,068	0,907 ± 0,069	0,786±0,061	0,790±0,071
*Μέσο εμβαδό μυελίνης (μ ²)	6,384 ± 0,844	6,923 ± 1,150	6,883±1,439	6,999±0,992

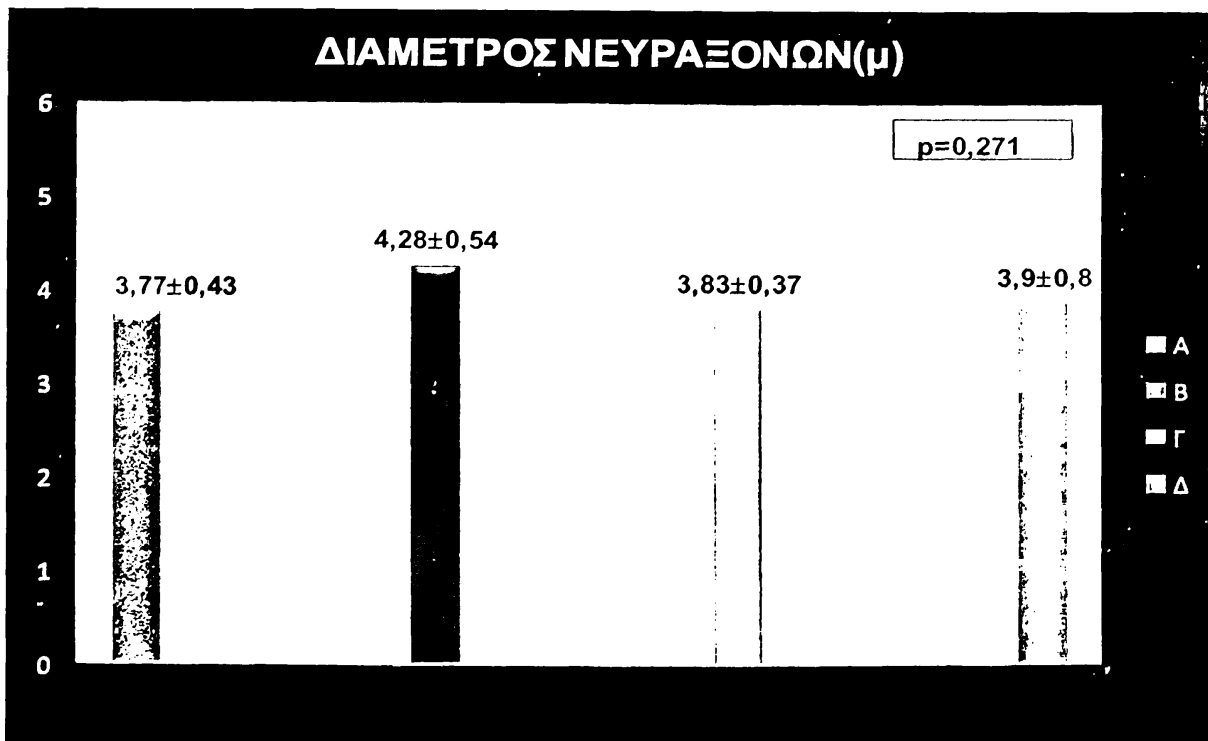
Πιν.19 Ποσοτική ανάλυση ιστομορφομετρικών χαρακτηριστικών του περνιαίου νεύρου από το χειρουργημένο μέλος, για όλες τις ομάδες.



► ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

Οι συγκρίσεις των παθολογοανατομικών μεταβλητών ανάμεσα στις 4 ομάδες πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας το μοντέλο της ανάλυσης διακύμανσης με ένα παράγοντα χωρίς επαναληπτικές μετρήσεις (One way ANOVA). Για πολλαπλές συγκρίσεις ανάμεσα στις ομάδες ανά 2 (pairwise multiple comparison) χρησιμοποιήθηκε το Bonferroni test.

Ομάδες	ΔΙΑΜΕΤΡΟΣ ΝΕΥΡΑΞΟΝΩΝ(μ)						
	N	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση				
				A(ETE)	B(DETS)	Γ((DETS+VAL)	Δ(DETS+EPO)
A	10	3,77	0,43	---	N.S	N.S	N.S
B	10	4,28	0,54	---	---	N.S	N.S
Γ	10	3,83	0,37	---	---	---	N.S
Δ	10	3,90	0,80	---	---	---	--
Overall	p = 0,271						

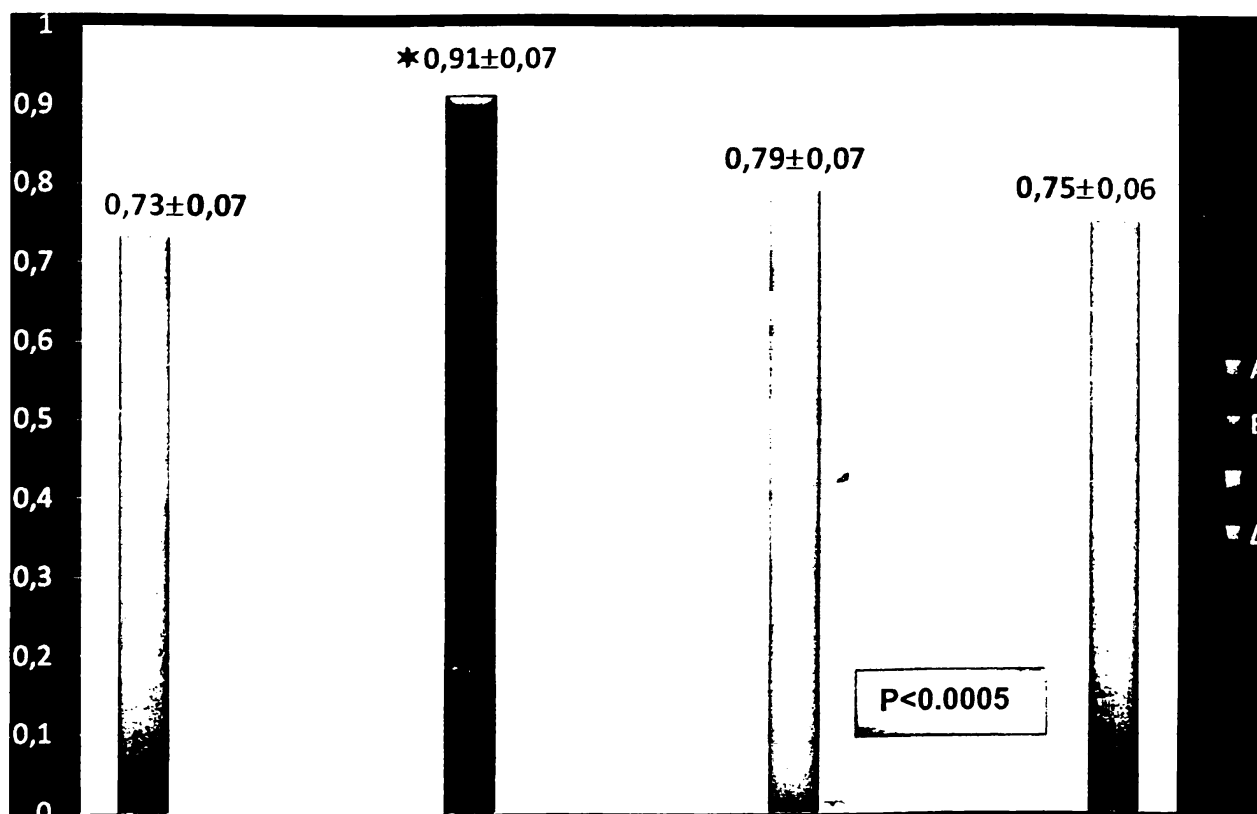


Εικ.17 Σύγκριση της διαμέτρου των νευρικών ινών μεταξύ των ομάδων A, B, Γ, Δ. Παρατηρούμε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες για την μεταβλητή διάμετρος (p=0,271).



Ομάδες	ΠΑΧΟΣ ΜΥΕΛΙΝΗΣ(μ)						
	N	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση				
				A	B	Γ	Δ
A	10	0,73	0,07	---	< 0.0005	N.S	N.S
B	10	0,91	0,07	---	---	0.010	0.007
Γ	10	0,79	0,07	---	---	---	N.S
Δ	10	0,75	0,06	---	----	---	--
Overall Sig.	p < 0,0005						

ΠΑΧΟΣ ΜΥΕΛΙΝΗΣ (μ)

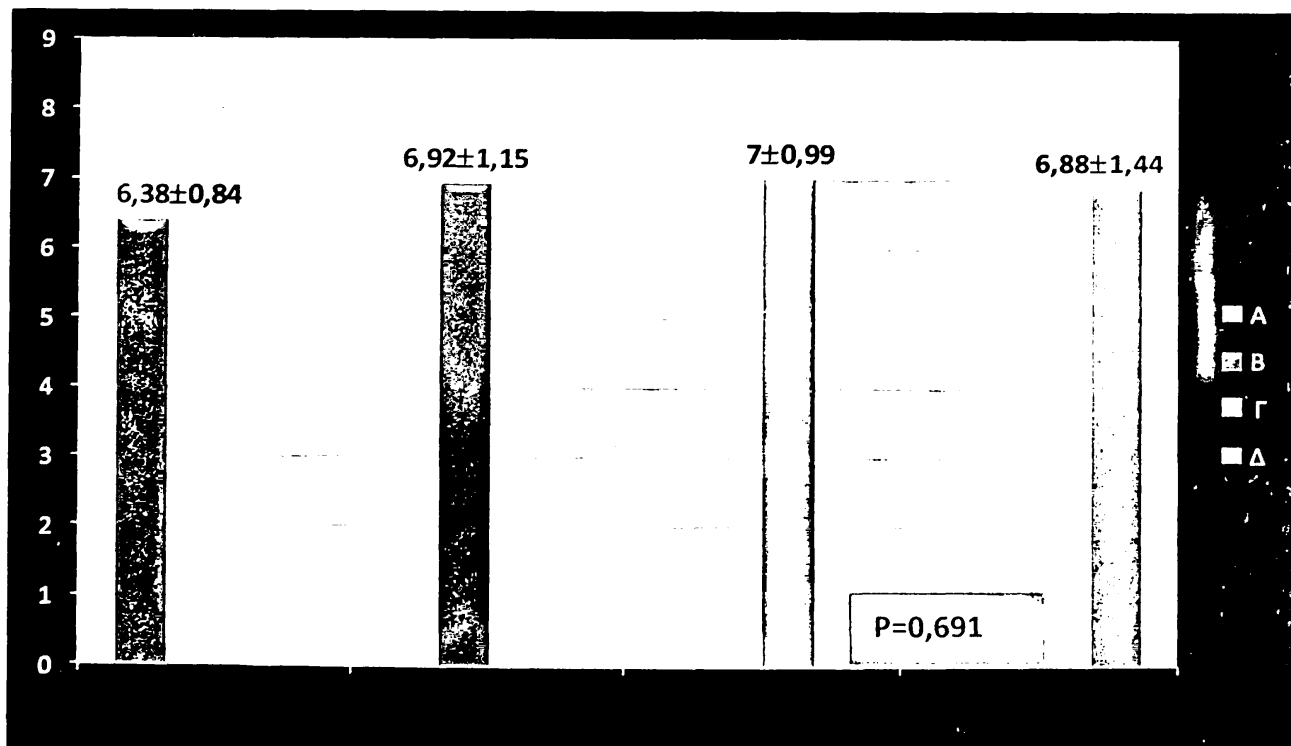


Εικ.18 Σύγκριση του πάχους της μυελίνης μεταξύ των ομάδων A, B, Γ και Δ.

Παρατηρούμε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες για την μεταβλητή πάχος μυελίνης ($p < 0.0005$). Από τις πολλαπλές συγκρίσεις συμπεραίνουμε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα σε όλες τις ομάδες με την ομάδα B.

	ΕΜΒΑΔΟ ΜΥΕΛΙΝΗΣ(μ ²)						
	N	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση				
				A	B	Γ	Δ
A	10	6,38	0,84	---	N.S	N.S	N.S
B	10	6,92	1,15	---	---	N.S	N.S
Γ	10	7,00	0,99	---	---	---	N.S
Δ	10	6,88	1,44	---	---	---	--
Overall	p =0,691						

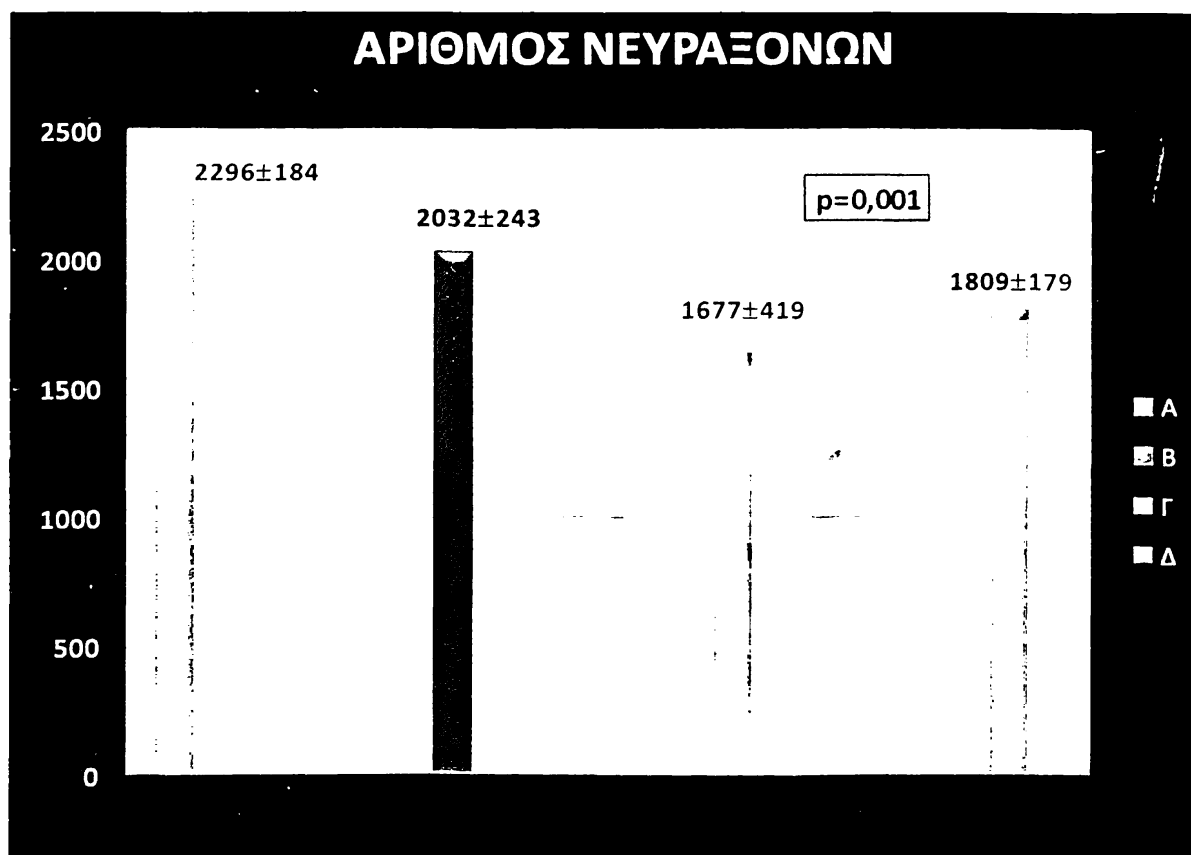
ΕΜΒΑΔΟ ΜΥΕΛΙΝΗΣ(μ²)



Εικ.19 Σύγκριση του εμβαδού της μυελίνης ανάμεσα στις ομάδες A,B,Γ,Δ.

Παρατηρούμε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες για την μεταβλητή εμβαδό μυελίνης (p=0,691).

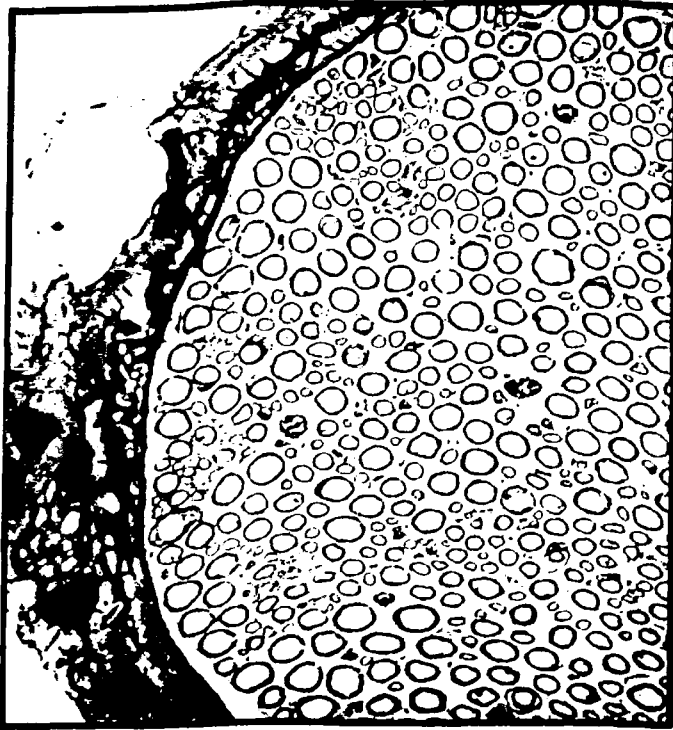
Ομάδες	ΑΡΙΘΜΟΣ ΝΕΥΡΑΞΟΝΩΝ						
	N	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση				
				A	B	Δ+ΕΡΟ	Γ+VAL
A	10	2296,3	184,46	---	N.S	0,008	0.001
B	10	2032,0	243,88	---	---	N.S	N.S
Δ+ΕΡΟ	10	1809,0	179,35	---	---	---	N.S
Γ+VAL	10	1677,3	419,05	---	----	---	--
Overall	p =0,001						



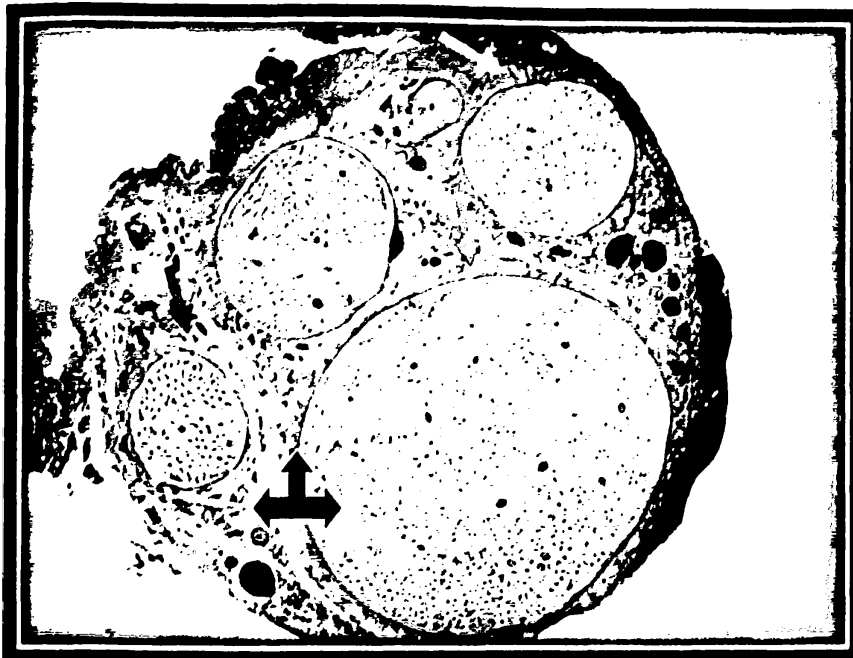
Εικ.20 Σύγκριση του αριθμού νευραξόνων ανάμεσα στις ομάδες A,B,Γ,Δ.

Παρατηρούμε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες για την μεταβλητή αριθμός νευραξόνων ($p=0,001$). Από τις πολλαπλές συγκρίσεις συμπεραίνουμε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες Γ και Δ με την ομάδα A, ενώ οι ομάδες A και B δεν έχουν μεταξύ τους στατιστικά σημαντική διαφορά.



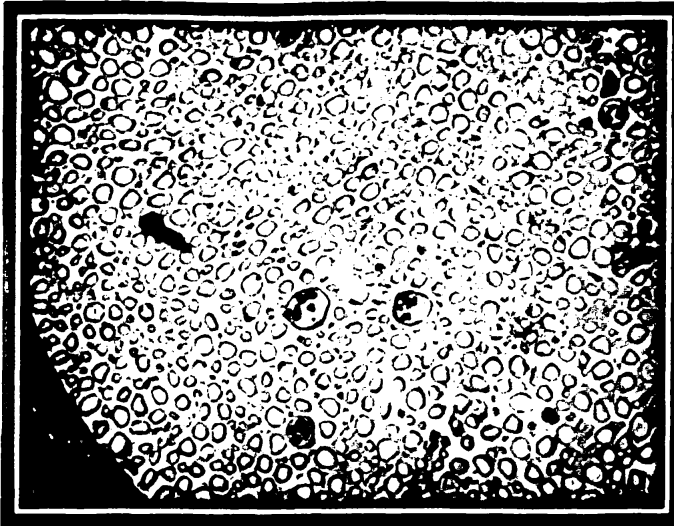
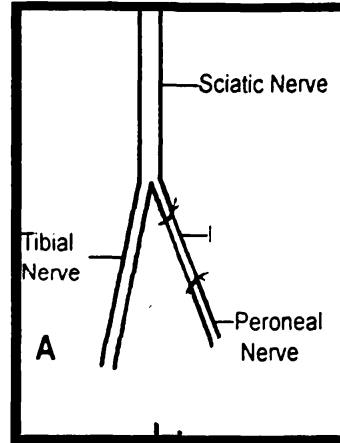
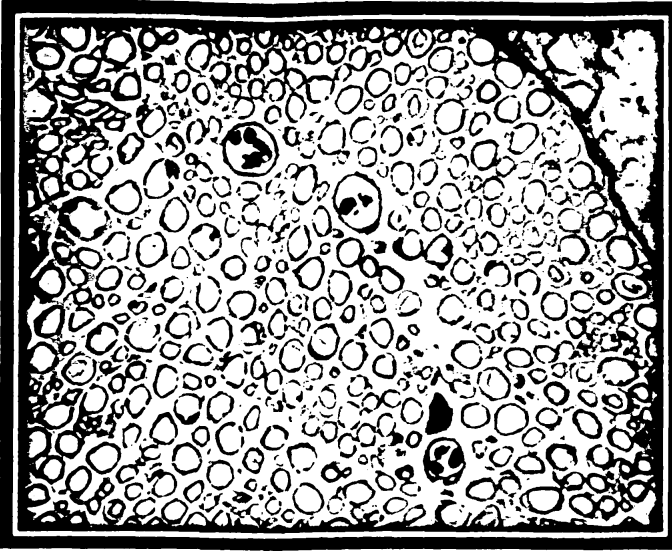


Εικ.21 Χαρακτηριστικό της δομής του φυσιολογικού περονιαίου νεύρου είναι η ομοιομορφία στην κατανομή των νευραξόνων και η παρουσία ελύτρων μυελίνης που αντιστοιχούν σε σκουρόχρωμες περιοχές που περιβάλλουν τους νευράξονες(βέλος) Με βάση αυτά τα ιστολογικά δεδομένα, γίνεται η αξιολόγηση των ιστολογικών αποτελεσμάτων όλων των ομάδων. (τολουϊδίνη μπλέ x200)



