

استخدام البلازما الغنية بالصفائح لتدبير الأذيات السحقية للأعصاب المحيطية

أسماء شحادة¹، أ.د. صبحي البحري²

¹طالبة دكتوراه، كلية الطب البشري، جامعة دمشق.

²أستاذ في كلية الطب البشري، جامعة دمشق.

الملخص:

خلفية البحث وهدفه: تعد الأذيات السحقية للأعصاب المحيطية من الأذيات الشائعة، وبالرغم من قدرة النسيج العصبي المحيطي على التجدد فإن عملية الشفاء النسيجي قد تترافق باختلالات وعقاييل تمنع حدوث الشفاء الوظيفي مما قد يؤدي لإعاقات وظيفية هامة. أظهرت عدة دراسات تأثيرات إيجابية لاستخدام البلازما الغنية بالصفائح على عملية الشفاء بعد الأذيات العصبية المحيطية. يهدف هذا البحث لتحديد تأثير البلازما الغنية بالصفائح على عملية الشفاء بعد الأذيات السحقية للأعصاب المحيطية وذلك باستخدام أنماط مختلفة من البلازما الغنية بالصفائح.

مواد البحث وطرائقه: استخدم 60 جرذ قُسمت إلى 5 مجموعات المجموعة الأولى (مجموعة شاهد Normal) تُركت هذه المجموعة دون تدخل، بينما أُجريت أذية سحقية للعصب الوركي عند المجموعات الأخرى.

تُركت المجموعة 2 دون معالجة (مجموعة الأذية Damaged) وطُبق البلازما الغنية بالصفائح على موقع الأذية كالتالي: المجموعة 3 البلازما النقية الغنية بالصفائح PRP، المجموعة 4 الفيبرين غني بالصفائح PRF، المجموعة 5 البلازما الغنية بالصفائح مع الكريات البيض L-PRP.

تم تقييم النسيج العصبي على مرحلتين بعد 4 أسابيع وبعد 8 أسابيع.

النتائج: أظهرت النتائج فروقاً ذات دلالة إحصائية عند المقارنة بين مجموعة الأذية وكل من مجموعات المعالجة في المرحلة الأولى من التقييم، بينما كانت الفروق ذات دلالة إحصائية في المرحلة الثانية بالمقارنة بين المجموعات (Damaged&PRP) - (Damaged&PRP). عند المقارنة بين مجموعات المعالجة لم تظهر فروق ذات دلالة إحصائية في المرحلة الأولى من التقييم، وفي المرحلة الثانية ظهر فرق ذو دلالة إحصائية عند المقارنة بين المجموعتين (PRF&LPRP) بالنسبة لقياس أقطار المحاور

تاريخ الإيداع: 2022/2/2

تاريخ القبول: 2022/6/14



حقوق النشر: جامعة دمشق -

سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق

النشر بموجب CC BY-NC-SA

العصبية، كما ظهرت فروق ذات دلالة إحصائية بالمقارنة بين مجموعات المعالجة (PRF&LPRP) - (PRP&LPRP) وذلك بالنسبة لقياس سماكة طبقة النخاعين. الاستنتاج: تقترح نتائج هذه البحث أن البلازما الغنية بالصفائح تحسن عملية الشفاء النسيجي في المراحل الباكرة بعد الأذية السحقية للأعصاب المحيطية، كما أظهرت تأثير نوعي للأنماط (PRP-PRF) في المراحل المتأخرة من عملية الشفاء.

الكلمات المفتاحية: الأذيات السحقية للأعصاب المحيطية، البلازما الغنية بالصفائح، عودة النمو العصبي.

Using Platelet Rich Plasma for the Management of Peripheral Nerves Crush Injuries

Asmaa Shhadah¹, Pro. sobhi AL Bahri²

¹ PhD student, Faculty of Human Medicine, Damascus University.

² Professor at the Faculty of Human Medicine, Damascus University.

Abstract:

Background & Aim: Peripheral nerve crush lesions are common injuries. although the peripheral nerve tissue has the ability to regenerate, the tissue healing may associated with complications and sequelae that prevent functional recovery, which leads to significant functional impairments. Some previous studies showed positive effects of using Platelet rich plasma (PRP) on healing process after peripheral nerve injuries.

This research aims to determine the effect of Platelet rich plasma on healing process after peripheral nerve crush injuries by using different types of Platelet rich plasma.

Materials & Method: 60 rats were used and divided into 5 groups (group1:normal group). Crush injuries were performed on the right sciatic nerves in the other groups, (group 2 damaged) was lift without treatment and (PRP) types were applied to the injured nerve areas as follows: (group 3 PRP) (group 4 PRF) (group 5 LPRP).

The histological evaluation were Performed after 4 weeks and 8 weeks.

The results showed significant differences between (PRP&damaged)- (PRF&damaged) - (LPRP & damaged) in the first phase, and showed significant differences between (PRP&damaged) - (PRF&damaged) in the second phase. When comparing between treatment groups the results showed no significant differences in the first phase, while in the second phase there were significant differences between (PRF&LPRP) for axons daimeters, and between (PRF&LPRP)-(PRP-LPRP) for myelin sheath thickness.

Conclusion: The results of this research suggest that this different types of PRP improves the tissue healing process in the early stages after peripheral nerve crush injuries, and the results also showed a specific effects of (PRP-PRF) types in the later stages of healing process.

Key words: Peripheral Nerve Crush Injuries, Platelet Rich Plasma, Nerve Regeneration

Received: 2/2/2022

Accepted: 14/6/2022



Copyright: Damascus University- Syria, The authors retain the copyright under a CC BY- NC-SA

المقدمة:**الأذيات العصبية المحيطية:**

تعتبر أذيات الأعصاب المحيطية من الأذيات الشائعة نسبياً حيث تشكل ما يقارب (5%) من الحالات المراجعة لمراكز إسعاف الرضوض، وتؤدي لحدوث مجموعة واسعة من الأعراض والعلامات العصبية التي تسبب اضطراب هام في الوظيفة العصبية، لذلك تعتبر من الأذيات الهامة التي تؤثر على نوعية الحياة عند المصاب على المدى الطويل (Wojtkiewicz et al 2015). تتنوع أسباب الأذية العصبية المحيطية بشكل كبير، حيث تشمل أنماطاً متعددة من الأذيات الرضية بالإضافة للمداخلات الطبية (Antoniadis et al 2014). يملك الجهاز العصبي المحيطي القدرة على التجدد بعد حدوث الأذية، ولكن من النادر حدوث الشفاء الوظيفي الفعال، حيث تؤدي التغيرات المزمنة للمحاور العصبية وخلايا شوان إلى منع التطور الطبيعي لعملية التجدد، كما تسبب أذية الأغمد الليفية اضطراباً في توزيع الحزم داخل العصب (Faroni et al 2015).

تحدث الإصابة العصبية في الأذيات السحقية بسبب الضغط الخارجي المباشر المطبق على العصب، ويسبب التشوه الميكانيكي الناتج عن اضطراب توازن الأنسجة بين مناطق الضغط و المناطق الأخرى، كما تحدث ظاهرة الإقفار الناتجة عن قوى الضغط التي تفوق ضغط الإرواء الشعيري.

