الجمهورية العربية السورية
جامعة دمشق
كلية الطب البشري
قسم الفيزيولوجيا والأدوية والمداواة

تأثير البلازما الغنية بالصفيحات على عودة النمو العصبي في أذيات الأعصاب المحيطية

رسالة مقدمة لنيل درجة الدكتوراة في الفيزيولوجيا الطبية

إعداد الطالبة

أسماء شحاده

إشراف

الأستاذ الدكتور صبحي البحري

الأستاذ في قسم الفيزيولوجيا والأدوية والمداواة بكلية الطب البشري

2021-2022

قرار لجنة الحكم - توقيعات لجنة المناقشة

شكر وتقدير

أبدأ بسم اللـه و أحمده وأشكره على ما منّ به من الفضـل والتوفيـق لإتمـام هذه الرسالة

أتوجه بالشكر الجزيل للأستاذ الدكتور صبحي البحري الذي تفضل بالإشراف على هذه الرسالة فكانت معرفته وخبرته خير معين لي لإنجاز هذه الرسالة

كما أتقدم بالشكر الكبير للأساتذة الكرام أعضاء لجنة التحكيم الذين منحوني الثقة الكبيرة وكان لتوجيهاتهم وملاحظاتهم أثر كبير في إخراج هذا العمل بالشكل الأمثل

وأود أن أوجه شكراً خاصاً للأستاذ الدكتور أيمن صمون على مساعدته القيمة لي في أحد مراحل العمل

كما أوجه شكري لكل من نصحني أو أرشدني أو وجهني أو ساهم معي في إعداد هذه الرسالة

وفي الختام أشكر جميع أفراد أسرتي الذين منحوني القوة والمثابرة بفضل دعائهم ومساندتهم لي، فكانوا خير داعم خلال هذه الرحلة الطويلة وأخص بالذكر أخي الأكبر الأستاذ الدكتور صلاح الدين شحادة على دعمه الدائم لي في مسيرتي العلمية والعملية

قائمة المحتويات

الموضوع	رقم الصفحة
الجزء التمهيدي	12
1. المقدمة	13
2. إشكالية البحث	14
3. تساؤلات البحث	15
4. فرضيات البحث	15
5. مسلمات البحث	15
6. حدود البحث	15
7. أهداف البحث	15
8. أهمية ومبررات البحث	16
9. حدود البحث	16
10. مناهج وأدوات البحث	16
الباب الأول: المراجعة النظرية	18
الفصل الأول: 1. أذيات الأعصاب المحيطية الرضية	19
1.1 الوبائيات	19
2.1 لمحة تشريحية وظيفية	20
1.2.1 التصنيف الوظيفي للألياف العصبية	20
2.2.1 تصنيف الألياف العصبية بالاعتماد على قياس القطر وسرعة النقل	22
3.2.1 التصنيف التشريحي للألياف العصبية	23
بنية العصب المحيطي	24
3.1 تصنيف الأذيات العصبية المحيطية	27
1.3.1تصنيف (Seddon)	
2.3.1 تصنيف (Sunderland)	28
4.1 آليات الأذية العصبية الرضية	29
1.4.1 الأذيات الانضغاطية	30
2.4.1 الأذيات السحقية	30
3.4.1 الأذيات القاطعة	30
4.4.1 أذيات التمدد	31
5.1 الآلية الإمراضية في أذيات الأعصاب المحيطية	31

1.5.1 مرحلة التنكس الوليرياني (الدهني) Wallerian degeneration	31
2.5.1 مرحلة عودة النمو axons regeneration	33
3.5.1 مرحلة الشفاء الوظيفي Functional recovery	36
6.1 الآلية الإلتهابية في أذيات الأعصاب المحيطية	37
1.6.1 جهاز المتممة	38
2.6.1 السيتوكينات	38
3.6.1 عائلة السيتوكينات المكونة للأعصاب (Neuropoietic cytokine family)	40
7.1 العوامل التغذوية العصبية Neurotrophic Factors	41
8.1 الصورة السريرية للأذيات الرضية في الأعصاب المحيطية	43
9.1 الاختبارات التشخيصية	43
1.9.1 الدراسات الكهربائية	43
2.9.1 الدراسات الشعاعية	45
10.1 التدبير والمعالجة	45
1.10.1المعالجة الجراحية	
2.10.1 المعالجة المحافظة	46
الفصل الثاني	48
2. البلازما الغنية بالصفيحات	
1.2 لمحة فيزيولوجية عن الصفيحات	48
محتويات الصفيحات	48
– الحبيبات الكثيفة	
– الجسيمات الحالة	
– الحبيبات إلفا	49
2.2 الصفيحات وعملية الإصلاح النسيجي	53
مراحل الإصلاح النسيجي	
1.2.2 المرحلة الأولى: مرحلة الإرقاء والتخثر	53
2.2.2 المرحلة الثانية: المرحلة الالتهابية	53
3.2.2 المرحلة الثالثة: مرحلة التكاثر الخلوي	55
4.2.2 المرحلة الرابعة: إعادة تشكيل النسيج	56
عوائق الشفاء النسيجي	57
3.2 البلازما الغنية بالصفيحات: مقدمة تاريخية	58
4.2 تعريف البلازما الغنية بالصفيحات	59
5.2 استخلاص البلازما الغنية بالصفيحات	60

6.2 خصائص البلازما الغنية بالصفيحات	61
1.6.2 تعداد الصفيحات	61
2.6.2 استبعاد الكريات الحمر	61
3.6.2 تركيز الكريات البيض	62
4.6.2 بنية الفيبرين	64
5.6.2 تفعيل الصفيحات في البلازما	65
7.2 تصنيف البلازما الغنية بالصفيحات تصنيف (Dohan Ehrenfest) 1.7.2 البلازما الغنية بالصفيحات النقية (Pure-PRP) 2.7.2 البلازما الغنية بالصفيحات والكريات البيض (Leucocyte- PRP or LPRP) 3.7.2 الفيبرين الغني بالصفيحات (platelet-rich fibrin: PRF) 4.7.2 الفيبرين الغني بالصفيحات والكريات البيض (Leucocyte-rich and platelet-rich fibrin: LPRF)	66
8.2 الاستخدامات السريرية للبلازما الغنية بالصفيحات	67
1.8.2 أمراض وأذيات الجهاز العضلي الهيكلي	67
2.8.2 الأمراض الفكية السنية	68
3.8.2 الطب التجميلي	69
4.8.2 الجراحة التجميلية	69
5.8.2 الأمراض والأذيات العصبية	69
9.2 أمان المعالجة بالبلازما الغنية بالصفيحات 1.9.2 مضادات الاستطباب المطلقة 2.9.2 مضادات الاستطباب النسبية	70
الباب الثاني الدراسة العملية	72
الفصل الأول أهمية وأهداف البحث	73
الفصل الثاني مواد وطرائق البحث	74
الفصل الثالث قياس النتائج والدراسة التحليلية الإحصائية 1 نتائج الدراسة الكهربائية الفيزيولوجية 1.1 نتائج المرحلة الأولى	79 79 81

2.1 نتائج المرحلة الثانية	84
3.1 التحليل الإحصائي للنتائج	87
2 نتائج الدراسة النسيجية	90
1.2 نتائج المرحلة الأولى	92
2.2 نتائج المرحلة الثانية	95
3.2 التحليل الإحصائي للنتائج	98
الفصل الرابع المناقشة	102
1 مناقشة نتائج الدراسة الكهربائية	102
1.1 المقارنة بين المجموعة الطبيعية وكل من مجموعات المعالجة والأذية	102
2.1 المقارنة بين مجموعة الأذية ومجموعات المعالجة	102
3.1 المقارنة بين مجموعات المعالجة	106
2 2. مناقشة نتائج الدراسة النسيجية	108
1.2 المقارنة بين المجموعة الطبيعية ومجموعات المعالجة والأذية	108
2.2 المقارنة بين مجموعة الأذية ومجموعات المعالجة	108
3.2 المقارنة بين مجموعات المعالجة	109
الفصل الخامس: الاستنتاجات	111
التوصيات والمقترحات	112
الفصل السادس: المراجع	113

قائمة الجداول

الرقم	الموضوع	الصفحة
1	تصنيف الألياف العصبية	22
2	تصنيف الألياف الحسية	22
3	أهم العوامل والمواد الحيوية التي تحتويها الحبيبات إلفا	52
4	نتائج سعة الكمونات الحركية في المرحلة الأولى	81
5	نتائج زمن التأخر في المرحلة الأولى	82
6	نتائج سرعة النقل العصبي في المرحلة الأولى	83
7	نتائج سعة الكمونات الحركية في المرحلة الثانية	84
8	نتائج زمن التأخر في المرحلة الثانية	85
9	نتائج سرعة النقل العصبي في المرحلة الثانية	86
10	التحليل الإحصائي للنتائج الكهربائية في المرحلة الأولى	88
11	التحليل الإحصائي للنتائج الكهربائية في المرحلة الثانية	89
12	نتائج قياس أقطار الألياف العصبية في المرحلة الأولى	92
13	نتائج قياس أقطار المحاور العصبية في المرحلة الأولى	93
14	نتائج قياس سماكة طبقة الميالين في المرحلة الأولى	94
15	نتائج قياس أقطار الألياف العصبية في المرحلة الثانية	96
16	نتائج قياس أقطار المحاور العصبية في المرحلة الثانية	97
17	نتائج قياس سماكة طبقة الميالين في المرحلة الثانية	98
18	التحليل الإحصائي للنتائج النسيجية في المرحلة الأولى	99
19	التحليل الإحصائي للنتائج النسيجية في المرحلة الثانية	100

قائمة الأشكال والمخططات البيانية

الرقم	الموضوع	الصفحة
1	الطريقة العامة لاستخلاص البلازما الغنية بالصفيحات	60
2	بنية الفيبرين الغني بالصفيحات	65
3	التخدير ضمن البيرتوان	76
4	إجراء الشق الجراحي	77
5	إجراء الأذية الهرسية للعصب الوركي	77
6	إضافة البلازما الغنية بالصفيحات	77
7	تحضير البلازما الغنية بالصفيحات	78
8	علقة الفيبرين الغني بالصفيحات	78
9	ندبة العمل الجراحي	80
10	كيفية تطبيق الأقطاب على العصب والعضلة	80
11	بعض مخططات الدراسة الكهربائية	81
12	مخطط تفصيلي يظهر نتائج سعة الكمونات الحركية في المرحلة الأولى	82
13	مخطط تفصيلي يظهر نتائج زمن التأخر في المرحلة الأولى	83
14	مخطط تفصيلي يظهر نتائج سرعة النقل في المرحلة الأولى	84
15	مخطط تفصيلي يظهر نتائج سعة الكمونات الحركية في المرحلة الثانية	85
16	مخطط تفصيلي يظهر نتائج زمن التأخر في المرحلة الثانية	86
17	مخطط تفصيلي يظهر نتائج سرعة النقل في المرحلة الثانية	87
18	المقاطع النسيجية في المرحلة الأولى	91
19	المقاطع النسيجية في المرحلة الثانية	91
20	مخطط تفصيلي يظهر نتائج قياس أقطار الألياف العصبية في المرحلة الأولى	93
21	مخطط تفصيلي يظهر نتائج قياس أقطار المحاور العصبية في المرحلة الأولى	94
22	مخطط تفصيلي يظهر نتائج قياس سماكة طبقة الميالين في المرحلة الأولى	95
23	مخطط تفصيلي يظهر نتائج قياس أقطار الألياف العصبية في المرحلة الثانية	96
24	مخطط تفصيلي يظهر نتائج قياس أقطار المحاور العصبية في المرحلة الثانية	97
25	مخطط تفصيلي يظهر نتائج قياس سماكة طبقة الميالين في المرحلة الثانية	98

Abbreviations List قائمة الاختصارات

BDNF	Brain Derived Neurotrophic Factor
CMAP	Compound Muscle Action Potential
CNTF	Ciliary neurotrophic factor
EGF2	endothelial growth factor 2
Fg	Fibrinogen
FGF-1	fibroblast growth factor 1
FGF-2	fibroblast growth factor 2
Fn	Fibronectin
IGF-1	insulin-like growth factor 1
IL1B	Interleukin-1β
IL6	Interleukin
LIF	leukemia inhibitory factor
LPRP	Leucocyte-platelet rich plasma
LP-PRP	Leucocyte rich-platelet rich plasma
LR-PRP	Leucocyte poor-platelet rich plasma
MMPs	Metalloproteinases
NGF	Nerve growth fact
NSAIDs	Nonsteroidal anti-inflammatory drugs
PDGF	Platelet-derived growth factor
PF4	Platelet factor 4
PRF	Platelet Rich fibrin
PRP	Platelet Rich Plasma
SDF-1	Stromal cell derived factor1
SNAP	Sensory Nerve Action Potential
TGF β1	Transforming growth factor beta-I
TLRs	Toll-like receptors
TNFα	Tumor necrosis factor α
TSP-1	Thrombospondin I
TXA2	Thromboxane A2
VEGF	Vascular endothelial growth factor

الملخص

تعد أذيات الأعصاب المحيطية من الأذيات الشائعة التي تؤثر على نوعية الحياة. وعلى الرغم من معرفة الكثير عن آليات الأذية وعودة النمو العصبي، إلا أن المعالجات المثبتة التي تؤدي إلى الشفاء الوظيفي التام لازالت قليلة. تعد البلازما الغنية بالصفيحات (PRP) إحدى المعالجات الحيوية المستخدمة لتحفيز شفاء الأنسجة، وأظهرت بعض الدراسات تأثيرات نوعية لاستخدامها بعد أذيات الأعصاب المحيطية، ولكن النتائج كانت متباينة بسبب استخدام أنماط مختلفة من البلازما. يهدف البحث إلى تقييم تأثير البلازما الغنية بالصفيحات على الأذيات العصبية المحيطية، والمقارنة بين عدة أنماط للبلازما الغنية بالصفيحات.

مواد وطرائق البحث

استُخدم 60 جرذ قُسمت إلى 5 مجموعات المجموعة الأولى (مجموعة شاهد) تُركت دون تداخل، بينما أُجريت أذية سحقية للعصب الوركي عند المجموعات الأخرى. تُركت المجموعة 2 دون معالجة (مجموعة الأذية Damaged) وطُبقت البلازما الغنية بالصفيحات على موقع الأذية كالتالي (المجموعة 3 البلازما النقية الغنية بالصفيحات PRP ، المجموعة 4 الفيبرين غني بالصفيحات PRF ، المجموعة 5 البلازما الغنية بالصفيحات مع الكريات البيضLPRP). تم تقييم النتائج الكهربائية والنسيجية بعد 4 أسابيع و8 أسابيع.

النتائج

أظهر التقييم الكهربائي (سعة الكمونات الحركية) والتقييم النسيجي وجود فروق ذات دلالة إحصائية بالمقارنات (Damaged& PRP) و (Damaged &PRF)، كما أظهر التقييم النسيجي في المرحلة الأولى بالمقارنة (Damaged&LPRP)، بالمقارنة بين مجموعات المعالجة لم تظهر فروق ذات دلالة إحصائية بين المجموعتين (PRP & PRF) ، بينما ظهرت فروق ذات دلالة إحصائية بالمقارنات (LPRP & PRF) و (LPRP & PRP) بشكل خاص في المرحلة الثانية من التقييم.

الاستنتاج

تُحفز البلازما الغنية بالصفيحات (PRP) و(PRF) عودة النمو العصبي بعد الأذيات الرضية للأعصاب المحيطية بشكل متماثل، بينما تملك البلازما (LPRP) تأثيراً أقل نوعية.

الكلمات المفتاحية

البلازما الغنية بالصفيحات، الأذيات الرضية للأعصاب المحيطية، عودة النمو العصبي.

الإطار التمهيدي

المقدمة

تُعَدُّ أذيات الأعصاب المحيطية من الأذيات الشائعة التي تسبب مجموعة واسعة من الأعراض والعلامات، والتي تختلف حسب إختلاف شدة ودرجة الأذية[1].

تحدث الأذيات العصبية المحيطية كنتيجة لإصاباتٍ متنوعة، وتعد الأذيات الناشئة عن قوة الشد على العصب من أشيع هذه الأذيات، كما تبلغ نسبة حدوث أذيات التمزق حوالي (30%)، وتحدث كنتيجة للكسور أو الإصابة بالزجاج أو الأجسام القاطعة الأخرى، كما يمكن أن تحدث الأذية بآلية سحقية أو نتيجة الإنضغاط، والذي يسبب أذية ميكانيكية أو إقفارية[2] .

تترك معظم أذيات الأعصاب المحيطية درجات مختلفة من العجز الوظيفي، مما يؤثر على نوعية الحياة عند الشخص المصاب، وتعتمد عقابيل الأذية العصبية المحيطية على خصوصية عملية الشفاء وعودة النمو العصبي، وتأثر عملية الشفاء بالعديد من العوامل.

فعلى سبيل المثال تتأخر عملية الشفاء كلما زادت شدة الأذية أو كانت أقرب إلى جسم الخلية، كما تؤثر العوامل الأغتذائية العصبية على عملية الشفاء النسيجي بعد الأذية

يعتمد الاصلاح الجراحي لأذيات الأعصاب المحيطية على إعادة البناء الهندسي للعصب المتأذي، بينما تكمن أهمية التقنيات الأخرى في تعزيز عملية عودة النمو العصبي، وعلى الرغم من معرفة الكثير من المعلومات عن آليات الأذية العصبية وعملية عودة النمو العصبي، إلا أن المعالجات ذات الموثوقية التي تؤدي إلى الشفاء الوظيفي التام لازالت قليلة جداً[3].

تُعرف البلازما الغنية بالصفيحات (Platelet Rich Plasma- PRP) بأنها مقدار من البلازما الدموية التي تحتوي تركيزاً عالياً من الصفيحات(أعلى من التراكيز الطبيعية).

أظهر استخدام البلازما الغنية بالصفيحات تأثيراتٍ إيجابية على عملية الشفاء في أذياتٍ نسيجيةٍ مختلفة، ويعتمد الاستخدام السريري للبلازما الغنية بالصفيحات على مقدرتها على تحفيز عملية التجدد النسيجي، إذ يؤدي

استخدامها إلى زيادة تركيز عوامل النمو والبروتينات المفرزة من قبل الصفيحات، والتي تملك بدروها القدرة على تحسين عملية الشفاء على المستوى الخلوي[4].