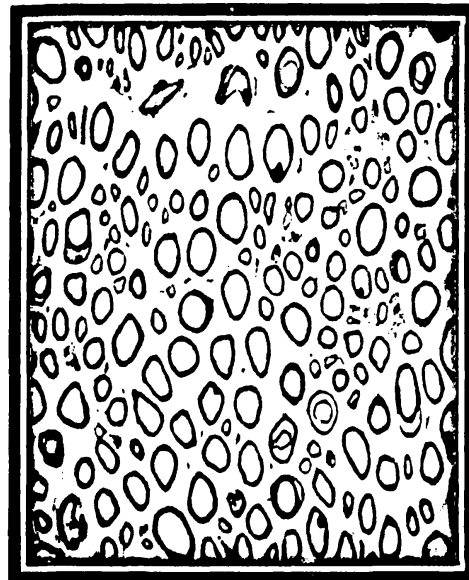
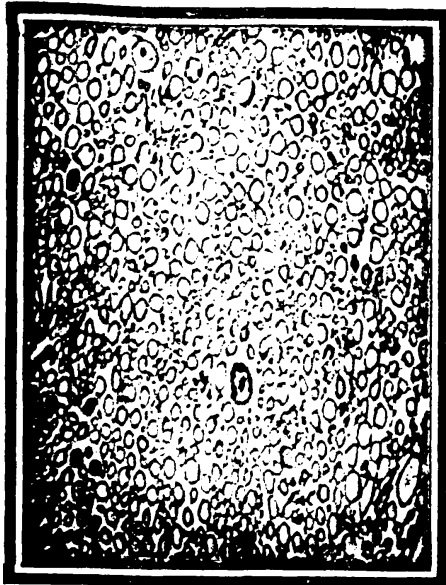
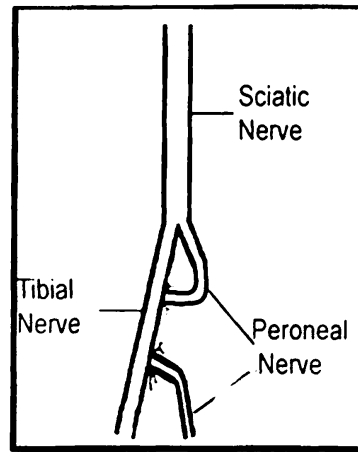
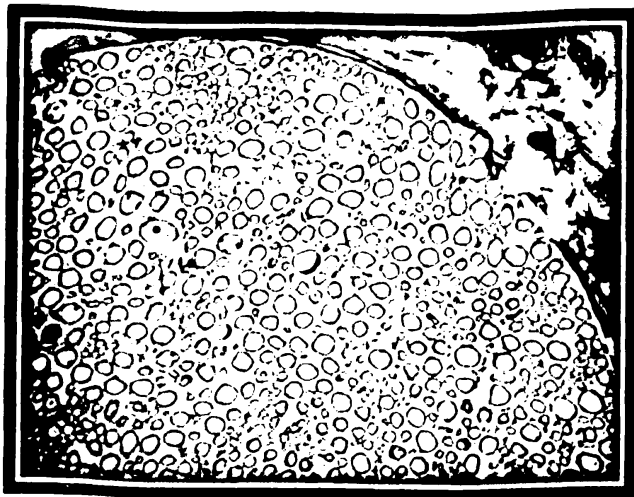
Εικ.22 Ιστολογική εικόνα του φυσιολογικού ισχιακού νεύρου(μπλε βέλος) και των κλάδων του: Κνημιαίο νεύρο (κίτρινο βέλος), περονιαίο (πράσινο) και γαστροκνημια (κόκκινο). Τα νεύρα περιβάλλονται από στρώμα ισχυρού συνδετικού ιστού, επινεύριο (μαύρα βέλη) (χρώση τολουδίνη μπλέ, x100)

ΛΙΣΤΟΛΟΓΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
ΟΜΑΔΑ Α (τελικοτελική συρραφή)



Εικ.23,24 Περονιαίο νεύρο 4 μήνες μετά από τελικοτελική αποκατάσταση. Οι ιστολογικές τομές έχουν ληφθεί 0.5 cm κάτω από την τελικοτελική συρραφή του περονιαίου νεύρου. (κίτρινο βέλος) Η ποιοτική αξιολόγηση της ιστολογικής εικόνας αποκαλύπτει μια διαδικασία αναγέννησης με την υπεροχή καλά μυελινοποιημένων νευραξόνων, με ικανοποιητικό αριθμό και πυκνότητα νευραξόνων. Η αρχιτεκτονική του νεύρου διατηρείται, αλλά το πάχος της μυελίνης είναι μικρότερο συγκριτικά με το φυσιολογικό νεύρο γεγονός που αναμένεται μετά από διατομή και συρραφή του νεύρου.

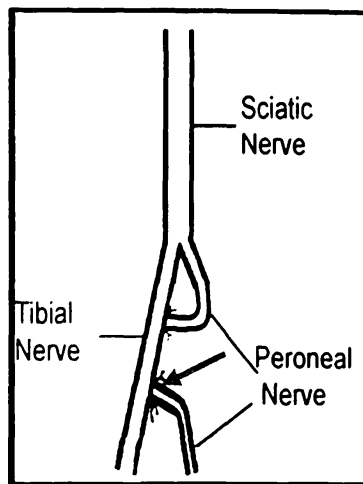
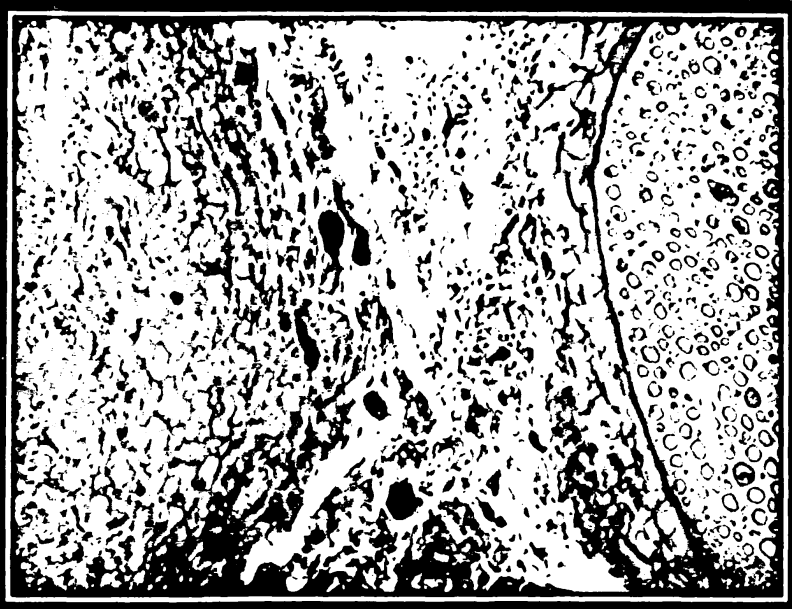
ΟΜΑΔΑ Β (Διπλή τελικοπλάγια συρραφή)



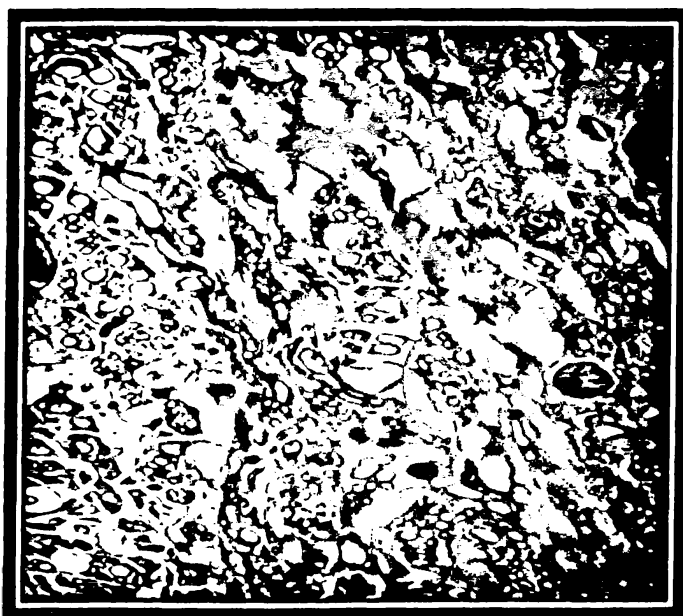
Εικ.25,26,27 Περιφερικό κολόβωμα περονιαίου νεύρου, ο (μοντέλο διπλής τελικοπλάγιας συρραφής). Οι ιστολογικές τομές έχουν ληφεί από το περιφερικό κολόβωμα του περονιαίου νεύρου, 4 μήνες μετά την εφαρμογή της τεχνικής. (κίτρινο βέλος). Το μοντέλο αναγέννησης των νευραξόνων είναι το αντίστοιχο της τελικοτελικής συρραφής, με το χαρακτηριστικό της παρουσία πολλών καλά μυελινοποιημένων νευραξόνων. Το πάχος της μυελίνης στην περίπτωση αυτή είχε στατιστικά σημαντική διαφορά συγκριτικά με όλες τις ομάδες και είναι ενδεικτικό στοιχείο καλής αναγεννητικής λειτουργίας. Χαρακτηριστική είναι η παρουσία του μοντέλου αναγέννησης με διατήρηση της εσωτερικής δομικής οργάνωσης των νευραξόνων με ικανοποιητικό εμβαδό και πάχος μυελίνης.

ΟΜΑΔΑ Β

Διπλή τελικοπλάγια συρραφή)



από το σημείο της δεύτερης τελικοπλάγιας συρραφής. Εμφανής η παρουσία κενότου αναγέννησης στο περονιαίο νεύρο με πολλές μικρές αλλά καλά οργανωμένες αναγεννώμενες νευρικές ίνες(κίτρινο βέλος). (τολουϊδίνη μπλέ, x200)

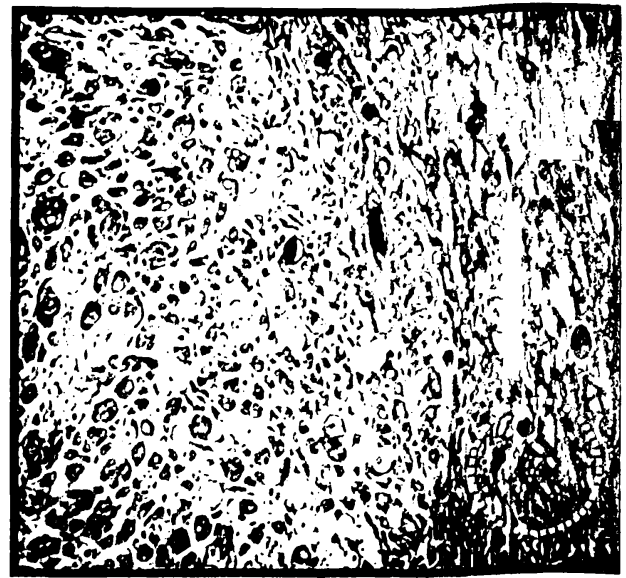
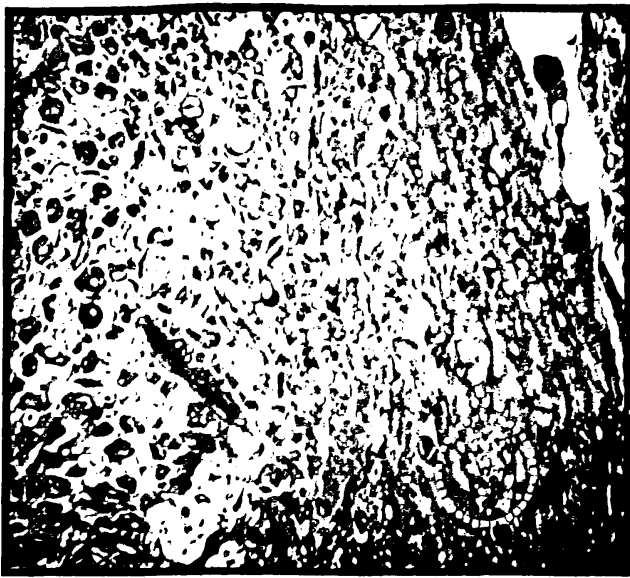
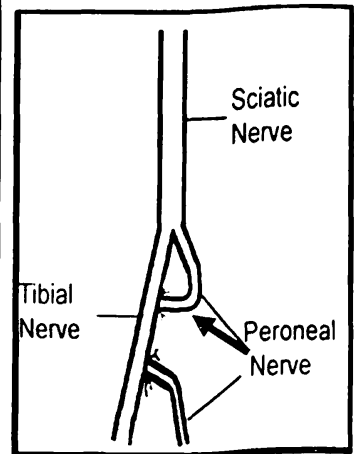
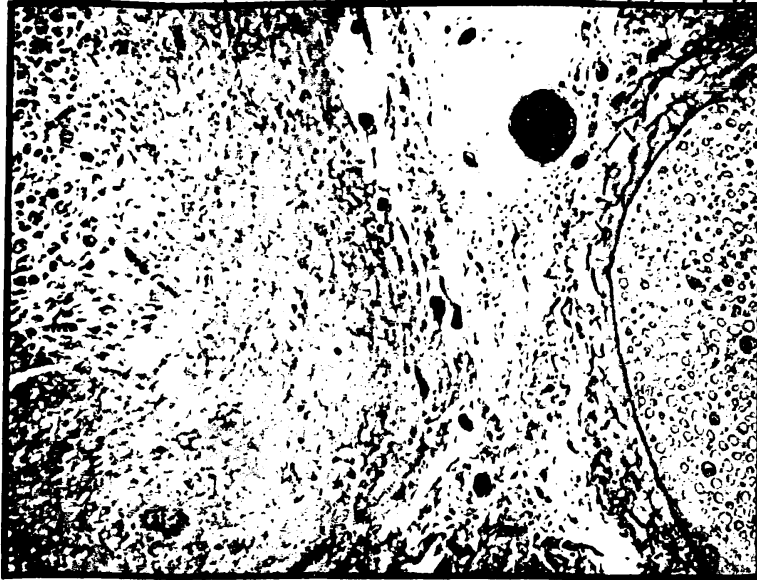


παρατηρητική η εμφάνιση νεοαναγεννώμενων μικρών νευραξόνων που σχηματίζουν ομάδες, από το κνημιαίο νεύρο με κατεύθυνση προς το περονιαίο νεύρο. (τολουϊδίνη μπλέ, x 400) Πιθανά, το κνημιαίο νεύρο να μην είναι απλά ο φυσικός δρόμος για την γεφύρωση του νευρικού ελλείμματος αλλά και μια πηγή από την οποία προέρχονται οι αναγεννώμενοι νευράξονες. Οι νέοι αυτοί νευράξονες(κόκκινοι) είναι οργανωμένοι σε ομάδες(clusters) και κατευθύνονται προς το περονιαίο



ΟΜΑΔΑ Β

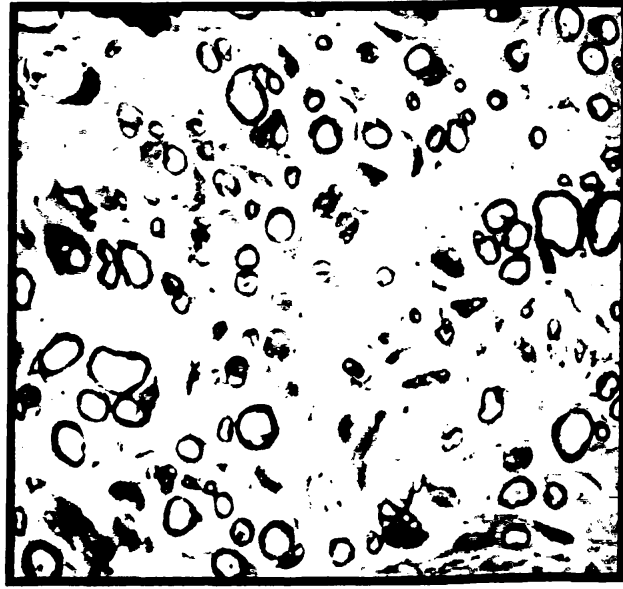
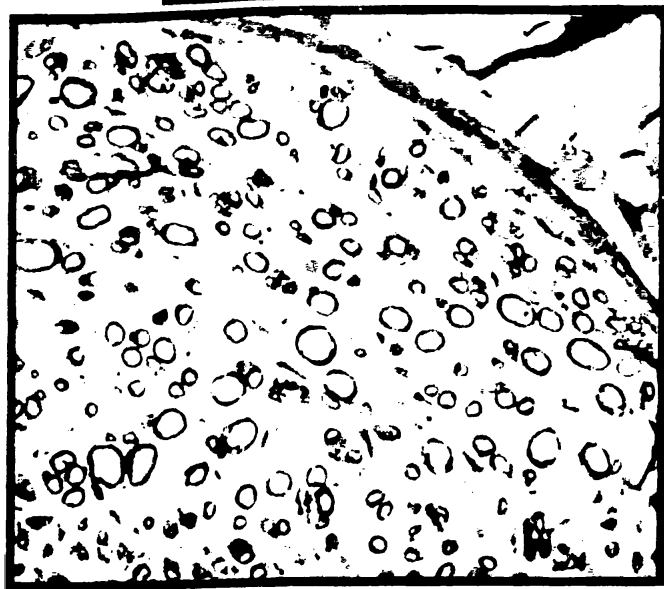
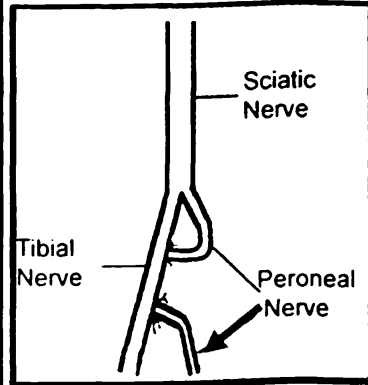
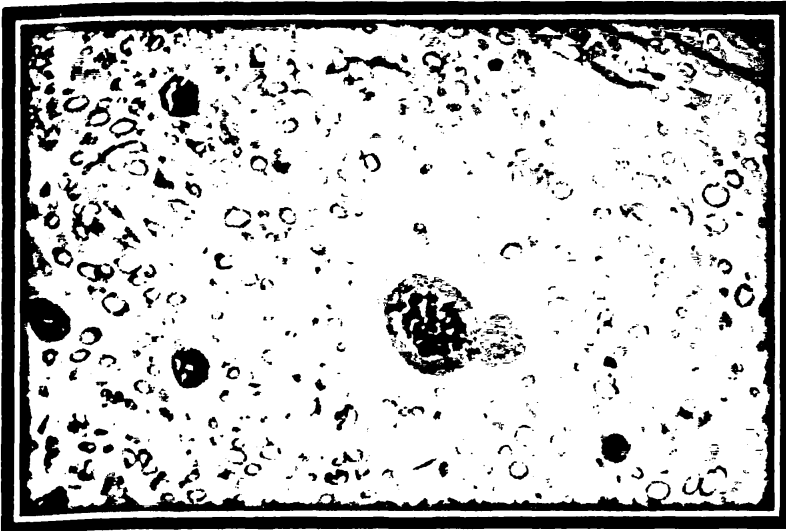
(Διπλή τελικοπλάγια συρραφή)



Εικ.30α,β,γ. Ιστολογικές εικόνες από την πρώτη τελικοπλάγια συρραφή, μεταξύ του κεντρικού κολοβώματος του περνιαίου νεύρου και του κνημιαίου. Παρατηρούνται άφθονες, μικρές σε μέγεθος νευρικές ίνες που οργανώνονται σε ομάδες, κοντά στο σημείο συρραφής και οι οποίες φαίνεται ότι προέρχονται από το κεντρικό κολόβωμα του περνιαίου νεύρου και χρησιμοποιούν τον κορμό του κνημιαίου νεύρου για τη γεφύρωση με το περιφερικό κολόβωμα.(κίτρινοι κύκλοι) Η ποιοτική εκτίμηση των ιστολογικών εικόνων παρέχει ενδεικτικά στοιχεία της πιθανής προέλευσης των αναγεννώμενων ινών στο μοντέλο της διπλής τελικοπλάγιας συρραφής.

ΟΜΑΔΑ Γ

Διπλή τελικοπλάγια συρραφή+Βαλπροϊκό



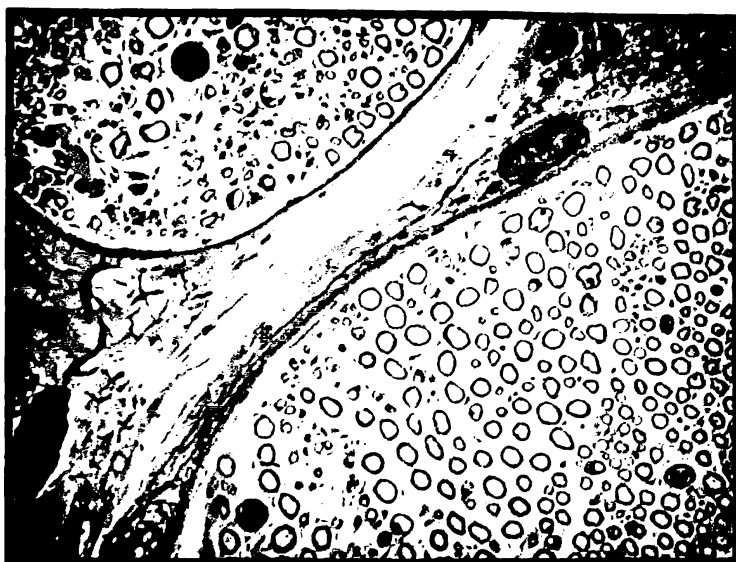
Εικ.31,32,33. Περιφερικό κολόβωμα περονιαίου νεύρου της ομάδας Γ, 4 μήνες μετά από τη συρραφή. Ο μειωμένος αριθμός μυελινοποιημένων νευραξόνων και η παρουσία μικρών περιοχών με σημεία ίνωσης(κίτρινο βέλος), συνθέτουν το μοντέλο της αναγέννησης της ομάδας με την χρήση του βαλπροϊκού οξέος. Οι ιστομορφομετρικοί παράμετροι που μελετήθηκαν δεν διαφέρουν με εκείνες των άλλων ομάδων, εκτός από τον αριθμό και την πυκνότητα των νευραξόνων. Αυτό το γεγονός επιβεβαιώνεται τελικά και από την ποιοτική εκτίμηση των ιστολογικών τομών, καθώς όπως φαίνεται τόσο ο αριθμός όσο και η πυκνότητα των νευραξόνων είναι ελαττωμένοι συγκρινόμενοι με τις ομάδες Α και Β.