يمكن تقسيم الآليات المؤدية للأذيات السحقية إلى ثلاثة مجموعات رئيسية:

(a) الآليات الميكانيكية أو الرضية

تحدث الأذية الميكانيكية بسبب رض حاد عنيف بأداة كليلية لاتسبب انقطاع في العصب، أو بسبب بعض المداخلات الطبية. يؤدي انضغاط العصب إلى زوال النخاعين الموضعي مع حدوث إقفار وعائي كما يسبب أذية سحقية مع تأذي

للمحاور العصبية إذا استمر لفترة مطولة. تسبب آليات التمثيط أذيات عصبية متفاوتة الدرجة وتترافق عادة مع الكسور أو الخلع المفصلي، كما يمكن أن تؤدي المواد النافذة إلى أذيات قسطية جزئية مترافقة مع أذيات سحقية (Ozturk, C et al 2015).

(b) الآليات الإقفارية

تسبب التغيرات الوعائية ظاهرة إقفارية بسبب أذية الشريينات والنزف ضمن اللقافات العصبية كما تسبب الرضوض العنيفة تغيرات في نفوذية الأوعية الدموية مما يؤدي إلى الوذمة والنزف داخل اللقافات، والذي يحدث ضغط إضافي على المحاور العصبية (Lim T et al 2015).

(c) الآليات السمية العصبية

تحدث الأذية العصبية السمية بسبب استخدام المواد المخدرة من أجل إحداث حصار في الأعصاب المحيطية، وتعتمد الأعراض الناتجة عن الحقن على عدة عوامل منها موقع الحقن (حول العصب، داخل العصب، داخل اللقافة). يمكن أن يسبب الحقن رد فعل التهابي موضعي يؤدي إلى تليف في الأنسجة المحيطة بالعصب مما يسبب انضغاط العصب ذاته، كما أن حقن كمية كبيرة نسبياً من المادة المخدرة قد يؤدي لأذية سحقية للعصب (Farber S et al 2013).

صنف (Sunderland) الأذيات العصبية المحيطية إلى خمس درجات:

- 1- الدرجة الأولى: تتوافق مع سوء وظيفة المحاور
- 2- الدرجة الثانية: تتصف بوجود أذية للمحاور الأسطوانية دون وجود أذية للنسيج الضام
- 3- الدرجة الثالثة: تتصف بوجود أذية للمحاور الأسطوانية مترافقة مع تأذي في غمد الليف العصبي
- 4- الدرجة الرابعة: تتصف بوجود أذية للمحاور الأسطوانية مترافقة مع تأذي في أغمد الحزم العصبية

الألياف العصبية تؤخر وصول المحاور المتجددة إلى الأنابيب في الطرف القاصي، مما قد يؤدي لتوضع ألياف الكولاجين على السطح الخارجي للطبقة القاعدية، لتنمحي أنابيب خلايا شوان ويحل محلها النسيج الليفي (Sulaiman OA et al 2009). تكون الاستجابة للأذية شديدة جداً في أذيات الدرجة الرابعة، حيث يحدث تدمير للأنابيب والحزم داخل العصبية، وتفقد المحاور وخلايا شوان التوضع المنتظم. تصل المحاور المتجددة نحو هذه المنطقة لتواجه حواجز عديدة تمنع نموها، مما يجعلها تشكل تبرعات ضمن هذه النسيج الندبي، أو تعود للخلف نحو الجزء الداني قبل الأذية، أو تتجه للخارج نحو الأنسجة المحيطة، ونادراً ما تصل بعض المحاور إلى الجزء القاصي بعد موقع الأذية. يحدث الموت الخلوي للخلايا العصبية في أذيات الدرجة الثالثة والرابعة بنسبة تصل حتى (50%) ويرتبط حدوث الموت الخلوي بشكل وثيق بظروف البيئة المجهرية في موقع الأذية، كما أن كلاً من خلايا شوان والعوامل التغذوية العصبية تؤدي دوراً داعماً لبقاء الخلايا العصبية (Klimaschewski L et al 2013).

مرحلة عودة النمو: تعد آلية عودة النمو المحوري هي الآلية الأساسية في الأذيات السحقية، حيث يبدأ عدد كبير من المحاور العصبية بالنمو باتجاه النهاية القاصية، وذلك بدءاً من آخر عقدة رانفقيه قبل النهاية الدانية (Alvites R et al 2018). على الرغم من نمو العديد من المحاور العصبية، فإن عدداً قليلاً منها يصل إلى المستقبل المستهدف بينما قد يحتجز معظمها في النسيج الليفي المحيط بموقع الأذية. مع عودة نمو المحاور تتم إعادة الإتصالات مع خلايا شوان، مما يضمن عودة تشكل النخاعين حول المحاور، وتكون طبقة النخاعين أقل سماكة من الحالة الطبيعية (Burnett MG et al 2004).

مرحلة الشفاء الوظيفي: إذا نجحت المحاور النامية بتجاوز موقع الأذية والنهاية العصبية القاصية فإنها تتبع خلايا شوان الأصلية نحو اللوحات المحركة مزالة التعصيب وذلك من أجل

5- الدرجة الخامسة: تتصف بوجود أذية في المحاور الاسطوانية وكامل النسيج الضام (William W et al 2008).

الآلية الإمراضية

تسبب الآلية السحقية درجات متعددة من الأذية العصبية، فقد تكون الأذية من الدرجة الثانية أو الثالثة أو الرابعة حسب تصنيف (Sunderland)، حيث قد تتأذى المحاور العصبية وأغمد الألياف العصبية وأغمد الحزم العصبية (Ron M G et al 2013). بعد حدوث الأذيات العصبية السحقية يمر النسيج العصبي بثلاث مراحل للوصول إلى الشفاء الوظيفي الفعال، وتضم هذه المراحل:

مرحلة التتسكس: تضم هذه المرحلة سلسلة من العمليات التتسكية التي تهدف إلى إزالة النسيج المتأذي وبداية عملية التجدد، ترتبط التغيرات التتسكية بدرجة الأذية بشكل وثيق، ففي الأذيات العصبية من الدرجة الأولى تعيب هذه التغيرات أو تكون طفيفة. وفي أذيات الدرجة الثانية تحدث بعض التغيرات النسيجية في موقع الأذية بالإضافة لتبدلات تتكسية للمحاور العصبية وغمد النخاعين في الجهة القاصية (Wang JT et al 2012). تلعب خلايا شوان دوراً مفتاحياً في عملية التتسكس حيث تقوم بإزالة الحطام والبقايا الخلوية وتميرها إلى البالعات القادمة من الدوران، وتعمل بالمشاركة مع البالعات على بلعمة البقايا الخلوية وتنظيف موقع الأذية. تنتهي عملية التتسكس خلال فترة وسطية تبلغ ثمانية أسابيع، وتبقى خلايا شوان داخل الطبقة القاعدية مشكلة أنابيب تدعى حزم (Büngner)، والتي تعد مرشداً هاماً للمحاور المتجددة خلال مرحلة عودة التعصيب لاحقاً (Fu SY et al 1997). في أذيات الدرجة الثالثة يحدث التتسكس في الجزء القاصي بشكل مشابه لما يحدث في أذيات الدرجة الثانية، كما يحدث تراجع لنهايات الألياف العصبية في الطرف الداني، وتؤدي الأذية الوعائية الموضعية إلى حدوث النزف والوذمة بالإضافة لتكاثر الأرومات الليفية الذي قد يسبب تطور نسيج ندبي داخل الحزم العصبية، كما أن أذية أغمد

إصلاح الوصل العصبي العضلي في الأعصاب الحركية، ولكن قد تنمو التبرعمات الجانبية لتقوم بتعصيب الألياف العضلية بشكل جماعي مما يعطي نموذجاً مختلفاً من التعصيب (Gordon et al 2011). في الأعصاب الحسية تحدث عودة التعصيب المثالية للمستقبلات الحسية من قبل المحاور العصبية الخاصة بها في أذيات الدرجة الأولى والثانية، بينما لا تعود الوظيفية الحسية بشكل تام بعد الأذيات الأكثر شدة حتى مع الإصلاح الجراحي للعصب (Battison et al 2009).