تم إيجاد تقنيات عديدة لاستخراج البلازما الغنية بالصفيحات خلال السنوات الماضية، وذلك من خلال تغيير عدة عوامل كمدة أو سرعة التثقيل أو تغيير تقنية السحب مما يؤدي للحصول على بلازما تحتوي تراكيزاً مختلفة من العناصر الدموية الأخرى، ولهذا فإن هذه الأنماط المختلفة من البلازما تملك خصائص حيوية مختلفة، مما قد يؤدي لاختلاف تأثيرها على الأنسجة[5].

بدأ استخدام البلازما الغنية بالصفيحات في بداية الثمانينات في مجال الجراحة الفكية الوجهية بشكل الفيبرين الغني بالصفيحات (Platelet Rich Fibrin)، ثم أصبحت البلازما الغنية بالصفيحات تستخدم تدريجياً في مجال الإصابات الرياضية، وذلك بعد الأذيات العضلية الهيكلية كالأذيات الوترية والعظمية وأذيات الأنسجة الرخوة، كما استُخدمت لاحقاً في حقول طبية أخرى كالجراحة القلبية وجراحة الأطفال والجراحة التجميلية وطب العيون[6].

أظهر عدد من الدراسات الحديثة قدرة البلازما الغنية بالصفيحات على تنبيه التكاثر الخلوي وتصنيع عوامل التغذية العصبية، وذلك لاحتواء البلازما على عدد من عوامل النمو الهامة التي تؤدي وظائفاً هامة في شفاء النسيج العصبي. في أحدى الدراسات ضمن المختبر قام (Takeuchi et)[7] بإضافة البلازما الغنية بالصفيحات إلى المزارع الخلوية (خلايا دماغية وشوكية)، مما أدى إلى زيادة نوعية في قياس وعدد المحاور العصبية النامية، كما أدت إضافة الأضداد الخاصة بعامل النمو الشبيه بالأنسولين (IGF-1) وعامل النمو الوعائي (VEGF) إلى كبح هذا التأثير الإيجابي، مما يشير إلى الدور الهام الذي تلعبه هذه العوامل المتحررة من البلازما في عملية الشفاء العصبي.

كما أظهر عدد من الدراسات التجريبية على الحيوانات تأثيراً إيجابياً نوعياً للبلازما الغنية بالصفيحات، ففي دراسة (Ye et al)[8] أحرزت البلازما على شكل الفيبرين غني بالصفيحات نتائجاً نوعية، وذلك عند إضافتها ضمن الطعوم العصبية الصنعية لإصلاح الأذية العصبية المحيطية، إذ أظهرت مجموعة البلازما نتائجاً وظيفية نوعية بالمقارنة مع مجموعة الشاهد.

في دراسة (Cho et al)[9] تم استخدام البلازما الغنية بالصفيحات مع خلايا شوان بعد الأذية العصبية عند الأرانب مما أدى إلى تحسن نوعي في النتائج الكهربائية والنسيجية.

أيضاً في دراسة (Kim et al)[10] تم استخدام طعوم وريدية تحوي البلازما الغنية بالصفيحات لإصلاح الأذيات العصبية المترافقة مع ضياع مادي، مما أدى إلى تحسن نوعي في عدد المحاور العصبية النامية وأقطار المحاور وسماكة طبقة الميالين.

تشير نتائج هذه الدراسات إلى الدور المحتمل للبلازما الغنية بالصفيحات في تحفيز النمو العصبي بعد الأذية، والذي قد يرجع إلى احتواء البلازما على العناصر الحيوية التي تبدأ وتنظم عملية الشفاء للألياف العصبية[11].

إشكالية البحث

بالرغم من وجود العديد من التقنيات العلاجية الجراحية والغير جراحية لتدبير الأذيات العصبية المحيطية، إلا أن المقاربات العلاجية التي تؤدي إلى الشفاء التام مازالت قليلة، لذلك تكمن المشكلة العلمية في العمل على إيجاد تقنيات حديثة من أجل تعزيز عملية عودة النمو العصبي بعد الأذيات العصبية المحيطية وبالتالي تحسين النتائج الوظيفية.

تساؤلات البحث

– هل يؤدي استخدام البلازما الغنية بالصفيحات إلى تعزيز عودة النمو العصبي بعد الأذية العصبية السحقية في الأعصاب المحيطية؟

– هل تختلف تأثيرات الأنماط المختلفة من البلازما الغنية بالصفيحات على الأذيات العصبية المحيطية، تبعاً لامتلاك هذه الأنماط لخصائص حيوية مختلفة.

فرضيات البحث

افترض البحث وجود تأثير إيجابي للبلازما الغنية بالصفيحات على عودة النمو العصبي بعد الأذيات العصبية السحقية، فكان لابد من إجراء دراسة تؤكد هذا التأثير، بالإضافة لتبيين ما إذا كان يوجد اختلاف بين تأثيرات الأنماط المختلفة من البلازما الغنية بالصفيحات على الأذيات العصبية المحيطية من هذا النمط.

مسلمات البحث

تعد الأنسجة العصبية ذات قدرة منخفضة على عودة النمو بعد الأذية، إذ تتأثر عودة النمو العصبي بالعديد من العوامل التي قد تمنع الوصول للشفاء الوظيفي، وقد أظهرت بعض الدراسات تأثيراً إيجابياً لاستخدام البلازما الغنية بالصفيحات بعد الأذيات العصبية المحيطية.

أهداف البحث

- إجراء تقييم لتأثير استخدام البلازما الغنية بالصفيحات على عودة النمو العصبي كعامل مساعد لتحفيز شفاء الأنسجة في الأذيات العصبية المحيطية.

- إجراء مقارنة بين عدة أنماط للبلازما الغنية بالصفيحات وبالتالي اختيار النمط الأفضل الذي يمكن استخدامه لتحسين عودة النمو العصبي.

أهمية ومبررات البحث

ـ تُعَدُّ الأذيات العصبية المحيطية من الأذيات الشائعة والهامة المؤثرة على نوعية الحياة عند المريض، وعلى الرغم من حدوث عودة النمو العصبي في معظم الحالات، فإن الشفاء الوظيفي يتأثر بالعديد من العوامل التي تعرقل حدوثه، مما يترك درجة من العجز الوظيفي عند المصاب.

ـ تُعَدُّ المعالجة بالبلازما الغنية بالصفيحات من المعالجات الحديثة نسبياً، ولا زال استخدامها مثاراً للجدل، إذ أظهرت الدراسات المختلفة نتائجاً متباينةً لتأثيرات البلازما الغنية بالصفيحات، ويعود ذلك لاستخدام تقنيات مختلفة لاستخلاص البلازما مما يعطي أنماطاً مختلفة من البلازما الغنية بالصفيحات، والتي تملك بدورها تأثيرات مختلفة على الأنسجة.

محددات البحث

أُجري هذا البحث في مخابر الفيزيولوجيا باستخدام حيوانات التجربة، وذلك بإجراء أذية عصبية سحقية صنعية واستخلاص البلازما الغنية بالصفيحات الذاتية المنشأ، ثم دراسة تأثيرات الأنماط المختلفة للبلازما على الأذيات العصبية.

مناهج البحث وأدواته

– اعتمد البحث على إجراء دراسة تجريبية معشاة (Randomized Controlled Trail)

– مكان وزمان البحث: تم إجراء البحث في مخبر الفيزيولوجيا في كلية الطب البشري بجامعة دمشق، كما استُخدمت حواضن حيوانات المختبر المتواجدة في كلية الصيدلة بجامعة دمشق، وقد أُجري البحث في الفترة الواقعة ما بين (2019–8) وحتى (2021–8).

– عينة البحث

تم استخدام حيوانات التجربة(60 جرذ)، وتم تقسيمها إلى 5 مجموعات

– المجموعة 1 (مجموعة شاهد– normal): تُركت هذه المجموعة دون تداخل من أجل المقارنة

– المجموعة 2 (مجموعة الأذية – damaged): إجراء أذية عصبية سحقية للعصب الوركي الأيمن دون معالجة

– المجموعة 3 (مجموعة البلازما الغنية بالصفيحات النقية – PRP): إجراء أذية عصبية سحقية للعصب الوركي الأيمن ثم إضافة البلازما من النمط PRP

– المجموعة 4 (مجموعة الفيبرين غني بالصفيحات–PRF): إجراء أذية عصبية سحقية للعصب الوركي الأيمن ثم إضافة البلازما من النمط PRF

– المجموعة 5 (مجموعة البلازما الغنية بالصفيحات مع الكريات البيض– LPRP): إجراء أذية عصبية سحقية للعصب الوركي الأيمن ثم إضافة البلازما من النمط LPRP

من أجل تقييم النتائج بعد 4 أسابيع تم اختيار نصف الحيوانات من كل مجموعة ثم إجراء الدراسات الكهربائية والنسيجية والنسيجية، وتم إجراء تقييم مشابه لباقي الحيوانات بعد 8أسابيع.

الباب الأول

المراجعة النظرية

Literature Review

الفصل الأول

أذيات الأعصاب المحيطية الرضية

Traumatic Peripheral Nerve Injuries

1.1 الوبائيات

تُعَدُّ الأذيات الرضية للأعصاب المحيطية من الإصابات الشائعة حيث تبلغ نسبتها (2-3%) من الحالات المراجعة لأقسام الاسعاف، ويمكن أن تصل النسبة حتى (5%) مع إصابات الجذور والضفائر العصبية[12].

تُعَدُّ أذيات الأعصاب المحيطية في الطرف العلوي أكثر شيوعاً من أذيات الطرف السفلي، كما يصاب العصب الكعبري بنسبة أكبر ، يليه العصبان الزندي والمتوسط، بينما تعد أذيات العصب الوركي هي الأشيع في الطرف السفلي، يليه العصب الشظوي ونادراً ما يصاب العصبان الظنبوبي والفخذي[13].

تزداد نسبة حدوث الأذيات العصبية في حالات الحروب، وفي الحقيقة فإن معظم المعارف حول آليات الأذية والإصلاح والشفاء تعود لخبرات مستمدة خلال الحروب السابقة[14].

يمكن أن تترافق أذيات الأعصاب المحيطية مع الكسور العظمية والخلوع المفصلية، فعلى سبيل المثال تزداد نسبة حدوث الأذية العصبية إلى الضعف عند حدوث كسور مترافقة مع خلع الكتف، كما تترافق معظم أذيات العصب الكعبري مع كسور جسم العضد، وتزداد شدة الأذية العصبية عندما تترافق مع الكسور المفتوحة حيث تحدث أذيات عصبية قطعية أو تمزقية في (64%) من كسور العضد المفتوحة.

تترافق الأذيات العصبية أيضاً مع الخلوع المفصلية التي تؤدي إلى حدوث أذيات عصبية تمططية، حيث تترافق (18%) من خلوع مفصل الركبة و(13%) من الخلوع الخلفية لمفصل الورك مع الأذيات العصبية، كما تحدث الأذيات العصبية في (48%) من حالات خلوع مفصل الكتف.

كما قد تزيد الأذيات المرافقة من احتمالية حدوث الأذية العصبية، فعلى سبيل المثال يزيد تشكل الورم الدموي في منطقة الإصابة من احتمالية حدوث الأذية العصبية حتى أربعة أضعاف وذلك بسبب حدوث انضغاط للنسيج العصبي[15].

2.1 لمحة تشريحية وظيفية

تتواجد الخلايا العصبية في الجهاز العصبي المركزي وتتألف من جسم الخلية والتفرعات الهيولية، بالإضافة للمحور العصبي الذي يحمل الإشارات العصبية بعيداً عن جسم الخلية، حيث يقوم بنقل الإشارات العصبية من وإلى الجهاز العصبي المركزي.

تعد الألياف العصبية المكون الوظيفي الأساسي للأعصاب المحيطية، ويتألف الليف العصبي من عدة محاور عصبية أو محور مفرد.

تُصنف الألياف العصبية في عدة تصنيفات وذلك بالاعتماد على خصائص عدة، حيث يمكن تصنيفها حسب وظيفة الليف العصبي، أو بالاعتماد على قطر الليف وسرعة النقل الخاصة به، وأخيراً قد تُصنف الألياف العصبية حسب وجود أو غياب غمد الميالين (النخاعين)[16].

1.2.1التصنيف الوظيفي للألياف العصبية:

- ألياف عصبية واردة (Afferent)

تتلقى الألياف العصبية الورادة الإشارات من مستقبلات متنوعة في الجسم وتقوم بنقلها إلى الجهاز العصبي المركزي، وذلك عبر الأعصاب القحفية والشوكية، إذ تتوضع الخلايا العصبية في العقد الحسية في الجذر الخلفي للحبل الشوكي، أو في عقد معينة خاصة بالأعصاب القحفية.

تنقل الألياف الجسمية الورادة من مستقبلات الحس الجسمي التنبيهات الخاصة بالإحساسات الجلدية كالألم والحرارة واللمس والاهتزاز والضغط، بينما تنتقل التنبيهات من مستقبلات الحس العميق المتوضعة في الجهاز الحركي عبر الألياف الواردة الخاصة بالحس العميق، كما تنقل بعض الألياف الواردة معلومات من الأحشاء

كالتنبيهات الكيميائية أو التغيرات الغدية، وأخيراً توجد ألياف واردة تنقل إشارات الحواس الخاصة في بعض الأعصاب القحفية كالعصب البصري والشمي والدهليزي اللساني.

- ألياف عصبية صادرة (Efferent)

تحمل هذه الألياف الإشارات العصبية من الجهاز العصبي المركزي إلى أعضاء مستهدفة كالعضلات والغدد. تنقل الألياف الحركية الجسمية الصادرة الإشارات العصبية إلى اللوحات المحركة الإنتهائية في العضلات الهيكلية المخططة، وتتوضع أجسام الخلايا العصبية في القرن الأمامي من الحبل الشوكي، أو في النوى الحركية لبعض الأعصاب القحفية.

تنقل الأعصاب الحشوية الصادرة الإشارات العصبية إلى العضلات الملساء والقلب وغدد الجسم، وتدعى هذه الألياف أيضاً بالألياف الصادرة الذاتية ما قبل العقدية، حيث تتشابك أولاً في العقد الذاتية لتقوم الألياف العصبية ما بعد العقدية بتعصيب الأعضاء الهدف، كما توجد أعصاب حشوية صادرة في بعض الأعصاب القحفية[17].

2.2.1 تصنيف الألياف العصبية بالاعتماد على قياس القطر وسرعة النقل

يتم تصنيف الألياف إلى الأنماط التالية

- الألياف نمط A

تكون الألياف في هذا النمط أليافاً ميالينية ويشمل جميع الألياف الجسمية الصادرة وقسم من الألياف الجسمية الواردة ويقسم إلى تحت مجموعات تضم **(α, β, γ, δ)**

- الألياف نمط

B يضم هذا النمط أليافاً حشوية فقط

- الألياف نمط C

يضم هذا النمط أليافاً جسمية واردة وأليافاً ذاتية بعد عقدية.

يظهر الجدول (1) تصنيف الألياف العصبية بشكل مفصل [18].

الجدول (1) تصنيف الألياف العصبية

النمط	تحت النمط	الوظيفة		نصف القطر (µm)	سرعة النقل (m/s)
A	**A**	ألياف حس عميق– ألياف جسمية حركية	ألياف جسمية واردة وصادرة	**12-20**	**70-120**
	B	حس اللمس – الضغط		**5-12**	**30-70**
	Γ	ألياف حركية للمغازل العضلية		**3-6**	**15-30**
	Δ	حس الألم – البرد – اللمس		**2-5**	**12-30**
B		ألياف ميالينة ذاتية ما بعد عقدية		**3>**	**3-15**
C		حس الألم – الحرارة – الاحساس الميكانيكي – استجابة المنعكسات	ألياف غير ميالينية جسمية واردة	**0.5-2**	**0.5-2**
		الغدد العرقية – الحركية الوعائية	ألياف غير ميالينية ذاتية ما بعد العقد	**0.7-2**	

بالإضافة للتصنيفات السابقة فقد تم وضع تصنيف إضافي خاص بالألياف الحسية حيث تم تقسيمها إلى عدة مجموعات[19]، ويظهر هذا التصنيف بشكل مفصل في الجدول (2)

الجدول (2) تصنيف الألياف الحسية

المجموعة	المنشأ	نمط الألياف
Ia	النهايات المغزلية في العضلة	**Aα**
Ib	جسيم كولجي الوتري	**Aβ**
II	النهايات المغزلية في العضلة – المستقبلات اللمسية – مستقبلات الضغط	**Aγ**
III	مستقبلات البرد – الألم – اللمس	**Aδ**
IV	مستقبلات الألم– الحرارة	**C**

3.2.1 التصنيف التشريحي للألياف العصبية

يعتمد تصنيف الألياف العصبية من الناحية التشريحية النسيجية على وجود غمد الميالين حيث تقسم الألياف إلى مجموعتين أساسيتين:

- الألياف الغير ميالينية (unmyelinated)

تشكل ما نسبته (75%) من الأعصاب الحسية و(50%) من الأعصاب الحركية، ويتألف الليف العصبي الغير ميالييني من عدة محاور عصبية قد يصل عددها لأكثر من عشرين محور وتكون عادة صغيرة القطر حيث يبلغ قطرها (0,15−0,2 µm).

تُحاط المحاور العصبية في الليف الواحد بطبقة مفردة من خلايا شوان التي لا تشكل غمد الميالين لذلك ينتشر كامن الفعل في جميع مناطق الغشاء الهيولي المحوري، حيث يحدث زوال استقطاب في كل منطقة من الغشاء المحوري ثم ينتقل للمنطقة التي تليها، وتحدث هذه العملية على طول المحور بكامله حتى نهاية المحور.

- الألياف العصبية الميالينية (myelinated)

تتواجد الألياف الميالينية في الأعصاب الحركية بنسبة أكبر من الأعصاب الحسية، ويتألف الليف العصبي من محور عصبي مفرد محاط بخلايا شوان[20]، يصبح غمد المحور مكشوفاً عند نقاط الاتصال بين خلية شوان وأخرى وذلك لمسافة محددة تدعى عقدة رانفييه (node of Ranvier).

تساهم عقد رانفييه في نشر كمونات الفعل على طول الليف العصبي بسرعة عالية نسبياً، حيث إن المنطقة المحاطة بغمد الميالين تشكل منطقة معزولة تعمل على تسريع النقل العصبي فتقفز موجة زوال الاستقطاب بين عقدة وأخرى مما يؤدي إلى زيادة سرعة النقل في الألياف الميالينية، إذ تصل سرعة نقل الدفعات العصبية حتى (150 m/s) بينما لا تتجاوز (2.5 m/s) في الألياف الغير ميالينية [21].