▲ ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
 ΟΜΑΔΑ Γ
 (Διπλή τελικοπλάγια συρραφή + Βαλπροϊκό)



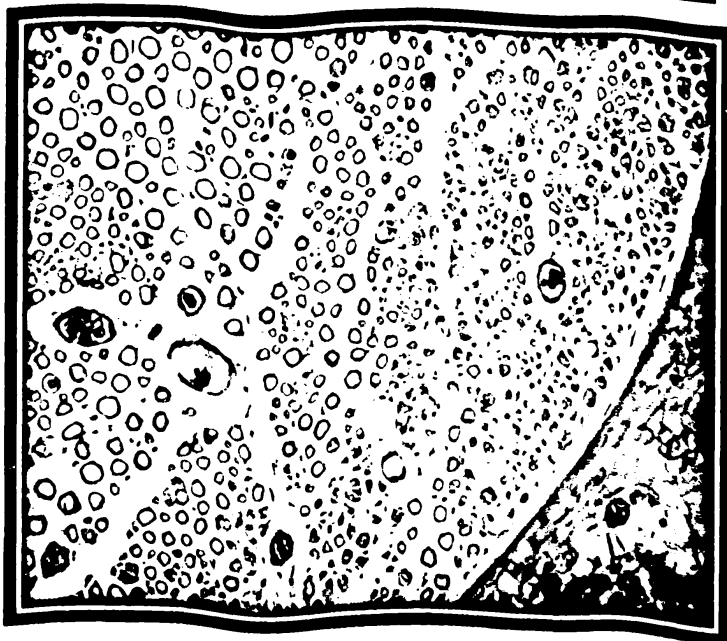
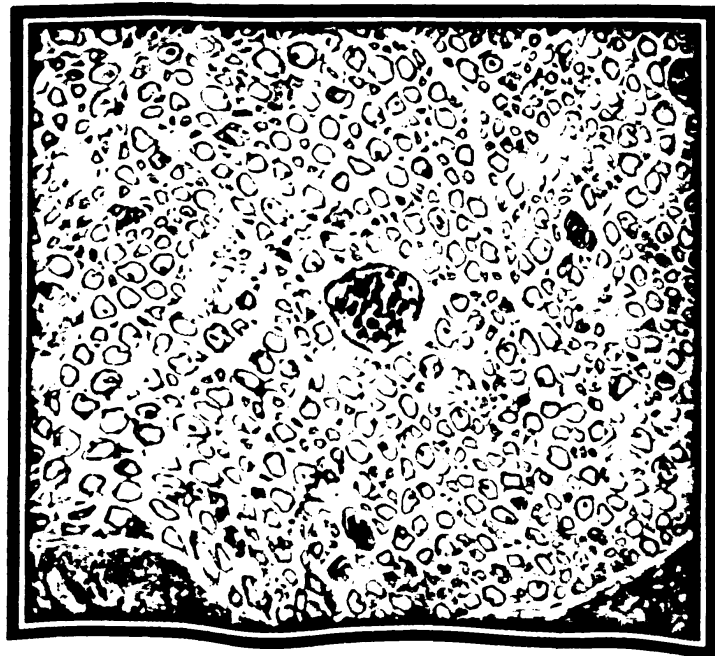
Εικ.34 Ιστολογική εικόνα από την περιφερική συρραφή στην ομάδα Γ. (τολουϊδίνη μπλέ, x 200).Περονιαίο νεύρο(κίτρινο βέλος),κνημιαίο νεύρο(κόκκιν. βέλος)



Εικ.35 Παρατηρούνται πολλές μικρές εμμύελες αναγεννώμενες νευρικές ίνες στο κνημιαίο νεύρο, κοντά στο σημείο συρραφής.(κίτρινο βέλος) Στο περονιαίο νεύρο, υπάρχουν εμμύελες και αμύελες νευρικές ίνες αλλά με στοιχεία ίνωσης ανάμεσά τους.(πράσινο βέλος)

ΟΜΑΔΑ Δ

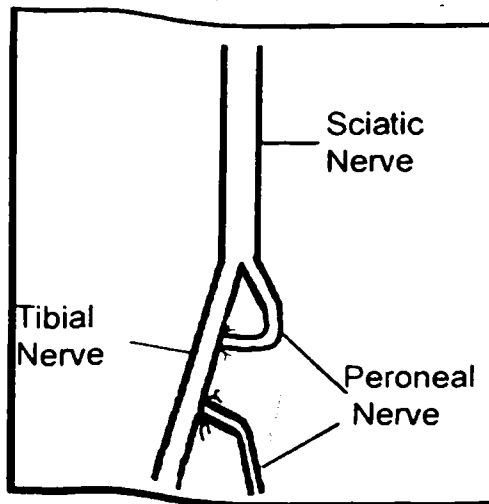
(Διπλή τελικοπλάγια συρραφή+ Ερυθροποιητίνη)

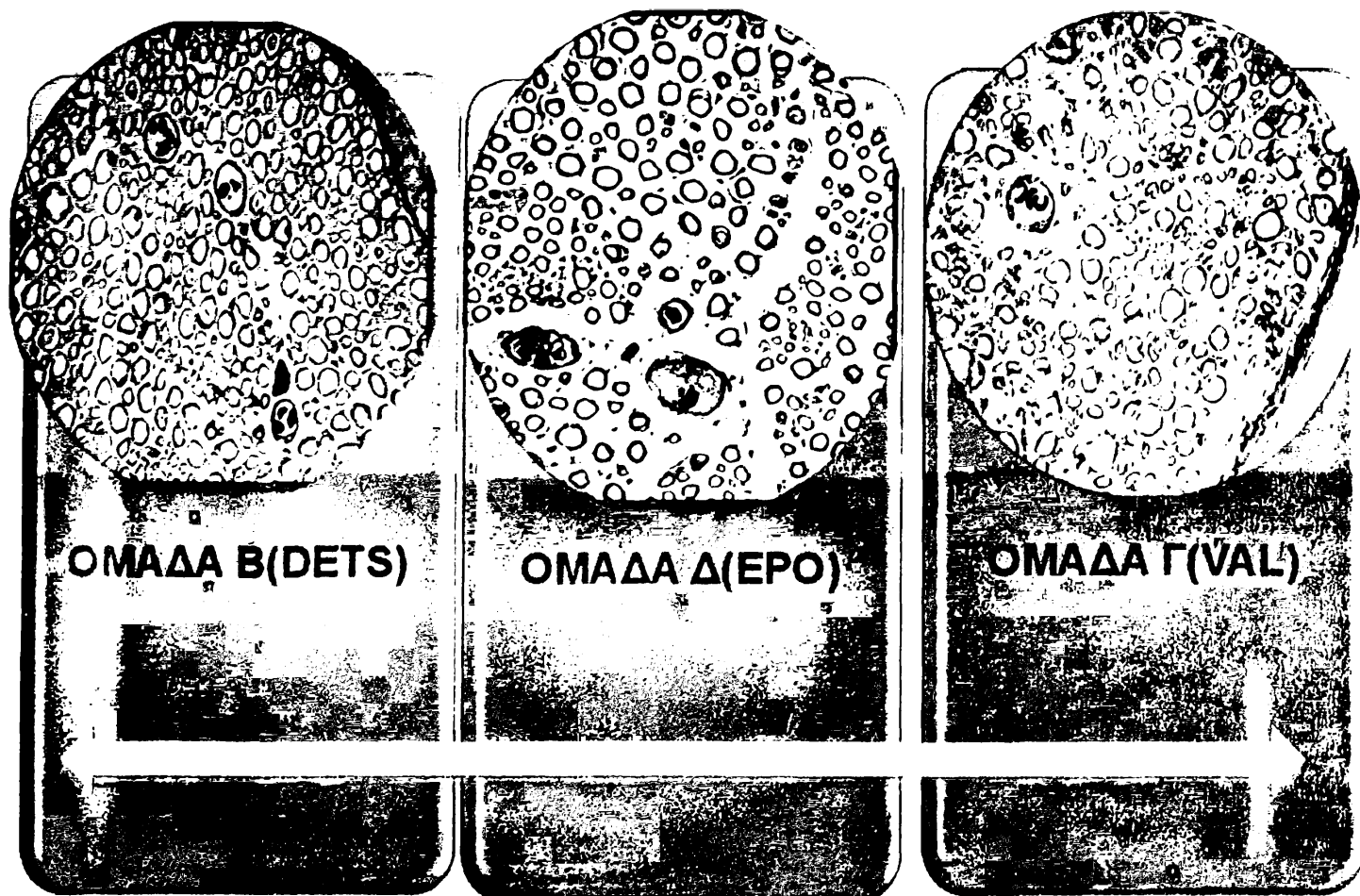


Εικ.36(α,β) Η αναγέννηση των ινών στο μοντέλο με την ερυθροποιητίνη, χαρακτηρίζεται από την παρουσία πολλών, καλά μυελινοποιημένων νευραξόνων.

Το μοντέλο της αναγέννησης είναι ποιοτικά παρόμοιο με εκείνο των ομάδων Α και Β.

Η εικόνα της οργανωμένης δομής και διάταξης των νευρικών ινών και η απουσία σημείων ίνωσης ή εκφύλισης, είναι τα βασικά ιστολογικά χαρακτηριστικά που την διαφοροποιούν από την ομάδα με το βαλπροϊκό. Οι τομές έχουν ληφθεί από το περιφερικό κολόβωμα του περνιαίου νεύρου 4 μήνες μετά από τη συρραφή. (κίτρινο βέλος)

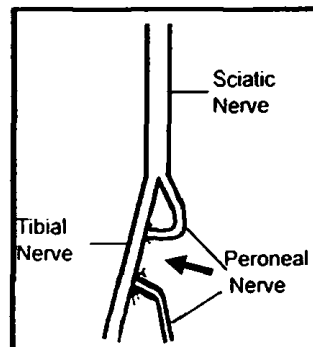
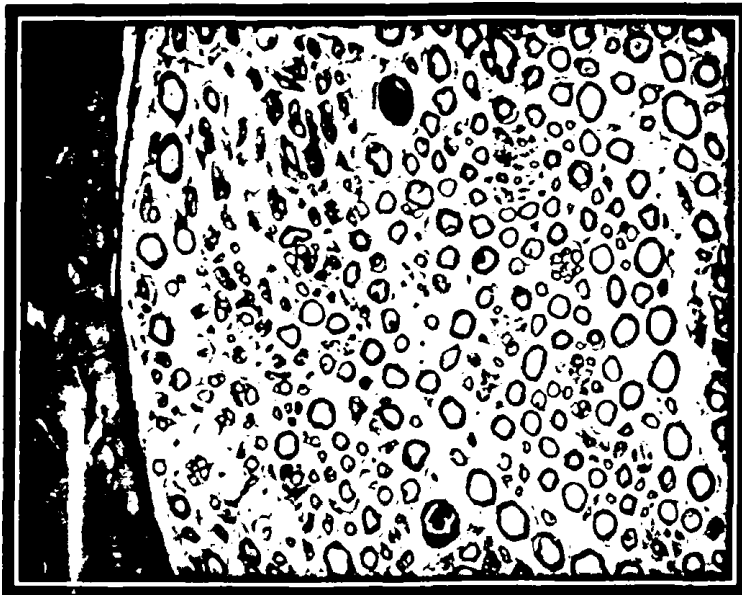




Εικ.37 Αντιπροσωπευτικές ιστολογικές εικόνες από το περιφερικό κολόβωμα του περονιαίου νεύρου από τις ομάδες Β, Γ και Δ. Οι ομάδες Β και Δ, παρουσιάζουν παρόμοιο μοντέλο αναγέννησης το οποίο χαρακτηρίζεται από την υπεροχή πληθυσμού ώριμων νευρικών ινών χωρίς εμφανή σημεία Βαλλεριανής εκφύλισης. Αντίθετα η ομάδα Γ, χαρακτηρίζεται από την παρουσία λιγότερων εμμύελων και αμύελων νευρικών ινών που όμως διατηρούν την αρχιτεκτονική τους δομή αλλά παρουσιάζουν και στοιχεία ίνωσης ανάμεσά τους.

Α ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΝΗΜΙΑΙΟ ΝΕΥΡΟ

Η ιστολογική εικόνα του κνημιαίου νεύρου παρέχει σημαντικές πληροφορίες για την ποιοτική εκτίμηση της πιθανής βλάβης του νεύρου, στις ομάδες που χρησιμοποιήθηκε η διπλή τελικοπλάγια συρραφή. (Ομάδες Β,Γ,Δ) Για τον σκοπό αυτό, μελετήθηκε τόσο το τμήμα του κνημιαίου νεύρου μεταξύ των δυο συρραφών, όσο και το περιφερικό τμήμα, μετά την δεύτερη συρραφή.

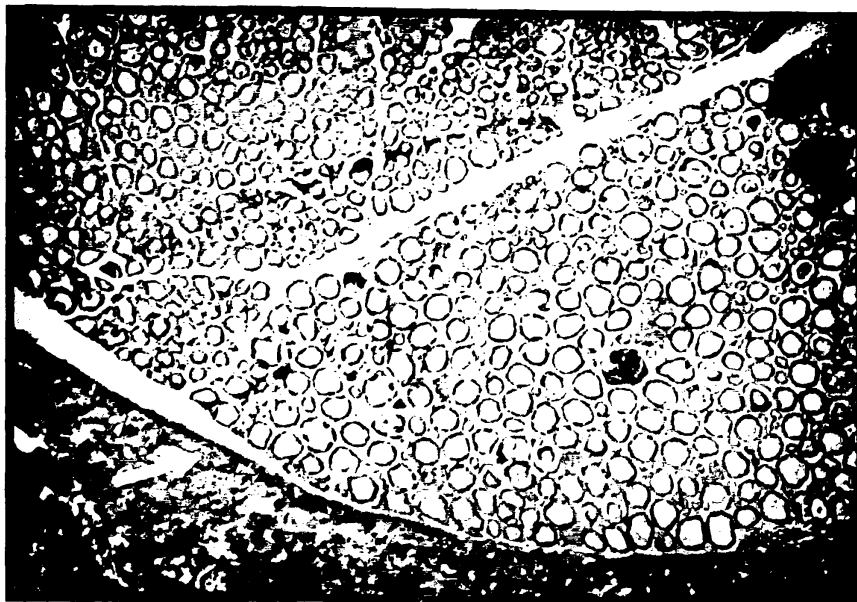


Εικ.38 Κορμός κνημιαίου νεύρου. Οι ιστολογικές τομές έχουν ληφθεί 4 μήνες μετά από την διπλή τελικοπλάγια συρραφή. Παρατηρούνται πολλές μικρές αναγεννώμενες ίνες (κίτρινο βέλος) στο εσωτερικό του νεύρου, ενδεικτικό στοιχείο ότι και το κνημιαίο νεύρο συμβάλλει στην αξονική αναγέννηση του περονιαίου. (τολουϊδίνη μπλέ, x200) Οι μικροί εμμέλοι αναγεννώμενοι νευράξονες παρατηρούνται κοντά στο σημείο συρραφής. Πιθανά η επινευροτομή του κνημιαίου νεύρου πριν την συρραφή να λειτούργησε ως διεγερτικός παράγοντας για την έναρξη της διαδικασίας της πλάγιας εκβλάστησης.

ΚΝΗΜΙΑΙΟ ΝΕΥΡΟ

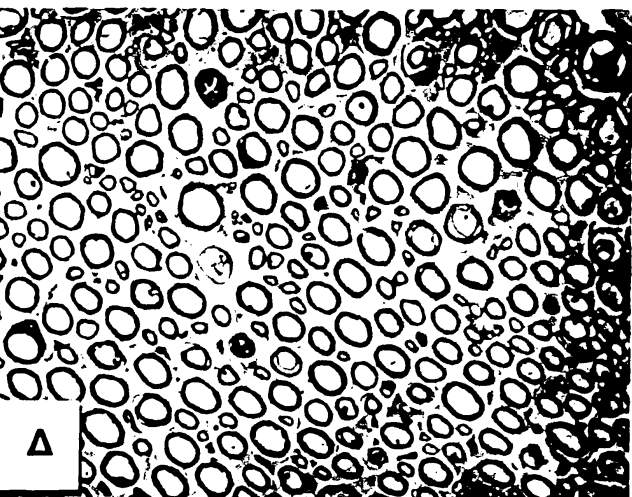
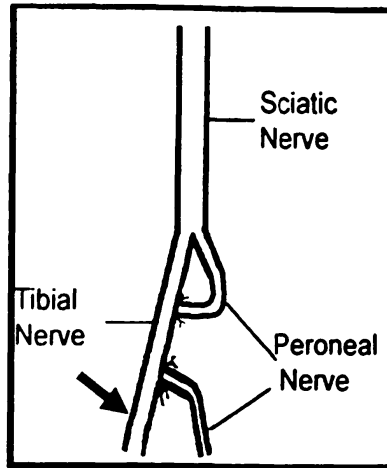
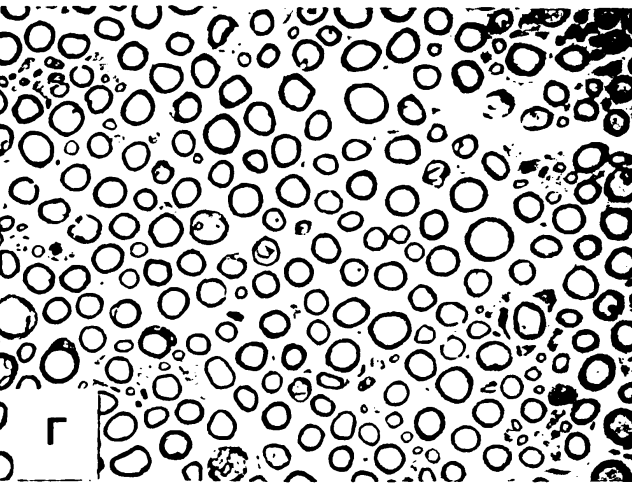
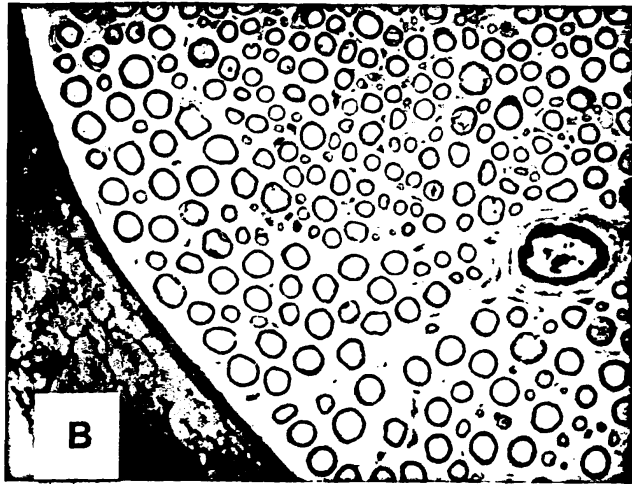


Εικ.39 Κορμός κνημιαίου νεύρου. Χαρακτηριστική η παρουσία πολλών εμύελων και αμύελων νευρικών ινών που οργανώνονται σε μικρές ομάδες (κύκλοι). Η πιθανή προέλευση των ινών είναι το κεντρικό κολόβωμα του νεύρου. Οι αναγεννώμενες ίνες χρησιμοποιούν το κνημιαίο νεύρο, ως αγωγό για τη γεφύρωση του νευρικού ελλείμματος.



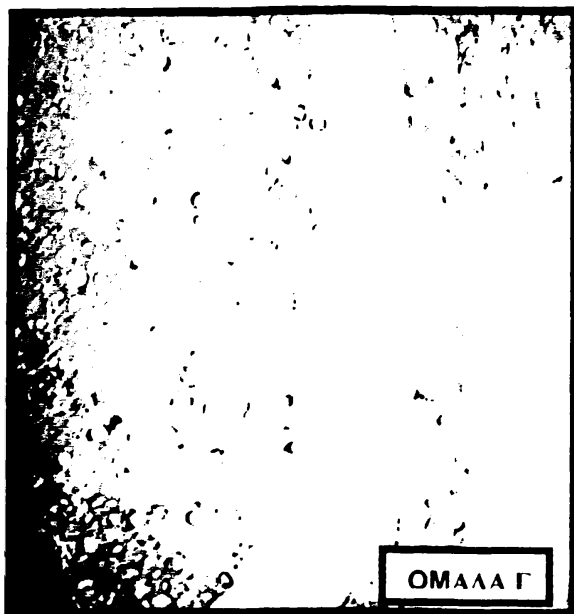
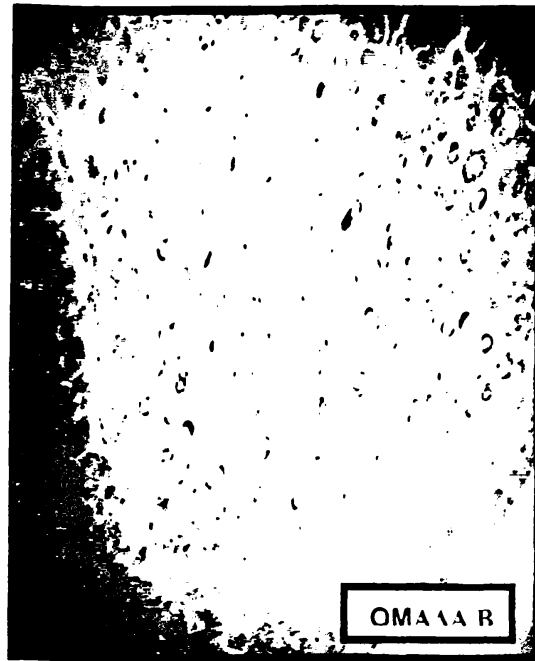
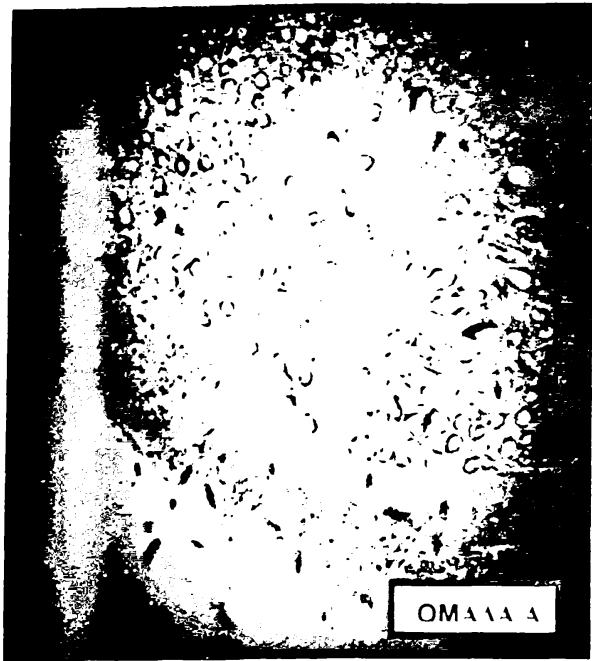
Εικ.40 Ιστολογική εικόνα του αντίστοιχου τμήματος του κνημιαίου νεύρου. Πρόκειται για εικόνα φυσιολογικού νεύρου, χωρίς τη παρουσία αναγεννώμενων νευρικών ινών έξω από το επινεύριο. (κίτρινο βέλος)

ΚΝΗΜΙΑΙΟ ΝΕΥΡΟ



Εικ.41 Ιστολογική εμφάνιση αντιπροσωπευτικών τμημάτων από το νεύρο, κάτω από την περιφερική συρραφή. Σε καμία από τις ομάδες που ελέγχθηκαν με τη διπλή τελικοπλάγια συρραφή(Β,Γ,Δ), δεν παρατηρούνται σημεία απορροής ή τραυματισμού του νεύρου.



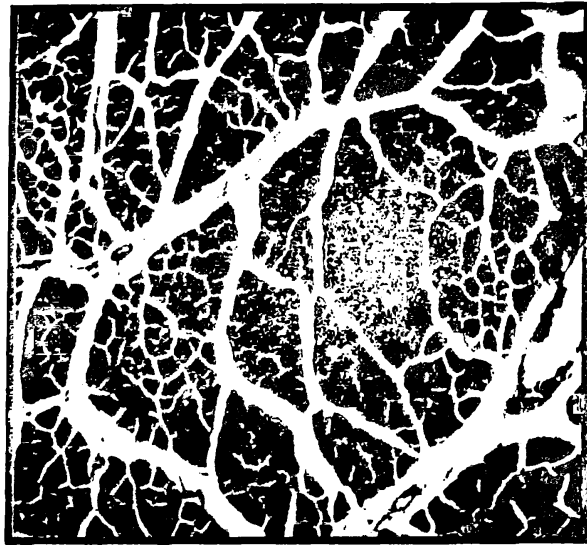


Εικ.42 Με ανοσοϊστοχημική χρώση S-100, αναδείχτηκε η παρουσία μυελίνης γύρω από τις αναγεννώμενες νευρικές ίνες (κόκκινο χρώμα) στο κολόβωμα του περονιαίου νεύρου. Η πρωτεΐνη S-100b, ανοσοϊστοχημικά στο κυτταρόπλασμα και στις κυτταρικές μεμβράνες των κυττάρων του Schwann σε εμύελες αλλά και σε εμύελες νευρικές ίνες. Η παρουσία της σχετίζεται με τη δραστηριότητα των κυττάρων του Schwann στην διαδικασία της αναγέννησης. Η ανοσοϊστοχημική αναγνώριση της πρωτεΐνης S-100 στα Schwann σχετίζεται τόσο με τον βαθμό της μυελινοποίησης όσο και με τον διάμετρο. Το ποσό της ανοσοαντίδρασης της πρωτεΐνης σε εμύελες νευρικές ίνες

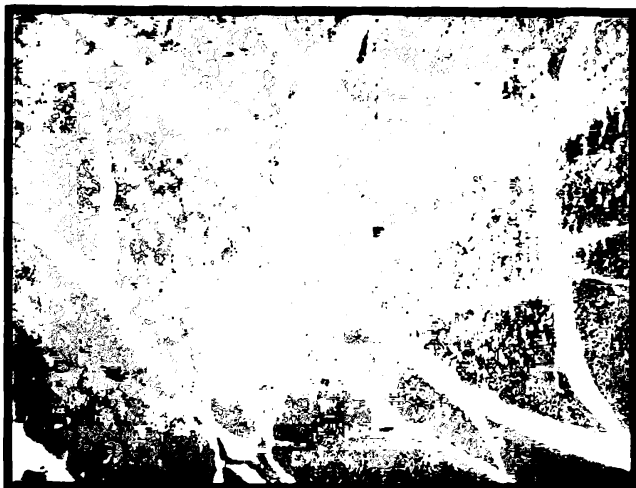
έχει άμεση συσχέτιση με το πάχος της μυελίνης η οποία σχηματίζεται από τα κύτταρα του Schwann. Όσο πιο παχύ το στρώμα της μυελίνης, τόσο πιο έντονη η παρουσία της S-100. Η παρουσία της πρωτεΐνης αναγνωρίζεται σε όλες τις ομάδες που συμμετέχουν στην πειραματική μελέτη. Η παρουσία της είναι πιο έντονη στις ομάδες A, B και Δ. Στην ομάδα του βαλπροϊκού οξέος, η μειωμένη παρουσία της πρωτεΐνης οφείλεται στο γεγονός ότι η αναγεννητική δυνατότητα είναι μικρότερη συγκρινόμενη με τις άλλες ομάδες που συμμετέχουν στην πειραματική μελέτη.