العوامل المؤثرة على الشفاء الوظيفي

نادراً ما يحصل الشفاء الوظيفي التام بشكل تلقائي في الأذيات العصبية (ماعدا أذيات الدرجة الأولى) حيث يتأثر الشفاء بالعديد من العوامل نذكر منها:

- تشكل النسيج الندبي ضمن وحول النسيج العصبي: حيث تشكل رواسب الكولاجين مكونات تتداخل مع عودة النمو الطبيعي للمحاور، ويمنع النسيج الندبي في منطقة الأذية من وصول المحاور المتجددة إلى النهاية القاصية

- تشكل التفرعات الجانبية: خلال نمو المحاور قد تشكل تفرعات جانبية تنمو باتجاهات خاطئة، ويمكن أن تؤدي لإعادة تعصيب عضلات غير مناسبة، كما قد تحدث إعادة تعصيب خاطئة للأعضاء المستهدفة فعلى سبيل المثال قد تتجه المحاور الحركية نحو الأعضاء المستهدفة الحسية والعكس صحيح.

- حالة الأعضاء المستهدفة من العوامل المؤثرة على الشفاء الوظيفي، حيث أن حدوث تغيرات تنكسية في العضو المستهدف نتيجة لفقد التعصيب المزمن يمنع تأسيس اتصالات وظيفية مع المحاور النامية (Hsieh J et al 2013)

الصورة السريرية

يمكن تسبب الأذيات المختلفة إصابة في أحد العناصر التالية أو جميعها:

- المحاور العصبية

- خلايا شوان
- غمد النخاعين

يؤدي ذلك إلى اضطراب في الوظيفة العصبية يتجلى بعدم قدرة العصب على نقل الاشارات العصبية بشكل طبيعي وتكون هذه الأعراض مؤقتة أو دائمة حسب درجة الأذية العصبية، ويضم الفحص السريري

1- فحص القوة العضلية من خلال استخدام اختبار القوة العضلية اليدوي

2- الفحص الحسي 3- فحص المنعكسات الوترية

تختلف الأعراض العصبية باختلاف درجة الأذية حيث تتدرج من الضعف العضلي الجزئي والاضطراب الحسي إلى الشلل العضلي التام مع فقدان الحس بشكل كامل، وذلك في المناطق والأعضاء المعصبة بالأعصاب المتأذية (Trumble TE et al 2000).

الدراسات التشخيصية

- تخطيط الأعصاب والعضلات الكهربائي

تستخدم الدراسات الكهربائية التشخيصية من أجل دعم الشك السريري بوجود أذية عصبية أو من أجل تقييم الوظيفة العصبية في حال كان الفحص العصبي المجدي غير ممكناً، كما تكون مفيدة لتقييم تطور الأذية. ويختلف توقيت إجراء الدراسة الكهربائية بالاعتماد على الحالة السريرية (Grant GA et al 1999).

• الدراسات الشعاعية

الفحص بالأموح فوق الصوتية: يعد فحصاً هاماً في تقييم الأذيات العصبية الحادة، حيث يقدم معلومات عن استمرارية العصب.

التصوير بالرنين المغناطيسي MRI: يمكن استخدام هذا الفحص لتقييم الأعصاب المحيطية التي لا يمكن الوصول إليها بسهولة باستخدام الفحص بالأموح فوق الصوتية، حيث يقدم

معلومات عن استمرارية العصب وحالة النسيج الرخوة المحيطة به والعضلات التي يعصبها (Zaidman CM et al 2013).

التدبير والمعالجة

المعالجة الجراحية: يعتمد اختيار التدبير الجراحي على عوامل متعددة كدرجة الأذية العصبية والجدوى الوظيفية للعصب، لذلك يتم تقييم الحالة مع اعتبار كل النواحي، ومقارنة الفوائد الوظيفية الناتجة مع مخاطر وعقاييل التداخل الجراحي. عادة ما تُستطب الجراحة في أذيات الدرجة الثالثة والرابعة والخامسة حسب تصنيف Sunderland، كما تكون الجراحة مستطبة عند حدوث تراجع في نتائج الدراسات الكهربائية التي تُجرى لمتابعة التطور، مما يستلزم الفتح الجراحي الاستقصائي.

المعالجة المحافظة: تهدف هذه المعالجة بشكل أساسي إلى إعادة الوظيفة للعصب المتأذي، أو على أقل تقدير تحسين نوعية الحياة للمريض، وتكون المعالجة المحافظة مفضلة على العلاج الجراحي مادام ذلك ممكناً، وتتضمن المعالجة المحافظة:

العلاج الدوائي

- مسكنات الألم: تُستخدم من أجل التحكم بالألم الناتج عن الأذية العصبية
- مجموعة الفيتامينات B: تملك القدرة على تخفيف العمليات التنكسية في العصب المحيطي، التمارين الفيزيائية تساهم التمارين الفيزيائية بشكل مفيد في عودة النمو العصبية، كما تحمي الجهاز الحركي (العضلات والمفاصل) من تأثيرات فقد التعصيب المزمن
- التنبيه الكهربائي يؤدي تطبيق التنبيه الكهربائي لتحسين الإنذار بعد الأذيات العصبية، حيث أنه يحفز عودة النمو العصبي من خلال زيادة تصنيع عوامل التغذية العصبية (Zhang et al 2013).

البلازما الغنية بالصفائح

تلعب الصفائح دوراً هاماً في مراحل الشفاء النسيجي بعد الأذية، وذلك من خلال إفرازها للسيتوكينات وعوامل النمو المتعددة. تعد هذه العوامل مسؤولة عن الانجذاب الكيميائي والتكاثر الخلوي بالإضافة لتمايز الخلايا وتكاثر الأوعية الدموية، كما تعمل على تنظيم المراحل النسيجية للإصلاح الوظيفي (Andia I et al 2013). يطلق مصطلح البلازما الغنية بالصفائح على البلازما التي تحوي تركيز من الصفائح يبلغ عدة أضعاف التركيز الطبيعي، ويتم استخراجها بعدة طرق تعتمد على تقبل دم المريض وسحب الجزء الذي يحتوي على الصفائح بتركيز عالٍ وإعادة تطبيقها على المريض. يعتمد الاستخدام العلاجي للبلازما الغنية بالصفائح على قدرتها على تنبيه الانتاج بسبب زيادة تركيز عوامل النمو والبروتينات المفردة من قبل الصفائح، وذلك من أجل تحفيز شفاء الأنسجة أو التأثير على البيئة الحويوية في الحالات المزمنة التنكسية (Alves R et al 2018). أظهرت بعض الأبحاث الحديثة أن البلازما الغنية بالصفائح تملك القدرة على تنبيه التكاثر الخلوي وتصنيع عوامل التغذية العصبية، كما تزيد بشكل نوعي من هجرة خلايا شوان لذلك من الممكن أن تقدم فوائد إضافية أثناء عملية الشفاء النسيجي بعد أذيات الأعصاب المحيطية (Zheng C et al 2013). تم إيجاد تقنيات عديدة لاستخراج البلازما الغنية بالصفائح حيث يتم تغيير عدة عوامل كمدة وسرعة التثقيب، مما يؤدي للحصول على بلازما تحوي تراكيز مختلفة من العناصر الدموية الأخرى، مما يجعل هذه الأنماط المختلفة من البلازما تملك خصائص حيوية مختلفة وبالتالي من الممكن أن تستخدم في مجالات مختلفة. نتيجة لذلك ظهرت عدة تصنيفات للبلازما الغنية بالصفائح، ويعد تصنيف (Dohan Ehrenfest) أحد أهم هذه التصنيفات (Mautner et al 2015)، حيث يتم تصنيف البلازما الغنية بالصفائح إلى أربعة أنماط:

- تخدير الحيوان بالحقن ضمن البيروتان (ketamine 50 mg/kg -mg/kg xylazine 8)
- شق الجلد واللفافة العضلية للناحية الخلفية للفخذ وكشف العصب الوركي الأيسر بين العضلات الاليوية والعضلات الخلفية للفخذ
- الضغط على العصب باستخدام (clamp) لمدة 60 ثانية
- بالنسبة للمجموعة الثانية تم إغلاق الجرح بخياطة العضلات والجلد

- باقي المجموعات فتم مسبقاً سحب الدم من الوريد الذيلي واستخلاص البلازما الغنية بالصفائح ثم إضافتها إلى مكان الأذية ثم إغلاق الجرح بخياطة العضلات والجلد.

- في المجموعة الثالثة تم تحضير البلازما الغنية بالصفائح النقية platelet rich plasma (PRP) بالخطوات التالية :

- 1- سحب (2.7) مل دم من الوريد الذيلي إلى أنبوب يحوي سيترات الصوديوم (0.3ml)
- 2- تثقيل الانبوب (100xg) لمدة 10 دقائق
- 3- نقل البلازما إلى أنبوب آخر (لا يحوي مضاد تخثر) مع تجنب طبقة الكريات البيضاء

- 4- تثقيل الانبوب (400xg) لمدة 10 دقائق
- 5- التخلص من البلازما الطافية و إبقاء الثلث السفلي
- 6- تفعيل الصفائح باستخدام محلول (كلوريد الكالسيوم 10 %)

- في المجموعة الرابعة تم تحضير الفيبرين الغني بالصفائح platelet rich fibrin (PRF) كالتالي :

- 1- سحب 3 مل من الوريد الذيلي إلى أنبوب لا يحوي أي مضاد تخثر
- 2- تثقيل الانبوب (400xg) لمدة 10 دقائق
- 3- سحب الطبقة المتوسطة التي تحوي خثرة الفيبرين مع الصفائح

- 1- البلازما الغنية بالصفائح النقية Pure- PRP
- 2- البلازما الغنية بالصفائح مع الكريات البيض Leukocyte- PRP
- 3- البلازما الغنية بالصفائح مع الفيبرين و الكريات البيض L-PRF (leukocyte and platelet-rich fibrin)
- 4- البلازما الغنية بالصفائح مع الفيبرين Pure - Platelet PRF(rich fibrin)

هدف البحث:

تعتبر الأذيات العصبية المحيطية من الأذيات الهامة المؤثرة على نوعية الحياة عند المريض، وقد يتأثر الشفاء الوظيفي بالعديد من العوامل مما يجعل عودة الوظيفة العصبية غير ممكناً في بعض الأحيان ، ولذلك لازلت الحاجة ملحة لإيجاد تقنيات جديدة لتحفيز عملية الشفاء النسيجي بعد الأذية. يهدف البحث إلى دراسة تأثير البلازما الغنية بالصفائح بعد الأذيات السحقية في الأعصاب المحيطية، وذلك باستخدام أنماط متعددة من البلازما الغنية بالصفائح.

مواد البحث وطرائق:

يعتمد البحث على إجراء دراسة تجريبية معشاة (Randomized Controlled Trail)

- تم إجراء البحث في مخبر الفيزيولوجيا في كلية الطب البشري بجامعة دمشق

- تم استخدام 60 جرذ من الجرذان البيضاء من نوع (Wistar albino) وجرى تقسيم الحيوانات بشكل عشوائي إلى خمس مجموعات متساوية تحوي كل مجموعة 12 جرذ

- تم ترك المجموعة الأولى كمجموعة شاهد (Normal) دون أي إجراء واستخدمت عند دراسة النتائج من أجل المقارنة - أجريت أذية سحقية (crush injury) للعصب الوركي الأيمن عند المجموعات (2-3-4-5) باتباع الخطوات التالية:

- إجراء تقييم كمي (Quantitative estimation) للمقاطع النسيجية وتحليل البيانات باستخدام برنامج (Image J).
 - تم أخذ القياسات التالية:
 - قياس أقطار المحاور العصبية (diameters of axons) d من عدة مقاطع نسيجية لكل حالة ثم حساب المتوسط لكل حالة ثم المتوسط لكل مجموعة.
 - حساب سماكة طبقة النخاعين وذلك بقياس أقطار الألياف العصبية (diameters of fibers) D ثم حساب سماكة النخاعين كالتالي (D-d /2) في كل حالة ثم حساب المتوسط لكل حالة ثم المتوسط لكل مجموعة.
- في المجموعة الخامسة تحضير البلازما الغنية بالصفائح مع الكريات البيض leukocyte- platelet rich plasma (L-PRP) كالتالي:
- 1- سحب (2,7) مل دم من الوريد الذيلي إلى أنبوب يحوي سيترات الصوديوم (0,3ml)
 - 2- تثقيب الأنبوب (100xg) لمدة 6 دقائق
 - 3- نقل البلازما إلى أنبوب آخر (لايحوي مضاد تخثر) مع طبقة الكريات البيضاء
 - 4- تثقيب الأنبوب (400xg) لمدة 10 دقائق
 - 5- التخلص من البلازما الطافية وإبقاء الثلث السفلي
 - 6- تفعيل الصفائح باستخدام محلول (كلوريد الكالسيوم 10%)

النتائج:

قياس أقطار المحاور العصبية: بالمقارنة بين مجموعات المعالجة في المرحلة الأولى من التقييم كان المتوسط الأعلى لمجموعة (PRP)، يليه متوسط مجموعة (PRF)، ثم مجموعة (L-PRP)، بينما اختلف الترتيب في المرحلة الثانية حيث كان المتوسط الأعلى لمجموعة (PRF)، يليه متوسط مجموعة (PRP)، ثم مجموعة (L-PRP).

قياس سماكة طبقة النخاعين: بالمقارنة بين مجموعات المعالجة في المرحلة الأولى من التقييم كان المتوسط الأعلى لمجموعة (PRF)، يليه متوسط مجموعة (PRP)، ثم مجموعة (L-PRP)، بينما في المرحلة الثانية كان المتوسط الأعلى لمجموعة (PRP)، يليه متوسط مجموعة (PRF)، ثم مجموعة (L-PRP).