توجد علاقة طردية بين قطر المحور وسرعة النقل المحوري، ففي الألياف الميالينية كبيرة القطر تساوي سرعة النقل ستة أضعاف قطر المحور تقريباً، وتبلغ أربعة أضعاف قطر المحور في الألياف الميالينية الأصغر قطراً، بينما لا تتجاوز سرعة النقل ضعفي القطر في الألياف الصغيرة الغير ميالينية.

بنية العصب المحيطي

يتألف العصب المحيطي من عدة مكونات أساسية تضم الألياف العصبية والنسيج الضام بالإضافة للأوعية الدموية.

1 – المحاور العصبية الميالينية: هي استطالات هيولية متطاولة تمتد من أجسام الخلايا العصبية المتواجدة في الجهاز العصبي المركزي، ويتألف المحور العصبي الميالينية من هيولى مركزية محاطة بغشاء مندمج يدعى غمد المحور وهو غشاء ثلاثي الطبقات، كما تُحاط المحاور بخلايا شوان و صفيحة الميالين منذ خروجها من جسم الخلية وحتى عدة ميكرونات قبل نهايتها.

عند الفحص بالمجهر الالكتروني تظهر جزيئات صغيرة على سطح الطبقة الداخلية لغشاء المحور يعتقد أنها قنوات شاردية تتواجد بشكل خاص في مناطق عقد رانفييه، حيث تتم عمليات نقل وتبادل الشوارد في هذه المناطق، كما تكون الهيولى المحورية وهيولى خلايا شوان في هذه المناطق غنية بالمتقدرات والجسيمات عديدة الحويصلات من أجل تأمين الطاقة الاستقلابية اللازمة لهذه العمليات[22].

2 – خلايا شوان: هي نوع من الخلايا الدبقية الداعمة في الجهاز العصبي المحيطي تتطور من القشرة العصبية، و تلعب هذه الخلايا دوراً هاماً في عملية التطور العصبي بالإضافة لدورها في تشكيل غمد الميالين، من الناحية النسيجية تكون خلايا شوان محاطة بطبقة قاعدية مستمرة حتى في مناطق عقد رانفييه، حيث تشكل أنبوب ممتد يحيط بالمحور العصبي في مناطق العقد، ويُعتقد أن هذه الطبقة ذات أهمية في توجيه المحاور العصبية النامية بعد الأذية[23].

3 – غمد الميالين: يتشكل غمد الميالين بعملية تكون الميالين (myelination)، إذ يكون المحور محاطاً بهيولى خلايا شوان المتوضعة بطبقة مفردة، ثم يلتف الغشاء الهيولي بشكل حلزوني حول المحور على عدة طبقات، لتشكل هذه الطبقات المتكررة في النهاية صفيحة أو غمد الميالين، وتستمر عملية تكون الميالين بعد الولادة وتعد من العمليات الضرورية لنمو الجهاز العصبي في سنوات الحياة الأولى.

تشكل الدسم (80%) من تركيب الميالين حيث يقوم بدور عازل من الناحية الوظيفية، إذ يفصل الغشاء الهيولي المحوري عن المكونات خارج الخلوية المحيطة كغمد الليف والسائل النسيجي. لذلك فإن غياب الصفيحة الميالينية بشكل متكرر عند عقد رانفييه يجعل الغشاء المحوري في هذه المناطق قادراً على نقل التبادل بين شوارد الصوديوم والبوتاسيوم، مما يسهل عملية نقل كامن الفعل على طول المحور العصبي[24].

4 – النسيج الضام: يشكل النسيج الضام المكون الأكبر من العصب المحيطي، ويقدم الدعم للمحاور العصبية وخلايا شوان.

تختلف كمية النسيج الضام الخارجي والداخلي بين الأعصاب المختلفة، كما يختلف في العصب الواحد في المواقع التشريحية المختلفة، حيث تزداد كمية النسيج الضام في مواقع عبور العصب فوق المفاصل، فعلى سبيل المثال يشكل النسيج الضام حوالي (87%) من تركيب العصب الوركي عند عبوره فوق مفصل الفخذ.

يقسم النسيج الضام الخاص بالعصب إلى عدة أقسام :

ـ غمد العصب (epineurium)

يحيط بالعصب من الجهة الخارجية ويشكل حوالي (75%-30) من مساحة المقطع المستعرض للعصب، ويتصل مع النسج الرخوة المحيطة إتصالاً رخواً، مما يسمح لجذع العصب بالحركة لدرجة محددة.

يتألف غمد العصب من طبقة خارجية من النسيج الضام تحيط بالعصب، وطبقة داخلية تشكل البنية التي تفصل بين حزم الألياف العصبية، يحوي الغمد ألياف الكولاجين وأليافاً مرنة متوضعة بشكل طولاني كما يضم عدة أنواع من الخلايا كالخلايا الليفية بالإضافة لعدد قليل من الخلايا البدينة واللمفاويات والبالعات.

تدخل الأوعية الخاصة بالعصب عبر غمد العصب وذلك في عدة مستويات وتتصل فيما بينها لتشكل شبكة وعائية طولانية متفاغرة، كما يحتوي غمد العصب على أوعية لمفاوية[25].

ـ غمد الحزمة العصبية (perineurium)

يتشكل العصب المحيطي من حزمة وحيدة أو عدة حزم عصبية، و تكون كل من هذه الحزم محاطة بغلاف من نسيج ضام يدعى غمد الحزمة العصبية. يتألف الغمد من ألياف كولاجين متفرقة وخلايا حول العصب ويشكل

حاجز ذو نفوذية نوعية بسبب الإتصالات المحكمة المتشكلة بين هذه الخلايا، كما يقدم هذا النسيج الضام للعصب المرونة اللازمة لمقاومة قوى الشد.

تخترق الأوعية الدموية غمد الحزمة العصبية حيث تصل هذه الأوعية ما بين الشبكة الوعائية الطولانية في غمد العصب والشبكة الوعائية الشعيرية داخل الحزمة

يستمر غمد الحزمة العصبية بالإحاطة بالفروع العصبية حتى المحيط، حيث تحيط طبقة واحدة من خلايا الظهارة بالفروع العصبية الأصغر، لتتدمج هذه الطبقة فيما بعد مع لفافات المغازل العضلية و الأعضاء الانتهائية الغير ممحفظة[26].

– غمد الليف العصبي (Endoneurium)

يعد طبقة كولاجينية تحيط بالمحاور العصبية، وتشكل أغماد الألياف العصبية حجيرات جماعية ضمن كل حزمة عصبية.

يحوي غمد الليف العضلي لييفات كولاجين كما توجد الخلايا الليفية بوفرة في غمد الليف بالإضافة لخلايا شوان وبعض الخلايا الأخرى كالبالعات واللمفاويات والتي توجد عادة حول الأوعية[27].

5 – الأوعية الدموية

تمتلك الأوعية الدموية المغذية للأعصاب خصائص بنيوية نوعية تتلخص بما يلي:

– وجود شبكة تفاغرية كثيفة من تفرعات الأوعية في الحيز الخاص بغمد العصب وغمد الحزمة العصبية

– نظام الأوعية المجهرية الخاص بغمد الليف العصبي والذي يروي الحيز داخل العصبي

تملك الأعصاب المحيطية تروية دموية داخلية متطورة جيداً، حيث تستطيع زيادة التروية بشكل مستقل عن الجريان الخارجي دون ظهور علامات أذية إقفارية.

تعطي الشرايين الكبيرة فروعاً أصغر تنقسم بدورها إلى فروع متعددة لتدخل حيز غمد العصب وتشكل شبكة تفاغرية خاصة بغمد العصب كما تَعبُرُ إلى أغماد الحزم العصبية والتي تُعدُّ مصدراً للشرايين الإنتهائية في غمد

الليف العصبي، وتتغذى الفروع العصبية الإنتهائية بالانتشار حيث إنها تخلو من الأوعية الدموية المتواجدة في غمد الليف العصبي.

يشابه جهاز النزح الوريدي جهاز التروية الشريانية.

تكون الأوعية الدموية الصغيرة والكبيرة في غمد العصب مغطاة بنسيج ضام رخو وصفيحة قاعدية، بالإضافة للخلايا البطانية التي تشكل مواصل محكمة تمنع مرور البروتينات والجزيئات المشابهة مما يشكل ما يسمى الحاجز الوعائي العصبي[28].

يعتبر النظام الحاجزي الموجود في الأعصاب المحيطية امتداداً للحاجز الوعائي الدماغي، ويتألف الحاجز الوعائي العصبي من صفيحة غمد الحزمة العصبية بالإضافة للاتصال الوثيق بين الخلايا البطانية التي تبطن الأوعية الصغيرة داخل العصبية، ويقوم هذا الاتصال الوثيق بين الخلايا البطانية بتنظيم البيئة داخل العصبية كما يقدم نوعاً من الوقاية المناعية.

قد تؤدي الأذية العصبية إلى تأذي الحاجز الوعائي العصبي على مستوى الأوعية المجهرية مما يزيد الضغط ضمن الحزم، كما تؤدي ندرة الدوران اللمفاوي ضمن الحيز داخل العصبي إلى تراكم السوائل والبروتينات وتشكل الوذمة، وعند زيادة الضغط ضمن الحيز داخل العصبي يحدث ما يشبه تناذر الحجرات مما يؤدي إلى أذية أقفارية عصبية في هذه المنطقة[29].

3.1 تصنيف الأذيات العصبية المحيطية

1.3.1 تصنيف (Seddon)

كان (Seddon) أول من قام بتصنيف الأذيات العصبية بالاعتماد على شدة أذية المحاور والنسيج الضام، حيث قسمها إلى ثلاث مجموعات رئيسية[30]:

1- تعذر الأداء العصبي neurapraxia

تتصف بزوال ميالين بؤري بدون أذية المحاور أو النسيج الضام، وتحدث عادة بعد الأذية الانضغاطية أو تمطط العصب مما يسبب نقصان في سرعة النقل العصبي، حيث تكون الألياف العصبية غير قادرة على نقل كامن

الفعل على الرغم من الحفاظ على استمرارية المحاور العصبية. يحدث الشفاء خلال فترة قصيرة لا تتجاوز عدة أشهر.

2 – تهتك المحاور axonotmesis

تحدث أذية مباشرة للمحاور العصبية بالإضافة لزوال الميالين البؤري مع الحفاظ على استمرارية النسيج الضام، تترافق مع الأذيات السحقية عادة حيث تؤدي إلى أذية محورية مع سلامة عناصر النسيج الضام أو تأذيها بشكل جزئي.

3 – تهتك العصب neurotmesis

تعد الأذية الأكثر شدة حيث يحدث قطع للمحاور العصبية بالإضافة لحدوث تأذي شديد في طبقات النسيج الضام قد تصل إلى القطع الكامل، وتحدث بعد الأذيات القاطعة أو بعض أذيات الشد[31].

2.3.1 تصنيف (Sunderland)

قام (Sunderland) لاحقا بتوسيع التصنيف السابق بهدف تحديد درجة الأذية في النسيج الضام، حيث قام بوضع تصنيف يضم خمس درجات للأذية العصبية المحيطية[32]:

1 – الدرجة الأولى

تتوافق مع سوء وظيفة المحاور (Neurapraxia)، إذ تتصف بزوال ميالين بؤري بدون أذية المحاور أو النسيج الضام.

2 – الدرجة الثانية

تتصف بوجود أذية للمحاور الاسطوانية من نمط (Axonotmesis) بدون وجود أذية مرافقة في النسيج الضام (غمد الليف وغمد الحزمة العصبية) وتسمى التغيرات التي تشمل المحاور بالتنكس الوليرياني (Wallerian degeneration) والذي يحدث للناحية القاصية ما بعد الأذية .

لا يتأثر الترتيب العام لأغماد المحاور والبنى الباقية ويكون الشفاء معتمداً على عودة نمو المحاور و تضمن سلامة الأنابيب التي تشكلها أغماد الألياف العصبية عودة التعصيب بشكل كامل.

3 – الدرجة الثالثة

تتصف بوجود أذية للمحاور الأسطوانية مترافقة مع تأذي في غمد الليف العصبي وبقاء أغماد الحزم العصبية سليمة، ويؤثر ذلك على الاستمرارية داخل العصب وتحدث عودة النمو للمحاور المتجددة ضمن نسيج ندبي من أغماد الألياف، مما يعيق وصول المحاور إلى الأعضاء المعصبة الانتهائية، إذ يؤثر التشوه في الأنابيب التي تشكلها خلايا شوان على جاهزية البيئة المحيطة لمرور المحاور العصبية المتجددة.

تصل نسبة عودة التعصيب الوظيفي إلى (60–80%).

4 – الدرجة الرابعة

تتصف بوجود أذية للمحاور الأسطوانية مترافقة مع تأذي في أغماد الألياف والحزم العصبية، حيث تتأثر كامل البيئة الداخلية، بينما يبقى غمد العصب سليماً فقط مما يحافظ على استمرارية العصب. لكن التندب الداخلي يمنع المحاور المتجددة من الوصول إلى الناحية القاصية من الأذية و تتجمع المحاور المتجددة مشكلة ما يشبه الكتلة أو الكرة من الألياف العصبية (neuroma).

تمنع هذه الأذيات عودة التعصيب الفعال بشكل عفوي حيث لا يمكن حدوث الشفاء بدون التداخل الجراحي.

5 – الدرجة الخامسة

تتصف بوجود أذية في المحاور الاسطوانية وكامل النسيج الضام ، وتتوافق مع أذية (neurotmesis)، يعتبر قطع العصب أساساً لهذه الأذيات ولا يمكن حدوث الشفاء دون التداخل الجراحي.

قام بعض الباحثين فيما بعد بوضع الدرجة السادسة من الأذية، و التي تُعرف بأنها أذية مختلطة حيث يمكن حدوث درجات مختلفة من الأذية العصبية في العصب الواحد، وتعد الأذية الأشيع في الإصابات العصبية المرافقة للكسور وإصابات التمزق[33].

4.1 آليات الأذية العصبية الرضية

تحدث الاذية العصبية كنتيجةٍ لآليات عديدة وتؤدي كل من هذه الآليات إلى أذية عصبية نوعية حيث تختلف الإصابة العصبية الناتجة باختلاف درجة وشكل الآلية المسببة

1.4.1 الأذيات الانضغاطية (compression)

تتصف الأذية الانضغاطية عادة بحدوث زوال ميالين بؤري مع سلامة المحاور العصبية والنسيج الضام، مما يسبب حصار نقل عصبي موضّع. تكون هذه الأذيات من نمط (تعذر الأداء العصبي)، أو من الدرجة الأولى حسب تصنيف (Sunderland).

تحدث الأذية عند الفتحات التشريحية الضيقة، إذ يسبب الضغط على الأوعية الدموية إقفاراً في العصب كما يمكن للانضغاط الأصغري المزمن أن يؤدي إلى إنقاص العود الوريدي مسبباً ركودة وريدية وتشكلاً للوذمة داخل العصب مما يؤدي للأذية العصبية[34].

يؤدي الانضغاط الحاد بعد ضغط مطول على العصب لعدة ساعات ويتصف إلى اضطراب حس عابر وضعف عضلي مع حدوث الشفاء التام بعد عدة أسابيع وحتى عدة سنوات، بينما تتصف حالات الانضغاط المزمن بأعراض متفاقمة تصبح أسوأ مع مرور الوقت.

2.4.1 الأذيات السحقية (Crush)

تحدث عادة بسبب أذية انضغاطية حادة بأداة كليلة لا تسبب قطع العصب، إذ تحدث أذية للمحاور الأسطوانية مع الحفاظ على استمرارية العصب وتكون من نمط (تهتك المحور العصبي)، أو الدرجة الثانية أو الثالثة أو الرابعة حسب تصنيف (Sunderland)، ويعود ذلك الاختلاف إلى شدة أذية النسيج الضام الخاص بالعصب.

يسبب الانضغاط المطول للعصب أذية عصبية سحقية ، ففي البداية يؤدي إلى زوال ميالين بؤري مع إقفار مؤقت ولكنه قد يسبب أذية عصبية سحقية إذا استمر لفترة مطولة حيث تتأذى المحاور العصبية، وتحدث هذه الأذيات بشكل مرافق للكسور العظمية أو تشكل الأورام الدموية أو تناذر الحجرات[35].

3.4.1 الأذيات القاطعة (Penetrating)

يحدث انقطاع تام أو جزئي للعصب مما يؤدي لأذية من نمط (تهتك العصب) أو الدرجة الخامسة من تصنيف (Sunderland)، وتترافق معظم هذه الأذيات مع أذيات نسيجية أخرى ومن الممكن أن تكون الأذية العصبية منتظمة كما في الأذيات الناتجة عن الجروح القاطعة بالزجاج أو تكون عشوائية غير منتظمة.

4.4.1 أذيات التمدد (Stretch)

تسمح بنية العصب التشريحية بمقدار محدد من التمدد قبل حدوث أذية بنيوية عند تجاوز ذلك الحد فإن قوة الشد على العصب تسبب أذية عصبية من نموذج (تهتك المحور العصبي)، وتكون الأذية المحورية بنموذج طولاني على امتداد العصب أو نموذج موضع.

يمكن أن يحدث تمطط العصب بشكل مرافق للكسور العظمية أو الخلوع المفصلية أو خلال العمليات الجراحية، كما أن شد ذراع الوليد أثناء الولادة قد يؤدي لحدوث أذية تمططية في الضفيرة العضدية[36].

5.1 الآلية الإمراضية في أذيات الأعصاب المحيطية

1.5.1 مرحلة التنكس الوليرياني (الدهني) Wallerian degeneration

تضم هذه المرحلة سلسلة معقدة ومنظمة من العمليات التنكسية التي تهدف إلى إزالة النسيج المتأذي وبداية عملية التجدد، حيث تحدث خلالها التغيرات التالية:

التغيرات في موقع الأذية والجزء القاصي من المحور

تبدأ سلسلة من عمليات التنكس للأنسجة المتأذية و تُعدُّ مقدمةً لعودة النمو، حيث تعتمد عودة النمو الناجحة لدرجة كبيرة على هذه التغيرات التنكسية.