Εικ.43. A. Φυσιολογικό κύτταρο του Schwann γεμάτο με το προϊόν της ανοσοαντίδρασης.(Πρωτεΐνη S-100). B.Περονιαίο νεύρο της ομάδας B. Το κυτταρόπλασμα του κυττάρου Schwann και η μεμβράνη του (βέλος) είναι γεμάτα με την S-100. Γ. Μικρή ανοσοαντίδραση για τα κύτταρα του Schwann της ομάδας με το βαλπροϊκό.



Εικ.44,45. Φυσιολογικός πρόσθιος κνημιαίος μυς. Παρατηρείται η ομοιόμορφη διάταξη των μυϊκών ινών με τον πυρήνα απωθημένο στην περιφέρεια χαρακτηριστικό γνώρισμα των γραμμωτών μυϊκών ινών. Μόνο στο 3-5% συνόλου των γραμμωτών μυϊκών ινιδίων, είναι φυσιολογικό ο πυρήνας απεικονίζεται στο κέντρο. Το μεγαλύτερο μέρος του κυτταροπλάσματος είναι γεμάτο από μυοϊνίδια που αποτελούνται από ινίδια ακτίνης και μυοσίνης. Ο πολυγωνικός χαρακτήρας των μυϊκών ινών και η στενή γειτνίαση μεταξύ τους είναι ακόμα μορφολογικό γνώρισμα. (Χρώση αιματοξυλίνη-ηωσίνη)



Εικ.46,47. Ιστολογική εικόνα πρόσθιου κνημιαίου μυός από την ομάδα. Παρατηρείται η διατήρηση της αρχιτεκτονικής δομής του μυός. Η διάταξη των μυοϊνιδίων είναι ομοιόμορφη χωρίς σημεία ατροφίας, τέσσερις εβδομάδες μετά από τελικοτελική συρραφή του νεύρου. (αιματοξυλίνη-ηωσίνη)

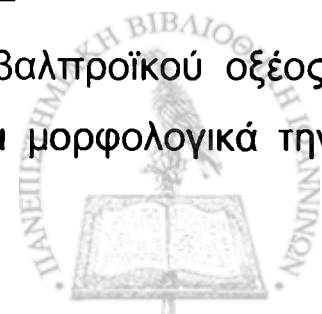
ΨΙΣΤΟΛΟΓΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
ΠΡΟΣΘΙΟΥ ΚΝΗΜΙΑΙΟΥ ΜΥΟΣ

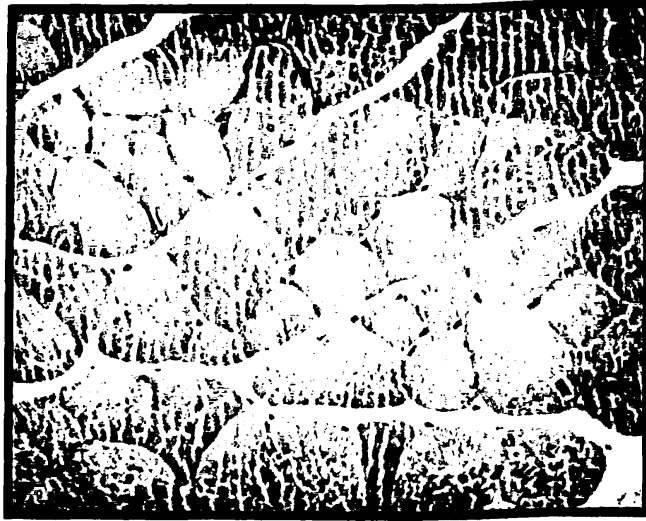


Εικ.48,49. Ιστολογική εικόνα του μυός από την ομάδα Β, της διπλής τελικοπλάγιας περιγραφής, η οποία εκτιμάται ότι είναι ποιοτικά παρόμοια με εκείνη της ομάδας Α.

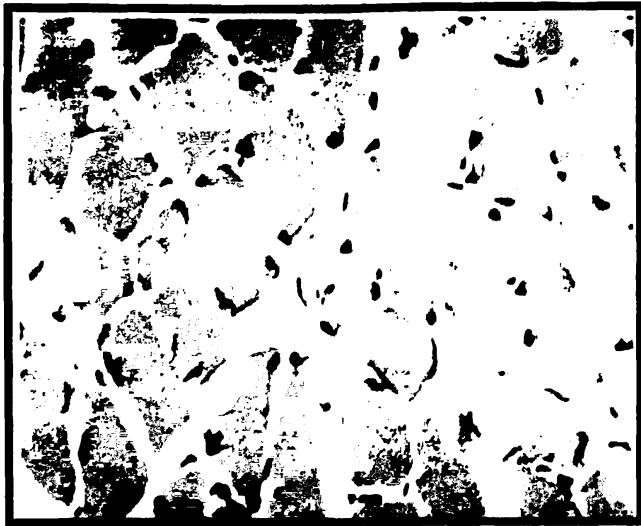
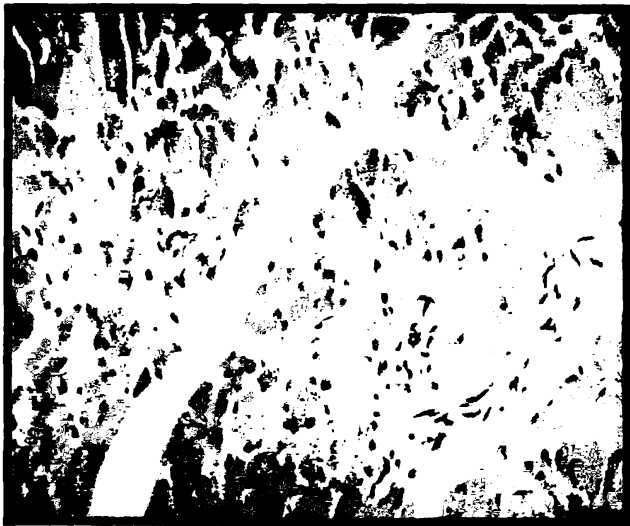


Εικ.50,51 Ιστολογική εικόνα του μυός από την ομάδα Γ, του βαλπροϊκού οξέος. Χαρακτηριστική η γωνίωση μερικών μυϊκών ινών που εκφράζει μορφολογικά την μυϊκή ατροφία που παρουσιάζει η ομάδα.(πράσινο βέλος)





Εικ.52,53 Ιστολογική εικόνα του μύος από την ομάδα Δ της ερυθροποιητίνης. Ιστολογική δομή παρόμοια με εκείνη των ομάδων Α και Β.



Εικ.54,55 Ιστολογική εικόνα προσθίου κνημιαίου μύος ομάδας Ε. Έντονι παρουσία μυϊκών ινών που έχουν ατροφήσει και έχουν χάσει την αρχιτεκτονική τους δομή. Χαρακτηριστικά της ομάδας Ε, το μικρό μέγεθος των ινών και η γωνίωση που παρουσιάζουν.

ΒΑΡΟΣ ΠΡΟΣΘΙΟΥ ΚΝΗΜΙΑΙΟΥ ΜΥΟΣ

Το βάρος του προσθίου κνημιαίου μύος εκφράζεται ως λόγος του χειρουργημένου μέλους προς το υγιές, για κάθε ομάδα που συμμετέχει στην πειραματική μελέτη. Το βάρος του μύος αντιπροσωπεύει έμμεσα και τον βαθμό της επανεύρωσής του και συνεπώς της λειτουργικής αποκατάστασης του περνιαίου νεύρου.

ΒΑΡΟΣ ΜΥΟΣ				
ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ	ΔΙΑΜΕΣΟΣ	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	ΕΛΑΧΙΣΤΟ	ΜΕΓΙΣΤΟ
0,824	0,822	0,059	0,753	0,930
0,819	0,832	0,070	0,740	0,914
0,734	0,729	0,066	0,649	0,820
0,834	0,835	0,081	0,720	0,970
0,22	0,215	0,019	0,185	0,25

Πιν.20 Οι τιμές του βάρους του προσθίου κνημιαίου μύος για κάθε ομάδα.

ΟΜΑΔΕΣ	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση	ΒΑΡΟΣ ΜΥΟΣ				
			A	B	Γ	Δ	E
A	0,82	0,06	--	N.S	0.05	N.S	0.05
B	0,814	0,07	--	---	0.05	N.S	0.05
Γ	0,73	0,066	--	---	---	0.045	0.045
Δ	0,83	0,081	--	----	---	--	0.05
E	0,22	0,215					
Overall Sig.	p =0.024						

Πιν.21. Σύγκριση του βάρους του μύος(ratio), ανάμεσα στις ομάδες A,B,Γ,Δ,E.

Παρατηρούμε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες για την μεταβλητή βάρος μύος.(p= 0.024) Από τις πολλαπλές συγκρίσεις συμπεραίνουμε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις ομάδες A, B, Δ, με την ομάδα Γ. Επίσης, η ομάδα E έχει στατιστικά σημαντική διαφορά με όλες τις ομάδες.



Εικ.56 Το βάρος του προσθίου κνημιαίου μυός σε κάθε ομάδα, εκφράζοντας τον λόγο του χειρουργημένου προς το υγιές μέλος. Όλες οι ομάδες διαφέρουν σε αυτή την παράμετρο με την ομάδα Ε(διατομή περονιαίου). οι ομάδες Α, Β , Δ παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά με την βαλπροϊκού οξέος.



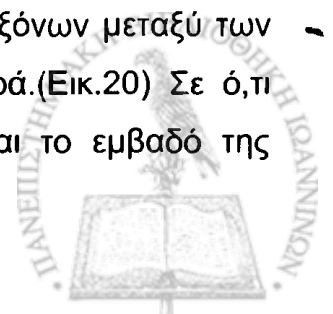
^ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα μελέτη, το μοντέλο της διπλής τελικοπλάγιας συρραφής δημιουργήθηκε με το σκεπτικό της χρησιμοποίησης ενός υγιούς νεύρου, ως φυσικού μέσου-αγωγού, για την γεφύρωση ενός νευρικού ελλείμματος. Ένα υγιές, καλά αγγειούμενο νεύρο θα παρείχε μηχανική και τροφική υποστήριξη στους αναγεννώμενους νευράξονες, αποτελώντας το ιδανικό ικρίωμα χωρίς επιπλέον, να υπάρχει ο κίνδυνος να υποστεί κεντρική νέκρωση, όπως συμβαίνει σε περιπτώσεις μοσχευμάτων. Επίσης, το νεύρο-αγωγός, θα είχε την δυνατότητα να ενισχύσει πιθανά, μέσω του μηχανισμού της πλάγιας εκβλάστησης, την νευρική αναγέννηση. Αρχικά, η μέθοδος συγκρίθηκε με την τελικοτελική συρραφή που είναι ο χρυσός κανόνας για την αποκατάσταση κακώσεων περιφερικών νεύρων.

Η επιλογή των κατάλληλων παραμέτρων για την αξιολόγηση της νευρικής αναγέννησης είναι πολύ σημαντική στην πειραματική μελέτη των κακώσεων των περιφερικών νεύρων.

Η ανάλυση βάδισης επιλέχθηκε γιατί είναι μια δοκιμασμένη και αξιόπιστη μέθοδος για την εκτίμηση της λειτουργικής αποκατάστασης. Μπορεί να επαναληφθεί σε τακτά χρονικά διαστήματα, με ανώδυνο και μη επεμβατικό τρόπο. Στην παρούσα πειραματική μελέτη, ο δείκτης PFI, μεταξύ της ομάδας A (τελικοτελική συρραφή) και της ομάδας B (διπλή τελικοπλάγια συρραφή) δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική μεταβολή σε καμιά από τις χρονικές στιγμές μέτρησης, αποδεικνύοντας ότι η λειτουργική αποκατάσταση του νεύρου είναι συγκρίσιμη μεταξύ των δυο ομάδων. (Εικ.4) Η μελέτη της διαχρονικής μεταβολής του δείκτη PFI ξεχωριστά για την κάθε ομάδα, ανέδειξε ότι τα πειραματόζωα της ομάδας A μετά από την 15^η μετεγχειρητική ημέρα βελτιώνουν τις τιμές μέχρι το τέλος του 2^{ου} μήνα. Από τον τρίτο μήνα, φτάνουν σχεδόν στις αρχικές (baseline) τιμές, από τις οποίες δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές. (Εικ.8) Παρόμοιο μοντέλο παρουσιάζει και η ομάδα B η οποία καθυστερεί χρονικά, γιατί η βελτίωση στις τιμές του δείκτη ξεκινά από τον 1^ο μήνα. (Εικ.9) Πάντως, οι τιμές του δείκτη PFI και στις δυο ομάδες φτάνουν τα προεγχειρητικά επίπεδα, από τον 3^ο μήνα.

Από τις ιστομορφομετρικές παραμέτρους, ο αριθμός των νευραξόνων μεταξύ των ομάδων A και B, δεν παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά. (Εικ.20) Σε ό,τι αφορά την διάμετρο των μυελινοποιημένων νευρικών ινών και το εμβαδό της



μυελίνης, επίσης δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά.(Εικ.17,19) Η παράμετρος 'πάχος μυελίνης' παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δυο ομάδες, με την ομάδα Β να εμφανίζει μυελινοποιημένους αλλά παχύτερους νευράξονες.(Εικ.18) Στη φάση της αναγέννησης των νευραξόνων, τα κύτταρα του Schwann, μυελινοποιούν τους νευράξονες όταν αποκτήσουν ένα συγκεκριμένο μέγεθος. Παρόλ'αυτά, το νέο στρώμα μυελίνης, παραμένει τελικά, συνήθως πιο λεπτό για το μέγεθος της νευρικής ίνας. Στην προκειμένη περίπτωση, το παχύτερο στρώμα μυελίνης ταυτίζεται με καλύτερη αναγέννηση νευραξόνων.

Η μακροσκοπική εκτίμηση της ιστολογικής εικόνας του περιφερικού κολοβώματος του περονιαίου νεύρου στην ομάδα Α, έδειξε ένα καλό μοντέλο αναγέννησης με την συμμετοχή πολλών μυελινοποιημένων νευρικών ινών, με αυξημένη πυκνότητα και μικρή διάμετρο.(Εικ.23,24) Παρόμοιο μοντέλο αναγέννησης παρουσίασε και η ομάδα Β (25,26,27)

Η μελέτη του πειραματικού μοντέλου, ολοκληρώθηκε με την μέτρηση του βάρους του προσθίου κνημιαίου μυός και την αξιολόγηση της ιστολογικής του εικόνας. Η στατιστική ανάλυση δεν αποκάλυψε διαφορές ανάμεσα στις δυο ομάδες.(Εικ.56)

Η ιστολογική εκτίμηση του μυός ήταν παρόμοια και στις δύο ομάδες χωρίς να παρουσιάζει σημαντικές αποκλίσεις από την εικόνα του φυσιολογικού μυός, με τις μυϊκές ίνες να διατηρούν την αρχιτεκτονική τους δομή και χωρίς να παρουσιάζουν εμφανή στοιχεία εκφύλισης. (Εικ. 46,47,48,49)

Συνοψίζοντας τα παραπάνω αποτελέσματα των λειτουργικών και ιστομορφομετρικών διαδικασιών, συμπεραίνεται ότι η διπλή τελικοπλάγια συρραφή, παρουσιάζει αποτελέσματα συγκρίσιμα με εκείνα της τελικοτελικής που θεωρείται η μέθοδος εκλογής στις κακώσεις των περιφερικών νεύρων. Όμως, η τεχνική θα έχει πιθανή κλινική εφαρμογή, μόνο στην περίπτωση που θα εξασφαλίζεται ότι δεν βλάπτεται η δομή και η λειτουργία του νεύρου-αγωγού, δηλ. του κνημιαίου νεύρου.

Για τον σκοπό αυτό, έγινε η εκτίμηση του δείκτη TFI (tibial function index). Από την ανάλυση της βάδισης σε όλες τις ομάδες που εφαρμόστηκε η διπλή τελικοπλάγια συρραφή, στο τέλος της πειραματικής μελέτης, ο δείκτης TFI δεν παρουσίασε καμιά στατιστικά σημαντική μεταβολή. Η αρχική μείωση στην τιμή του δείκτη, αφορούσε όλες τις ομάδες. (Β,Γ,και Δ) Η βελτίωση ξεκίνησε από την δεύτερη εβδομάδα και ομαλοποιήθηκε μέχρι το τέλος της πειραματικής μελέτης, αποδεικνύοντας έμμεσα την ύπαρξη φυσιολογικής νευρομυϊκής λειτουργίας.(Εικ.12)



Με βάση τα παραπάνω δεδομένα, η εφαρμογή της μεθόδου δεν προκάλεσε ζημιά στο νεύρο-αγωγό.

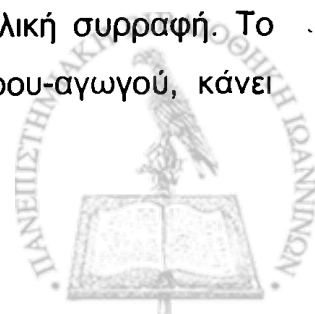
Η ποιοτική εκτίμηση της ιστολογικής εικόνας του κνημιαίου νεύρου, παρέχει πληροφορίες και για την πιθανή προέλευση των αναγεννώμενων νευρικών ινών.

Η ιστολογική εικόνα του κορμού του κνημιαίου νεύρου, ανέδειξε ότι στο εσωτερικό του νεύρου και κοντά στο σημείο της επινευρικής συρραφής, παρατηρείται ένας αριθμός μικρών μυελινοποιημένων νευραξόνων που κατευθύνονται στο σημείο συρραφής.(Εικ.38) Πρόκειται πιθανώς για μηχανισμό πλάγιας εκβλάστησης από το κνημιαίο νεύρο. Επιπλέον, χαρακτηριστική ήταν και η παρουσία εμμύελων και αμύελων νευρικών ινών έξω από το επινεύριό του.(Εικ.39) Οι ίνες ήταν οργανωμένες σε μικρές ομάδες, στοιχείο που επιβεβαιώνει την διαδικασία αναγέννησης. Η προέλευση των ινών αυτών μπορεί να είναι από το κεντρικό κολόβωμα του περονιαίου νεύρου και πιθανά οι αναγεννώμενες ίνες να χρησιμοποιούν τον κορμό του νεύρου, ως αγωγό, για να συναντήσουν τις ίνες του περιφερικού κολοβώματος και να επανανευρώσουν το όργανο-στόχο.

Στη παρούσα μελέτη, καθώς το επινεύριο αποτελεί φραγμό για το πέρασμα των νευραξόνων και προκειμένου να διευκολυνθεί η διόδος των νευραξόνων από το κεντρικό στο περιφερικό κολόβωμα του περονιαίου νεύρου, πραγματοποιήθηκαν δυο επινευρικά παράθυρα στα σημεία συρραφής με το κνημιαίο νεύρο. Πιθανά, η δημιουργία επινευρικού παραθύρου η οποία δεν είχε καμία βλαπτική επίδραση στο κνημιαίο νεύρο, να διευκόλυνε την μετανάστευση και να αύξησε την συγκέντρωση των κυττάρων του Schwann στο σημείο συρραφής. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα τα κύτταρα του Schwann να προβάλλουν την κατάλληλη επιφάνεια ως υπόστρωμα για την καθοδήγηση νέων νευραξόνων.

Τελικά, οι πιθανοί μηχανισμοί προέλευσης των νευραξόνων επιβεβαιώνονται στην παρούσα μελέτη. Η παρουσία μυελινοποιημένων νευραξόνων έξω από το επινεύριο του κνημιαίου νεύρου μπορεί να οφείλεται στο κεντρικό κολόβωμα ενώ οι μικροί εμμύελοι οργανωμένοι νευράξονες στο εσωτερικό του κνημιαίου νεύρου οφείλονται στην πυροδότηση του μηχανισμού της πλάγιας εκβλάστησης.

Συμπερασματικά, η μέθοδος της διπλής τελικοπλάγιας συρραφής έχει συγκρίσιμα λειτουργικά και ιστομορφομετρικά αποτελέσματα με την τελικοτελική συρραφή. Το γεγονός ότι δεν προκαλεί ζημιά στην λειτουργικότητα του νεύρου-αγωγού, κάνει πιθανό, το ενδεχόμενο κλινικής εφαρμογής.



Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ

Η συμμετοχή της ερυθροποιητίνης στην ομαλή ανάπτυξη του νευρικού συστήματος έχει εξακριβωθεί και είναι θεμελιώδους σημασίας. Βασισμένοι σε πειραματικές μελέτες που υποστηρίζουν τον νευροπροστατευτικό ρόλο της κυτοκίνης, στο γεγονός ότι η ερυθροποιητίνη και οι υποδοχείς της, εντοπίζονται στο περιφερικό νευρικό σύστημα και ότι η έκφρασή τους αυξάνει μετά από κάκωση περιφερικού νεύρου, θέλαμε να μελετήσουμε τον ρόλο της ουσίας μετά από μετά από διατομή περιφερικού νεύρου και αποκατάσταση με διπλή τελικοπλάγια συρραφή. Αν με την χορήγηση της ερυθροποιητίνης ήταν δυνατό να αυξηθεί η νευρική αναγέννηση και να μειωθεί ο χρόνος που απαιτείται για την επανεύρωση του οργάνου-στόχου, τότε θα ήταν πιθανή η χρήση της κυτοκίνης και σε κλινικό επίπεδο.

Στην παρούσα μελέτη, η ανάλυση βάδισης έδειξε ότι η τιμή του δείκτη PFI στις 15 ημέρες παρουσίασε στατιστικά σημαντική μεταβολή ανάμεσα στις ομάδες Α(ΕΤΕ) και Γ(ΔΕΤΣ+VAL), με την ομάδα Δ(ομάδα Ερυθροποιητίνης). Η ομάδα της ερυθροποιητίνης, παρουσιάζει καλύτερο λειτουργικό αποτέλεσμα από αυτές τις ομάδες, το οποίο διατηρεί και στον πρώτο μήνα, όπου παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά και με την ομάδα Β(ΕΤΣ).(Εικ.3,5,6,7)

Στον δεύτερο μήνα, η εικόνα αλλάζει. Η ομάδα Δ εξακολουθεί να παρουσιάζει καλό μοντέλο βάδισης, αλλά έχει στατιστικά σημαντική διαφορά μόνο με την Γ. Η ίδια εικόνα επαναλαμβάνεται τον 3^ο και τον 4^ο μήνα. Επομένως, η ερυθροποιητίνη, παρουσιάζει ένα λειτουργικό προβάδισμα τις πρώτες 15 ημέρες σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ομάδες, το οποίο και διατηρεί μέχρι το τέλος του πρώτου μήνα. Από τον 2^ο μέχρι τον 4^ο μήνα, η λειτουργική αποκατάσταση είναι παρόμοια ανάμεσα στις ομάδες Α και Β, ενώ η ομάδα του βαλπροϊκού ακολουθεί με στατιστικά σημαντική διαφορά.