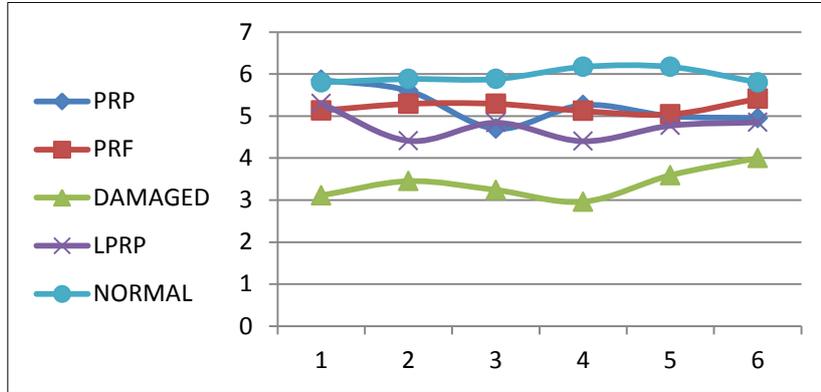
تم إعطاء المسكنات (tramadol 1 mg/kg) والصادات الحيوية (cefazolin sodium 500 mg/kg)، للحيوانات التي خضعت للجراحة منذ يوم إجراء الجراحة ولمدة 5 أيام بالتجريب الفموي.

التقييم:

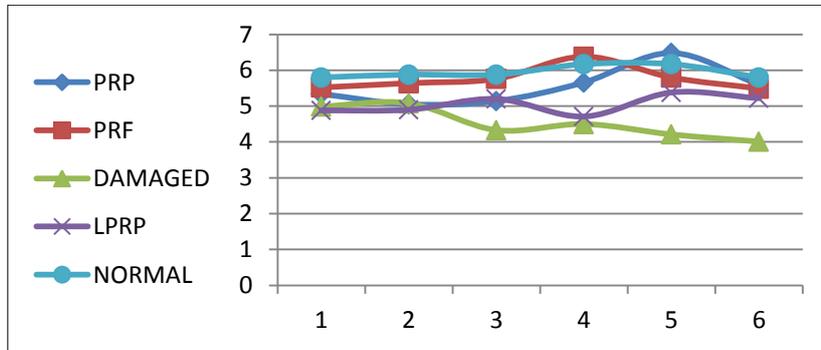
تم إجراء تقييم النتائج على مرحلتين: ففي المرحلة الأولى بعد أربعة أسابيع تم اختيار 6 حيوانات من كل مجموعة بشكل عشوائي و دراستها، وفي المرحلة الثانية بعد ثمانية أسابيع تم تقييم باقي الجرذان بنفس الطريقة.

خطوات التقييم:

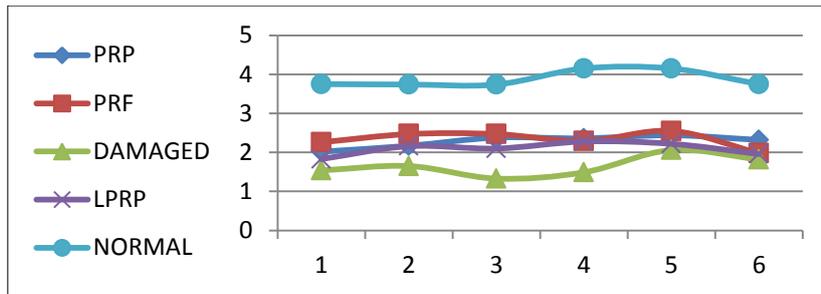
- تخدير الحيوانات بالحقن ضمن البريتوان (ketamine 50 mg/kg - xylazine 8 mg/kg)
- الكشف عن العصب الوركي وأخذ العينات لتحضير المقاطع النسيجية
- تلوين المقاطع النسيجية بملون (Masson's trichrome) بعد استخدام مادة (Osmium Tetroxide)



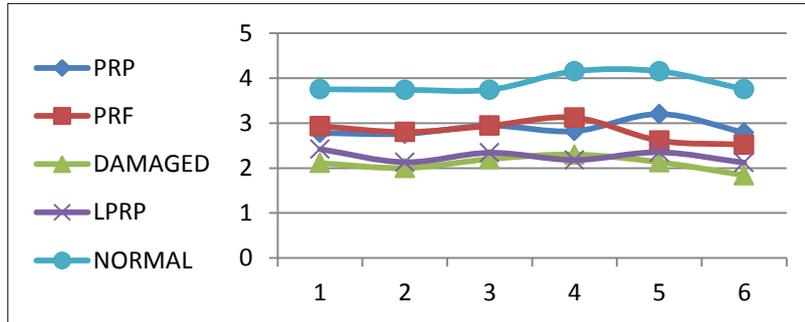
الشكل(1): أقطار المحاور العصبية في المرحلة الأولى



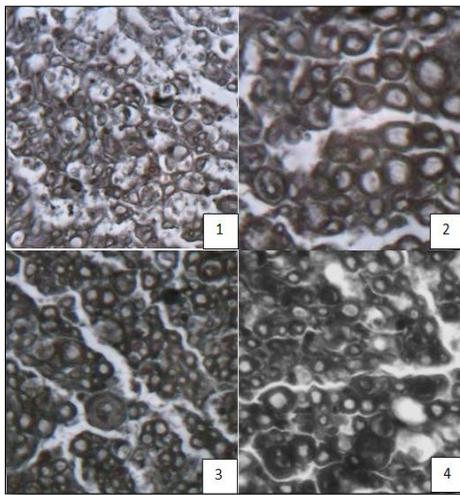
الشكل (2): أقطار المحاور العصبية في المرحلة الثانية



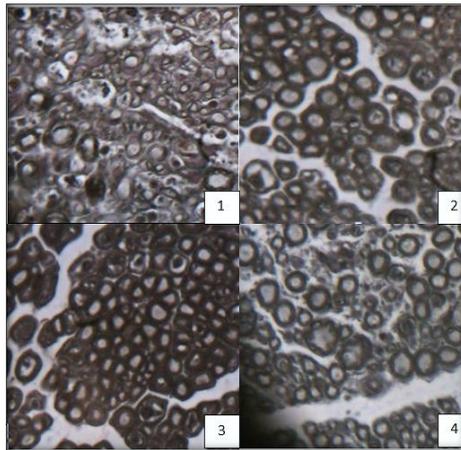
الشكل(3): سماكة طبقة النخاعين في المرحلة الأولى



الشكل(4): سماكة طبقة النخاعين في المرحلة الثانية



الشكل (5): المقاطع النسيجية بالمجهر الضوئي في المرحلة الأولى
(1damaged/2 PRP/3 PRF/4 LPRP)



الشكل (6): المقاطع النسيجية بالمجهر الضوئي في المرحلة الثانية
1 damaged/2 PRP/3 PRF/4 LPRP)

التحليل الإحصائي:

الجدول (1) يظهر القياسات النسيجية في المرحلة الأولى

	groups	means	SD	Minimum	Maximum
Axons diameters	Damaged	3.3917	.37456	4.00	2.96
	PRP	5.2283	.43517	5.86	4.70
	PRF	5.2133	.13866	5.41	5.04
	LPRP	4.7617	.33415	5.30	4.40
	Normal	5.9500	.17413	6.17	5.80
Myelin sheath thickness	Damaged	1.6483	.25965	2.06	1.33
	PRP	2.2817	.15702	2.44	2.02
	PRF	2.3367	.20801	2.55	1.98
	LPRP	2.0917	.16881	2.28	1.83
	Normal	3.8800	.20919	4.15	3.74