ترتبط هذه التغيرات التنكسية الحادثة بدرجة الأذية العصبية، ففي أذيات الدرجة الأولى تغيب التغيرات النسيجية أو تكون طفيفة، ولا يحدث تنكس أو عودة نمو حقيقية، بينما تلاحظ بعض التغيرات النسيجية في موقع الأذية عندما تكون الأذية من الدرجة الثانية ويحدث التنكس الوليرياني في المناطق القاصية ليشمل المحاور العصبية

وغمد الميالين[37]، إذ يبدأ التنكس بعد الأذية بعدة ساعات ويتم تدمير المحاور خلال يومين أو ثلاثة بينما يتأخر تفكك الميالين قليلاً.

تلعب خلايا شوان دوراً مفتاحياً في عملية التنكس، إذ تنشط خلال اليوم الأول بعد الأذية وتُبدي تضخماً في النواة والهيولى وزيادة في معدل الانقسام، وتنقسم بسرعة لتعطي خلايا فتية غير متمايزة تقوم بتنظيم التعبير الجيني من أجل المساعدة في عملية التنكس والإصلاح لاحقاً.

كما تؤدي خلايا شوان دوراً أولياً في إزالة الحطام والبقايا الخلوية وتمريرها إلى البالعات القادمة من الدوران، لتعمل خلايا شوان والبالعات معاً على بلعمة البقايا الخلوية وتنظيف موقع الأذية، وتحتاج هذه العملية مدة زمنية تتراوح من أسبوع واحد إلى عدة أشهر.

تؤدي الخلايا البدينة المتواجدة داخل العصب دوراً هاماً في عملية التنكس حيث تفرز الهيستامين و السيروتونين واللذين يزيدان النفوذية الوعائية مما يسمح بهجرة المزيد من البالعات والمساعدة على إزالة البقايا الخلوية.

تنتهي عملية التنكس بتدمير المحاور العصبية وطبقة الميالين خلال ثمانية أسابيع، وتبقى خلايا شوان داخل الطبقة القاعدية مشكلة أنابيب تدعى حزم (Büngner) والتي تعد مرشداً هاماً للمحاور المتجددة خلال مرحلة عودة التعصيب لاحقاً [38].

تكون الاستجابة الموضعية أكثر نوعية في أذيات الدرجة الثالثة ، إذ يحدث تراجع لنهايات الألياف العصبية بسبب المرونة في أغماد الألياف العصبية في الطرف الداني، وتؤدي الأذية الوعائية الموضعية إلى حدوث النزف والوذمة مما يزيد شدة استجابة التهابية في موقع الأذية بالإضافة لتكاثر الأورمات الليفية الذي قد يسبب تطور نسيج ندبي داخل الحزم العصبية.

يحدث التنكس في الجزء القاصي بشكل مشابه لما يحدث في أذيات الدرجة الثانية، إلا أن أذية أغماد الألياف العصبية تؤخر وصول المحاور المتجددة إلى أنابيب خلايا شوان في الطرف القاصي، وفي حال لم تصل المحاور المتجددة للأنابيب خلال(4ـ3 أشهر)' فإن الأنابيب تبدأ بالانكماش وتتوضع ألياف الكولاجين على السطح الخارجي للطبقة القاعدية، فتتمحي الأنابيب ويحل محلها النسيج الليفي[39].

تكون الاستجابة للأذية شديدة جداً في أذيات الدرجة الرابعة والخامسة، إذ يحدث تدمير للأنابيب داخل العصبية والحزم، وتفقد المحاور وخلايا شوان التوضع المنتظم. كما يتأذى غمد العصب الخارجي في أذيات الدرجة الخامسة.

بالإضافة لذلك تتكاثر الأورمات الليفية وخلايا شوان وتزداد النفوذية الوعائية لتبدو منطقة الأذية ككتلة متورمة من خلايا شوان العشوائية وصانعات الليف والبالعات والشعيرات الدموية والألياف الكولاجين.

تصل المحاور المتجددة نحو هذه المنطقة لتواجه حواجز عديدة تمنع نموها، مما يجعلها تشكل تبرعمات 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.

التغيرات في جسم الخلية والجزء الداني من المحور

تتناسب التغيرات في أجسام الخلايا والألياف العصبية ما قبل الأذية طرداً مع شدة الأذية ومقدار قربها من جسم الخلية.

يحدث تنكس لخلايا شوان المحيطة بالألياف العصبية وينقص قطر غمد الميالين بشكل واضح الجزء المحوري الداني ، وقد يقتصر هذا التنكس على المنطقة الواقعة بين موقع الأذية وأول عقدة رانفييه، أو يمتد على طول الليف ويصل إلى جسم الخلية.

تشمل التغيرات الحادثة في جسم الخلية هجرة النواة إلى محيط الخلية وانحلال جسيمات نيسل والشبكة الهيولية الباطنة، ثم تقوم الخلايا الدبقية في هذه الأثناء بالتكاثر حول الخلايا العصبية بشكل كثيف، وتشكل استطالات نحو الخلايا العصبية المصابة من أجل قطع الإتصالات المشبكية عن الخلايا المحيطة مما يؤدي إلى عزل الخلية العصبية خلال فترة التعافي[40].

تزداد فرصة حدوث الموت الخلوي كلما كان موقع الأذية قريباً من جسم الخلية، كما تزداد في الأذيات التي تشمل الأعصاب القحفية أو الأعصاب الحسية حيث يحدث الموت الخلوي للخلايا العصبية في العقد الحسية للجذر الخلفي بنسبة قد تصل إلى (50%) وذلك بعد أذيات الدرجة الثالثة أو الرابعة، كما يرتبط حدوث الموت الخلوي

بشكل وثيق بظروف البيئة المجهرية في موقع الأذية، وأخيراً فإن وجود خلايا شوان والعوامل التغذوية العصبية يزيد من احتمالية بقاء الخلايا العصبية[41].

2.5.1 مرحلة عودة النمو المحوري axons regeneration

تبدأ عودة نمو المحاور بشكل مباشر في الإصابات الخفيفة والمعتدلة، بينما تتأخر في الإصابات الشديدة حتى تنتهي عملية التنكس.

يحدث الشفاء الوظيفي بشكل كامل في أذيات الدرجة الأولى والثانية بزوال حصار النقل أو بعودة نمو المحاور، إذ تكون التغيرات النسيجية والفيزيولوجية عكوسة دائماً، بينما تحدث عودة النمو بشكل مختلف في الأذيات الأكثر شدة المترافقة مع أذية أغماد الألياف العصبية، إذ تفقد المحاور المتجددة التوجيه الصحيح الذي تقدمه أغمادها الأصلية فتتجه بشكل خاطئ نحو النسيج المحيط أو نحو أنابيب أخرى غير مناسبة، ولذلك تفشل في إعادة تعصيب الأعضاء المستهدفة بشكل مناسب.

تتضمن عملية عودة النمو سلسلة من الخطوات المعقدة التي يمكن تصنيفها تشريحياً إلى عدة مناطق تضم جسم الخلية والجزء المحوري الداني الواقع بين جسم الخلية وموقع الأذية وأخيراً الجزء المحوري القاصي الواقع بين موقع الأذية والعضو الانتهائي.

في المراحل الباكرة من عودة النمو يُعاد تنظيم البروتينات النووية داخل حبيبات نيسل في جسم الخلية، كما يزداد تصنيع الحمض الريبي النووي (RNA) وينقص تصنيع النواقل العصبية، لتتحول وظائف الخلية من النقل المشبكي إلى الإصلاح الخلوي، وتُعاد برمجة الآليات الاستقلابية بحيث تصبح الخلية قادرة على إنتاج كميات هائلة من الدسم والبروتينات المطلوبة من أجل عودة نمو المحاور، ويؤدي النقل المحوري السريع والبطيء دوراً في تزويد موقع الأذية بالمركبات اللازمة لعودة النمو[42]، ومن الممكن أن تستمر قدرة الخلايا العصبية البشرية على بدء استجابة تجددية حتى سنة واحدة بعد الأذية.

يعد التبرعم الجانبي الآلية الأساسية لعودة النمو المحورية في الأذيات الخفيفة والمعتدلة، إذ تبدأ عودة النمو باكراً خلال أيام فقط مما يسبب حدوث تراكب بين عملتي التنكس وعودة النمو، دون أن يؤثر ذلك على تقدم المحور

حيث يمتاز مخروط النمو بقدرته على إفراز الأنزيمات الحالة التي تساعد في إزالة البقايا الخلوية القليلة الناتجة عن التنكس[43].

من جهة أخرى تعتبر آلية عودة النمو المحوري هي الآلية الأساسية في الأذيات الشديدة، حيث تبدأ المحاور بالنمو بعد عدة أسابيع، وذلك بسبب استمرار عملية التنكس لمدة طويلة[44].

العوامل المؤثرة على عودة النمو المحورية

- التغيرات الخلوية

ترتبط عودة النمو المحورية بالاستجابة الخلوية للأذية، حيث تشكل هيولى الخلية والجزء الداني من المحور أساساً لتجدد قمة المحور، كما أن معدل تصنيع البروتينات والدسم في جسم الخلية يؤثر على معدل تقدم المحور والقطر النهائي المحوري.

- موقع الأذية بالنسبة لجسم الخلية

عندما تكون الأذية قريبة من جسم الخلية، يحدث تأخر واضح لعملية عودة النمو من النهاية الدانية للأذية، لذلك تنقص أقطار الأنابيب الفارغة التي تشكلها أغماد الألياف العصبية في الناحية القاصية من الأذية قبل أن يصل طرف المحور المتقدم إلى الناحية البعيدة، مما يؤدي إلى الإبطاء النهائي في عودة النمو المحورية.

- شدة الأذية

من الواضح أن عودة نمو المحاور تزداد صعوبةً كلما زادت شدة الأذية البدئية، حيث يؤدي تخريب أغماد الألياف أو أغماد الحزم أو غمد العصب نفسه في الإصابات الشديدة إلى تشكيل نسيج ندبي يعيق المحاور المتجددة الواصلة لموقع الأذية، كما أن وجود فجوة كبيرة بين النهايات العصبية المتأذية قد يسبب توجه المحاور النامية نحو الأنسجة المحيطة بدلاً من الوصول للجزء القاصي من الأذية.

ينجح عدد من المحاور باجتياز منطقة الأذية في بعض الأحيان، ويستطيع الوصول إلى الجزء القاصي (خاصة بعد الإصلاح الجراحي الذي يقضي على الفجوة ويزيل النسيج الندبي)، ولكن لا يؤدي ذلك بالضرورة لحدوث التوجه المناسب للألياف العصبية، إذ من الممكن أن تنمو المحاور المتجددة إلى داخل أنابيب أغماد الألياف

العصبية الغير مناسبة وظيفياً، أو تفشل في عودة الدخول إلى الأنابيب، كما قد تنمو الألياف الميالينية لداخل أنابيب خاصة بألياف غير ميالينية و العكس صحيح، مما يؤثر على الشفاء الوظيفي فيما بعد.

– مخروط النمو في قمة المحور المتجدد

يحوي مخروط النمو عدة أرجل خيطية عند طرف كل برعم محوري وتلتصق هذه الأرجل بالصفيحة القاعدية لخلية شوان لاستخدامها كدليل إرشادي، وقد أكدت الأبحاث السابقة على وجود دور هام لخلايا شوان والعوامل الاغتذائية العصبية في تحفيز التوجه الصحيح للمحاور العصبية لداخل الأنابيب الخاصة بها، ويعد هذان المرشدان التماسي والكيميائي ذوي أهمية في توجيه تقدم مخروط النمو[45].

3.5.1 مرحلة الشفاء الوظيفي Functional recovery

بعد عودة نمو المحاور تبدأ عملية النضوج، وتحدث التغيرات النسيجية لعملية النضوج على طول المحور المتجدد بمعدل أبطأ من معدل نمو المحاور وقد تستمر لفترة طويلة تقارب العام.

تتطور عملية إعادة تكون الميالين بطريقة مشابهة لتطور المحاور العصبية إذ تصطف خلايا شوان وتحيط بالمحاور بشكل دائري لتشكيل طبقة الميالين متعددة الصفائح، كما يزداد قطر المحور بشكل تدريجي ليصل إلى الأبعاد الطبيعية، وتعتمد هذه الزيادة في قطر المحور على عودة الاتصالات الوظيفية المناسبة بين نهاية المحور والعضو الانتهائي[46].

عندما تجتاز المحاور العصبية منطقة الأذية بنجاح يجب أن تصل إلى العضو المناسب وظيفياً، ويعد وصول المحاور العصبية النامية إلى العضو المستهدف شرطاً أساسياً لاكتمال عملية تطور المحاور وتشكل الميالين، كما يتوقف تطور ونضوج المحور إذا حدثت تغيرات تنكسية في العضو المستهدف نتيجة لفقد التعصيب المزمن مما يمنع حدوث تأسيس الاتصالات الوظيفية المناسبة.

قد تتعرض الأعضاء المستهدفة لتغيرات نسيجية مترافقة مع حدوث التنكس العصبي وعودة التعصيب حيث يحدث ضمور الألياف العضلية بشكل سريع، كما تنقص مساحة المقطع المستعرض بنسبة قد تبلغ (70%)

خلال شهرين فقط، كما يحدث تكاثر هائل للخلايا الليفية، ولا يتم استبدال الألياف العضلية بنسيج ضام ولكن الألياف العضلية تصبح متفرقة يفصلها نسيج ضام كثيف.

تتبع المحاور المتجددة خلايا شوان الأصلية نحو اللوحات المحركة مزالة التعصيب وذلك من أجل إصلاح الوصل العصبي العضلي، كما تنشأ تبرعمات جانبية ينتج عنها إعادة تعصيب للألياف العضلية بشكل جماعي مهما كان نمط هذه الألياف ويعد ذلك إحدى الصفات الجديدة للعضلة معادة التعصيب، حيث ينتج عن ذلك نموذجاً مختلطاً من التعصيب الذي يؤدي إلى تقلص عضلي غير فعال[47].

تبقى المستقبلات الحسية مزالة التعصيب سليمة بعد لمدة سنة كاملة أو حتى عدة سنوات بعد الأذية، وتعود الوظيفة الحسية بشكل كامل في أذيات الدرجة الأولى والثانية بحدوث عودة التعصيب المثالية للمستقبلات الحسية من قبل المحاور العصبية الخاصة بها، بينما لا تعود الوظيفية الحسية بشكل تام بعد الأذيات الأكثر شدة حتى مع إصلاح العصب.

يحدث ذلك كنتيجة لعدة أسباب فقد تفشل المحاور العصبية في الوصول إلى الهدف، أو تقوم بإعادة تعصيب خاطئة غير وظيفية إذ يقوم محور خاص بنمط محدد من المستقبلات بالاتصال بنمط مختلف، وعادة ما تكون عودة التعصيب الخاطئة شائعة أكثر في الوظيفة الحسية من الوظيفة الحركية[48].

6.1 الآلية الإلتهابية في أذيات الأعصاب المحيطية

عادة ما تحفز أذيات الجهاز العصبي استجابةً التهابية، إذ يتم تفعيل الجهاز المناعي البدئي والمكتسب بواسطة إشارات ذاتية تنشأ من الجزء القاصي من العصب المصاب، وتعد هذه الاستجابة الالتهابية عملية ديناميكية معقدة يقودها عدد كبير من الوسائط الالتهابية.

وعلى الرغم من أهمية الاستجابة الالتهابية في إصلاح الأذية العصبية، إلا أن دورها لازال مثاراً للجدل، فمن جهة تساهم هذه الاستجابة بشكل نوعي في عملية التجدد العصبي، ومن جهة أخرى من الممكن أن تثير حدوث حالات مرضية كالألم عصبي المنشأ[49].

يبدو دور الحدثية الالتهابية واضحاً في الطور الأول بعد الأذية، حيث يعتبر التنكس الوليرياني التهاباً عقيماً بحد ذاته، ويشتمل على عدد من العمليات الجزيئية والخلوية يمكن تلخيصها كالآتي:

1- تنكس الجزء القاصي من المحاور المتأذية

2- تفعيل وتكاثر خلايا شوان

3- تحطم الحاجز الوعائي العصبي

4- جذب البالعات والأنماط الأخرى من الخلايا المناعية من الدوران والتي تفرز بدورها السيتوكينات والوسائط الالتهابية الأخرى[50].

بالإضافة لذلك تحفز الأذية المحورية تغيرات جزيئية ترتبط غالباً بالحدثية الالتهابية، وتتضمن هذه التغيرات تعديل المادة خارج الخلية الخاصة بالعصب وزيادة في إنتاج العوامل التغذوية العصبية، وتؤدي هذه التغيرات التي تحدث في الجهة القاصية من الأذية لخلق ظروفٍ ملائمة من أجل تحريض عودة نمو المحاور من الجهة الدانية للأذية.

يبدأ الطور الباكر من التنكس بالتدمير الفوري لمكونات المحور كالغشاء والهيولى والمتقدرات، ويعتبر تنكس المحاور عملية فعالة من التدمير الذاتي تتم بشكل مستقل عن الخلايا الغير عصبية المحيطة بها.

يعمل تدفق الكالسيوم للداخل على تنشيط أنزيمات بروتينية معتمدة على الكالسيوم وتقوم هذه الأنزيمات بتفكيك بروتينات عناصر الهيكل المحوري، كما تسبب زيادة باكرة في إنتاج السيوكينات من قبل خلايا شوان، وتتولد هذه الاستجابة الباكرة عبر مستقبلات تدعى (toll-like receptors –TLRs) والتي يلعب تفعيلها دوراً هاماً في عملية التنكس كما تلعب دوراُ هاماً في تسريع عودة النمو العصبي وتحسين الشفاء الوظيفي[51].

1.6.1 جهاز المتممة

يُعَدُّ جهاز المتممة جزءً من الاستجابة المناعية الأولية، ويتألف من بروتينات قابلة للانحلال، ويختلف توزيع عناصر المتممة بين المحور وخلايا شوان والأغماد العصبية.

يؤدي تفعيل جهاز المتممة خلال التنكس الوليرياني عادة إلى تخلص سريع وفعال من المحاور المتأذية والميالين في الجزء القاصي من الأذية بدون تأذي المكونات الخلوية الأخرى، ولكن أظهرت بعض الأبحاث أن عوز بعض عناصر المتممة يسرع الشفاء الوظيفي، إذ من الممكن أن يعود ذلك إلى تقليل عدد البالعات مما يؤدي لإنقاص كمية أنزيمات الميتالوبروتياز، وبالتالي الحفاظ على أنابيب الأغماد العصبية من التنكس[52].