Από την ανάλυση των τιμών PFI για κάθε χρονική στιγμή βάδισης για την ομάδα Δ, προκύπτει ότι η ομαλοποίηση της τιμής, ξεκινάει ήδη από τον 2^ο μήνα όπου δεν εμφανίζει διαφορές με το baseline και διατηρείται μέχρι και τον 4^ο μήνα. Αυτό συνεπάγεται ότι για όσο χρονικό διάστημα χορηγήθηκε η ερυθροποιητίνη, εξασφαλίστηκαν καλύτερα λειτουργικά αποτελέσματα που οδήγησαν την ομάδα Δ ταχύτερα (από τον 2^ο μήνα) σε προεγχειρητικά(baseline)επίπεδα.(Εικ.11) Από την



άλλη, ίσως η συνέχιση της χορήγησης του φαρμάκου για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, να βοηθούσε στην διατήρηση της αρχικής εικόνας.

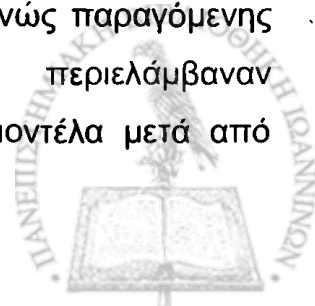
Οι ιστομορφομετρικές αναλύσεις έδειξαν ότι η διάμετρος της νευρικής ίνας και το εμβαδό της μυελίνης στην ομάδα Δ, δεν παρουσιάζουν διαφορές με τις υπόλοιπες ομάδες.(Εικ.17,19) Ο αριθμός των νευραξόνων στην ομάδα Δ εμφάνισε στατιστικά σημαντική διαφορά μόνο με την ομάδα Α.(Εικ.20)

Η ιστολογική εικόνα επιβεβαιώνει τα καλά λειτουργικά αποτελέσματα, εφόσον το μοντέλο της αναγέννησης της νευρικής ίνας αποτελείται από πολλές αναγεννώμενες νευρικές ίνες ,με ικανοποιητική διάμετρο και πυκνότητα, χωρίς σημεία βαλλεριανής εκφύλισης.(Εικ.36,37)

Το βάρος του προσθίου κνημιαίου μυός της ομάδας Δ, είχε στατιστικά σημαντική διαφορά μόνο με την ομάδα του βαλπροϊκού(Εικ.56), και η ιστολογική του εικόνα ήταν παρόμοια με των άλλων ομάδων, χωρίς να παρουσιάζει σημεία ατροφίας ή ίνωσης.(Εικ.52,53)

Συνοψίζοντας, τόσο το μοντέλο της ανάλυσης βάδισης, όσο και τα ιστομορφομετρικά αποτελέσματα, αποδεικνύουν την ευεργετική επίδραση της ερυθροποιητίνης στην νευρική αναγέννηση. Η ομάδα Δ δεν υπολείπεται λειτουργικά από την ομάδα της τελικοτελικής συρραφής και η επίδραση της ουσίας είναι ωφέλιμη στην ποιότητα και τον ρυθμό της νευρικής ανάγνωσης, για όσο διάστημα χορηγείται.

Η συνέχιση της χορήγησης του φαρμάκου για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα πιθανά να διατηρούσε το αρχικό προβάδισμα και να βελτίωνε ακόμα πιο πολύ την λειτουργική αναγέννηση. Ένας άλλος πιθανός μηχανισμός που ερμηνεύει την αναστολή της θετικής δράσης της ουσίας μετά την διακοπή της χορήγησης της είναι ο εξής: Η ερυθροποιητίνη που χορηγείται εξωγενώς, συνδέεται με τους αντίστοιχους υποδοχείς των κυττάρων του Schwann στο περιφερικό τμήμα του περονιαίου νεύρου με συνέπεια την φωσφορυλίωση των JAK-2 κινασών και την ενεργοποίηση ενός καταρράκτη αντιδράσεων, με αποτέλεσμα την αύξηση της έκφρασης νευροπροστατευτικών ουσιών, αντι-αποπτωτικών γονιδίων *bcl-XL*, *bcl-2* και την αναστολή προ-αποπτωτικών πρωτεϊνών(Bad). Για όλο το χρονικό διάστημα που χορηγείται η ουσία, πιθανά να αναστέλλεται η δράση της ενδογενώς παραγόμενης ερυθροποιητίνης. Επιπλέον, πειραματικές μελέτες που περιελάμβαναν τραυματισμούς στην σπονδυλική στήλη και υποξικά-ισχαιμικά μοντέλα μετά από



εγκεφαλικό τραύμα, απέδειξαν ότι η έκφραση της ενδογενώς παραγόμενης ερυθροποιητίνης μειώνεται σε διάστημα 8 ημερών μετά τον τραυματισμό.(358,359)

Έτσι, όταν σταματά η χορήγηση της κυτοκίνης, πιθανά η δράση της ενδογενούς ερυθροποιητίνης είναι ήδη εξασθενημένη και επομένως ανεπαρκής για την διατήρηση του προβαδίσματος που παρουσιάζει η ομάδα Δ, στην λειτουργική αποκατάσταση.

Περαιτέρω μελέτες είναι απαραίτητες για την επίδραση της ουσίας σε κακώσεις περιφερικών νεύρων. Αν εξακριβωθεί ο ακριβής μηχανισμός δράσης, η δοσολογία και η διάρκεια χορήγησης ώστε να είναι πιο αποτελεσματική η δράση της, τότε η κλινική εφαρμογή θα έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, καθώς η ύπαρξη υποδοχέων της ερυθροποιητίνης έχει διαπιστωθεί και στα περιφερικά νευρικά κύτταρα του ανθρώπου. Οι εξελίξεις στον τομέα της μοριακής βιολογίας ήδη έχουν οδηγήσει σε δημιουργία νέων μορφών του μορίου που θα διατηρεί τις νευροπροστατευτικές ιδιότητες αλλά χωρίς την αιμοποιητική δράση. Το γεγονός αυτό, θα επιτρέψει την χορήγηση της κυτοκίνης με ασφάλεια, χωρίς τον κίνδυνο αύξησης του αιματοκρίτη και της γλοιότητας του αίματος, με ό,τι αυτό συνεπάγεται.

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΒΑΛΠΡΟΪΚΟΥ

Το βαλπροϊκό οξύ χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη με σκοπό να διερευνηθεί η συμμετοχή του στην αναγέννηση των νευραξόνων. Έχει βρεθεί ότι ενεργοποιεί ένα καταρράκτη αντιδράσεων με αποτέλεσμα την έκφραση της εξωκυττάριας κινάσης (ERK) που θεωρείται απαραίτητη για την παραγωγή κυτταροπροστατευτικών πρωτεϊνών και νευροτροφινών.

Η ανάλυση βάδισης έδειξε ότι η τιμή του δείκτη PFI της ομάδας του βαλπροϊκού, τις πρώτες δεκαπέντε ημέρες είχε στατιστικά σημαντική διαφορά με τις ομάδες Β και Δ. Τον πρώτο μήνα, η τιμή του δείκτη δεν έχει στατιστικά σημαντικές διαφορές με τις υπόλοιπες ομάδες, παρά μόνο με την ομάδα της ερυθροποιητίνης. Από τον δεύτερο μήνα μέχρι και τον τέταρτο, το μοντέλο βάδισης τροποποιείται για την ομάδα Γ. Στο παραπάνω χρονικό διάστημα, η ομάδα υπολείπεται λειτουργικά και έχει στατιστικά σημαντικές διαφορές με όλες τις υπόλοιπες ομάδες. Στο τέλος της πειραματικής μελέτης, η ομάδα του βαλπροϊκού, παρουσιάζει το χειρότερο μοντέλο βάδισης και επομένως την μικρότερη λειτουργική αποκατάσταση.(Εικ.3,5,6,7)



Η μεταβολή του PFI σε κάθε χρονική στιγμή για τα πειραματόζωα της ομάδας Γ, απέδειξε ότι υπήρχε μια σταδιακή βελτίωση της λειτουργίας. Παρόλ'αυτά, μέχρι το τέλος του πειράματος, η εικόνα της ανάλυσης βάδισης έδειξε ότι η ομάδα του βαλπροϊκού, δεν επανέρχεται λειτουργικά ποτέ στα αρχικά προεγχειρητικά (baseline) επίπεδα, όπως συμβαίνει με τις υπόλοιπες ομάδες.(Εικ.10)

Η ιστολογική εικόνα επιβεβαιώνει τα παραπάνω συμπεράσματα, εφόσον σε ορισμένες περιπτώσεις ο μειωμένος αριθμός των αναγεννώμενων νευραξόνων και η παρουσία περιοχών με στοιχεία ίνωσης συνθέτουν ένα πτωχό μοντέλο αναγέννησης (Εικ.31,32,33) Οι νευρικές ίνες, ποιοτικά είναι μικρότερες σε μέγεθος, ενώ χαρακτηριστική είναι και η παρουσία εμμύελων και αμύελων νευρικών ινών που υφίστανται βαλλεριανή εκφύλιση.

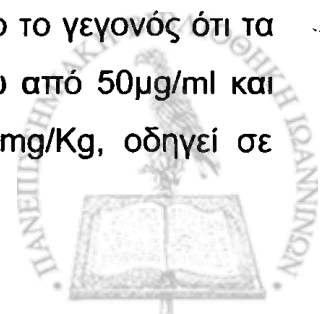
Επιπλέον, ο αριθμός των νευρικών ινών ήταν ελαττωμένος και παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τις ομάδες Α, Β, Δ.(Εικ.20) Η διάμετρος των νευραξόνων και το εμβαδό της μυελίνης δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές με τις υπόλοιπες ομάδες.(Εικ17,19) Στην παράμετρο 'πάχος μυελίνης' η ομάδα του βαλπροϊκού είχε στατιστικά σημαντική διαφορά μόνο με την ομάδα Β, της διπλής τελικοπλάγιας συρραφής.(Εικ.18)

Επίσης, το βάρος του μυός είχε στατιστικά σημαντική διαφορά όλες τις ομάδες. Καθώς το βάρος του μυός αντανakλά σε μεγάλο βαθμό την απονεύρωση του μυός, γίνεται σαφές ότι η ομάδα Γ, είχε πτωχότερο λειτουργικό αποτέλεσμα συγκρινόμενη με τις ομάδες Α, Β και Δ.(Εικ.56) Η ιστολογική εικόνα του προσθίου κνημιαίου μυός παρουσίαζε μικρή ατροφία με γωνίωση των γραμμωτών μυϊκών ινών.(Εικ.50,51)

Το βαλπροϊκό οξύ δεν φαίνεται να επάγει την αναγέννηση των νευραξόνων σε αυτό το πειραματικό μοντέλο, αν και μελέτες πιθανολογούν τον ρόλο του ως νευροπροστατευτικό παράγοντα μέσω της ενεργοποίησης ενός καταρράκτη αντιδράσεων(ERK-pathway). Τα αρχικά αποτελέσματα δεν διατηρούνται μέχρι το τέλος του πειράματος όπου τελικά αποδεικνύεται ότι η επίδραση της ουσίας δεν ήταν ευνοϊκή στην νευρική αναγέννηση.

Ο μηχανισμός που μπορεί να ερμηνεύσει τα αποτελέσματα, πιθανώς να σχετίζεται με την δόση, την οδό ή την χρονική διάρκεια χορήγησης της ουσίας.

Η δόση υπολογίστηκε με βάση τη βιβλιογραφία και με δεδομένο το γεγονός ότι τα επίπεδα του φαρμάκου στο αίμα, πρέπει να είναι αυστηρά πάνω από 50μg/ml και κάτω από 200 μg/ml. Αναφέρεται ότι χορηγούμενη δόση 300mg/Kg, οδηγεί σε



συγκέντρωση φαρμάκου στο πλάσμα στα κατώτερα αποδεκτά όρια. Το ιονισμένο (ελεύθερο) ποσό του βαλπροϊκού είναι υπεύθυνο για τις φαρμακολογικές του ιδιότητες αλλά επειδή η σχέση σύνδεσης φαρμάκου–πρωτεϊνών δεν είναι γραμμική η επιλογή της χορήγησης του φαρμάκου στα ανώτερα αποδεκτά όρια, δεν θα εξασφάλιζε απαραίτητα και ανάλογα υψηλές θεραπευτικές συγκεντρώσεις.

Σε ό,τι αφορά την οδό χορήγησης επιλέχθηκε η ενδοπεριτοναϊκή, γιατί εξασφαλίζει την ακρίβεια στην χορήγηση της δόσης. Η χορήγηση από το στόμα περιορίζεται από το φαινόμενο κατά το οποίο μια σημαντική ποσότητα του φαρμάκου πριν εισέλθει στη συστηματική κυκλοφορία περνάει πρώτα από το ήπαρ και μεταβολίζεται με αποτέλεσμα η συγκέντρωση του φαρμάκου που θα καταλήξει στην κυκλοφορία να είναι ελαττωμένη.

Μια πιθανή εξήγηση της δράσης του φαρμάκου είναι η χορήγησή του για μεγάλο χρονικό διάστημα.(16 εβδομάδες) Το βαλπροϊκό οξύ χρησιμοποιείται σε αρκετά πειραματικά μοντέλα που μελετούν τις αντιεπιληπτικές του ιδιότητες, τις αλληλεπιδράσεις του με άλλα φάρμακα καθώς και τους μηχανισμούς δράσης του, σε κλινικά θεραπευτικές δόσεις και για μεγάλες χρονικές περιόδους. Παρόλ'αυτά, η συνεχής χορήγηση του φαρμάκου έδρασε τοξικά στην περίπτωση που αυτό χρησιμοποιήθηκε ως νευροπροστατευτικός παράγοντας. Άλλωστε ο ακριβής μηχανισμός δράσης του φαρμάκου στην νευρική αναγέννηση, έχει μελετηθεί μόνο *in vitro*.

Άλλος πιθανός μηχανισμός που θα μπορούσε να ερμηνεύσει τα αποτελέσματα, είναι η ανάπτυξη μεταβολικής ανοχής του φαρμάκου, δηλαδή μείωση των επιπέδων του οξέος στο αίμα, ελάττωση της συγκέντρωσης της ιονισμένης και άρα δραστικής μορφής της ουσίας, λόγω αυξημένου μεταβολισμού, φαινόμενο που περιγράφεται σε περιπτώσεις χορήγησης του φαρμάκου για μεγάλα χρονικά διαστήματα.

Περαιτέρω έρευνες απαιτούνται για να επιβεβαιωθεί ο νευροπροστατευτικός ρόλος του φαρμάκου και να εξακριβωθεί το ασφαλές χρονικό διάστημα χορήγησής του.



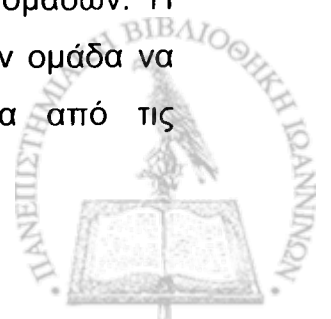
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η ιδέα της διπλής τελικοπλάγιας συρραφής στηρίχτηκε στην υπόθεση ότι οι νευράξονες του εγγύς κολοβώματος ενός τραυματισμένου νεύρου μπορούν να χρησιμοποιήσουν τον κορμό ενός υγιούς γειτονικού νεύρου ώστε να συναντήσουν το περιφερικό κολόβωμα και να γεφυρώσουν το νευρικό έλλειμμα. Ο κορμός του υγιούς νεύρου είναι ιδανικός αγωγός καθώς παρέχει μηχανική και τροφική υποστήριξη για τους αναγεννώμενους νευράξονες.

Το μοντέλο συγκρίθηκε με την τελικοτελική συρραφή που θεωρείται μέθοδος εκλογής για την αποκατάσταση τραυματισμένων περιφερικών νεύρων. Η μελέτη των ιστομορφομετρικών παραμέτρων καθώς και της ανάλυσης βάδισης απέδειξαν την αποτελεσματικότητα της μεθόδου. Επιπλέον, οι αντίστοιχες παράμετροι μελετήθηκαν και για την διερεύνηση της πιθανής βλάβης του νεύρου-αγωγού, δηλαδή του κνημιαίου νεύρου. Το συμπέρασμα είναι ότι η εφαρμογή της μεθόδου δεν προκαλεί καμία βλάβη στη λειτουργικότητα του νεύρου. Η μέθοδος θα μπορούσε να εφαρμοστεί εναλλακτικά αντί των νευρικών μοσχευμάτων ή των αγωγών. Περαιτέρω μελέτες θα απαιτηθούν τόσο για να επιβεβαιώσουν τα ελπιδοφόρα αποτελέσματα της μεθόδου όσο και να εξετάσουν την δυνατότητα εφαρμογής της σε μεγαλύτερα νευρικά ελλείμματα.

Η προσθήκη του βαλπροϊκού οξέος στο μοντέλο της διπλής τελικοπλάγιας συρραφής δεν φάνηκε να προάγει την αξονική αναγέννηση. Η ιστολογική εικόνα φανέρωσε σημεία ίνωσης κατά περιοχές ενώ ο αριθμός των νευραξόνων, το βάρος του προσθίου κνημιαίου μυός και η ανάλυση βάδισης, έδειξε ότι το συγκεκριμένο μοντέλο υπολείπεται λειτουργικά των άλλων ομάδων. Πιθανά η χορήγηση της ουσίας για μεγάλο χρονικό διάστημα (16 εβδομάδες) να μην είχε ευεργετικά αποτελέσματα λόγω της αναπτυσσόμενης μεταβολικής ανοχής του φαρμάκου ή της τοξικής επίδρασης της ουσίας στην νευρική αναγέννηση.

Αντίθετα, η χορήγηση της ερυθροποιητίνης ήταν ευεργετική τόσο για την ποιότητα όσο και για τον ρυθμό ανάπτυξης των νευραξόνων. Η ιστολογική εικόνα ήταν παρόμοια με την αντίστοιχη της τελικοτελικής συρραφής με στοιχεία καλής αναγεννητικής λειτουργίας. Η ερυθροποιητίνη για όσο χρονικό διάστημα χορηγήθηκε ήταν αποτελεσματική και υπερείχε λειτουργικά όλων των υπολοίπων ομάδων. Η χορήγησή της φαίνεται με βάση την ανάλυση βάδισης, ότι βοήθησε την ομάδα να επανέλθει σε φυσιολογικά προεγχειρητικά επίπεδα, πολύ νωρίτερα από τις



υπόλοιπες ομάδες. Μετά την διακοπή της χορήγησης της ουσίας η ομάδα Δ εξακολουθεί να έχει ικανοποιητικά λειτουργικά αποτελέσματα τα οποία διατηρεί μέχρι το τέλος της πειραματικής μελέτης. Η συνέχιση της χορήγησης της ουσίας για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα οφείλει να μελετηθεί καθώς η επίδρασή της στην αξονική αναγέννηση ήταν εντυπωσιακή. Ο αξονοπροστατευτικός ρόλος της ερυθροποιητίνης σε συνδυασμό με την παρουσία υποδοχέων της ουσίας στο περιφερικό νευρικό σύστημα του ανθρώπου κάνουν ακόμα πιο επιτακτική αυτή την ανάγκη.



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η αποκατάσταση των κακώσεων των περιφερικών νεύρων αποτελεί μέχρι σήμερα ένα πεδίο με ιδιαίτερο ενδιαφέρον καθώς η διαδικασία της νευρικής αναγέννησης και της επανανεύρωσης του οργάνου-στόχου είναι σύνθετη και επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες. Η χρήση των νευρικών μοσχευμάτων τα οποία μετά την τελικοτελική συρραφή, αποτελούν την μέθοδο εκλογής, περιορίζεται όταν το νευρικό έλλειμμα είναι μεγάλο ή όταν το κεντρικό κολόβωμα έχει καταστραφεί ή είναι αδύνατο να βρεθεί. Η χρησιμοποίηση ενός φυσικού αγωγού που θα μπορούσε να γεφυρώσει αποτελεσματικά το νευρικό έλλειμμα, οδήγησε στην ιδέα της διπλής τελικοπλάγιας συρραφής.

Σκοπός της μελέτης ήταν να διαπιστωθεί η αποτελεσματικότητα της μεθόδου και να προσδιοριστεί ο ρόλος της ερυθροποιητίνης και του βαλπροϊκού οξέος ως νευροπροστατευτικοί παράγοντες και ως ουσίες που πιθανά να επάγουν την νευρική αναγέννηση στο ίδιο πειραματικό μοντέλο. Στην παρούσα μελέτη, χρησιμοποιήθηκαν 50 αρσενικοί επίμυες (Wistar rats), βάρους 250-320gr (μέση τιμή 265 gr). Τα πειραματόζωα χωρίστηκαν σε 5 ομάδες των 10.

Ομάδα Α: Τελικοτελική συρραφή Ομάδα Β: Το κεντρικό κολόβωμα του περονιαίου νεύρου συμπλησιάστηκε τελικοπλάγια στο κνημιαίο νεύρο. Το περιφερικό κολόβωμα, σε απόσταση 0.8 cm από το κεντρικό, τοποθετήθηκε με τον ίδιο τρόπο στον κορμό του κνημιαίου νεύρου. Ομάδα Γ: Διπλή τελικοπλάγια συρραφή και ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση 300mg/Kg βαλπροϊκού οξέος, καθημερινά για 16 εβδομάδες Ομάδα Δ: Διπλή τελικοπλάγια συρραφή και υποδόρια χορήγηση 2680IU ερυθροποιητίνης για 20 ημέρες. Ομάδα Ε: Διατομή περονιαίου νεύρου Τα κολοβώματα αφήνονται χωρίς επιδιόρθωση και ενταφιάζονται στους γειτονικούς μυς.

Η ιστομορφομετρική μελέτη, η ανάλυση της βάδισης καθώς και η εκτίμηση του βάρους του προσθίου κνημιαίου μυός είναι οι παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της λειτουργικότητας των μοντέλων και έδειξαν ότι:

Η ομάδα Β είχε παρόμοιο μοντέλο λειτουργικής αποκατάστασης με την ομάδα Α. Επίπλέον αποδείχτηκε ότι η διπλή τελικοπλάγια συρραφή δεν επηρεάζει την λειτουργικότητα του νεύρου-αγωγού, δηλαδή του κνημιαίου νεύρου.

Η χορήγηση της ερυθροποιητίνης (ομάδα Δ) οδήγησε σε λειτουργικά αποτελέσματα που υπερέχον όλων των άλλων ομάδων, για χρονικό διάστημα 2 εβδομάδων. Στη συνέχεια διατήρησε καλά λειτουργικά αποτελέσματα μέχρι το πέρας της μελέτης,



συγκρίσιμα με εκείνα των ομάδων Α και Β. Η ομάδα του βαλπροϊκού υπολείπεται λειτουργικά των υπολοίπων ομάδων, σε κάθε χρονική στιγμή μέτρησης.

Συμπερασματικά, το μοντέλο της διπλής τελικοπλάγιας συρραφής είναι αποτελεσματικό με τα δεδομένα της παρούσας μελέτης ενώ η χορήγηση της ερυθροποιητίνης φαίνεται να είναι ωφέλιμη τουλάχιστον για όσο χρονικό διάστημα χορηγήθηκε. Περαιτέρω μελέτες σε μεγαλύτερα ελλείμματα είναι απαραίτητες για να πιστοποιήσουν την αποτελεσματικότητα της μεθόδου και να την εντάξουν στην κλινική πράξη.

THE ROLE OF TIBIAL NERVE AS A CONDUIT IN CASES OF PERONEAL NERVE TRANSECTION IN RATS.