الجدول (2) يظهر القياسات النسيجية في المرحلة الثانية

	groups	means	SD	Minimum	Maximum
Axons diameters	Damaged	4.5200	.43063	5.08	4.01
	PRP	5.5450	.51799	6.48	5.05
	PRF	5.7650	.32581	6.38	5.49
	LPRP	5.0483	.25585	5.38	4.71
	Normal	5.9500	.17413	6.17	5.80
Myelin sheath thickness	Damaged	2.0967	.16033	2.30	1.84
	PRP	2.8817	.16857	3.20	2.76
	PRF	2.8200	.22405	3.12	2.52
	LPRP	2.2567	.12879	2.42	2.12
	Normal	3.8800	.20919	4.15	3.74

الجدول (3) النتائج الإحصائية للمقارنة بين المجموعات (أقطار المحاور العصبية)

axons diameters					
Stage 1			Stage2		
Groups		P value	Groups		P value
Normal	Damaged	.000	Normal	Damaged	.000
Normal	PRP	.012	Normal	PRP	.458
Normal	PRF	.010	Normal	PRF	.938
Normal	LPRP	.000	Normal	LPRP	.006
Damaged	PRP	.000	Damaged	PRP	.002
Damaged	PRF	.000	Damaged	PRF	.000
Damaged	LPRP	.000	Damaged	LPRP	.206
PRP	PRF	1.000	PRP	PRF	.890
PRP	LPRP	.190	PRP	LPRP	.259
PRF	LPRP	.216	PRF	LPRP	.040

الجدول(4)النتائج الإحصائية للمقارنة بين المجموعات (سماكة طبقة النخاعين)

Myelin sheath thickness					
Stage 1			Stage2		
Groups		P value	Groups		P value
Normal	Damaged	.000	Normal	Damaged	.000
Normal	PRP	.000	Normal	PRP	.000
Normal	PRF	.000	Normal	PRF	.000
Normal	LPRP	.000	Normal	LPRP	.000
Damaged	PRP	.001	Damaged	PRP	.000
Damaged	PRF	.000	Damaged	PRF	.000
Damaged	LPRP	.020	Damaged	LPRP	.678
PRP	PRF	.994	PRP	PRF	.986
PRP	LPRP	.631	PRP	LPRP	.000
PRF	LPRP	.386	PRF	LPRP	.001

إحصائية، بينما لم يكن الفرق ذو دلالة إحصائية بالمقارنة بين المجموعتين (Damaged&LPRP)، عند المقارنة بين مجموعات المعالجة لم يكن الفرق ذات دلالة إحصائية بين المجموعات (PRP&PRF) و (LPRP&PRP)، بينما كانت الفرق ذو دلالة إحصائية عند المقارنة (LPRP&PRF).

سماكة طبقة النخاعين

يبين الجدول (4) التحليل الإحصائي لنتائج قياس سماكة النخاعين، ففي المرحلة الأولى أظهرت مقارنة المجموعة الطبيعية (CONTROL) مع باقي المجموعات فروقاً ذات دلالة إحصائية، كما كان الفرق ذو دلالة إحصائية بمقارنة مجموعة الأذية مع مجموعات المعالجة، بينما لم تظهر المقارنة بين مجموعات المعالجة فروقاً ذات دلالة إحصائية. في المرحلة الثانية أظهرت مقارنة المجموعة الطبيعية (CONTROL) مع باقي المجموعات فروقاً ذات دلالة إحصائية، كما أظهرت مقارنة مجموعة الأذية مع مجموعات المعالجة (PRF-PRP) فروقاً ذات دلالة إحصائية، بينما لم يكن الفرق ذو دلالة إحصائية بالمقارنة بين المجموعتين (Damaged&LPRP).

في التحليل الإحصائي للنتائج تم استخدام برنامج (SPSS) لتطبيق اختبار (One way ANOVA) وحساب التفاوت بين المجموعات وضمن المجموعات لإيجاد الفروق بين المتوسطات، مع اعتبار الفرق ذو دلالة إحصائية عندما تكون $(P < 0.05)$.

أقطار المحاور العصبية

يبين الجدول (3) التحليل الإحصائي لنتائج قياس أقطار المحاور، ففي المرحلة الأولى أظهرت مقارنة المجموعة الطبيعية (CONTROL) مع باقي المجموعات فروقاً ذات دلالة إحصائية، كما كان الفرق ذو دلالة إحصائية بمقارنة مجموعة الأذية مع مجموعات المعالجة، بينما لم تظهر المقارنة بين مجموعات المعالجة فروقاً ذات دلالة إحصائية. في المرحلة الثانية أظهرت مقارنة المجموعة الطبيعية (CONTROL) مع المجموعات (Damaged-LPRP) فروقاً ذات دلالة إحصائية، بينما لم تكن الفروق ذات دلالة إحصائية بالمقارنة مع المجموعات (PRP-PRF)، كما أظهرت مقارنة مجموعة الأذية مع مجموعات المعالجة (PRF-PRP) فروقاً ذات دلالة

الصفائح في البلازما. كما بينت دراسة أجراها (Liheng Li et al 2019) حدوث تحسن نوعي باستخدام البلازما الغنية بالصفائح بعد الأذية السحقية للعصب الوجهي حيث أظهرت النتائج قدرة الصفائح المفعلة على إفراز عوامل التغذية العصبية مما حفز تشكل النخاعين ومنع حدوث الموت الخلوي في الخلايا العصبية. كما أدى استخدام البلازما الغنية بالصفائح إلى تأثيرات إيجابية في الأذيات العصبية القطعية، ففي دراسة أجراها (Roque et al 2017) على الأذيات القطعية للأعصاب المحيطية، أظهرت المجموعات التي تم استخدام البلازما فيها تحسناً نوعياً في النتائج النسيجية كقطر الألياف العصبية وسماكة طبقة النخاعين.

في المرحلة الأولى من التقييم عند إجراء المقارنة بين مجموعات المعالجة بالبلازما لم تظهر النتائج فروقاً ذات دلالة إحصائية، بينما ظهرت فروق ذات دلالة إحصائية في المرحلة الثانية من التقييم عند بالمقارنة (LPRP&PRF) عند قياس أقطار المحاور العصبية، وبالمقارنة (LPRP&PRF) و (LPRP&PRF) عند قياس سماكة النخاعين. تظهر نتائج المقارنة بين مجموعات المعالجة أن استخدام أنماط البلازما (PRP) و (PRF) كان أكثر فاعلية من استخدام النمط (LPRP)، حيث أحرزت مجموعة (LPRP) نتائجاً أقل من نتائج مجموعات المعالجة الأخرى في جميع القياسات. يشير تشابه التأثير النوعي لنتائج مجموعات المعالجة في المرحلة الأولى إلى تشابه تأثير أنماط البلازما المستخدمة عند تطبيقها بعد الأذية العصبية خلال المرحلة الباكرة من عودة النمو العصبي حيث تساهم عوامل النمو والسيبتوكينات المتوافرة في البلازما (والتي تفرزها كل من الصفائح والكريات البيض) في تحفيز مرحلة التنكس من خلال تحفيز تحطم المحاور والنخاعين في النهاية القاصية وجذب البالعات والخلايا الالتهابية الأخرى (Shamash et al 2002).