2.6.1 السيتوكينات

تؤدي السيتوكينات دوراً هاماً في الحفاظ على الظروف الفيزيولوجية الطبيعية في الجهاز العصبي، ويزداد إنتاجها بشكل فوري بعد أنماط متعددة من الشدة بهدف إعادة الاستقرار للنسيج العصبي.

يتم إنتاج السيتوكينات في الجهاز العصبي من قِبل بعض الخلايا العصبية والخلايا الدبقية المرافقة لها كخلايا شوان، كما تُنتجها الخلايا المناعية المتواجدة في النسيج العصبي أو القادمة من الدوران، وتعد خلايا شوان المصدر الرئيسي للسيتوكينات بعد الأذية العصبية.

تُعَدُّ السيتوكينات في حالات الأذية العصبية سلاحاً ذو حدين، إذ أنها تملك تأثيرات متعاكسة ترتبط بشكل وثيق بدرجة ومدة الاستجابة الالتهابية في الأعصاب المتأذية، ويعتمد التأثير المفيد للحدثية الالتهابية الموضعة على الإنتاج المنظم للسيتوكينات والتحكم الدقيق بمستوياتها من أجل الحفاظ على المستويات المثالية خلال هذه الفترات الحرجة من عودة النمو[53].

تشتمل السيتوكينات على مجموعة متنوعة من الوسائط المرتبطة بتفعيل جهاز المناعة والاستجابات الالتهابية، وتتصف بتداخل تأثيراتها المختلفة وذلك بسبب تنوع فعالياتها العامة، ويتم تنظيمها في سلاسل بحيث يؤثر إفراز السيتوكينات الباكرة على تركيب السيتوكينات الأخرى[54].

أهم السيتوكينات المفرزة بعد الأذيات العصبية المحيطية

- الانترلوكين- 1 بيتا (Interleukin-1β)

يُعَدُّ أحد السيتوكينات ما قبل التهابية، ويزداد التعبير عنه من قِبل خلايا شوان في الجزء البعيد من الأذية في المراحل الباكرة من التنكس، ويختفي عندما تبدأ خلايا شوان بتكوين الميالين.

يعمل (IL-1β) على تحفيز العمليات الالتهابية والموت الخلوي، وينظم تصنيع عامل النمو العصبي (Nerve growth fact - NGF) من قبل خلايا شوان والأورمات الليفية، كما يعمل بالمشاركة مع (neurotrophin-3) على تحفيز عودة النمو المحوري.

يؤدي الارتفاع المنظم لهذا السيتوكين خلال الطور الباكر من التنكس إلى تحفيز عملية التنكس وتوظيف البالعات، بالإضافة لتحفيز تكاثر خلايا شوان، وبدء عودة نمو المحاور، ولكن على الرغم من جميع التأثيرات الإيجابية السابقة فقد تم إثبات وجود تأثيرات سمية عصبية لهذا السيتوكين وتتعلق هذه التأثيرات بتوقيت ودرجة الحدثية الالتهابية[55].

– العامل المنخر للورم ـ ألفا (Tumor necrosis factor -α,TNFα)

يزداد التعبير عن هذا العامل بشكل باكر بعد الأذية، ويزداد إنتاجه بذروتين في اليوم الخامس وبعد أسبوعين من الأذية.

يتم نقل (TNFa) من موقع الأذية إلى الخلية عبر النقل المحوري الراجع، كما تقوم بعض الخلايا العصبية بتصنيعه، ويملك تأثيرات مفيدة على تنكس الميالين وعملية البلعمة وتحفيز خلايا شوان وتوظيف البالعات خلال الطور الباكر، ولكنه– كباقي السيتوكينات– يملك تأثيراتٍ سلبية على الخلايا العصبية تتعلق بنوع المستقبلات التي يرتبط معها في الخلية[56].

3.6.1 عائلة السيتوكينات المكونة للأعصاب (Neuropoietic cytokine family)

تضم هذه العائلة مجموعة متنوعة من السيتوكينات نذكر منها:

- عامل التغذية العصبية الهدبي (Ciliary neurotrophic factor- CNTF)

- الإنترلوكين 6 (IL6)

- العامل المثبط لسرطان الدم (leukemia inhibitory factor-LIF)

تشير العديد من الأدلة إلى دور هذه السيتوكينات في تنظيم عودة النمو للأعصاب المحيطية، فعلى سبيل المثال أدى تطبيق (CNTF) إلى تحفيز عودة التعصيب ونضوج البراعم المحورية[57].

كما يزداد تصنيع (LIF) في كلا الجزئين القاصي والداني في موقع الأذية، ويتم نقله عبر النقل المحوري الراجع نحو العصبونات الحسية والحركية من أجل تحريض عودة النمو، حيث يلعب دوراً هاماً في الحفاظ على العصبونات ومنع الموت الخلوي بعد الأذية المحورية[58].

تُعدُّ خلايا شوان في الجزء القاصي من الأذية مصدراً أساسياً لإنتاج (IL6)، والذي يشكل مكوناً مفتاحياً في الاستجابات المناعية والعصبية التالية للأذية العصبية، كما يُعَدُّ ضرورياً في الاستجابة التجددية للخلايا العصبية، حيث ترتبط زيادة إنتاجه بعد الأذية العصبية بإعادة تفعيل برنامج النمو في الخلايا العصبية[59].

الاستجابات المناعية للخلايا العصبية

تشكل التغيرات الجزيئية في موقع الأذية مصدراً لجزيئات الإشارة الايجابية والسلبية التي تؤثر على الخلايا العصبية، حيث يتم تنشيط سبل الإشارة في موقع الأذية ثم تنقل بالطريق الراجع نحو جسم الخلية، لتؤدي إلى حماية الخلية العصبية أو إلى الموت الخلوي، يؤدي التوازن والضبط الدقيق للاستجابة الالتهابية إلى تغلب التأثيرات الإيجابية وبالتالي تحفيز عودة نمو المحاور والحفاظ على الخلايا العصبية[60].

7.1 العوامل التغذوية العصبية Neurotrophic Factors

تنتمي هذه العوامل لعائلة الببتيدات، وتلعب دوراً نوعياً في ضبط عمليات البقاء والتكاثر والهجرة والتمايز لعدة أنماط من الخلايا المساهمة في عملية الإصلاح العصبي، كما تؤدي دوراً هاماً في مراحل التطور العصبي وفي عملية عودة النمو للألياف العصبية بعد الأذية.

تفرز هذه العوامل بشكل أساسي من الجهاز العصبي، كما يمكن ان تحررها خلايا الأعضاء الأخرى، حيث تقدم الأنسجة الهدفية التي تعصبها الأعصاب المحيطية دعماً تغذوياً هاماً من أجل بقاء العصبونات وذلك بإفراز هذه العوامل التي تنتقل إلى الخلايا العصبية عبر النقل المحوري الراجع، وعلى الرغم من فقدان هذا الدعم التغذوي عند حدوث الأذية العصبية المحيطية، فإن الأذية بحد ذاتها تؤدي لبدء سلسلة من الأحداث تسبب تغيراً في التعبير الجيني للبروتينات التابعة لهذه العوامل في الخلايا العصبية والخلايا الداعمة لها كخلايا شوان مما يزيد من تراكيز هذه العوامل في موقع الأذية.

حيث تتحول خلايا شوان من النمط المصنع للميالين إلى نمط التجدد وتبدأ بعملية نسخ الحمض الريبي النووي (mRNA) الخاص بالعوامل التغذوية العصبية مما يؤدي لتحريض وزيادة إنتاج هذه العوامل، وتحدث هذه الزيادة في الأطوار الباكرة بعد الأذية ثم تنخفض لمستويات أقل بعد شهر من الإصلاح العصبي[61].

تمارس عوامل النمو تأثيراتها الحيوية من خلال التفاعل مع مستقبلاتها النوعية، إذ تعمل على تحفيز هجرة خلايا شوان وعودة نمو المحاور بالإضافة لإعادة تكوين الميالين حول المحاور، مما يسهل عودة التعصيب الوظيفي للأعضاء المستهدفة[62].

نذكر فيما يلي أهم العوامل التغذوية العصبية:

- عامل النمو العصبي (Nerve growth factor-NGF)

يُعَدّ العامل التغذوي الأول الذي تم تحديده من قِبل الباحثين، ويتم إطلاقه من النهايات العصبية الطرفية وإرساله إلى جسم الخلية عبر النقل المحوري الراجع.

يلعب عامل النمو العصبي دورًا حيويًا في حماية الخلايا العصبية وإصلاح النسيج العصبي أثناء عملية عودة النمو، ويبدأ بالازدياد في موقع الأذية منذ اليوم الأول بعد الأذية العصبية، وتستمر مستوياته بالارتفاع حتى مرور أسبوعين بعد الأذية لتبدأ بعدها بالانخفاض.

تُعَدُّ خلايا شوان المصدر الأساسي لإنتاج هذه العامل بعد الأذية العصبية، كما تساهم في إنتاجه الخلايا الداعمة الأخرى كالأرومات الليفية، وتقوم البالعات بدورها بتحفيز خلايا شوان على إنتاج عوامل التغذية العصبية بما فيها عامل النمو العصبي[63].

– عوامل النمو الليفية fibroblast growth factors (FGF-1, FGF-2)

يُعتقد أن هذه العوامل تؤدي دوراً في إصلاح النسيج العصبي بعد الأذية، حيث تحفز أذية الأغشية الخلوية إفراز هذه العوامل إلى المادة الخلالية خارج الخلايا، كما تزداد مستقبلاتها في العصبونات الحسية وفي الخلايا الأخرى في موقع الأذية.

تقوم هذه العوامل بتحفيز الانقسام و التمايز في الخلايا الغير عصبية كخلايا شوان، كما أثبتت الدراسات أن إضافة هذه العوامل من منشأ خارجي يؤدي إلى تسريع عودة النمو المحورية بعد الأذيات العصبية[64].

- عامل التغذية العصبية المشتق دماغياً (Brain Derived Neurotrophic Factor- BDNF)

يتم إفراز هذا العامل من العصبونات الحركية وبعض العصبونات الحسية وخلايا شوان، ويؤدي دوراً هاماً في عملية التطور العصبي، كما يزداد إنتاجه على مدى أسابيع بعد الأذية العصبية المحيطية، وقد أدى استخدامه من منشأ خارجي إلى تحسين عودة النمو العصبي والشفاء الوظيفي بعد الأذية العصبية[65].

8.1الصورة السريرية للأذيات الرضية في الأعصاب المحيطية

يمكن أن تسبب الأذيات العصبية المختلفة إصابةً في أحد العناصر التالية أو جميعها (المحاور العصبية، خلايا شوان، غمد الميالين)، فيفقد العصب المتأذي القدرة على نقل الاشارات العصبية بشكلٍ طبيعي، مما يسبب اضطراباً في الوظيفة العصبية يتظاهر بأعراض وعلامات عصبية سريرية مؤقتة أو دائمة[66].

يعتمد التشخيص الصحيح والتحديد الدقيق لموقع الأذية على القصة السريرية والفحص العصبي الدقيق، ويُعَدّ الكشف الفوري لموقع الأذية هاماً جداً، فعلى سبيل المثال قد تتطور الأذيات العكوسة الناجمة عن الانضغاط إلى أذيات دائمة عند استمرار الانضغاط.

يجب تقييم الوظيفة الحسية والوظيفة الحركية كلاً على حدة من أجل التأكد من التشخيص الدقيق، ويتضمن الفحص السريري:

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

2- الفحص الحسي بفحص أنماط الإحساس المختلفة كالحس العميق وحس الاهتزاز وحس اللمس

3- فحص المنعكسات الوترية

تتدرج الأعراض العصبية في أذيات الأعصاب المحيطية من ضعف عضلي جزئي واضطراب حسي، إلى شلل عضلي تام مع فقدان كامل للحس في المناطق والأعضاء المعصبة بالأعصاب المتأذية[67].

9.1 الاختبارات التشخيصية

1.9.1 الدراسات الكهربائية

تستخدم الدراسات الكهربائية التشخيصية من أجل دعم الشك السريري بوجود أذية عصبية أو من أجل تقييم الوظيفة العصبية في حال عدم إمكانية إجراء الفحص العصبي، كما تُعَدُّ مفيدة لتقييم تطور الأذية.

تعتمد الخطوات الأساسية في دراسة النقل العصبي على استخدام منبه يمكن التحكم به من أجل إنتاج كوامن فعل على موقع واحد أو عدة مواقع على مسار العصب، ثم تسجيل كوامن الفعل في موقع آخر على طول العصب أو في البنى التي يعصبها، حيث تعتبر هذه الاستجابة تجمعاً لكوامن الفعل لمجموعة المحاور العصبية التي تتلقى التنبيه[68].

توقيت إجراء الدراسات الفيزيولوجية الكهربائية

تُجرى بعد (3–2) أسابيع من أجل التفريق بين حصار النقل والأذيات محورية، كما تجرى لتقييم عودة التعصيب بعد (6–3) أشهر، وبعد (12–6) أشهر.

الكمونات الحركية المركبة The Compound Muscle Action Potential (CMAP)

في دراسات النقل العصبي الحركي يتم تنبيه جذع العصب وتسجيل الاستجابة من العضلة المعصبة بهذا العصب، ويعبر مصطلح كامن الوحدة الحركية عن مجموع كوامن الفعل الخاصة بالألياف العضلية المفعلة بكامن الفعل الخاص بالليف العصبي، بينما يطلق مصطلح الكمونات الحركية المركبة على كمونات الوحدات المحركة المكونة للعصب.

في أذيات الدرجة الاولى بحسب تصنيف (Sunderland)، يسبب حصار النقل نقصان سعة الكمونات الحركية المركبة أو حتى غيابها، وذلك عند إجراء التنبيه في الجهة الدانية والتسجيل في الجهة القاصية من الأذية إذ من الممكن أن تنقص سعة الكمونات الحركية بنسبة تزيد عن (25%) من السعة الطبيعية، وتزول هذه التغيرات عند الشفاء وذلك خلال فترة لا تتجاوز عدة أشهر.

تتشابه نتائج الدراسة الكهربائية في أذيات الدرجة الثانية والثالثة والرابعة، حيث تتغير سعة الكمونات الحركية المركبة بعد حوالي أسبوع من الأذية وذلك عند التنبيه في مواقع قبل وبعد موقع الأذية بسبب حدوث التنكس في موقع الأذية، وتغيب الاستجابة كلياً في الأذيات التامة بينما تسبب الأذيات الجزئية كمونات صغيرة ناقصة السعة.

الكمونات العصبية الحسية The Sensory Nerve Action Potential (SNAP)

تتشابه تغيرات الكمونات الحسية المركبة مع التغيرات الحاصلة في الكمونات الحركية المركبة، وذلك في أذيات الدرجة الأولى، ولكن مع اختلاف معايير التشخيص حيث تنخفض السعة بشكل واضح عند زيادة المسافة بين قطب التنبيه وقطب التسجيل، وتكون تغيرات السعة التي تعتبر شاذة غير واضحة تماماً كما في الكمونات الحركية، بالنسبة لأذيات الدرجة الثانية والثالثة والرابعة تنقص سعة الكمونات الحسية أو تغيب نهائياً بعد مرور أكثر من عشرة أيام على الأذية وذلك بسبب تأخر حدوث التنكس للمحاور الحسية[69].

2.9.1 الدراسات الشعاعية

- الفحص بالأمواج فوق الصوتية

يمكن أن يقدم هذا الفحص معلومات هامة عن استمرارية العصب[70].

- التصوير بالرنين المغناطيسي MRI

يمكن استخدام هذا الفحص لتقييم الأعصاب المحيطية التي لا يمكن الوصول إليها بسهولة باستخدام الفحص بالأمواج فوق الصوتية، حيث يقدم معلومات عن استمرارية العصب وحالة النسج الرخوة المحيطة به والعضلات التي يعصبها [71].

10.1 التدبير والمعالجة

1.10.1 المعالجة الجراحية

يعتمد اختيار التدبير الجراحي على عدة عوامل منها مقدار الأذية والجدوى الوظيفية للعصب، حيث يتم تقييم الحالة مع اعتبار لموقع الأذية وشدتها وعمر المريض وحالته الصحية، كما تتم مقارنة الفوائد الوظيفية الناتجة مع مخاطر وعقابيل التداخل الجراحي وذلك من أجل اتخاذ قرار الجراحة.

يُعَدّ تحديد توقيت الجراحة ذو تأثيرٍ هامٍ على النتائج الوظيفية، ففي الأذيات التمزقية النظيفة يستطب الإصلاح الجراحي المباشر، بينما يُفضل الكشف عن الأذية بعد مرور عدة أشهر في بعض الحالات الأخرى، كما أنه من الأفضل مراقبة الأذيات الانقلاعية أو تمطط الضفيرة العضدية لمدة أربعة أشهر قبل التداخل الجراحي[72].

عادة ما تُستطب الجراحة في أذيات الدرجة الثالثة والرابعة والخامسة حسب تصنيف (Sunderland)، لذلك يعد تحديد درجة الإصابة بدقة هاماً من أجل تحديد التدبير المناسب وتوقيته. كما تكون الجراحة مستطبة عند حدوث تراجع في نتائج الدراسات الكهربائية التي تُجرى لمتابعة التطور مما يستلزم الفتح الجراحي الاستقصائي[73].

2.10.1 المعالجة المحافظة

تهدف المعالجات المحافظة بشكل أساسي إلى إعادة الوظيفة للعصب المتأذي، أو على أقل تقدير تحسين نوعية الحياة للمريض، وعلى الرغم من أن هذه المعالجات أبدت نتائجاً نوعية في معالجة المرضى، إلا أنها لم تقدم الشفاء التام من عقابيل الأذية، كما يملك بعضها تأثيرات جانبية تحد من استخدامها.

وتتضمن المعالجة المحافظة عدة إجراءات من أهمها :

- العلاج الدوائي

يجب تفضيل المعالجة الدوائية على الجراحة مادام ذلك ممكناً، وهناك العديد من الأدوية المستخدمة لتدبير أذيات الأعصاب المحيطية نذكر منها:

- مسكنات الألم تُستخدم من أجل التحكم بالألم الناتج عن الأذية العصبية، فعلى سبيل المثال يستخدم عقار (Gabapentin) من أجل تخفيف الألم العصبي المنشأ والاضطرابات الحسية.