ABSTRACT

The rehabilitation of the injured peripheral nerves remains a field with special interest because the procedure of nerve regeneration is complex and it is affected by many factors. When the defect is long or when the proximal stump is destroyed or it can be found, the use of nerve grafts remains the best solution. The use of a natural conduit which could bridge the nerve defect lead to the idea of double end-to-side nerve repair.

The goal of the study was to confirm the effectiveness of the method and to detect the role of erythropoietin and of valproic acid as a neuroprotective factors which probably could enhance nerve regeneration.

In the present study, 50 male Wistar rats each weighing 250 to 320 g, (average BW:265g) were used and were divided in 5 groups of 10 animal. Group A: End-to-end nerve repair. Group B: The proximal stump of the peroneal nerve was coaptated in an end-to-side fashion to the tibial nerve. The distal stump was also sutured end-to-side to the intact tibial nerve 0.8 cm distally in the same manner. (Double end-to-side nerve repair) Group C: Double end-to-side nerve repair and intraperitoneal injection of 300mg/Kg of valproic acid, daily for 16 weeks. Group D: Double end-to-side nerve repair and subcutaneous injection of 2680IU of erythropoietin for 20 days. Group E: The peroneal nerve was cut and left unrepaired. The stumps were buried into neighbouring muscles.



The histomorphometric parameters, the tibialis anterior muscle weight and the walking track analysis were used for the evaluation of the functional outcome of the experimental models. The study of the results showed that:

Group B presented similar pattern of functional outcome with group A. The double end-to-side nerve repair does not cause any damage and it doesn't influence the function of the tibial nerve.

The group of erythropoietin demonstrated better functional results for 2 weeks. The group maintained the good results which were comparable to the groups A and B, until the end of the experimental study. The group of valproic acid had the worse functional outcome.

In conclusion, the double end -to-side nerve repair is effective while the use of erythropoietin was beneficiary for the time that it was used. The use of this technique in clinical practice demands more studies in longer defects in order to confirm the reliability of the method.



BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Inoue Y, Nakamura R, Mikoshioba K, Tsukada Y. Fine structure of the central myelin sheath in the myelin deficient mutant Shiverer mouse, with special reference to the pattern of myelin formation by oligodendroglia. *Brain Res.* 1981; 24;219(1):85-94
2. Bergofen J. Connexin mutations in X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. *Science.* 1993;262:2039-2042
3. Hu Y, Doudevski I, Wood D, Moscarello M, Husted C, Genain C, Zasadzinski JA, Israeláchvili J. Synergistic interactions of lipids and myelin basic protein. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;14:101(37):13466-71.
4. Boggs JM, Wood DD, Moscarello MA. Hydrophobic and electrostatic interactions of myelin basic proteins with lipid. Participation of N-terminal and C-terminal portions. *Biochemistry.* 1981; 3:20(5):1065-73.
5. Ranvier, Louis-Antoine. *Leçons sur l'histologie du système nerveux*, par M. L. Ranvier, recueillies par M. Ed. Weber. 1878, Paris
6. Poliak S, Peles E. The local differentiation of myelinated axons at nodes of Ranvier. *Nat Rev Neurosci.* 2003 Dec;4(12):968-80.
7. Waller RO. The pathology of peripheral nerves. *Wiss Z Friedrich-Schiller Univ* 1985;34:442-453
8. Ortiz-Hidalgo C, Weller RO. Peripheral nervous system. In: Sternberg SS. *Histology of Pathologists.* Raven Press, Ltd, New York, 1992
9. Olsson Y, Kristnsson K. Permeability of blood vessels and connective tissue sheaths in the peripheral nervous system to exogenous proteins. *Acta Neuropathol(Berl)*1971;5(suppl 5):61-69
10. Thomas PK, Olsson Y. Microscopic anatomy and junction of the connective tissue components of peripheral nerve. In: Dyck PJ, Thomas PK, Lambert EH, Bunge R, eds. *Peripheral neuropathy.* 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders: 1984;97-120
11. Millesi H, Terzis JK. Nomenclature in peripheral nerve surgery. Committee report of the International Society of Reconstructive Microsurgery. *Clin Plast Surg.* 1984;11:3-8
12. Olsson Y. Studies on vascular permeability in peripheral nerves. 1. Distribution of circulating fluorescent serum albumin in normal crushed and sectioned rat sciatic nerve. *Acta Neuropathol Berlin.* 1966;7:1-15
13. Allt G, Lawrenson JG. The blood-nerve barrier: enzymes, transporters and receptors: a comparison with the blood-brain barrier. *Brain Res Bull.* 2000;52:1-12
14. Oldfors A. Permeability of the perineurium of small nerve fascicles: An ultrastructural study using feritin in rats. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 1981;7:183-194



15. Lundborg G, Nordborg C, Rydevik B, Ollson Y. The effect of ischemia on the permeability of the perineurium to protein tracers in rabbit tibial nerve. *Act Neurol Scand.* 1973;49:287-294
16. Lundborg G, Rydevik B. Effects of stretching the tibial nerve of the rabbit. A preliminary study of the intraneural circulation and the barrier function of the perineurium. *J Bone Joint Surg (Br).* 1973;55B:390-401
17. Selander D, Sjostrand J. Longitudinal spread of intraneurally injected local anesthetics. An experimental study of the initial neural distribution following intraneural injections. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1978;22:622-634
18. Low FN, Hall S. The myelinated nerve fiber. In Landon DN, ed. *The peripheral nerve.* London: Chapman and Hall; New York: Willey. 1976;159-187
19. Ferreira JM, Caldini EM, Montes GS. Distribution of elastic fibers in peripheral nerves in mammals. *Acta Anat (Berlin)* 1987;130:168-173
20. Strichartz GR, Rogart RB, Ritchie JM. Binding of radioactively labeled saxitoxin to the squid giant axon. *J Memb Biol.* 1979;48:357-364
21. Tasaki I. Electric stimulation and the excitatory process in the nerve fibre. *Am J Physiol* 1939;125:380
22. Lundborg G. The intrinsic vascularization of human peripheral nerves: Structural and functional aspects. *J Hand Surg.* 1979;4:34-41
23. Nobel W. Observations on the microcirculation of peripheral nerves. *Bibl Anat.* 1969;10:316-320
24. Bell MA, Weddell AGM. A descriptive study of the blood vessels of the sciatic nerve in the rat, man and other mammals. *Brain* 1984;107:871-898
25. Breidenbach WB, Terzis JK. The blood supply of vascularized nerve grafts. *J Reconstr Microsurg.* 1986;3:43-49
26. Smith CE, Atchabahian A, Mackinnon SE, Hunter DA. Development of the blood-nerve barrier in neonatal rats. *Microsurgery.* 2001;21:290-297
27. Gerhart DZ, Drewes LR. Glucose transporters at the blood-nerve barrier are associated with perineurial cells and endoneurial microvessels. *Brain Res.* 1990;508:46-50
28. Rechthand E, Smith QR, Rappoport SI. Structural specificity of sugar transport at the blood-nerve barrier. *J Neurochem.* 1989;53:119-123
29. Tresentsoodol N, Shin BC, Koyama H, Suzuki T, Takata K. Immunolocalization of tight junctions proteins, occludin and ZO-1, and glucose transporter GLUT-1 in the cells of blood-nerve barrier. *Arch Histol Cytol.* 1999;62:449-469
30. Nissl F. Über die Veränderungen der ganglienzellen am facialiskern des kaninshens nach ausreissung der nerven. *Allgemeine Zeitschrift für Psychiatric.* 1892;48:197-198



- 31.Su QN, Namikawa K, Toki H, Kiyama H. Differential display reveals transcriptional up-regulation of the motor molecules for both anterograde and retrograde axonal transport during nerve regeneration. *Eur J Neurosci.* 1997;(9):1542-1547
- 32.Schmitt AB, Breuer S, Liman J, Buss A, Schlangen C, Pech K, Hol EM, Brook GA, Noth J, Schwaiger FW. Identification of regeneration-associated genes after central and peripheral nerve injury in the adult rat. *BMC Neurosc.* 2003;(4):8-12
- 33.Fujitani M, Yamagishi S, Che YH, Hata K, Kubo T, Ino H, Tohyama M, Yamashita T. P311 *accelerates nerve regeneration of the axotomized facial nerve. *J Neurochem.* 2004;91:737-744
- 34.Sebille A, Bondoux-Jahan M. Motor function recovery after axotomy: enhancement by cyclophosphamide and spermine in rat. *Exp Neurol.* 1980;(70):507-515
- 35.Schreiber RC, Boeshore KL, Laube G, Veh RW, Zigmond RE. Polyamines increase in sympathetic neurons and non-neuronal cells after axotomy and enhance neurite outgrowth in nerve growth factor-primed PC12 cells. *Neuroscience.* 2004;(128):741-749
- 36.Liss AG, af Ekenstam FW, Wiberg M. Loss of neurons in the dorsal root ganglia after transection of sensory peripheral nerve. An anatomical study in monkeys. *Scand J Plast Reconstr Hand Surg.* 1996;30:1-6
- 37.Morris JH, Hudson AR, Webell G. A study of degeneration and regeneration in the divided rat sciatic nerve using electron microscopy. Changes in the axons of the proximal stump. *Z Zellforsch Mikrosk Anat.* 1972;124:131-164
- 38.Berthold CH, Lugnegard H, Rydmark M. Ultrastructural morphometric studies on regeneration of the lateral sural nerve in the white rat after transection of the sciatic nerve. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl.* 1984;20:1-126
- 39.Hoffman H. Local reinnervation in partially denervated muscle; a histophysiological study. *Austr J Exp Biol Med Sci.* 1950;28:383-397
- 40.Slack JR, Hopkins WG, Williams MN. Nerve sheaths and motoneurone collateral sprouting. *Nature.* 1979;282:506-507
- 41.Brown MC, Ironton R. Motor neurone sprouting induced by prolonged tetrodotoxin block of nerve action potentials. *Nature.* 1977;265:459-461
- 42.Longo FM, Hayman EG, Davis GE. Neurite-promoting factors and extracellular matrix components accumulating in vivo within nerve regeneration chambers. *Brain Res.* 1984;309:105-117
- 43.Manthorpe M, Engvall E, Longo F, Davis G, Varon S. Laminin promotes neuritic regeneration from cultured peripheral and central neurons. *J Cell Biol.* 1983;97:1882-1890



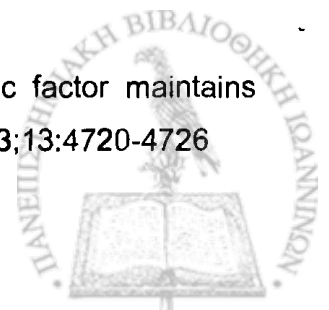
- 44.Lubinska L. Pattern of Wallerian degeneration myelinated fibers in short and long peripheral stumps and in isolated segments of rat phrenic nerve. Interpretation of the role of axoplasmic flow of the trophic factor. *Brain Res.*1982;233:227-240
- 45.Schlaepfer WW, Mico S. Calcium-dependent alterations of neurofilament proteins in rat peripheral nerve. *J Neurochem* 1979;32:211-219
- 46.Schlaepfer WW, Hasler MB. Characterization of the calcium-induced disruption of neurofilaments in rat peripheral nerve. *Brain Res.* 1979;136:1-9
- 47.Thoenen H, Bandtlow C, Heumann R, Lindholm D, Meyer M, Rohrer H. Nerve growth factor :cellular localization and regulation of synthesis. *Cell Mol Neurobiol.*1988;8:35-40
48. Lindholm D, Heumann R, Meyer M, Thoenen H. Interleukin-1 regulates synthesis of nerve growth factor in non-neuronal cells of rat sciatic nerve. *Nature* 1987;330:658-659
- 49.Funakoshi H, Frisen J, Barbany G. Differential expression of mRNAs for neurotrophins and their receptors after axotomy of the sciatic nerve. *J Cell Biol.*1993;123:455-465
- 50 Ramon Y Cajal SR. *Mechanismo de la degeneracion y regeneracion de nervos.* Trab Lab Invest Biol Madrid.1905;4:119-125
- 51.Goran Lundborg. A 25-year perspective of peripheral nerve surgery. *J Hand Surg.*2000;25:391-414
- 52.Brushart TME: Motor axons preferentially reinnervate motor pathways. *J Neurosc.* 1993;13:2730-2740
- 53.Schachner M: Neural recognition molecules and their influence on cellular functions. In: Letourneau PC, Macagno ER (eds):*The Nerve Growth Cone.* NY: Raven Press Ltd,1992
- 54.Fu SY, Gordon T. The cellular and molecular basis of peripheral nerve regeneration. *Mol Neurobiol* 1997;14:67-116
55. Cabaud HE, Rodkey WG, Nemeth TJ. Progressive ultrastructural changes after peripheral nerve transection and repair. *J Hand Surg [Am].* 1982;7(4):353-365
56. Krarup C, Archibald SJ, Madison RD. Factors that influence peripheral nerve regeneration: an electrophysiological study of the monkey median nerve. *Ann Neurol.* 2002;51:69-81
- 57.Seddon HJ. Three types of nerve injury. *Brain* 1943;66:237-288
- 58.Sunderland S. The anatomy and physiology of nerve injury. *Muscle Nerve* 1990;13:771-784
- 59.Mackinnon SE, Dellon AL. Classification of nerve injuries as the basis of the treatment In: Mackinnon SE, Dellon AL, editors. *Surgery of the peripheral nerve.* New York:Thieme.p35-63
- 60.Campbell WW. Evaluation and management of peripheral nerve injury. *Clin Neurophysiol.* 2008 May 13.



61. Ochoa J, Fowler TJ, Gilliatt RW. Anatomical changes in peripheral nerves compressed by a pneumatic tourniquet. *J Anat.* 1972 Dec;113(Pt 3):433-55.
62. Lykissas MG, Batistatou A, Charalabopoulos K, Beris A. The role of neurotrophins in axonal growth, guidance and regeneration. *Curr Neurovasc Res.* 2007;4(2):1-9
63. Chao MV, Hempstead BL. p75 and Trk: a two receptor system. *Trends Neurosc.* 1995;18:321-326
64. Gallo G, Letourneau PC. Neurotrophins and the dynamic regulation of the neuronal cytoskeleton. *J Neurobiol.* 2000;44:159-173
65. Meberg PJ, Ono S, Minamide LS, Takahashi M, Bamberg JR. Actin depolymerizing factor and cofilin phosphorylation dynamics: Response to signals that regulate neurite extension. *Cell Motil Cytoskeleton.* 1998;39:172-190
66. Levi-Montalcini R. The nerve growth factor: thirty-five years later. *EMBO Journal.* 1987;6:1145-1154
67. Deckwerth TL, Johnson EMJ. Temporal analysis of events associated with programmed death cell (apoptosis) of sympathetic neurons deprived of nerve growth factor. *J Cell Biol.* 1993;123:1207-1222.
68. Campenot RB. Development of sympathetic neurons in compartmentalized cultures. II. Local control of neurite growth by nerve growth factor. *Dev Biol.* 1982b;93:1-12
69. Chongliang HE, Zhongwei C, Zhengrong C. Enhancement of motor regeneration by growth factor. *Microsurgery.* 1992;13:151-154
70. Whithworth IH, Brown RA, Dore CJ, Anand P, Green CJ, Terenghi G. Nerve growth factor enhances nerve regeneration through fibronectin grafts. *J Hand Surg.* 1996;21B:514-522
71. Derby A, Engleman VW, Friedrich GE, Neises G, Rapp SR, Roufa DG. Nerve growth factors facilitates regeneration across nerve gaps: morphological and behavioral studies in rat sciatic nerve. *Exp Neurol.* 1993;119:176-191
72. Wong J, Oblinger MM. NGF rescues substance P expression but not neurofilament or tubulin gene expression in axotomized sensory neurons. *J Neurosci.* 1991;11:543-552
73. Santos X, Rodrigo J, Hontanilla B, Bilbao G. Evaluation of peripheral nerve regeneration by nerve growth factor locally administered with a novel system. *J Neurosci Methods.* 1998;85:119-127
74. Gold BG. Axonal regeneration of sensory nerves is delayed by continuous intrathecal infusion of nerve growth factor. *Neurosci.* 1997;76:1153-1158
75. Yan Q, Elliott J, Snider WD. Brain-derived neurotrophic factor rescues spinal motor neurons from axotomy-induced cell death. *Nature.* 1992;360:753-755



76. Achenson A, Barker PA, Alderson RF, Miller FD, Murphy RA. Detection of brain-derived neurotrophic factor in fibroblasts and Schwann cells: inhibition by antibodies to NGF. *Neuron*. 1991;7:265-275
77. Wang W, Salvaterra PM, Loera S, Chiu AY. Brain-derived neurotrophic factor spares choline acetyltransferase mRNA following axotomy of motor neurons in vivo. *J Neurosci Res*. 1997;47:134-143
78. Kishino A, Ishige Y, Tatsuno T, Nakayama C, Noguchi H. BDNF prevents and reverses adult rat motor neuron degeneration and induces axonal outgrowth. *Exp Neurol*. 1997;144:273-286
79. Friedman B, Kleinfeld D, Ip NY, Verge VMK, Moulton R, Boland P. BDNF and NT-4/5 exert neurotrophic influences on injured adult spinal motor neurons. *J Neurosci*. 1995;15:1044-1056
80. Vejsada R, Sagot Y, Kato AC. Quantitative comparison of the transient rescue effects of neurotrophic factors on axotomized motoneurons in vivo. *Eur J Neurosci*. 1995;7:108-115
81. James R, Tonra JR, Curtis R, Wong V, Cliffer KD, Park JS. Axotomy upregulates the anterograde transport and expression of brain-derived neurotrophic factor in sensory neurons. *J Neurosci*. 1998;18:4371-4383
82. Richardson PM. Ciliary neurotrophic factor: a review. *Pharmacol Ther*. 1994;63:187-198
83. Hiruma S, Shimizu T, Huruta T, Satou T, HU JG, Tanji K. Ciliary neurotrophic factor immunoreactivity in rat intramuscular nerve during reinnervation through a silicone tube after severing of the rat sciatic nerve. *Exp Mol Pathol*. 1997;64:23-30
84. Ulenkate HJ, Kaal EC, Gispens WH, Jennekens FG. Ciliary neurotrophic factor improves muscle fiber reinnervation after facial nerve crush in young rats. *Acta Neuropathol*. 1994;88:558-564
85. Newman JP, Verity AN, Hawatmeh S, Fee WE, Terris DJ. Ciliary neurotrophic factor enhances peripheral nerve regeneration. *Head Neck Surg*. 1996;122:399-403
86. Sahenk Z, Seharaseyon J, Mendell JR. CNTF potentiates peripheral nerve regeneration. *Brain Res*. 1994;655:246-250
87. Lewin SL, Utkey DS, Cheng ET, Verity AN, Terris DJ. Simultaneous treatment with BDNF and CNTF after peripheral nerve transection and repair enhances rate of functional recovery compared with BDNF treatment alone. *Laryngoscope*. 1997;107:992-999
88. Arakawa Y, Sendtner M, Thoenen H. Survival effects of ciliary neurotrophic factor on chick embryonic motoneurons in culture: comparison with other neurotrophic factor and cytokines. *J Neurosci*. 1990;10:3507-3515
89. Forger NG, Roberts SL, Wong V, Breedlove S. Ciliary neurotrophic factor maintains motoneurons and their target muscles in developing rats. *J Neurosci*. 1993;13:4720-4726



90. Forger NG, Wong A, Breedlove S. Ciliary neurotrophic factor arrests muscle and motoneuron degeneration in androgen-insensitive rats. *J Neurobiol.* 1995;28:354-362
91. Rich KM, Luszczynski JR, Osborne PA, Johnson EM. Nerve growth factor protects adult sensory neurons from cell death and atrophy caused by nerve injury. *J Neurocytol.* 1987;16:261-268
92. Wiberg M, Ljungberg C, O'Byrne A. Primary sensory neuron survival following targeted administration of nerve growth factor to an injured nerve. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* 1999 Dec;33(4):387-92.
93. Ljungberg C, Novikov L, Kellerth J, Ebendal T, Wiberg M. The neurotrophins NGF and NT-3 reduce sensory neuronal loss in adult rat after peripheral nerve lesion. *Neurosci Lett.* 1999;262:29-32
94. DaSilva CF, Lima GMCA, Trezena AG. Local administration of interleukin-1 increases sensory neuron regeneration in vivo. *J Med Biol Res.* 1990;23:981-984
95. Li L, Wu W, Lin LF, Lei M, Oppenheim RW, Houenou LJ. Rescue of adult mouse motoneurons from injury-induced death cell by glial cell line-derived neurotrophic factor. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995;92:9771-9775
96. Li L, Oppenheim RW, Lei M, Houenou LJ. Neurotrophic agents prevent motoneuron death following sciatic nerve section in the neonatal mouse. *J Neurobiol.* 1994;25:759-766
97. Novikov LN. Brain-derived neurotrophic factor in the survival and regeneration of injured spinal motoneurons. Umea University. 1999. Thesis.
98. McKay Hart A, Brannstrom T, Wiberg M, Terenghi G. Primary sensory neurons and satellite cells after peripheral axotomy in the adult rat: timecourse of cell death and elimination. *Exp Brain Res.* 2002;142:308-318
99. Ma J, Novikov LN, Wiberg M, Kellerth JO. Delayed loss of spinal motoneurons after peripheral nerve injury in adult rats: a quantitative morphological study. *Exp Brain Res.* 2001;139:216-223
100. Wilgis EF. Techniques for diagnosis of peripheral nerve loss. *Clin Orthop Relat Res.* 1982;(163):8-14.
101. Jergovic D, Stal P, Lidmann D, Lindvall B, Hildebrand C. Changes in the rat facial muscle nerve injury and repair. *Muscle Nerve* 2001;24:1202-1212
102. McQuarrie IG. The effect of conditioning lesion on the regeneration of motor axons. *Brain Res.* 1978;152:597-602
103. McQuarrie IG. Accelerated axonal sprouting after nerve transection. *Brain Res.* 1979;167:185-188
104. Jacob J, Croes S. Acceleration of axonal outgrowth in motor axons from mature and old F344 rats after a conditioning lesion. *Exp Neurol* 1998;152:231-237



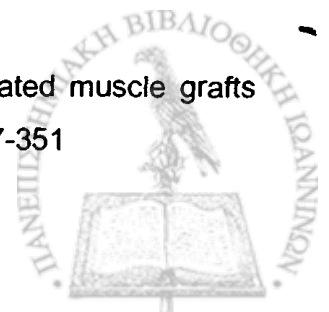
105. Dahlin LB, Thambert C. Acute nerve compression at low pressure has a conditioning lesion effect on rat sciatic nerves. *Acta Orthop Scand*. 1993;64:479-481
106. Danielsen N, Kerns JM, Holmquist B, Zhao Q, Lundborg G, Kanje M. Pre-degenerated nerve grafts enhance regeneration by shortening the initial delay period. *Brain Res*. 1994;666:250-254
107. Buchthal F, Kuhl V. Nerve conduction, tactile sensibility and the electromyogram after suture or compression of peripheral nerve. *J Neurol Neurosurg Psych*. 1979;42:436-451
108. Seddon H. *Surgical disorders of the peripheral nerve*. 2nd ed. Edinburgh: Churchill and Livingstone. 1972
109. Carlstedt T. Approaches permitting and enhancing motoneuron regeneration after spinal cord, ventral root, plexus and peripheral nerve injuries. *Curr Opin Neurol*. 2000;13:683-686
110. Terzis JK, Kostopoulos VK. The surgical treatment of brachial plexus injuries in adults *Plast Reconstr Surg*. 2007;119(4):73-92. Review
111. Shin AY, Spinner RJ, Steinmann SP, Bishop AT. Adult traumatic brachial plexus injuries. *J Am Acad Orthop Surg*. 2005 Oct;13(6):382-96. Review
112. Chuang DC. Nerve transfers in adult brachial plexus injuries: my methods. *Hand Clin*. 2005;21(1):71-82. Review.
113. Brushart T. Nerve repair and grafting. In: Green DP, Hotchkiss RN, Pederson WC, eds. *Green's Operative Hand Surgery*. 4th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone. 1999;1381-1403
114. Diao E, Vannuyen T. Techniques for primary nerve repair. *Hand Clin*. 2000;16:53-66
115. Trumble TE, McKallister WV. Repair of peripheral nerve defects in the upper extremity. *Hand Clin* 2000;16:37-52
116. Chow LA, Van Beek AL, Bilos ZJ, Meyer DL, Johnson MC. Anatomical basis for repair of ulnar and median nerves in the distal part of the forearm by group fascicular suture and nerve grafting. *J Bone Joint Surg.(Am)* 1986;68:273-280
117. Orgel MG. Epineurial vs perineurial repair of peripheral nerves. In Terzis J, ed. *Clin Plastic Surg. Symposium on peripheral nerve microsurgery*. Philadelphia: WB Saunders 1984;101-104
118. Wilgis EF. *Techniques of epineurial and group fascicular repair*. In: Gelberman R, ed. *Operative nerve repair and reconstruction*. Philadelphia: JB Lippincott Company. 1991;287-294
119. Miyamoto Y, Miyamoto H, Arita S. Nerve graft in time series and length series analysis of regenerated myelinated fibers. In Gorio A, Millesi H, Mingrino S, eds. *Post-traumatic peripheral nerve regeneration: Experimental basis and clinical implications*. New York, Raven Press. 1981;329-336