عند المقارنة بين مجموعات المعالجة لم يكن الفرق ذو دلالة إحصائية بين المجموعتين (PRP&PRF)، بينما كانت الفروق ذات دلالة إحصائية عند المقارنة (LPRP&PRF) و (LPRP&PRF).

المناقشة:

تشير معظم الدراسات السابقة إلى أن استخدام البلازما الغنية بالصفائح يؤدي إلى إيجاد بيئة داخلية تساعد على استعادة التوازن النسيجي، وذلك من خلال السيبتوكينات وعوامل النمو المتوافرة في البلازما، حيث تحسن هذه العوامل من عملية الإصلاح النسيجي بتنظيم عدة عمليات كالألية الالتهابية وتكون الأوعية وتصنيع الأنسجة الجديدة (Galliera E et al 2012). عند مقارنة مجموعة الأذية مع كل من مجموعات المعالجة أظهرت نتائج هذا البحث وجود فروق ذات دلالة إحصائية بين المجموعات (DAMAGED & PRP) و (PRF & DAMAGED) في جميع مراحل التقييم، كما أظهرت فروق ذات دلالة إحصائية بين المجموعتين (LPRP & DAMAGED) في المرحلة الأولى من التقييم. تؤكد هذه النتائج على الدور الإيجابي للبلازما الغنية بالصفائح في شفاء الأذية العصبية، حيث تؤدي البلازما الغنية بالصفائح إلى تحفيز التجدد العصبي والشفاء الوظيفي وذلك لغناها بالعوامل الحيوية والتي تلعب أدواراً فعالة بعد الأذية حيث تمنع حدوث الموت الخلوي للخلايا العصبية، كما تخلق بيئة ملائمة لعودة النمو المحوري، وتعمل على تحفيز تكاثر وهجرة خلايا شوان لترافق المحاور النامية باتجاه النهاية القاصية، بالإضافة لدورها في تحفيز تكون النخاعين حول المحاور النامية (Kuffer D.P 2015). أظهرت دراسة سابقة أجراها (Ikumi A et al 2018) أن تطبيق البلازما الغنية بالصفائح يساعد على نضج المحاور العصبية النامية وكانت التأثيرات الإيجابية للبلازما مرتبطة بالجرعة حيث زادت التأثيرات بزيادة تركيز

(LPRP) بعد الأذيات الوترية، أظهرت النتائج تأثيراً مفيداً لاستخدام (LPRP) من خلال تعزيز الشفاء النسيجي في المرحلة الباكرة، بينما كان تأثيرها ضاراً على الأوتار في المرحلة المتأخرة بسبب خطورة تحفيز الاستجابات الالتهابية والتقويضية بشكل زائد. عند المقارنة بين مجموعة (PRP) ومجموعة (PRF) لم تكن الفروق ذات دلالة إحصائية بالنسبة لجميع النتائج المقاسة، وذلك في المرحلة الأولى والثانية من التقييم، كما كانت النتائج في مجموعة (PRF) أعلى من مجموعة (PRP) بشكل خاص في المرحلة الثانية من التقييم. بالاعتماد على النتائج السابقة يمكن اعتبار الفيبرين الغني بالصفائح (PRF) ذو خصائص حيوية مشابهة للبلازما الغنية بالصفائح من حيث التأثيرات الإيجابية على عملية الشفاء النسيجي، بالإضافة لذلك تؤمن علاقة الفيبرين بيئة داعمة لهجرة الخلايا إلى مكان الأذية مما يؤدي لتعزيز الشفاء النسيجي (Choukroun et al 2006) كما تؤدي هذه البنية الكثيفة للفيبرين إلى تحرر عوامل النمو بنموذج مديد مما يحفز عملية الشفاء لفترة أطول، وهذا ما أكدت عليه دراسة سابقة أجراها (Scha'ir et al 2015) حيث أدى استخدام البلازما من نمط (L-PRF) إلى تحرر عوامل النمو لفترة أطول بالإضافة لتحرر كميات أكبر من عوامل النمو مع تحفيز أكثر لهجرة الخلايا وذلك بالمقارنة مع البلازما من نمط (L-PRP).

الاستنتاج: تقترح نتائج هذه البحث أن استخدام أنماط البلازما الغنية بالصفائح (PRP-PRF-LPRP) يؤدي إلى تحسين عملية الشفاء النسيجي في المراحل الباكرة بعد الأذية السحقية للأعصاب المحيطية، كما أظهرت النتائج تأثير نوعي للأنماط (PRP-PRF) في المراحل المتأخرة من عملية الشفاء.

في المرحلة الثانية من التقييم حقق استخدام البلازما بأنماط (PRP) و (PRF) نتائجاً أفضل وأكثر نوعية من استخدام النمط (LPRP)، من الممكن أن تدل هذه النتائج على التأثير السليبي لوجود الكريات البيض بتركيز عالٍ في البلازما، مما يزيد من تركيز السيتوكينات الالتهابية والتي تزيد الاستجابة الالتهابية وتطيل مدتها بشكل زائد. يؤدي ذلك للتأثير السليبي في مرحلة عودة النمو المحوري مما يقلل من تأثير البلازما المفيد على عملية شفاء الأنسجة. لازال استخدام البلازما الغنية بالصفائح مع تركيز عالي للكريات البيض مثاراً للجدل، حيث تملك الكريات البيض وما تفرزه من الوسائط الالتهابية تأثيرات مختلفة على عملية الشفاء النسيجي بعد الأذية، فعند استخدام البلازما الغنية بالصفائح والكريات البيض يجب الأخذ بعين الاعتبار زيادة إنتاج السيتوكينات الهادمة من قبل الكريات البيض مما قد يؤثر سلباً على عملية الشفاء (Sundman EA et al 2011)، من جهة أخرى تعتبر الخصائص الكريات البيض المضادة للإنتان ذات أهمية في عملية الشفاء النسيجي (Setta H et al 2011). في هذا البحث كان استخدام (LPRP) أقل فائدة بالمقارنة مع الأنماط الأخرى المستخدمة، وقد أظهرت بعض الدراسات السابقة نتائجاً مشابهة لتأثير (LPRP) على الشفاء النسيجي، ففي مراجعة منهجية أجراها (Kim et al 2021) أظهرت النتائج أن استخدام البلازما الغنية بالصفائح والكريات البيض (leukocyte-rich PRP) أدى إلى تأثيرات جانبية أكثر سلبية بالمقارنة مع استخدام البلازما الغنية بالصفائح وقليلة الكريات البيض (leukocyte-poor PRP) وذلك في معالجة التهاب المفاصل التنكسي في الركبتين. أجرى (LIU et al 2021) مراجعة منهجية لنتائج دراسات سابقة درست تأثير

References:

1. Andia I, Michele Abate. Platelet-rich plasma: underlying biology and clinical correlates. *Regen Med.* 2013; 8(5):645–658.
2. Alves R, Grimalt R.A Review of Platelet-Rich Plasma: History, Biology, Mechanism of Action, and Classification. *Skin Appendage Disord* 2018;4:18–24.
3. Alvites R, Caseiro A, Pedrosa S, Branquinho M, Ronchi G, Geuna S, et al. Peripheral nerve injury and axonotmesis: State of the art and recent advances. *Cogent Medicine* (2018), 5: 1466404.
4. Antoniadis, Kretschmer, Pedro, König, Heinen & Richter H. Iatrogenic nerve injuries: Prevalence, diagnosis and treatment. *Deutsches Arzteblatt International.* 2014; 111(16): 273–279.
5. Battison B, Papalia I, Tos P, et al. Peripheral nerve repair and regeneration research: a historical note. *Int Rev Neurobiol* 2009;87:1–7
6. Choukroun J, Antoine Diss, Alain Simonpieri, Marie-Odile Girard, Christian Steve, Dohan et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101:E56-60
7. Farber S, Saheb-Al-Zamani, M., Zieske L, Laurido-Soto, Bery A. Peripheral nerve injury after local anesthetic injection. *Anesthesia & Analgesia.* 2013; 117(3): 731–739.
8. Faroni A, Mobasser S, Kingham, P, & Reid A. Peripheral nerve regeneration: Experimental strategies and future perspectives. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 2015; 82–83:160–167.
9. Fu SY, Gordon T. The cellular and molecular basis of peripheral nerve regeneration. *Mol Neurobiol.* 1997 Feb-Apr;14(1-2):67- 116.
10. Galliera E, Corsi MM, Banfi G. Platelet rich plasma therapy: Inflammatory molecules involved in tissue healing. *Biol Regul Homeost Agents.* 2012;26:35S–42S.
11. Gordon, Tyreman & Raji. The basis for diminished functional recovery after delayed peripheral nerve repair. *The Journal of Neuroscience.* 2011; 31: 5325–5334.
12. Grant GA, Goodkin R, Kliot M. Evaluation and surgical management of peripheral nerve problems. *Neurosurgery.* 1999 Apr. 44(4):825-840
13. Hsieh J, Lin W, Chiang H, Chang L. Y, Wu C, Hsieh S. T, et al. Patterns of target tissue reinnervation and trophic factor expression after nerve grafting. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 2013;131(5): 989–1000
14. Ikumi A, Hara Y, Yoshioka T, Kanamori A, Yamazaki M. Effect of local administration of platelet-rich plasma (PRP) on peripheral nerve regeneration: An experimental study in the rabbit model. *Microsurgery* 2018; 38: 300-309
15. Kim J, Yong-Beom, Chul-Won Ha, Young Ju Roh, and Jung-Gwan Park. Adverse Reactions and Clinical Outcomes for Leukocyte-Poor Versus Leukocyte-Rich Platelet-Rich Plasma in Knee Osteoarthritis: A Systematic Review and Meta-analysis. *The Orthopaedic Journal of Sports Medicine.* 2021 Jun Volume 9(6).
16. Klimaschewski L, Hausott B, Doychin N. The Pros and Cons of Growth Factors and Cytokines in Peripheral Axon Regeneration. *International Review of Neurobiology.* 2013;108:137-71
17. 1314- Burnett MG, Zager EL. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. *Neurosurg Focus* 2004;16:1–7.
18. Kuffer D.P. Platelet-Rich Plasma Promotes Axon Regeneration, Wound Healing, and Pain Reduction: Factor Fiction. *Mol. Neurobiol.* 2015; 52: 990–1014.
19. Liheng Li, Jing Cai, Yang Yuan, Yanyan Mao, Lei Xu, Yuechen Ha et al. Platelet-rich plasma can release nutrient factors to promote facial nerve crush injury recovery in rats. *Saudi Med J* 2019; Vol. 40 (12): 1209-1217.

20. Lim, T, Shi Q, Johnson J, Rone M, Antel, P, David, & Zhang, J. Peripheral nerve injury induces persistent vascular dysfunction and endoneurial hypoxia, contributing to the genesis of neuropathic pain. *Journal of Neuroscience*. 2015; 35(8): 3346–3359.
21. Mautner, Gerard A. Malanga, , Jay Smith, Brian Shiple, Victor Ibrahim, , Steven Sampson, Jay E. Bowen. A Call for a Standard Classification System for Future Biologic Research: The Rationale for New PRP Nomenclature. *American Academy of Physical Medicine and Rehabilitation*. 2015; PM R 7 :S53-S59.
22. Michael O. Schaër, Jose Diaz-Romero, Sandro Kohl, Matthias A. Platelet-rich Concentrates Differentially Release Growth Factors and Induce Cell Migration In Vitro. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 2015; 473:1635–1643
23. Ozturk, C. Peripheral nerve surgery models sciatic nerve crush injury model. In *Plastic and reconstructive surgery*. 2015; (513–517). Springer
24. Ron M G, Menorca BS, Theron S, Fussell BA, John C & Elfar. Peripheral Nerve Trauma: Mechanisms of Injury and Recovery. *Hand Clin*. 2013; 29(3): 317–330.
25. Roque J, Pomini, Buchaim, Buchaim, Andreo, Domingos Roque, et al. Inside-out and standard vein grafts associated with platelet-rich plasma (PRP) in sciatic nerve repair: A histomorphometric study. *Acta cirurgica brasileira*. 2017; 32(8): 617-625.
26. Setta H, Elshahat A, Elsherbiny K, Massoud K, Safe I. Platelet-rich plasma versus platelet-poor plasma in the management of chronic diabetic foot ulcers: A comparative study. *Int Wound J* 2011; 8:307-312.
27. Shamash, Reichert, & Rotshenker. The cytokine network of Wallerian
28. degeneration: Tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 alpha, and interleukin-1 beta. *Journal of Neuroscience*. 2002; 22: 3052–3060.
29. Sulaiman OA, Gordon T. Role of chronic Schwann cell denervation in poor functional recovery after nerve injuries and experimental strategies to combat it. *Neurosurgery*. 2009 Oct; 65(4 Suppl):A105-A114.
30. Sundman EA, Cole BJ, Fortier LA. Growth factor and catabolic cytokine concentrations are influenced by the cellular composition of platelet-rich plasma. *Am J Sports Med*. 2011; 39:2135-2140.
31. Trumble TE. *Peripheral nerve injury: pathophysiology and repair*. 4th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2000: 1047-1055.
32. Wang JT, Medress ZA & Barres BA. Axon degeneration: molecular mechanisms of a self-destruction pathway. *J Cell Biol*. 2012 Jan 9; 196(1):7-18.
33. William W. Campbell :Evaluation and management of peripheral nerve injury *Clinical Neurophysiology*. 2008; 119.
34. Wojtkiewicz D, Saunders J, Domeshek L, Novak C, Kaskutas V, & Mackinnon S.
35. Social impact of peripheral nerve injuries. *Hand (N Y)*. 2015 ; 10(2): 161–167.
36. Xueli Liu, Rong Zhang, Bin Zhu, Yujie Li, Xinyue Liu, Sheng Guo. Effects of leukocyte- and platelet-rich plasma on tendon disorders based on in vitro and in vivo studies (Review). *Experimental & Therapeutic Medicine*. 2021- June; Vol 21: 639.
37. Zaidman CM, Seelig MJ, Baker JC, et al. Detection of peripheral nerve pathology: comparison of ultrasound and MRI. *Neurology* 2013; 80(18):1634–1640.
38. Zhang , Xin, Tong. Electrical stimulation enhances peripheral nerve regeneration after crush injury in rats. *Molecular Medicine Reports*. 2013; 7(5):1523–1527.
39. Zheng C, Zhu Q, Liu X, Huang X, He C, Jiang L, Quan D. Effect of platelet-rich plasma (PRP) concentration on proliferation, neurotrophic function and migration of Schwann cells in vitro. *J Tissue Eng Regen Med*. 2013; 10:428-436.