– الستيروئيدات: يمكن استخدام الستيروئيدات في الأذيات العصبية من أجل تخفيف الوذمة داخل العصب والتي تعد أحد الآليات المسببة للأذية، كما توجد أدلة ما قبل سريرية على فائدة الستيروئيدات في تحفيز نمو المحاور العصبية[74]، إلا أن استخدامها في الدراسات التجريبية لم يعطِ نتائجاً نوعية دائماً، كما أن الآثار الجانبية لاستخدام الستيروئيدات جهازياً لفترة مطولة يحد من استخدامها في تدبير هذه الأذيات.

– مجموعة الفيتامينات (Vitamins B): تملك هذه الفيتامينات القدرة على تخفيف العمليات التنكسية في العصب المحيطي، إذ يعد الفيتامين (B12) هاماً من أجل العمليات الاستقلابية العصبية فقد تم تأكيد تأثيراته الإيجابية في حالات تهتك المحاور العصبية وذلك من خلال تحفيز الشفاء النسيجي والوظيفي[75].

– التمارين الفيزيائية

تساهم التمارين الفيزيائية بشكل مفيد في عودة النمو العصبي، إذ تم إثبات دورها في تسريع عودة النمو والتجدد للمحاور العصبية، حيث تؤدي التمارين إلى زيادة إفراز العوامل التغذوية العصبية من خلايا شوان. بالإضافة لذلك يمكن أن تخفف التمارين من شدة الألم عصبي المنشأ من خلال تحفيز إفراز الاندروفينات الداخلية[76].

– التنبيه الكهربائي

يؤدي تطبيق التنبيه الكهربائي لتحسين الإنذار بعد الأذيات العصبية، إذ يحفز عودة النمو العصبي من خلال زيادة تصنيع عامل التغذية العصبية (BDNF)، والذي يحفز بدوره تكاثر خلايا شوان وتشكل الميالين خلال عودة النمو العصبي[77].

الفصل الثاني

البلازما الغنية بالصفيحات

1.2 لمحة فيزيولوجية عن الصفيحات

الصفيحات: هي أجزاء من خلايا تدعى النواءات تنشأ من نقي العظام، وتتواجد الصفيحات في الدم المحيطي بتراكيز تبلغ (140,000– 400,000 صفيحة/ ميكرولتر)، ويبلغ عمرها الوسطي حوالي عشرة أيام حيث تتم إزالتها من قبل البالعات في الجاهز الشبكي البطاني[78].

تمتلك الصفيحات صفات شكلية خاصة حيث تحوي غشاءً سيتوبلاسمياً يتصل بنظام قنوي داخل خلوي، كما تحوي شبكة قنوية مجهرية تتصل بهيكل خلوي غني بألياف الأكتين والميوزين، والتي تساهم في تغيير الصفات الشكلية للصفيحات عند تفعيلها، كما تحتوي على المتقدرات وعدد من المستقلبات الدهنية كالترمبوكسان A2 (Thromboxane A2).

الحبيبات الإفرازية في الصفيحات

تحوي الصفيحات ثلاثة أنماط من الحبيبات الإفرازية التي تحرر متحوياتها عند تفعيل الصفيحات[79].

1- الحبيبات الكثيفة

يتراوح عدد الحبيبات الكثيفة (3-8) حُبيبة في كل صفيحة، وتحتوي هذه الحبيبات على عدة مواد حيوية كالسيروتونين والكالسيوم والأدينوزين ثنائي الفوسفات (ADP)، وتتحرر هذه الحبيبات من الصفيحات في وقت باكر لتؤدي المواد المتحررة أدوراً هامة في التصاق الصفيحات وتحفيز التخثر بالطريق الداخلي وتعزيز بنية الفيبرين، كما تقدم ارتباطاً باكراً بين الصفيحات وعملية التخثر والحدثية الالتهابية[80].

2- الجسيمات الحالة

تُعَدُّ هذه الحبيبات مخازن لأنزيمات متنوعة مثل الإلسيتاز وحمض الفوسفاتاز، كما تمتلك الصفيحات سبل بلعمة خاصة، تتفعل عند استجابة الصفيحات للتنبيه حيث يتم تكوين جسيمات البلعمة الذاتية القادرة على الاندماج مع الجسيمات الحالة[81].

3 – الحبيبات إلفا

تحتوي الحبيبات إلفا على مجموعة متنوعة من الجزيئات ذات النشاط الحيوي التي تتحرر عند تفعيل الصفيحات، لتؤدي أدواراً هامة في مواقع الأذية النسيجية حيث تبدأ وتنظم النواحي الأساسية في عملية شفاء الأنسجة. تؤثر هذه العوامل بشكل نوعي في عدة عمليات كالحدثية الالتهابية وتكون الأوعية وتكاثر وهجرة الخلايا[82].

تتواجد هذه الحبيبات في الصفيحات بكثافة عالية حيث يوجد حوالي (50–80) من هذه الحبيبات في كل صفيحة، وقد تم التعرف على مئات المواد البروتينية التي تتحرر من الحبيبات ألفا عند تفعيل الصفيحات. تُصنع معظم هذه المواد في النواءات وتُخزن في الحبيبات إلفا، بينما يتم التقاط بعض البروتينات من قبل النواءات أو الصفيحات من المحيط بعملية الالتقام[83].

تتواجد هذه البروتينات المخزنة في الحبيبات إلفا على شكل مجموعات منفصلة مصنفة تصنيفاً وظيفياً، وتملك هذه المواد طرقاً مختلفة للتحرر من الصفيحات وذلك كاستجابة لمنبهات مختلفة، وهكذا يمكن تصنيف محتويات الحبيبات إلفا إلى عدة مجموعات وظيفية

محتويات الحبيبات إلفا

– البروتينات الالتصاقية

تشارك هذه البروتينات في التفاعلات ما بين الخلايا على سطح الصفيحات كما تؤدي دوراً في ثباتية الخثرة الدموية، بالإضافة لذلك تعمل البروتينات الالتصاقية كعوامل محفزة للإنقسام بشكل مباشر أو غير مباشر من خلال تحفيز عوامل النمو.

نذكر من هذه العوامل الفيبرينوجين(Fibrinogen- Fg) والفيبرونكتين (Fibronectin- Fn)، والثرومبوسبوندين (Thrombospondin I- TSP-1).

تقوم بعض هذه البروتينات بالالتصاق بالمستقبلات الصفيحية خلال الإفراز مما يزيد من نمو الخثرة المتشكلة، كما يعد الفيبرونكتين عاملاً إنقسامياً حيث يعمل على تحفيز الفعالية الانقسامية لعامل النمو المشتق من الصفيحات(Platelet-derived growth factor-PDGF)[84].

- عوامل التخثر ومضادات التخثر

تُعَدُّ الحبيبات إلفا أيضاً مصدراً غنياً لعوامل التخثر التي تحفز تشكل الثرومبين على سطح الصفيحات، إذ تحتوي على عدد من عوامل التخثر بالإضافة للبروثرومبين والبروتين S، كما تحتوي على عددٍ من مضادات التخثر وحالات الفيبرين، والتي تعمل على تنظيم آليات الالتصاق بين الخلايا والهجرة الخلوية[85].

- عوامل النمو

تحتوي الحبيبات إلفا على طيف واسع من عوامل النمو (Growth Factors) التي تؤدي أدواراً أساسية عند تفعيل الصفيحات إثر الأذية النسيجية، حيث تساهم في آليات الجذب الكيميائي وتكاثر وتمايز الخلايا بالإضافة لتكون الأوعية[86].

تُعَدُّ العوامل التالية من أهم عوامل النمو المتواجدة في الصفيحات:

- عامل النمو المشتق من الصفيحات بأنماطه الثلاثة

(PDGFa, PDGFb, PDGFc) Platelet-derived growth factor

تساهم هذه العوامل في عمليات الجذب الكيميائي والتكاثر الخلوي، كما تُعَدُّ عواملاً انقسامية لخلايا النسيج الضام وتحفز التكاثر وتمنع الموت الخلوي، بالإضافة لذلك تحفز القدرة على الحركة في عدد من الخلايا كالخلايا المتوسطية والأورمات الليفية والخلايا البطانية والخلايا العضلية الملساء والخلايا العصبية[87].

- عامل النمو التحويلي بيتا I-beta growth factor Transforming (TGF β1)

ينظم تمايز وتكاثر أنماط مختلفة من الخلايا، كما يحفز تشكيل مكونات المادة خارج الخلية لذلك يعد هاماً من أجل شفاء الجروح وتشكل الندبة.

- عامل النمو البطاني 2 endothelial growth factor (EGF2)

يُعَدُّ عاملاً انقسامياً هاماً للعديد من الأنماط الخلوية المتوسطية والبشروية، كما يحفز التمايز الخلوي.

- عامل النمو الشبيه بالأنسولين insulin-like growth factor (IGF-1)

يتواسط التأثيرات المعززة للنمو التي يؤثر بها هرمون النمو (growth hormone) على الأنسجة

- عامل النمو الوعائي البطاني vascular endothelial growth factor

تقوم الصفيحات بإفراز الأنماط الأربعة من هذا العامل (VEGFa,VEGFb,VEGFc,VEGFd)

وتحفز هذه العوامل تكون الأوعية حيث تُعَدُّ عوامل انقسامية تحفز تكاثر الخلايا البطانية الوعائية وتنظم فيزيولوجية الأوعية الدموية، كما يؤثر بعضها على النفوذية الوعائية[88].

- عوامل النمو الليفية Fibroblast growth factor I&II (FGF1, FGF II)

تحفز تكون الأوعية وتكاثر الأورمات الليفية.

- السيتوكينات والكيموكينات

تحرر الصفيحات مجموعة متنوعة من هذه المواد نذكر منها

- الانترلوكينات (IL1, IL2, IL6, IL10, IL11)
- العامل المنخر للورم (Tumor necrosis factor-α– TNF-α)
- العامل الصفيحي الرابع (Platelet factor 4- PF4)
- العامل المشتق من الخلايا السدوية (stromal cell derived factor1- SDF-1).

تساهم هذه العوامل في عمليات الجذب الكيميائي وتنظيم تكاثر وتمايز الخلايا، بالإضافة لتنظيم تكون الأوعية وإعادة تشكيلها، والتفاعلات ما بين الخلايا.

على سبيل المثال يساهم العامل (PF4) في الجذب الكيميائي للعدلات والأورمات الليفية، كما يعمل على تنظيم تكون الأوعية بمعاكسة العوامل (VEGF, FGF) التي تحرض تكون الأوعية[89]، بينما يُعَدُّ العامل (SDF-1) بروتيناً مفتاحياً في عملية الشفاء النسيجي حيث يرتبط مع مستقبلات خاصة على الخلايا الجذعية لتعزيز توظيفها في موقع الأذية[90].

- الغليكوبروتينات الغشائية

نذكر من هذه المواد الغليكوبروتين (P-selectin) الذي يتوزع على سطح الصفيحات بعد الإفراز، مما يؤدي إلى ارتباط الصفيحات مع مستقبلات على سطح العدلات والوحيدات[91].

ويلخص الجدول (3) أهم العوامل والمواد الحيوية التي تحتويها الحبيبات إلفا.

الجدول (3) أهم العوامل والمواد الحيوية التي تحتويها الحبيبات إلفا

تصنيف المجموعة	العوامل التي تحتويها
البروتينات الإلتصاقية	Fibrinogen Fibronectin Thrombospondin I
عوامل التخثر ومضادات التخثر	Factor V FVII FVIII Factor IX Protein S Anti-thrombin
عوامل النمو	Platelet-derived growth factor Transforming growth factor beta-I endothelial growth factor 2 insulin-like growth factor vascular endothelial growth factor Fibroblast growth factor I&II
السيتوكينات والكيموكينات	IL1, IL2, IL6, IL8. IL10, IL11 Tumor necrosis factor.a Platelet factor 4 stromal cell derived factor-1
الغليكوبروتينات الغشائية	P-selectin

2.2 الصفيحات وعملية الإصلاح النسيجي

يُعرَّفُ الإصلاح النسيجي بأنه العملية التي تتم من خلالها استعادة بنية ووظيفة النسيج بعد الأذية، وتتألف عملية الإصلاح النسيجي من أربع مراحل مستمرة ومتداخلة ومنظمة بشكل دقيق، حيث يتم تنظيم كل من هذه المراحل بدقة والانتقال للمرحلة التالية من أجل الوصول إلى شفاء مثالي للنسيج المتأذي.

نذكر فيما يلي مراحل الإصلاح النسيجي والدور الذي تؤديه الصفيحات في كلٍ منها

1.2.2 المرحلة الأولى: مرحلة الإرقاء والتخثر

تبدأ الصفيحات عملية الإرقاء وتنظمها، وتعد من أول الخلايا الواصلة إلى مكان الأذية لتتفعل مباشرة، كما تفرز عوامل جاذبة للمزيد من الصفيحات التي تلتصق في موقع الأذية من أجل تشكيل السدادة الصفيحية[92].

في البداية تساهم الصفيحات المفعلة بتشكيل الخثرة الدموية حيث تفرز العامل الخامس من الحبيبات ألفا والذي يرتبط مع العامل العاشر من أجل تشكيل مفعل البروثرومبين، ويتواسط مفعل البروثرومبين تشكيل الثرومبين الذي يؤدي إلى تحويل الفيبرونوجين إلى الفيبرين، كما يرتبط الثرومبين مع مستقبلات صفيحية لتفعيل العامل الثالث عشر.

تشكل الصفيحات جزءً أساسياً من الخثرة المتشكلة كما تعمل الصفيحات على جذب الكريات البيض لداخل الخثرة مما يعزز ترسب الفيبرين في الخثرة، وأخيراً يعد تقلص الليفات المتواجدة في الصفيحات مسؤولاً عن إنكماش الخثرة الدموية في وقت لاحق، وهكذا تؤدي الصفيحات دوراً أساسياً في إغلاق مواقع الأذية وبداية عملية الشفاء[93].

2.2.2 المرحلة الثانية: المرحلة الالتهابية

تضم الحدثية الالتهابية تفاعلاً متداخلاً ما بين الصفيحات الدموية والكريات البيض وجدر الأوعية الدموية، إذ تتحدد الاستجابة الالتهابية موضعياً في مناطق الأذية عبر سبل مشتركة، كما يتم التحكم بالآليات التنظيمية الموضعية بحيث تكون سعة الإستجابة البدئية متوافقة مع الموت الخلوي في الأنسجة المتأذية[94].

في هذه المرحلة تقوم الصفيحات بتصنيع العوامل ماقبل التهابية بشكل سريع مثل (TXA2)، كما تطلق السيروتونين والهيستامين اللذان يزيدان من النفوذية الوعائية مما يسمح بوصول المزيد من الخلايا الالتهابية إلى

موقع الأذية، ويحفز السيروتونين توظيف العدلات في مواقع الالتهاب الحاد، بالإضافة لذلك تعمل الصفيحات على تحفيز تجمع الكريات البيض في مواقع الالتهاب ومساعدة الخلايا على الهجرة ضمن جدار الوعاء، إذ يساعد التصاق الصفيحات على احتجاز الكريات البيض في مواضع الأذية، كما ترتبط مستقبلات (P-selectin) على سطح الصفيحات المفعلة مع مستقبلاته الموجودة على سطح الكريات البيض، وتحرر الصفيحات مجموعة من السيتوكينات والكيموكينات التي تجذب الخلايا المناعية وتقوم بدور هام في الحدثية الالتهابية كالانترلوكين (IL-8) والعامل المثبط لهجرة البالعات[95].

تُعَدُّ العدلات أول الخلايا الواصلة إلى موقع الأذية لتقدم حماية سريعة من الإنتان من خلال إزالة البقايا الخلوية، حيث تعمل على تحرير مواد فعالة متنوعة كالجذور الأكسجينية والببتيدات المضادة للإنتان والبروتياز، والتي تملك خواصاً تزيد الأذية النسيجية وتؤدي للموت الخلوي[96].

تعيش العدلات لفترة قصيرة لا تتجاوز عدة ساعات، ويبدأ تدفق الوحيدات واللمفاويات التائية، حيث تتمايز الوحيدات إلى البالعات التي تصبح النموذج الخلوي المسيطر، وتعيش لمدة تتراوح بين عدة أيام وحتى عدة أشهر.

تحفز السيتوكينات قبيل الالتهابية تحول الوحيدات للنمط قبيل الالتهابي للبالعات والمترافق مع إنتاج مستويات عالية من السيتوكينات الالتهابية مثل (IL6, TNF)، ولكن فيما بعد وقبيل نهاية هذه المرحلة تتحول البالعات إلى النمط البنائي، ويترافق هذا التحول مع إنتاج الانترلوكينات (IL4, IL23)، كما يترافق مع زيادة في عوامل الشفاء النسيجي كالعوامل (bFGF,TGF, PDGF) والتي تساهم في عملية الشفاء من خلال التكاثر الخلوي وتصنيع المادة الخلالية وتكون الأوعية.

تهاجر الأورمات الليفية إلى موقع الأذية وتبدأ بالتكاثر مشكلة المادة خارج الخلية، وتقوم الخلايا البطانية للأوعية الدموية بالتكاثر مشكلة شعيرات دموية جديدة تمتد إلى موقع الأذية لتبدأ عملية تكوين الأوعية[97]، وهكذا تنتهي المرحلة الالتهابية بتشكيل نسيج حبيبي غني بالشعيرات الدموية وصانعات الليف مما يقدم بيئة مناسبة للإصلاح النسيجي[98].

يُعَدُّ التحول من الفعاليات قبيل التهابية إلى الفعاليات قبيل الشفاء شرطاً أساسياً لنجاح الإصلاح الفعال للنسيج، حيث يترافق الشفاء المتأخر باستجابة التهابية مزمنة مع تراكم مطول للعدلات والبالعات وارتفاع مستويات السيتوكينات قبيل التهابية.

3.2.2 المرحلة الثالثة: مرحلة التكاثر الخلوي

في هذه المرحلة يتناقص عدد الخلايا الالتهابية وتقوم الأرومات الليفية بتصنيع الكولاجين والإليستين بالإضافة للمكونات الأخرى للمادة خارج الخلية، كما تقوم الخلايا الظهارية المتبقية والخلايا المهاجرة إلى موقع الأذية بالتكاثر مما يؤدي لتشكل الندبة، والتي يتم تعديلها فيما بعد من خلال التوازن بين إنتاج المادة خارج الخلية والإنحلال المُحدث بأنزيم البروتياز [99].