120. Miyamoto Y, Watari S, Tsuge K. Experimental studies on the effects of tension on intraneural microcirculation in sutured peripheral nerves. *Plast Reconstr Surg.* 1979;63:398-403
121. Radek AJ. Blood supply of transected rabbit peripheral nerve after end-to-end suture of autogenous grafting. A microangiographic study. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 1986;20:273-277
122. Lundborg G. Structure and function of the intraneural microvessels as related to trauma, edema formation and nerve function. *J Bone Joint Surg.* 1975;57(A):938-948
123. Millesi H, Meissl G, Berger A. The interfascicular nerve grafting of the median and ulnar nerve. 1972;54(A):727-750
124. Albert E. Einige operationen am nerven. *Wien Med Presse* 1885;26:1285
125. Millesi H. Nerve grafts. Indications, techniques and prognosis. In: Omer GEJ, Spinner M, eds. *Management of peripheral nerve problems.* Philadelphia: WB Saunders. 1980;410-430
126. Almgren KG. Revascularization of free peripheral nerve grafts. An experimental study in the rabbit. *Acta Orthop Scand Suppl.* 1974;154:1-104
127. Wilgis EFS. Nerve repair and grafting. In: Green DP, eds. *Operative Hand Surgery.* Edinburgh: Churchill and Livingstone. 1982;915-938
128. Millesi H. Techniques for nerve grafting. *Hand Clin* 2000;16:73-91
129. Sakellaris H. Bridging long nerve defects: a review of microscopic nerve grafting standards and practices. Article from www.medscape.com
130. Sunderland S. The intraneural topography of the radial, median and ulnar nerves. *Brain* 1945;68:243-251
131. Brushart TM. The central course of primate digital nerve axons. Proceedings of the 40th Annual Meeting of the American Society for Surgery of the Hand. *J Hand Surg (Am).* 1985;10(A):426
132. Kanaya F, Odgen L, Breidenbach WC. Sensory and motor fiber differentiation with Karnovski staining. *J Hand Surg.* 1991;16(A):851-859
133. Dykes RW, Terzis JK. Functional anatomy of the deep branch of the ulnar nerve. *Clin Orthop.* 1977;128:167-179
134. Matsuyama T, MacKay M, Midha R. Peripheral nerve repair and grafting techniques: A review. *Neurol Med Chir (Tokyo).* 2000;40:187-199
135. Doi K, Kuwata N, Kawakami F, Tamaru K, Kawai S. The free vascularized sural nerve graft. *Microsurgery.* 1984;5:175-184
136. Breidenbach W, Terzis JK. Vascularized nerve grafts: an experimental and clinical review. *Ann Plast Surg.* 1987;18:137-146
137. Taylor G, Ham F. Free vascularized nerve graft. *Plast Reconstr Surg.* 1976;57:413-426



- 138.Lundborg G. Alternative to autologous nerve grafts. *Handchir Microchir Plast Chir.* 2004;36:1-7
- 138.Wang KK, Costas PD, Jones DS. Sleeve insertion and collagen coating improve nerve regeneration through vein conduits. *J Reconstr Microsurg.*1993;9:39-43
- 139.Keeley R, Atagi T, Sabelman E. Peripheral nerve regeneration across 14 mm gaps: A comparison of autograft and entubulation repair methods in the rat. *J Reconstr Microsurg.*1993;9:349-356
- 140.Benito-Ruiz J, Navarro-Monzonis A, Piqueras A. Invaginated vein graft as nerve conduit. An experimental study. *Microsurgery.*1994;15:105-111
- 141.Berger A, Lassner F, Schaller E. The Dellon tube in injuries of peripheral nerves. *Handchir Mikrochir Plast Chir.*1994;26:44-48
142. Strautch B, Ferder M, Lovelle-Allen S. Determining the maximal length of a vein conduit used as an interposition graft for nerve regeneration. *J Reconstr Microsurg.*1996;12:521-526
- 143.Strautch B. The use of nerve conduits in peripheral nerve repair. *Hand Clin.* 2000;16(1):123-130
144. Chiu DTW, Strauch B. A prospective clinical evaluation of autologous vein grafts used as a nerve conduit for digital sensory nerve defects of 3 cm or less. *Plast Reconstr Surg.* 1988;82:849-853
- 145.Tang JB, Shi D, Zhou H. Vein conduits for repair of nerves with a prolonged gap or in unfavourable conditions: An analysis of three failed cases.*Microsurgery.*1995;16:133-141
- 146.Walton RL, Brown RE, Matory WE. Autogenous vein graft repair of digital nerve defects in the finger :a retrospective clinical study. *Plast Reconstr Surg.*1989;84:944-949
- 147.Chiu DTW, Lovelace RE, Yu LT. Comparative electrophysiologic evaluation of nerve grafts and autogenous vein grafts as nerve conduits. *J Reconstr Microsurg.*1988;4:303-309
- 148.Battiston B, Tos P, Giacobini-Robecchi MG, Geyna S, Guglielmore R. Nerve repair by means of vein filled with muscle grafts. II. Morphotogical analysis of regeneration. *Microsurgery.* 2000b;20:37-41
- 149.Tos P, Battiston B, Geuna S. Tissue specificity in rat peripheral nerve regeneration through combined skeletal muscle and vein conduit grafts. *Microsurgery.* 2000;20:65-71
- 150.Fornaro M, Tos P, Geuna S, Giacobini-Robecchi MG, Battiston B. Confocal imaging of Schwann cell migration along muscle-vein combined grafts used to bridge nerve defects in the rat. *Microsurgery.*2001;21:153-155
151. Battiston B, Tos P, Cushway TR, Geyna S. Nerve repair by means of vein filled with muscle grafts. I. Clinical results .*Microsurgery* 2000a;20:32-36
- 152.Glasby MA, Gachmeissner SE, Huang CL, de Souza BA. Degenerated muscle grafts used for peripheral nerve repair in primates. *J Hand Surg.(Br).*1986;11:347-351



153. DeFranzo AJ, Morykwas MJ, LaRosse JR, Jennings DA, Challa V, Argenta LG. Autologous denatured muscle as a nerve graft. *J Reconstr Microsurg.* 1994;10:145-149. Discussion 149-151.
154. Arai T, Kanje M, Lundborg G, Sondell M, Liu XL, Dahlin LB. Axonal outgrowth in muscle grafts made acellular by chemical extraction. *Restor Neurol Neurosci.* 2000;17:165-174
155. Glasby MA, Mountain RE, Murray JA. Repair of the facial nerve using freeze-thawed muscle autografts: A surgical model in the sheep. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1993;119:461-467
156. Glasby MA, Gschmeissner SE, Hitchcock RJI. A comparison of nerve regeneration through nerve and muscle grafts in rat sciatic nerve. *Neurol Orthop.* 1986;2:21-26
157. Norris RW, Glasby MA, Gattuso JM. Peripheral nerve repair in humans using muscle autografts. *J Bone Joint Surg (Br).* 1988;70:530
158. Pereira JH, Bowden REM, Gattuso JM. Comparison of results of repair of digital nerves by denatured muscle grafts and end-to-end sutures. *J Hand Surg(Br).* 1991;16:519-523
159. Hems TE, Glasby MA. Comparison of different methods of repair of long peripheral nerve defects: an experimental study. *Br J Plast Surg.* 1992;45:497-502
160. Calder JS, Norris RW. Repair of mixed peripheral nerves using muscle autografts: a preliminary communication. *J Plast Surg.* 1993;46:497-502
161. Calder JS, Green CJ. Nerve-muscle sandwich grafts: the importance of Schwann cells in peripheral nerve regeneration through muscle basal lamina conduits. *J Hand Surg (Br).* 1995;20B:423-428
162. Whitworth IH, Dore CJ, Green CJ, Terenghi G. Increased axonal regeneration over long nerve gaps using autologous nerve-muscle sandwich grafts. *Microsurgery.* 1995;16:772-778
163. Nishuira Y, Brandt J, Nilsson A, Kanje M, Dahlin LB. Addition of cultured Schwann Cells to tendon autografts and freeze-thawed muscle grafts improves peripheral nerve regeneration. *Tissue Eng.* 2004;10:157-164
164. Sondell M, Lundborg G, Kanje M. Vascular endothelial growth factor stimulates Schwann cell invasion and neovascularization of acellular nerve grafts. *Brain Res.* 1999;846:219-228
165. Rovac JM, Mungara AK, Aydin MA, Cederna PS. Effects of vascular endothelial growth factor on nerve regeneration in acellular nerve grafts. *J Reconstr Microsurg.* 2004;20:53-58
166. Yoshii S, Oka M, Ikeda N, Akagi M, Matsusue Y, Nakamura T. Bringing a peripheral nerve defect using collagen filaments. *J Hand Surg (Am).* 2001;26:52-59
167. Yoshii S, Oka M, Shima M, Taniguchi A, Akagi M. 30 mm regeneration of rat sciatic nerve along collagen filaments. *Brain Res.* 2002;949:202-208



168. Yoshii S, Oka M, Shima M, Taniguchi A, Akagi M. Bridging a 30-mm nerve defect using collagen filaments. *J Biomed Mater Res.* 2003;67A:467-474
169. Brandt J, Nilsson A, Kanje M, Lundborg G, Dahlin LB. Acutely dissociated Schwann cells used in tendon autografts for bridging nerve defects in rats. A new principle for tissue engineering in nerve reconstruction. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 2005; 39(6):321-5.
170. Doolabh VB, Mackinnon SE. Transplantation of the peripheral nerve allograft. In: Hewitt CW, Black KS, eds. *Composite tissue transplantation.* Austin, RG Landes. 1999;87-105
171. Bain JR, Mackinnon SE, Hudson R. The peripheral nerve allograft: An assessment of regeneration across nerve allografts in rats immunosuppressed with cyclosporin A. *Plast Reconst Surg* 1988;82:1052-1066
172. Bain JR, Mackinnon SE, Hudson R. The peripheral nerve allograft: An assessment of regeneration across nerve allografts in rats immunosuppressed with cyclosporin A. I. Histologic and electrophysiologic assessment. *Plast Reconst Surg* 1992;90:1036-1046
173. Evans P, Mackinnon S, Levi A. Cold preserved nerve allografts: changes in basement membrane, viability, immunogenicity, and regeneration. *Muscle Nerve.* 1998; 21:1507-1522
174. Nakao Y, MacKinnon SE, Hertl MC, Miyasaka M, Hunter DA, Mohanakumar T. Monoclonal antibodies against ICAM-1 and LFA-1 prolong nerve allograft survival. *Muscle Nerve.* 1995;18(1):93-102
175. Aguayo AJ, Kasarjian J, Skamene E. Myelination of mouse axons by Schwann cells transplanted from normal and abnormal human nerves. *Nature.* 1977;268:753-755
176. Midha R, Mackinnon SE, Becker LE. The fate of Schwann cells in peripheral nerve allografts. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1994;53:316-322
177. Takata H, Ishida O, Ochi M, Ikuta Y. Rejection and regeneration in peripheral nerve homographs in rats after withdrawal of cyclosporin: morphological and immunohistochemical assessment. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* 1999;33:373-377
178. Mackinnon SE, Hudson AR. Clinical application of peripheral nerve transplantation. *Plast Reconstr Surg.* 1992;90:695-699
179. Mackinnon SE. Nerve allotransplantation following severe tibial nerve injury. Case report. *J Neurosurg.* 1996;84:671-676
180. Fansa H, Keilhoff, Hom T, Altmann S, Wolff G, Schneider W. Stimulation of Schwann cell proliferation and axonal regeneration by FK506. *Restor Neurol Neurosci.* 2000;16:77-86
181. Kvist M, Danielsen N, Dahlin LB. Effects of FK506 on regeneration and macrophages in injured rat sciatic nerve. *J Peripher Nerv Syst.* 2003;8:251-259



- 182.Lundborg G, Dahlin LB, Danielsen N, Hansson HA, Johannesson A, Longo FM, Varon S. Nerve regeneration across an extended gap: a neurobiological view of the nerve repair and the possible involvement of neurotrophic factors. *J Hand Surg [Am]*. 1982;7(6):580-7.
- 183.Lundborg G, Hansson HA. Regeneration of peripheral nerve through a preformed tissue space: preliminary observations on the reorganization of regenerating nerve fibers and perineurium. *Brain Res*. 1979;178:573-576
- 184.Williams LR, Longo FM, Powell HC, Lundborg G, Varon S. Spatial-temporal progress of peripheral nerve regeneration within a silicone chamber: parameters for a bioassay. *J Comp Neurol*. 1983;218:460-470
- 185.Francel PC, Francel TG, Mackinnon SE, Hertl C. Enhancing nerve regeneration across a silicone tube conduit by using interposed short-segment nerve grafts. *J Neurosurg*. 1997;87:887-892
- 186.Lundborg G, Rosen B, Dahlin L, Holmberg J, Rosen I. Tubular repair of the median or ulnar nerve in the human forearm: a 5-year follow-up. *J Hand Surg.(Br)* 2004;29:100-107
- 187.Lundborg G. Tubular repair in clinical practice. In: Saffar P, Foucher G, Amadio P, eds. *Hand surgery: Current practice*. London: Martin Dunitz;1997b;161-169
- 188.Dahlin LB, Lundborg G. Use of tubes in peripheral nerve repair. *Neurosurg Clin N Am*. 2001;12:341-352
- 189.Lundborg G, Longo FM, Varon S. Nerve regeneration model and trophic factors in vivo. *Brain Res*. 1982d;232:157-161
- 190.Podhajsky RJ, Myers RR. The vascular response to nerve transection: neovascularization in the silicone nerve regeneration chamber. *Brain Res*. 1994;662:88-94
- 191.Stanec S, Stanec Z. Ulnar nerve reconstruction with an expanded polytetrafluoroethylene conduit. *Br J Plast Surg*. 1998;51:637-639
- 192.Pogrel MA, McDonald AR, Kaban LB. Gore-Tex tubing as a conduit for repair of lingual and inferior alveolar nerve continuity defects: a preliminary report. *J Oral Maxillofac Surg*. 1998;56:319-321
- 193.Mackinnon SE, Dellon AL. Clinical nerve reconstruction with a bioabsorbable polyglycolic acid tube. *Plast Reconstr Surg*. 1990;85:419-424
- 194.Weber RA, Breidenbach WC, Brown RE. A randomized prospective study of polyglycolic acid conduits for digital nerve reconstruction in humans. *Plast Reconstr Surg*. 2000;106:1036-1045
- 195.Casanas J, Serra J, Orduna M. Repair of digital sensory nerves of the hand using polyglycolic acid conduits. *J Hand Surg*. 2000;25B:44
- 196.Young RC, Wilberg M, Terenghi G. Poly-3-hydroxybuturate(PHB): a resorbable conduit for long gap repair in peripheral nerves. *Br J Plast Surg*. 2002;55:235-240



- 197.Mosahebi A, Fuller P, Wiberg M, Terenghi G. Effect of allogenic Schwann cell transplantation on peripheral nerve regeneration. *Exp Neurol*. 2002;173:213-223
- 198.Mohanna PN, Terenghi G, Winerg M. A composite PHB-GGF conduit for long nerve gap repairs. *J Anat* 2003;203:553-565
- 199.Navarro X, Rodriguez FJ, Labrador RO. Peripheral nerve regeneration through bioresorbable and durable nerve guides. *J Periph Nerv Syst*.1996;1:53-64
- 200.denDunnen WF, van der Lei, Robinson PH, Holwerda A, Pennings AJ, Schakenraad JM. Poly(lactid acid –epsilon-caprolactone) nerve guide perform better than autologous nerve grafts. *Microsurgery* 1996b;17:348-357
- 201.Meek MF, Den Dunnen F, Schakenraad JM, Robonson PH. Evaluation of functional nerve recovery with a poly(lactid acid –epsilon-caprolactone) nerve guide filled with modified denatured muscle tissue. *Microsurgery*.1996;17:555-561
- 202.Letievant E. *Traitee des sections nerveuses*. Paris: JB Bailliere et Fils;1873
- 203.Powers CA. Bridging of nerve defects. A contribution to the surgery of nerves. *Ann Surg*. 1904;40:632-643
- 204.Sherren J. Some points in the surgery of the peripheral nerves. *Edinburgh Med J*. 1906;20:297-316
- 205.Manasse PU. Vereinigung de N Facialis mit dem n. accessories durch die nervenpfopfung (Greffe nerveeuse). *Arch fur Klein Chir.(Berlin)* 1900;62:805-833
206. Huber GC. A study on the operative treatment for loss of nerve substance in peripheral nerves . *J Morphol* 1895;(Part 2):629-740
- 207.Kennedy R. On the restoration of co-ordinated movements after nerve crossing, with interchange of function of the cerebral cortical centers. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1901;194:127-164
- 208.Kennedy R. Suture of the brachial plexus in birth paralysis of the upper extremity. *Br Med J* 1903;1:298-301
- 209.Balance CA, Balance HA, Stewart P. Operative treatment of chronic facial palsy of peripheral origin. *Brit Med J*.1903;1009-1013
- 210.Harris W, Low VW. On the importance of accurate muscular analysis in lesions of the brachial plexus and the treatment of Erb's palsy and infantile paralysis of the upper extremity by cross-union of the nerve roots. *Br Med J*. 1903;2:1035-1037
- 211.Gatta R. Sulla anastomosi latero-terminale dei tronchi nervosa. *Arch Ital Chir*. 1938;48:155-171
- 212.Sunderland S. *Nerves and nerve injuries*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1968



213. Viterbo F, Trindade JC, Hoshino K, Mazzoni Neto A. End-to-side neurorrhaphy with removal of the epineurial sheath: An experimental study in rats. *Plast Reconstr Surg*. 1994;94:1038-1047
214. Viterbo F, Trindade JC, Hoshino K, Mazzoni Neto A. Two end-to-side neurorrhaphies and nerve graft with removal of the epineurial sheath. *Br J Plast Surg*. 1994;47:75-80
215. Lundborg G, Zhao Q, Kanje M, Danielsien N, Kerns JM. Can sensory and motor collateral sprouting be induced from intact peripheral nerve by end-to-side anastomosis? *J Hand Surg (Br)*. 1994;19:277-282
216. Viterbo F, Trindade JC, Hoshino K, Mazzoni Neto A. Latero-terminal neurorrhaphy without removal of the epineurial sheath Experimental study in rats. *Rev Paul Med* 1992;110:267-275
217. Lundborg G. Clinical nerve repair and reconstruction. In: Lundborg G. *Nerve injury and repair*. Churchill Livingstone eds. 2005
218. Zhang Z, Soucacos PN, Bo J, Beris AE. Evaluation of collateral spouting after end-to-side coaptation using fluorescent double-labeling technique. *Microsurgery* 1999;19:281-286
219. Li Y, Raisman G. Schwann cells induce sprouting in motor and sensory axons in the spinal cord. *J Neurosci*. 1994;14:4050-4063
220. Matsumoto M, Hirata H, Nishiyama M, Morita A, Sasaki H, Uchida, A. Schwann cells can induce collateral sprouting intact axons: experimental study of end-to-side neurorrhaphy using a Y chamber model. *J. Reconstr. Microsurg*. 1999;15: 281-286.
221. Chen YG, Brushart TM. The effect of denervated muscle and Schwann cells on axon collateral spouting. *J Hand Surg*. 1998;23A:1025-1033
222. Hu G, Murin VP, Hays A, Chieu DTW. Termino-lateral neurorrhaphy with autogenous venous nerve conduit (AVNC): Histological study. *J Reconstr Microsurg*. 1999;15:152-160
223. Al-Qattan MM, Al-Thunyan A. Variables affecting axonal regeneration following end-to-side neurorrhaphy. *Br J Plast Surg*. 1998;51:238-242
224. Yamamutsi T, Maeda M, Tamai S. Collateral sprouting mechanism after end-to-side nerve repair in the rat. *Med Electron Microsc*. 2000;33:151-156
225. Scherer S, Xu Y, Roling D, Wrabetz L, Feltri M, Kamholz. Expression of growth-associated protein-43 kD in Schwann cell is regulated by axon-Schwann cell interactions and cAMP. *J Neurosci. Res*. 1994;38:575-589
226. Barjovic F, Kovacic U, Pavcnik M, Sketelj J. Interneuronal signaling is involved in induction of collateral sprouting of nociceptive axons. *Neuroscience*. 2002;111:587-596
227. Lee SE, Shen H, Tagliatalata G., Chung JM, Chung, K. Expression of nerve growth factor in the dorsal root ganglion after peripheral nerve injury. *Brain Res*. 1998;796: 99-106.



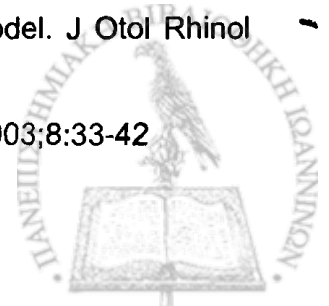
- 228.Zhou XF, Deng YS, Chie E. Satellite cell-derived nerve growth factor and neurotrophin-3 are involved in noradrenergic sprouting in the dorsal root ganglia following peripheral nerve injury in the rat. *Eur J Neurosci.* 1999;11:1711-1722
- 229.Gurney ME, Yamamoto H, Kwon Y. Induction of motor neuron sprouting in vivo by ciliary neurotrophic factor and basic fibroblast growth factor. *J Neurosci.*1992;12:3241-3247
- 230.McCallister WV, Tang P, Trumble TE. Is end-to-side neurorrhaphy effective? A study of axonal sprouting stimulated from intact nerves. *J Reconstr Microsurg.*1999;15:597-603. Discussion 604
- 231.Kanje M, Arai T, Lundborg G. Collateral sprouting from sensory and motor axons into an end-to-side attached nerve segment. *Neuroreport.*2000;11:2455-2459
- 232.Lundborg G,Zhao Q, Danielsson N, Kerms JM. Can sensory and motor collateral sprouting be induced from intact peripheral nerve by end-to-side anastomosis? *J Hand Surg (Br)* 1994;19B:277-282
- 233.Bertelli JA, Dos Santos AR, Calixto JB. Is axonal sprouting able to transverse the conjunctival layers of the peripheral nerve? A behavior, motor and sensory study of end-to-side anastomosis. *J Reconstr Microsurg.* 1996;12:559-563
- 234.Zhao J, Chen Z, Chen T. Nerve regeneration after terminolateral neurorrhaphy: experimental study in rats. *J Reconstr Microsurg.* 1997a;13:31-37
- 235.Yksel F, Karacaogly E, Guler MM. Nerve regeneration through side-to-side neurorrhaphy sites in a rat model; a new concept in peripheral nerve surgery. *Plast Reconsrt Surg.* 1999;104:2092-2099
- 236.Yan JG, Matloub HS, Sanger JR, Zhang LL, Riley DA, Jaradeh SS. A modified end-to-side model for peripheral nerve repair: large epineurial window helicoid technique versus small epineurial window standard end-to-side technique. *J Hand Surg (Am)* 2002;27:484-492
- 237.Walker JL, Brenner MJ, MacKinnon S, Winograd JM, Hunter DA. Effect of perineurial window size on nerve regeneration, blood-nerve barrier integrity and functional recovery. *J Neurotrauma.* 2004;21(2):217-227
- 238.Okajima S, Terzis JK. Ultrastructure of early axonal regeneration in an end-to-side neurorrhaphy model. *J Reconstr Microsurg.*2000;16(4):313-326
- 239.Ulkur E., Yuksel F, Acikel C, Okar I, Celikoz B. Comparison of functional results of nerve graft, vein graft, and vein filled with muscle graft in end-to-side neurorrhaphy. *Microsurgery.* 2003;23:40-48
- 240 Terzis JK, Smith KL. Repair and grafting of the peripheral nerves. In: *Plastic Surgery.* JG McCarthy , JW May, JW Littler (eds), Saunders, Philadelphia.