تكتمل عملية إزالة البقايا النسيجية المتنخرة خلال هذه المرحلة، إذ يتم استبدالها بنسيج حي يتناسب مع النسيج الموضعي، كما تؤدي زيادة نفوذية الطبقة البطانية إلى تسرب البروتينات البلازمية وتوضعها في الدعامة المؤقتة التي ساهمت الصفيحات والكريات البيض في تشكلها.

تهاجر الخلايا الجذعية إلى هذه الدعامة كاستجابة للعديد من السيتوكينات المفرزة من قبل الصفيحات والخلايا المناعية، كما تنضم لها خلايا سليفة لأنماط متمايزة من الخلايا كالخلايا العظمية والعضلية وخلايا الأنسجة الضامة. تخضع هذه الخلايا السليفة لتأثير العديد من العوامل كعوامل النمو والستوكينات والهرمونات والمغذيات، مما يؤدي لتمايزها إلى النمط الخلوي النوعي المسيطر نسيجياً[100].

عندما يتم تفعيل الصفيحات تقوم الحبيبات إلفا بإفراز محتوياتها لترتبط مع مستقبلات في الخلايا الهدفية مما يفعل بروتينات إشارة داخل خلوية تؤدي للتعبير عن تسلسل جيني يقود إلى بدء عملية التكاثر الخلوي[101].

تبدأ الصفيحات بإفراز هذه البروتينات بعد التخثر بحوالي عشر دقائق مع ذروة إفراز خلال الساعة الأولى، وذلك على العكس من الخلايا الأخرى كالخلايا البطانية والبالعات والتي تحتاج لعدة ساعات إلى أيام لتصنيع عوامل النمو، وبالإضافة لذلك تملك الصفيحات القدرة على تصنيع وإفراز عوامل إضافية خلال فترة حياتها وذلك لفترة تصل حتى عشرة أيام.

تؤثر البروتينات العديدة التي تفرزها الصفيحات على نواحي متعددة من عملية الشفاء، فعلى سبيل المثال يقوم العامل(PDGF) بجذب البالعات، بينما تشترك العوامل (PDGF, TGF-b, IGF) بعملية الجذب الكيميائي والانقسام الخلوي للخلايا الجذعية، كما تحفز تكون الأوعية الجديدة وتصنيع الكولاجين، وتساعد العوامل (TGF-β,PDGF) في عملية تمعدن العظام[102].

يعد تكون الأوعية من أهم الأحداث في المرحلة الثالثة حيث يقوم البروتياز بتحفيز هجرة الخلايا البطانية لتشكيل الأنبوب الوعائي وذلك من خلال تعديل بروتينات الغشاء القاعدي، كما أنه يطلق جزيئات مولدة للأوعية الدموية مخزنة في المادة خارج الخلية مما ينتج بيئة مجهرية مساعدة على تكون الأوعية، وتفرز الصفيحات العامل (VEGF-a) والذي يقوم بتحفيز تكون الأوعية ونموها وتفرعها بشكل منتظم، كما تحرر العامل (PDGF-b) الذي يعمل على الخلايا المحيطة بالأوعية، بالإضافة لذلك تحرر الصفيحات العامل الصفيحي الرابع الذي يعمل على تنظيم تكون الأوعية من خلال معاكسة هذه العوامل [103].

4.2.2 المرحلة الرابعة: إعادة تشكيل النسيج

في هذه المرحلة تحدث عملية إعادة تشكيل للنسيج المتكون حديثاً من أجل أن يصبح أكثر شبهاً بالنسيج الأصلي، حيث تنقص كثافة الخلايا والتروية الدموية وينقص محتوى السوائل والفعالية الاستقلابية في المنطقة. كما يتم تعديل اتجاه ألياف الكولاجين وتنظيمها في المادة الخلالية لتكون متناسبة مع قوى الشد، ويتم استبدال الكولاجين من النمط الثالث بكولاجين من النمط الأول وذلك تحت تأثير الأنزيمات المفرزة من الأورمات الليفية والخلايا البطانية[104].

تعتمد هذه المرحلة إلى حد كبير على القدرة التجددية للنسيج المتأذي، فعلى سبيل المثال يحدث تجدد كامل للعناصر الخلوية المتأذية بواسطة تكاثر وتمايز الخلايا الجذعية الباقية عندما تحدث الأذية في نسيج ذو قدرة تجددية عالية، كما يمكن أن يحدث التجدد الكامل بالاعتماد على خصائص الأذية في الأنسجة ذات القدرة التجددية المتوسطة، بينما لا يتم إصلاح النسيج بشكل كامل عند حدوث الأذية في نسيج ذو قدرة تجددية منخفضة كالقلب أو الجهاز العصبي المركزي مما يترك ندبة في مكان الأذية[105]، وقد تمتد المرحلة الأخيرة من

الشفاء إلى مدة طويلة تصل لعدة سنوات ويعد التوازن بين عمليتي التصنيع والانحلال هاماً من أجل الوصول إلى إصلاحٍ أمثل للنسيج المتأذي[106].

دور الصفيحات في تنظيم الموت الخلوي وبقاء الخلايا

خلال مراحل الإصلاح النسيجي السابقة تقوم الصفيحات بتنظيم التوازن ما بين عمليتي الموت الخلوي المبرمج وبقاء الخلايا وذلك من خلال المواد التي تحررها، فعلى سبيل المثال يقوم السيروتونين والأدينوزين ثنائي الفوسفات بحماية الخلايا، بينما يقوم الغليكوبروتين الغشائي (CD40L) بتنظيم وتحفيز الموت الخلوي المبرمج، كما تحرر الصفيحات بروتيناً آخر هو (TNF-related apoptosis-inducing ligand) والذي يقوم بتنظيم الموت الخلوي في عدد من الخلايا كالأورمات الليفية والعدلات والوحيدات، وذلك كآلية مضادة للالتهاب[107].

عوائق الشفاء النسيجي

يوجد العديد من العوامل المؤثرة على سير عملية الشفاء النسيجي، وتُصنف هذه العوامل إلى مجموعتين رئيسيتين هما:

- **العوامل الموضعية**

نذكر منها قابلية الحياة الخاصة بالنسيج المتأذي، وحدوث الانتان في منطقة الأذية، وعدم كفاية التروية الدموية، ووجود جسم أجنبي في منطقة الأذية.

- **العوامل الجهازية**

نذكر من هذه العوامل الداء السكري والتقدم بالسن ووجود الأمراض الالتهابية المزمنة.

تؤثر هذه العوامل بشكل مباشر على الآليات الفيزيولوجية لعملية الشفاء النسيجي مما يسبب مضاعفات سريرية متعددة مثل التندب الشاذ أو الألم[108].

3.2 البلازما الغنية بالصفيحات: مقدمة تاريخية

عُرف مصطلح البلازما الغنية بالصفيحات (Platelet-rich plasma ـ PRP) لأول مرة في مجال أمراض الدم، حيث استُخدم في السبعينيات لوصف البلازما التي تحتوي تعداداً من الصفيحات أعلى من المستويات الطبيعية، وكانت هذه البلازما تُستخدم في علاج المرضى المصابين بقلة الصفيحات[109].

بعد ذلك تم استخدام مشتقات البلازما الغنية بالصفيحات في التسعينيات على هيئة فيبرين غني بالصفيحات، من أجل الاستفادة من خصائص الفيبرين الالتصاقية لتحفيز التئام الجروح التالي لبعض الجراحات الفكية[110].

فيما بعد أصبح استخدام البلازما الغنية بالصفيحات شائعاً في الإصابات الرياضية للجهاز العضلي الهيكلي، حيث أثبتت بعض الدراسات أن البلازما الغنية بالصفيحات تمتلك قدرة خاصة على تحفيز تصنيع الكولاجين والنسيج الضام، مما جعل استخدامها واسعاً بالمشاركة مع المعالجات الأخرى بعد الأذيات الوترية والرباطية[111] وبعد أذيات العمود الفقري كعامل مساعد على شفاء العظام[112].

كما استُخدمت البلازما الغنية بالصفيحات في حقول طبية أخرى كالأمراض الجلدية وذلك لمعالجة القرحات المزمنة والحادة، حيث تعمل البلازما الغنية بالصفيحات على تحفيز هجرة وتكاثر الأورمات الليفية الجلدية، كما تحفز الصفيحات عودة تكون الأوعية وتعويض البنى الجلدية المختلفة[113].

بالإضافة لذلك استُخدمت البلازما في الأمراض العينية، حيث أثبتت عدة دراسات أن البلازما الغنية بالصفيحات تؤدي دوراً مفتاحياً في علاج متلازمة جفاف العين والقرحات القرنية، وذلك بتحفيز هجرة وتكاثر الخلايا الكيراتينية والأورمات الليفية في الملتحمة والخلايا البطانية[114].

في مجال الأمراض العظمية والمفصلية أظهرت عدة دراسات قدرة البلازما الغنية بالصفيحات على تحفيز عودة نمو العظام والغضاريف والأوتار من خلال تعديل عدة آليات تتضمن تكاثر الخلايا الجذعية المتوسطية وتكاثر الخلايا الغضروفية والتمايز الغضروفي وبناء المادة الخلالية[115]، بالإضافة إلى تحفيز تكاثر الخلايا طليعة العظم وتكاثر الخلايا الجذعية لنقي العظام وتمايزها لخلايا عظمية[116].

وهكذا أصبح استخدام البلازما الغنية بالصفيحات شائعاً خلال السنوات الأخيرة وذلك في مجالات متعددة تتضمن الجراحة العظمية والجراحة التجميلية والجراحة الوجهية الفكية والعينية والطب الرياضي[117].

4.2 تعريف البلازما الغنية بالصفيحات

تُعرَّفُ البلازما الغنية بالصفيحات بأنها مقدار من البلازما الدموية التي تحتوي على تركيز من الصفيحات الدموية أعلى من التركيز المتواجد في الحالات الطبيعية وعادة ما يبلغ تركيز الصفيحات (3-5) أضعاف التركيز الطبيعي[118].

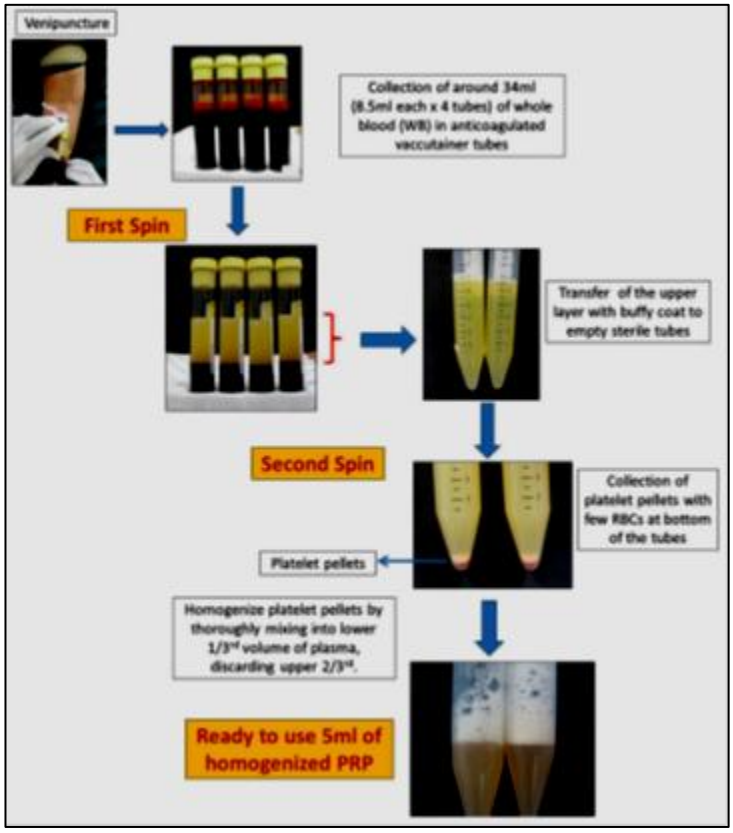
يعتمد الأساس العلمي للمعالجة بالبلازما الغنية بالصفيحات على تحفيز بدء عملية الإصلاح النسيجي عند حقن هذه البلازما في مواضع الأذية، وذلك من خلال تحرر العديد من العوامل الحيوية الفعالة كعوامل النمو والسيتوكينات، إذ تحفز التراكيز العالية للصفيحات تحرراً زائداً لعوامل النمو من أجل إحداث قفزة بدئية في شفاء الأذيات المزمنة، وتحفيزاً لعملية الإصلاح في الأذيات الحادة، كما يؤدي تحرر البروتينات الإلتصاقية لبدء عملية الإرقاء وتصنيع النسيج الضام وإعادة تكون الأوعية[119]، وتعمل عوامل النمو والسيتوكينات والعوامل الموضعية الأخرى كعوامل منظمة في جميع مراحل عملية الإصلاح النسيجي، حيث تقوم بتنظيم هجرة الخلايا وتكاثرها وتمايزها كما تحفز تكوين المادة خارج الخلية[120].

يعد تعديل العملية الالتهابية من أهم الآليات التي تؤثر بها البلازما عند معالجة الأذيات النسيجية المختلفة، فقد أثبتت البلازما الغنية بالصفيحات قدرتها على تعديل إنتاج وتوظيف الخلايا الالتهابية المفتاحية في موقع الأذية، إذ يؤدي وجود الصفيحات المفعلة بتركيزٍ عالٍ إلى إيجاد حالة من التوازن بين العوامل المضادة للالتهاب والعوامل ما قبل الإلتهابية، وذلك من أجل إنهاء الحالة الالتهابية سريعاً والبدء بالمرحلة التالية من الإصلاح النسيجي، مما يساعد على حدوث الإصلاح النسيجي بشكل أفضل[121].

يعد أمان الاستخدام من أهم الخواص التي تتميز بها البلازما الغنية بالصفيحات، حيث أن البلازما الغنية بالصفيحات هي منتج ذاتي لا يملك تأثيرات جانبية ذات أهمية، كما أنه في السنوات الأخيرة أصبح تحضير البلازما يعتمد على أدوات ذات تقنية حديثة وذلك للحصول على مادة حيوية يمكن استخدامها في طيف واسع من المجالات الطبية[122].

5.2 استخلاص البلازما الغنية بالصفيحات

تعتمد العملية الأساسية لاستخلاص البلازما الغنية بالصفيحات على فصل الجزء السائل للدم عن المكونات الصلبة وذلك باستخدام قوى الجاذبية، ففي البداية يتم سحب كمية من الدم بوجود عامل مضاد للتخثر أو بدونه، ثم يُثقل الدم لمرة واحدة مما يفصل البلازما والصفيحات عن الكريات الحمر بينما تشكل الكريات البيض طبقة رقيقة بيضاء (الغلالة البيضاء) على سطح الكريات الحمر، بعد ذلك يتم سحب البلازما والطبقة البيضاء ليتم تثقيلها للمرة الثانية مما يؤدي لترسب الصفيحات في الجزء السفلي منها ويُسحب هذا الجزء وتُضاف مادة مفعلة للصفيحات مثل كلور الكالسيوم أو الثرومبين خارجي المنشأ، مما يؤدي لإطلاق شلال التخثر وتفعيل الصفيحات[123]، ويظهر الشكل (1) الطريقة العامة لتحضير البلازما الغنية بالصفيحات[124].



الشكل (1) يوضح الطريقة العامة لاستخلاص البلازما الغنية بالصفيحات

6.2 خصائص البلازما الغنية بالصفيحات

1.6.2 تعداد الصفيحات

عند تحضير البلازما الغنية بالصفيحات يجب أن يكون تعداد الصفيحات أعلى من المستويات الطبيعية والتي تتراوح (140,000 - 400,000 صفيحة/ ميكروليتر)، ويعود هذا المدى الواسع إلى اختلاف تعداد الصفيحات بين الأفراد، كما قد يختلف التعداد عند نفس الشخص تبعاً لعوامل متعددة.

يمكن تصنيف البلازما الغنية بالصفيحات تبعاً لتركيز الصفيحات إلى مجموعتين رئيسيتين

- بلازما غنية بالصفيحات ذات تراكيز منخفضة حيث يبلغ تركيز الصفيحات (1–3) أضعاف التعداد الطبيعي
- بلازما غنية بالصفيحات ذات تراكيز عالية حيث يبلغ تركيز الصفيحات (4–9) أضعاف التعداد الطبيعي.

أظهرت الدراسات ضمن المختبر تأثيرات مرتبطة بالجرعة عند استخدام البلازما الغنية بالصفيحات[125]، كما أظهرت عدم زيادة التأثيرات الإيجابية عند زيادة الصفيحات لتراكيز عالية جداً حيث أن زيادة عوامل النمو الخاصة بالصفيحات لا يقدم فائدة إضافية عند انشغال المستقبلات الخلوية الخاصة بها بشكل كامل، وعلى العكس من ذلك قد تؤدي هذه الزيادة إلى تأثيراتٍ سلبية على الوظائف الخلوية، فعلى سبيل المثال أظهرت دراسة أجراها (Choi et al) [126] أن التراكيز العالية للصفيحات في البلازما تؤدي لتأثيرات ضارة على النمو العظمي. في البداية اقترحت الدراسات الباكرة أن وجود الصفيحات بتراكيز تبلغ (2.5-3) أضعاف التعداد الطبيعي يقدم الفائدة الأمثل لاستخدام البلازما الغنية بالصفيحات[127]، بينما أظهرت دراسات لاحقة نتائجاً مخالفة، فعلى سبيل المثال وجد (Giusti et al) [128] أن تركيز الصفيحات المثالي لتحريض تكاثر الخلايا البطانية ضمن المختبر يجب أن يبلغ (5-7) أضعاف التعداد الطبيعي. ونظراً لقلة الدراسات التي تقارن بين أنماط البلازما ذات التراكيز المختلفة من الصفيحات وذلك عند استخدامها في نفس الاستطبابات، فإنه يمكن الاستنتاج أن التركيز المثالي للصفيحات يعتمد على النسيج المستهدف والهدف من المعالجة.

2.6.2 استبعاد الكريات الحمر

يتم التخلص من الكريات الحمر خلال عملية تحضير البلازما الغنية بالصفيحات، حيث إن بقاء الكريات الحمر في البلازما يؤدي إلى تأذيها وتحرر الهيموغلوبين والذي يؤدي مع منتجاته إلى تأثيرات مؤذية وسمية على

الأنسجة، إذ تسبب هذه المواد شدة تأكسدية وتفعيلاً لعدد من السبل الالتهابية مما يؤدي لإضطراب دوراني مجهري وتقبض وعائي موضعي وأذية نسيجية نوعية.