241. Krekoski CA, Neubauer D, Graham JB, Muir D. Metalloproteinase-dependent predegeneration in vitro enhances axonal regeneration within acellular peripheral nerve grafts. *J Neurosci.* 2002;22:10408-10415.
242. Zhang Z, Soucacos PN, Bo J, Beris AE, Malizos KN, Ioachim E, Agnantis NJ. Reinnervation after end-to-side nerve coaptation in a rat model. *Am J Orthop.* 2001;30:400-406
243. Zhang Z, Soucacos PN, Beris AE, Bo J, Ioachim E, Johnson EO. Long term evaluation of rat peripheral nerve repair with end-to-side neurorrhaphy. *J Reconstr Microsurg.* 2000;16:303-311
244. Jaber FM, Abbas BP, Nezhad ST, Tanideh N. End-to-side neurorrhaphy: an experimental study in rabbits *Microsurgery.* 2003;23(4):359-62.
245. Gallo G, Letourneau PC. Localized sources of neurotrophins initiate axon collateral sprouting. *J Neurosci.* 1998;18:5403-5414
246. Isaacson LG, Saffran BN, Crutcher KA. Nerve growth factor-induced sprouting of mature uninjured sympathetic axons. *J Comp Neurol.* 1992;326:327-336
247. Fortes WN, Liuzzi FJ, Terzis JK. End-to-side neurorrhaphy: evaluation of axonal response and upregulation of IGF-1 and IGF-2 in a non-injury model. *J Reconstr Microsurg.* 1999;15:449-457
248. Tiago DA, Papaconstantinou DA, Mullinax KA, Terzis JK. IGF and end-to-side nerve repair: a dose-response study. *J Reconstr Microsurg.* 2001;17:247-256
249. Caplan J, Tiago DK, Terzis JK. Effects of IGF-II in a new end-to-side model. *J Reconstr Microsurg.* 1999;15:351-358
250. Boyd JG, Gordon T. A dose-dependent facilitation and inhibition of peripheral nerve regeneration by brain derived neurotrophic factor. *Eur J Neurosci.* 2002;15:613-626
251. Boyd JG, Gordon T. Glial cell line-derived neurotrophic factor and brain derived neurotrophic factor sustain the axonal regeneration of chronically axotomized motoneurons in vivo. *Exp Neurol.* 2003;183:610-619
252. Gordon T, Sulaiman O, Boyd JG. Experimental strategies to promote functional recovery after peripheral nerve injuries. *J Periph Nerv Syst.* 2003;8:236-250
253. Zhao Z, Alam S, Oppenheim RW, Prevetie DM, Evenson A, Parsadonian A. Overexpression of GDNF in the CNS rescues motoneurons from programmed cell death and promotes their long-term survival following axotomy. *Exp Neurol.* 2004;190:356-372
254. McCallister WV, McCallister EL, Trumble SA, Trumble TE. Overcoming peripheral nerve gap defects using an intact nerve bridge in a rabbit model. *J Reconstr Microsurg.* 2005;21:197-206



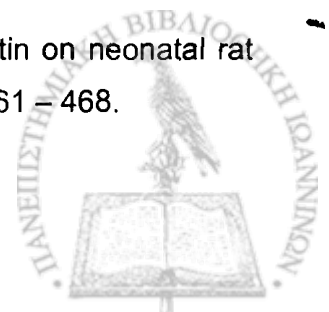
255. Goheen-Robillard B, Myckatyn TM, MacKinnon SE, Hunter DA. End-to-side neurorrhaphy and lateral axonal sprouting in a long graft rat model. *Laryngoscope*. 2002;112:899-905
256. Papalia I, Lacroix C, Brunelli F, d'Alcontres FS. Direct muscle neurotization after end-to-side neurorrhaphy. *J Reconstr Microsurg*. 2001;17:237-246
257. Tarasidis G, Watanabe O, Mackinnon SE, Strasberg SR, Haughey BH, Hunter DA. End-to-side neurorrhaphy: a long-term study of neural regeneration in a rat model. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1998;119:337-341
258. De Sa J, Mazzer N, Barbiéri C, Barreira A. The end-to-side peripheral nerve repair. Functional and morphometric study using the peroneal nerve of rats. *J Neurosci Methods*. 2004;136:45-53
259. Liu K, Chen LE, Seaber AV, Goldner RV, Urbaniak JR. Motor functional and morphological findings following end-to-side neurorrhaphy in the rat model. *J Orthop Res*. 1999;17:293-300
260. Kalliainen LK, Cederna PS, Kuzon WM. Mechanical function of muscle reinnervated by end-to-side neurorrhaphy. *Plast Reconstr Surg*. 1999;103:1919-1927
261. Lutz BS, Wei FC, Ma SF, Chuang DC. Effects of insulin-like growth factor-1 in motor nerve regeneration after nerve transection and repair vs nerve crushing injury in the rat. *Acta Neurochir*. 1999;141:1101-1106
262. Giovanoli P, Koller R, Meuli-Simmen C, Rab M, Haslik W, Mittlbock M, Meyer VE, Frey M. Functional and morphometric evaluation of end-to-side neurorrhaphy for muscle reinnervation. *Plast Reconstr Surg*. 2000;106:383-392
263. Lutz BS, Chuang DC, Hsu JC, Wei FC. End-to-side neurorrhaphy: Functional and double labeling study in rat upper limb. *J Reconstr Microsurg*. 1998;14:590-594
264. Zhang F, Cheng C, Chin BT. Results of terminolateral neurorrhaphy to original and adjacent nerves. *Microsurgery*. 1998;18:276-281
265. Yamauchi T, Hiroshi Y, Tamai S, Ohgudhi H, Tamai M, Maeda M, Kizaki K, Kobata Y, Fukui A, Takakura Y. Neurohistochemical analysis of regeneration in rat peripheral nerve after end-to-side neurorrhaphy. *J Orthop Sci*. 2001;6:82-87
266. Cao X, Tamai M, Kizaki K. Choline acetyltransferase activity in collateral sprouting of peripheral nerve after surgical intervention: experimental study in rats. *J Reconstr Microsurg*. 1999;15:443-8
267. Tarasidis G, Watanabe O, MacKinnon SE, Strasberg SR, Haughey BH, Hunter DA. End-to-side neurorrhaphy resulting in limited axonal regeneration in a rat model. *J Otol Rhinol Laryngol*. 1997;106:506-512
268. Mennen U. End-to-side nerve suture in clinical practice. *Hand Surg*. 2003;8:33-42



269. Pelissier P, Riahi R, Casoli V, Martin D, Baudet J. Les anastomoses nerveuses terminolaterales. Rapport clinique preliminaire a propos de dix cas. *Ann Clin Plast Esthet.* 2001;46:129-133
270. Voche P, Ouattara D. End-to-side neurorrhaphy for defects of palmar sensory digital nerves. *Br J Plast Surg.* 2005;58:239-244
271. Amr SM, Moharram AN. Repair of branchial plexus lesions by end-to-side, side-to-side grafting neurorrhaphy: Experience based on 11 cases. *Microsurgery.* 2005;25:126-146
272. May M, Sobol SM, Mester SJ. Hypoglossal-facial nerve interpositional-jump graft for facial reanimation without tongue atrophy. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1991;104:818-825
273. Aszmann OC, Korak KJ, Rab M, Grunbeck M, Lassmann H, Frey M. Neuroma prevention by end-to-side neurorrhaphy: An experimental study in rats. *J Hand Surg(Am).* 2003;28A:1022-1028
274. Al-Qattan MM. Prevention and treatment of painful neuromas of the superficial radial nerve by end-to-side nerve repair concept: An experimental study and preliminary clinical experience. *Microsurgery.* 2000;20:99-104
275. Yuksel F, Karacaoglu E, Guler MM. Nerve regeneration through side-to-side neurorrhaphy sites in a rat model: A new concept in peripheral nerve surgery. *Plast Reconstr Surg.* 1999;104:2092-2099
276. Yuksel F, Peker F, Celikoz B. Two applications of end-to-side neurorrhaphy in severe upper extremity nerve injuries. *Microsurgery.* 2004;24:363-367
277. Gatta R. Sulla anastomosi latero-terminale dei tronchi nervosa. *Arch Ital Chir.* 1938; 48:155-171
278. Sachs E, Malone JY. An experimental study on the methods for bridging nerve defects. *Arch Surg (Chicago).* 1922;5:314-333
279. Balance C, Colledge L, Bailey L. Further results of nerve anastomosis. An illustrated record of some experiments in which: 1. The central and peripheral ends of a divided nerve were implanted at varying distances apart into a neighbouring normal nerve. 2. Certain nerve trunks of the limbs were divided and anastomosed by suture in cross-wise fashion. *Br J Surg.* 1926;13:533-558
280. Kasabian A, Karp N, Margiotta M. Treatment of a neuroma in continuity of the peroneal nerve with nerve by-pass grafts – a case report. *Ann Plast Surg.* 1999;45:641-643
281. Shah MH, Kasabian AK, Karp NS, Kokler AR, Dublin BA, Zhang L. Axonal regeneration through an autogenous nerve bypass: an experimental study in the rat. *Ann Plast Surg.* 1997;38:408-414



282. McCallister WV, McCallister EL, Trumble SA, Trumble TE. Overcoming peripheral nerve gap defects using an intact nerve bridge in a rabbit model. *J Reconst Microsurg.* 2005;21:197-206
283. Ozbek S, Ozcan M, Noyan B, Kurt MA, Tireliolou S, Bozkurt C, Karaca K, Filiz G. End-to-side nerve coaptation: Is an additional proximal coaptation useful when available? *Ann Plast Surg.* 2005;55(3):281-288
284. Eren F, Yuksel F, Ulkur E, Ersin U, Cavdar S, Ercan F, Celikoz B. Nerve regeneration through a healthy nerve trunk: A new and hopeful conduit for bridging nerve defects. *Plast Reconstr Surg.* 2005;116(6):1697-1705
285. W. Jelkmann, Erythropoietin: structure, control of production, and function. *Physiol Rev.* 1992;72:449-489.
286. Carnot P, Deflandre C. Sur l'activite hemopoietique de serum au cours de la regeneration du sang. *C R Acad Sci (Paris)* 1906;143:384-386
287. Hjort E. Reticulocyte increase after injection of anemic serum. *Mag F Laegvidensk.* 1936;97:270-7
288. Lin FK, Suggs S, Lin CH, Browne JK, Smaling R, Egric JC. Cloning and expression of the human erythropoietin gene. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1985;92:7850-84
289. Jacobson LO, Goldwasser E, Fried W, Plzak L. Role of the kidney in erythropoiesis. *Nature* 1957;179:633
290. Bazan F. Haemopoietic receptors and helical cytokines. *Immunol Today.* 1990;11:350-354
291. Manavalan P, Snope DL, Withy RM. Sequence and structural relationships in the cytokine family. *J Protein Chem.* 1992;11:321-331
292. Went D, Boissel JP, Ruch B, Bunn F. Erythropoietin structure-function relationships. *J Biol Chem.* 1994;269:22839-22845
293. Youssoufian H, Longmore G, Neumann D, Yoshimura A, Lodish H. Structure, function and activation of erythropoietin receptors. *Blood.* 1993;81(9):2223-2236.
294. Ribatti M, Presta A, Vacca R, Ria R, Giuliani P, Dell'Era B, Nico L, Roncali F, Dammacco D. Human erythropoietin induces a pro-angiogenic phenotype in cultured endothelial cells and stimulates neovascularization in vivo. *Blood* 1999;93: 2627-2636.
295. Jull SE, Joyce AE, Zhao Y, Ledbetter DJ. Why is erythropoietin present in human milk? Studies of erythropoietin receptors on enterocytes of human and rat neonates. *Pediatr. Res.* 1999;46: 263 – 268.
296. Wald MR, Borda ES, Sterin-Borda L. Mitogenic effect of erythropoietin on neonatal rat cardiomyocytes: signal transduction pathways. *J. Cell Physiol.* 1996;167:461 – 468.



297. Morakkabati N, Gollnick F, Meyer R, Fandrey J, Jelkmann W. Erythropoietin induces Ca^{2+} -mobilization and contraction in rat mesangial and aortic smooth muscle cultures. *Exp. Hematol.* 1996;24: 392 – 397.
298. Ogilvie M, Yu X, Nicolas-Metral V, Pulido SM, Liu C, Ruegg UT, Noguchi CT. Erythropoietin stimulates proliferation and interferes with differentiation of myoblasts, *J. Biol. Chem.* 2000;275:39754-39761.
299. Genc S, Korogly T, Genc K. Erythropoietin and the nervous system. *Brain Res.* 2004;1000:19-31
300. Chin K, Yu X, Beleslin-Cokic B, Liu CK, Mohrenweiser HW, Noguchi CT. Production and erythropoietin receptor transcripts in brain. *Mol Brain Res.* 2000; 81:29 – 42.
301. Benveniste H, Drejer J, Schousboe A, Diemer NH. Elevation of extracellular concentrations of glutamate and aspartate in rat hippocampus during transient cerebral ischemia monitored by intracerebral micro dialysis. *J Neurochem.* 1984; 43:1369 – 1374
302. Morishita E, Masuda S, Nagao M, Yasuda Y, Sasaki R. Erythropoietin receptor is expressed in rat hippocampal and cerebral cortical neurons, and erythropoietin prevents in vitro glutamate-induced neuronal death. *Neurosci.* 1997;76:105-116.
303. Vairano M, Dello Russo C, Pozzoli G, Battaglia A, Scambia G, Tringali G, Aloe-Spiriti MA, Preziosi P, Navarra P. Erythropoietin exerts anti-apoptotic effects on rat microglial cells in vitro. *Eur J Neurosci.* 2002;16(4):584-92.
304. Sirén AL, Fratelli M, Brines M, Goemans C, Casagrande S, Lewczuk P, Keenan S, Gleiter C, Pasquali C, Capobianco A, Mennini T, Heumann R, Cerami A, Ehrenreich H, Ghezzi P. Erythropoietin prevents neuronal apoptosis after cerebral ischemia and metabolic stress. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001 Mar 27;98(7):4044-9.
305. Campana WM, Misasi R, O'Brien JS. Identification of a neurotrophic sequence in erythropoietin. *Int J Mol Med.* 1998;1:235-241
306. Campana WM, Myers RR. Erythropoietin and erythropoietin receptors in the peripheral nervous system: changes after nerve injury. *FASEB.* 2001;15:1804-1806
307. Campana WM, Myers RR. Exogenous erythropoietin protects against dorsal root ganglion apoptosis and pain following peripheral nerve injury. *Eur J Neurosci.* 2003;18:1497-1509
308. Sekiguchi Y, Kikuchi S, Myers RR, Campana WM. Erythropoietin inhibits spinal neuronal apoptosis and pain following nerve root crush. *Spine.* 2003;28:2577-2584
309. Iwasaki Y, Ikeda K, Ichikawa Y, Igarachi O, Iwamoto K, Kinoshita M. Protective effect of interleukin-3 and erythropoietin on motor neuron death after neonatal axotomy. *Neurol Res.* 2002;24:643-646



- 310.Hassan K, Simri W, Robinshik I, Manelis J, Gross B, Shasha SM, Kristal B. The effect of erythropoietin therapy on polyneuropathy in predialytic patients. *J Nephrol.* 2003;16:121-125
311. Hassan K, Gross B, Simri W, Rubinchic I, Cohen H, Jacobi J, Shasha SM, Kristal B. The presence of erythropoietin receptors in the human peripheral nervous system. *Clin Nephrol.* 2004;61:127-129
312. Lykissas MG, Sakellariou A, Vekris M, Kontogeorgakos VA, Batistatou AK, Mitsionis G, Beris AE. Axonal regeneration stimulated by erythropoietin: An experimental study in rats. *J Neurosci Meth.* 2007;164:107-115
- 313.Yoshimura A, Misawa H. Physiology and function of the erythropoietin receptor. *Curr Opin Hematol.* 1998;5:171-176
- 314.Toth C, Martinez JA, Liu WQ, Diggle J, Guo GF, Ramji N, Mi R, Hike A, Zochodne DW. Local erythropoietin signaling enhances regeneration in peripheral axons. *Neurosci.* 2008;23;154(2):767-83.
- 315.Chong ZZ, Kang JQ, Maiese K. Erythropoietin fosters both intrinsic and extrinsic neuronal protection through modulation of microglia, Akt-1, Bad and caspase-mediated pathways. *Br J Pharmacol.* 2003;138:1107-1118
- 316.Renzi MJ, Farell FX, Bittner A, Galindo JE, Morton M, Trinh H, Jolliffe LK. Erythropoietin induces changes in gene expression in PC12 cells. *Brain Res.* 2002;104:86-95
- 317.Assandri R, Egger M, Gassmann M, Niggli E, Bauer C, Foster J, Gorfach A. Erythropoietin modulates intracellular calcium in human neuroblastoma cell line. *J Physiol.* 1999;516:343-352
- 318.Masuda S, Nagao M, Takahata K. Functional erythropoietin receptor of the cells with neural characteristics. Comparison with receptor properties of erythroid cells. *J Biol Chem.* 1993;268:11208-11216
319. Sakanaka M, Wen TC, Matsuda S, Masuda S, Morishita E, Nagao M, Sasaki R. In vivo evidence that erythropoietin protects neurons from ischemic damage. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 14:95(8):4635-40.
- 320.Sasaki R, Masuda S, Nagao M. Erythropoietin: multiple physiological function and regulation of biosynthesis. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2000;64:1775-1793
- 321.Keswani SC, Buldanlioglu U, Fischer A, Reed N, Polley M, Liang H, Zhou Ch, Jack C, Leitz G, Hoke A. A novel endogenous erythropoietin mediated pathway prevents axonal degeneration. *Ann Neurol.* 2004;56:815-8
- 322.Campana WM, Misasi R, O'Brien JS. Identification of a neurotrophic sequence in erythropoietin. *Int J Mol Med.* 1998;1(1):235-41.



323. Mennini T, De Paola M, Bigini P, Mastrotto C, Fumagalli E, Barbera S, Mengozzi M, Viviano B, Corsini E, Marinovich M, Torup L, Van Beek J, Leist M, Brines M, Cerami A, Ghezzi P. Nonhematopoietic erythropoietin derivatives prevent motoneuron degeneration in vitro and in vivo. *Mol Med*. 2006;12(7-8):154-160
324. Bowden CL, Singh V. Valproate in bipolar disorders: 2000 onwards. *Acta Psychiatr Scand*. 2005;111:13-20
325. Johannessen CU. Mechanisms of action of valproate: a commentary. *Neurochem Int*. 2000;37:103-110
326. Johannessen CU, Johannessen SI. Valproate: Past, present and future. *CNS DRUG Rev*. 2003;9:199-216
327. Burton BS. On the propyl derivatives and decomposition products of ethylacetoacetate. *Am Chem J*. 1882;385-395
328. Meunier h, Garraz G, Neunier Y, Eymard I, Aimard M. Pharmacodynamic properties of dipropylacetic acid. 1st memory: antiepileptic properties. *Therapie*. 1963;18:435-438
329. Balbi A, Sottofattori E, Mazzei M, Sannita WG. Study of bioequivalence of magnesium and sodium valproate. *J Pharm Biomed Anal*. 1991;9:317-321
330. Bruno V, Sortino MA, Scapagnini U, Nicoletti F, Canonico P. Antidegenerative effects of Mg²⁺ valproate in cultured cerebellar neurons. *Funct Neurol*. 1995;10:121-130
331. Mora M, Gonzales-Polo RA, Fuentes JM, Soler G, Centeno F. Different mechanisms of protection against apoptosis by valproate and Li⁺. *Eur J Biochem*. 1999;266:886-891
332. Winkler I, Blotnik S, Shimshoni J, Yagen B, Devor M, Bialer M. Efficacy of antiepileptic isomers of valproic acid and valpromide in a rat model of neuropathic pain. *Br J Pharmacol*. 2005;146:198-208
333. Drew CM, Sidall PJ, Duggan AW. Mechanical allodynia following contusion injury on the rat spinal cord is associated with loss of GABAergic inhibition in the dorsal horn. *Pain*. 2004;109:379-388
334. Lou ZD, Chaplan SR, Higuera ES, Sorkin LS, Stauderman KA, Williams ME, Yaksh TL. Upregulation of dorsal root ganglion $\alpha_2\delta$ calcium channel subunit and its correlation with allodynia in spinal nerve-injured rats. *Neurosci*. 2001;21:1868-1875.
335. Lai J, Gold MS, Kim CS, Bian D, Ossipov MH, Hunter JC, Porreca F. Inhibition of neuropathic pain by decreased expression of the tetrodotoxin resistant sodium channel. *Pain*. 2002;95:143-152
336. Yuan PX, Huang LD, Jiang YM, Cutkind HK, Chen G. The mood stabilizer valproic acid activates mitogen-activated protein kinases and promotes neurite growth. *J Biol Chem*. 2001;276:31674-31683



337. Agthong S, Kaewema A, Tanomsridejchai N, Chentanez V. Activation of MARK ERK in peripheral nerve after injury. *BMC Neurosci.* 2006;7:45-53
338. Cui SS, Yang C, Bowen R, Bai O, Li XM, Jiang W, Zhang X. Valproic acid enhances axonal regeneration and recovery after sciatic nerve axotomy in adults rats. *Brain Res.* 2003;13;975(1-2):229-36
339. Regan CM. Therapeutic levels of sodium valproate inhibit mitotic indices in cells of neural origin. *Brain Res.* 1985;347:394-398
340. Cinatl J, Kotchetkov R, Blaheta R, Driever PH, Vogel JU, Cinatl J. Induction of differentiation and suppression of malignant phenotype of human neuroblastoma BE(2)-C cells by valproic acid: enhancement by combination with interferon- α . *Int J Oncol.* 2002;20:97-106
341. Kaufman JS, Reda DJ, Fye CL, Goldfarb DC, Henderson WG, Kleinman JG, Vaamonde C. Subcutaneous compared with intravenous epoetin in patients receiving hemodialysis. *N Engl J Med.* 1998;339:578-583
342. Egrie JC, Eschbach JW, McGuire T, Adamson JW. Pharmacokinetics of recombinant human erythropoietin administered to hemodialysis patients. *Kidney Int.* 1988;33:262-269
343. McElroy SL, Keck PE. In: *Textbook of Psychopharmacology.* Schatzberg AF and Nemeroff CB, eds. American Psychiatric Press Inc, Washington DC. 1995:351-375
344. Szupera Z, Mezei Z, Kis B, Gecse A, Vescei L, Telegdy G. The effects of valproate on the arachidonic acid metabolism of rat brain microvessels and of platelets. *Eur J Pharmacol.* 2000;387:205-210
345. DeVane CL. Pharmacokinetics, drug interactions and tolerability of valproate. *Psychopharmacol Bull.* 2003;37(Suppl 2):25-42
346. Bain JR, Mackinnon SE, Hunter DA. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 1989;83(41):129-138
347. De Medinaceli L, Freed WJ, Wyatt RJ. Peripheral nerve reconnection: improvement of long-term functional effects under simulated clinical conditions in the rat. *Exp Neurol.* 1982;77:634-643