كما تؤدي البلازما الغنية بالصفيحات التي تحتوي على الكريات الحمراء إلى استجابة موضعية تسبب تحرر السيتوكينات ذات الفعالية العالية وعوامل مثبطة لهجرة البالعات تقوم بتثبيط هجرة الوحيدات والبالعات والأورمات الليفية مما يسبب اضطراب في الوظائف الخلوية[129]، بالإضافة لذلك لم يتم إثبات أي دور للكريات الحمر في عملية التجدد النسيجي.

وهكذا نظراً لما سبق فإنه يتم تحضير البلازما الغنية بالصفيحات مع التخلص من الكريات الحمر أو تقليلها قدر الإمكان وذلك لمنع حدوث التأثيرات السابقة.

3.6.2 تركيز الكريات البيض

يعتمد وجود الكريات البيض في البلازما الغنية بالصفيحات على التقنية المتبعة أثناء استخلاص البلازما، حيث تؤدي بعض طرق التحضير إلى الحصول على بلازما خالية من الكريات البيض أو تحوي تركيزاً ضئيلاً منها، بينما تعطي طرق أخرى تركيزاً عالياً من الكريات البيض ضمن البلازما[130]. تؤثر الكريات البيض لدرجة عالية على البيئة الحيوية للأنسجة في حالات الأذية الحادة والمزمنة وذلك لدورها في الآليات المناعية والالتهابية، إذ يؤدي وجود الكريات البيض في البلازما الغنية بالصفيحات إلى تأثيرات نوعية على الخلايا والأنسجة، ويعود ذلك بشكل أساسي إلى الخلايا اللمفاوية والعدلات، حيث تتدمر الأسسات والحمضات بسبب غشائها الهش الذي لا يحتمل قوى الطرد المركزي خلال التثقيل[131].

تُعَدُّ العدلات من الخلايا الأساسية في سبل شفائية عديدة، كما تشكل حواجز هامة ضد العوامل الممرضة، بالإضافة لذلك تمتلك العدلات تأثيرات إيجابية على تكون الأوعية خلال عملية الإصلاح النسيجي، ومن جهة أخرى قد تملك العدلات آثاراً سلبية مؤذية، حيث أظهر (Zhou & Wang) [132] أن وجود العدلات بتراكيز عالية يؤدي لحدوث التندب الليفي وإنقاص قوة الأوتار وذلك عند استخدام البلازما الغنية بالصفيحات مع تركيز عالٍ

من العدلات، كما تحرر العدلات عدداً من السيتوكينات الالتهابية والميتالوبروتيناز (MMPs) الخاص بالمادة الخلالية، والتي تحفز الآليات الالتهابية والتقويضية في الأنسجة[133].

من ناحية أخرى يمكن أن يعتبر وجود العدلات مفيداً عندما تكون الاستجابة الالتهابية الفائقة ضرورية كما في المعالجات الحيوية للجروح المزمنة، لذلك يمكن الاستنتاج أن تأثير وجود العدلات في البلازما الغنية بالصفيحات يعتمد على الهدف من المعالجة.

تتواسط اللمفاويات في آليات المناعة الخلوية، حيث تحفز الاستجابة الخلوية الدفاعية ضد العوامل الممرضة، كما تحرر اللمفاويات التائية عدداً من السيتوكينات التي تزيد من استقطاب البلعميات. بالإضافة لذلك تساهم اللمفاويات التائية بشكل غير مباشر في عملية الشفاء النسيجي من خلال تعديل تمايز الوحيدات والعدلات[134].

عند حدوث الأذية النسيجية تغادر الوحيدات مجرى الدم نحو المناطق المتأذية كاستجابة للمحفزات الموضعية، حيث تتمايز إلى نمط البالعات تحت تأثير البالعات الموضعية وبعض عوامل النمو والستوكينات والخلايا المتأذية، ويحدث تمايز الوحيدات بآلية معقدة تؤدي لتحول الوحيدات إلى نمطين مختلفين من الخلايا البالعة، إذ يتصف النمط الأول (M1) بإفراز الستوكينات الالتهابية والعامل المنخر للورم وأكسيد النتريك، مما يحفز الآليات القاتلة للعوامل الممرضة، كما يحرر عامل النمو الوعائي البطاني (VEGF) وعامل النمو الليفي (FGF)، بينما يتصف النمط الثاني (M2) بقدرة عالية على البلعمة، كما ينتج مكونات المادة الخلالية وعوامل جذب كيميائي وعوامل محرضة على تكون الأوعية، بالإضافة للوظائف السابقة فإن النمط الثاني من البالعات يخفف الاستجابة الالتهابية ويعزز إصلاح الأنسجة[135].

أدت المقارنة بين تأثير البلازما الغنية بالصفيحات والكريات البيض (LR-PRP) والبلازما الغنية بالصفيحات والفقيرة بالكريات البيض (LP-PRP) في عدة دراسات إلى الحصول على نتائجٍ متباينة، فعلى سبيل المثال قام (Kim Jun-Ho et al) [136] بإجراء مراجعة منهجية لعدد من الدراسات التي استخدمت البلازما الغنية بالصفيحات في التهاب مفصل الركبة التنكسي، وقد أظهرت الدراسات نتائجاً إيجابية مشابهة عند المقارنة بين (LR-PRP) و(LP-PRP) بالنسبة تحسن الوظيفة وإنقاص الألم، مع زيادة حدوث أعراض جانبية موضعية عند

استخدام (LR-PRP). بينما في مراجعة أخرى تضمنت عدداً من الأبحاث التي درست تأثير استخدام (LR-PRP) على الأذيات الوترية استنتج الباحثون أن تأثير البلازما (LR-PRP) يعتمد على عدة عوامل منها الحالة الحيوية للنسيج المتأذي وتوقيت حقن البلازما، حيث كان استخدام البلازما الغنية بالصفيحات والكريات البيض ذو تأثيرات مفيدة في الطور الباكر بعد الأذية، بينما أدى إلى آثار ضارة في المراحل المتأخرة وذلك بتحفيز الفعاليات الالتهابية التقويضية لمدة مطولة[137].

4.6.2 بنية الفيبرين

يتواجد الفيبرينوجين في البلازما والصفيحات الدموية في الظروف الطبيعية، ويلعب دوراً هاماً في عملية التجمع الصفيحي خلال الإرقاء، كما يشكل الركيزة النهائية لعملية التخثر حيث يتحول الفيبرونوجين القابل للإنحلال إلى الفيبرين الغير قابل للإنحلال.

قام (Choukroun et al) [138]بتطوير الفيبرين الغني بالصفيحات (platelet rich fibrin PRF) لأول مرة في عام 2004، وذلك لاستخدامه بشكل نوعي في مجال الجراحة الفكية.

يتم تحضير الفيبرين الغني بالصفيحات بتثقيل الدم بسرعة عالية بعد سحبه مباشرة دون إضافة مضاد تخثر مما يؤدي لتفعيل عملية التخثر وتشكل علقة الفيبرين الغني بالصفيحات في منتصف الأنبوب بينما تترسب الكريات الحمر في قاع الأنبوب وتبقى البلازما الفقيرة بالخلايا في الأعلى، ويظهر الشكل (2) الفيبرين الغني بالصفيحات[139].

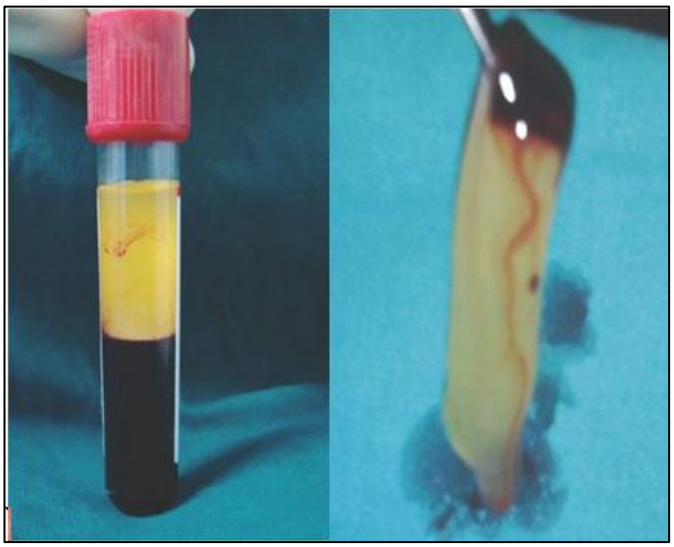
يختلف الفيبرين الغني بالصفيحات (PRF) عن البلازما الغنية بالصفيحات النقية (PRP) في عدة نواحي نذكر منها:

– البنية: تتم بلمرة الفيبرين في (PRP) بشكل مفاجئ وسريع وذلك بالاعتماد على المواد المستخدمة وتنتج روابط ثنائية تشكل شبكة قاسية، بينما في (PRF) تؤدي البلمرة الطبيعية البطيئة إلى تشكيل شبكة فيبرين دقيقة ومرنة مما يجعلها قادرة على دعم تكوين السيتوكينات والهجرة الخلوية[140].

– الخصائص الحيوية: يتم تحرير عوامل النمو بشكل فوري عند استخدام (PRP)، بينما يتم تحريرها بشكل بطيء خلال مدة قد تصل إلى عدة أيام عند استخدام (PRF).

وهكذا نجد أن الفيبرين الغني بالصفيحات يتميز بسهولة التحضير مع التكلفة القليلة، كما يتميز بتأثير طويل الأمد والقدرة على دعم تكون السيتوكينات والهجرة الخلوية، مما يدعم عملية الشفاء النسيجي[141].

من جهة أخرى تعتمد فعالية الفيبرين الغني بالصفيحات على السرعة في العمل حيث يجب تثقيل الدم بعد جمعه مباشرةً (خلال مدة لا تتجاوز 100 ثانية)، كما يجب تطبيقه بشكل مباشر بعد التحضير بسبب تغير خصائصه الحيوية بشكل سريع[142].



الشكل (2) الفيبرين الغني بالصفيحات وعلقة الفيبرين

5.6.2 تفعيل الصفيحات في البلازما

عادة ما يتم تفعيل مستحضرات البلازما الغنية بالصفيحات قبل التطبيق باستخدام كلور الكالسيوم أو الثرومبين خارجي المنشأ، وذلك من أجل تحريض تحرر عوامل النمو بتراكيز أعلى نحو الأنسجة الهدف، فعند تفعيل البلازما الغنية بالصفيحات يتم تحرير حوالي (70%) من مخزون عوامل النمو خلال مدة تصل إلى عشر دقائق[143].

أظهرت الدراسات نتائجاً مختلفة بعد تفعيل البلازما، إذ أظهرت الأنماط المفعلة من البلازما فعالية أقل في شفاء الجروح وتمايز الأورمات الليفية[144]، ولكن من ناحية أخرى أدت هذه الأنماط لتفعيل عودة النمو العظمي بشكل أكبر مقارنة مع البلازما الغير مفعلة[145].

7.2 تصنيف البلازما الغنية بالصفيحات

على مدى السنوات السابقة قام الباحثون بوضع عدة تصنيفات للبلازما الغنية بالصفيحات وذلك بالاعتماد على الخصائص السابقة، ويعد تصنيف (Dohan Ehrenfest classification) المستخدم في هذا البحث واحداً من أهم التصنيفات المعتمدة للبلازما الغنية بالصفيحات[146].

يعتمد هذا التصنيف على وجود الكريات البيض وعلى بنية الفيبرين عند تحضير البلازما، حيث يتم تقسيم البلازما إلى أربعة أنماط:

1.7.2 البلازما الغنية بالصفيحات النقية (Pure-PRP)

يتم تحضير بلازما غنية بالصفيحات تحوي تراكيزاً منخفضة من الكريات البيض أو تكون خالية منها، لذلك تدعى أيضاً البلازما الغنية بالصفيحات والفقيرة بالكريات البيض، ويمكن استخدام البلازما بشكل سائل أو على هيئة جيل بعد التفعيل.

2.7.2 البلازما الغنية بالصفيحات والكريات البيض (Leucocyte- PRP or LPRP)

يتم تحضير البلازما بحيث تحوي تركيزاً عالياً من الصفيحات والكريات البيض مع شبكة فيبرين ذات كثافة منخفضة، وتستخدم بشكل سائل أو على هيئة جيل مفعل.

3.7.2 الفيبرين الغني بالصفيحات (platelet-rich fibrin: PRF)

يتم تحضير البلازما الغنية بالصفيحات بحيث تحوي تركيز منخفض من الكريات البيض أو تكون خالية منها مع وجود شبكة عالية الكثافة من الفيبرين، وتكون البلازما على هيئة جيل من الفيبرين المتماسك.

4.7.2 الفيبرين الغني بالصفيحات والكريات البيض (Leucocyte-rich and platelet-rich fibrin: LPRF)

يتم تحضير البلازما الغنية بالصفيحات والتي تحوي تركيزاً عالياً من الكريات البيض بالإضافة لوجود شبكة عالية الكثافة من الفيبرين.

8.2 الاستخدامات السريرية للبلازما الغنية بالصفيحات

ازداد استخدام البلازما الغنية بالصفيحات خلال السنوات الأخيرة في العديد من المجالات الطبية، ونذكر فيما يلي أهم هذه المجالات:

1.8.2 أمراض وأذيات الجهاز العضلي الهيكلي

أظهرت المعالجة بالبلازما الغنية بالصفيحات نتائجاً واعدة في إعادة بناء العظام بعد الأذيات العظمية، حيث تنظم عوامل النمو التي تحررها الصفيحات عودة النمو العظمي من خلال تحفيز هجرة وتكاثر وتمايز الأورومات العظمية، ولكن على الرغم من ذلك لا يوجد إجماع سريري على استخدام البلازما الغنية بالصفيحات بشكل روتيني بعد الكسور العظمية، حيث بينت مراجعة منهجية لبعض الدراسات فشلها في إثبات فائدة البلازما الغنية بالصفيحات في معالجة الكسور الحادة[147]، بينما أظهرت مراجعة أخرى لعدد من الدراسات نتائجاً سريرية واعدة، مع الملاحظة أن معظم هذه الدراسات تضمنت استخدام البلازما مع المعالجات الحيوية الأخرى[148].

في السنوات الأخيرة ظهر اهتمام واسع بفعالية الحقن المفصلي للبلازما الغنية بالصفيحات، وذلك كمعالجة محافظة في داء الفصال العظمي لمفصل الركبة، وكانت النتائج نوعيةً في أغلب الدراسات.

فعلى سبيل المثال أجرى (Shen et al) [149] مراجعة منهجية لعدد من الدراسات التي تقارن المعالجة بالبلازما الغنية بالصفيحات مع معالجات محافظة أخرى، وقد أظهرت النتائج تحسناً نوعياً في مقاييس التقييم المستخدمة عند المتابعة بعد فترات مختلفة (ثلاثة أشهر، ستة أشهر، سنة واحدة) كما اقترحت النتائج فعالية أفضل للبلازما الغنية بالصفيحات في الحالات الخفيفة والمعتدلة.

كما أظهرت مراجعة منهجية قام بها (Laudy et al) [150] أن حقن البلازما الغنية بالصفيحات يخفض مقاييس الألم ويحسن النتائج الوظيفية بعد المتابعة، وكنتيجة لهذه لدراسات فقد تم اعتبار الحقن البلازما الغنية

بالصفيحات من المعالجات الآمنة في التهاب مفصل الركبة التنكسي مع وجود أدلة من المستوى الأول (level 1) على فعاليتها في إنقاص الألم وتحسين الوظيفة المفصلية[151].

تضمنت العديد من البحوث المجراة دراسة لفعالية المعالجة بالبلازما الغنية بالصفيحات بعد الأذيات الوترية أو التهاب الأوتار، فعلى سبيل المثال اقترحت النتائج في عدد من الدراسات على التهاب أوتار اللقمة الوحشية للعضد أن حقن البلازما الغنية بالصفيحات والكريات البيض (LR-PRP) يسبب تحسناً مستمراً في الأعراض وذلك بالمقارنة مع حقن الستيروئيدات[152]، كما أظهرت دراسات عدة نتائجاً واعدة عند استخدام البلازما الغنية بالصفيحات بالحقن تحت الأخرمي في معالجة التهاب الكم الوتري لمفصل الكتف وذلك بالمقارنة مع الستيروئيدات أو المجموعة الغفل[153,154]، بالإضافة لذلك فقد قام عدد من الباحثين بتقييم فعالية حقن البلازما الغنية بالصفيحات لتدبير التهاب اللفافة الأخمصية المزمن وذلك بإجراء مراجعة منهجية لعدد من الدراسات وقد أكدت النتائج أن البلازما الغنية بالصفيحات يمكن أن تكون معالجة بديلة عن الستيروئيدات مع أفضلية للبلازما في بعض الدراسات[155].

مما سبق يمكن الاستنتاج أن حقن البلازما الغنية بالصفيحات قد يكون معالجة فعالة في هذا المجال ، مع الأخذ بعين الاعتبار كونها معالجة آمنة بالمقارنة مع العلاجات الأخرى[156].

2.8.2 الأمراض الفكية السنية

يعتمد استخدام البلازما الغنية بالصفيحات في هذا المجال على تأثيرها الداعم لشفاء النسيج الضام والهيكلي بالإضافة لدورها كدعامة تضمن السلامة الهيكلية. حيث أثبتت بعض الدراسات تأثيراً نوعياً لاستخدام البلازما الغنية بالصفيحات كأداة لدعم النمو الخلوي ضمن القناة اللبية في المعالجات اللبية السنية[157].

كما أدى استخدام البلازما في الجراحات الترميمية إلى تعزيز شفاء الأنسجة الرخوة والصلبة حول الأسنان، حيث استنتجت أحد الدراسات التحليلية أن المعالجة بالبلازما قد تؤدي لتأثيرات مفيدة في هذا المجال [158]، وأخيراً فقد أظهرت دراسة أجراها (Prataap et al) [159] دوراً نوعياً للبلازما الغنية بالصفيحات في تحسين شفاء النسيج الرخو وإنقاص الألم والتورم بعد الجراحات السنية.

3.8.2 الطب التجميلي

في السنوات الأخيرة أصبحت البلازما الغنية بالصفيحات من المعالجات الشائعة في مجال الطب التجميلي، إذ تم استخدامها في تجديد الجلد ومعالجة الندبات بالإضافة لشفاء الحروق، وذلك بسبب مقدرتها على تفعيل الأورمات الليفية وتصنيع الكولاجين، فقد أظهرت الدلائل السريرية أن استخدام البلازما يحسن بنية الجلد ويقلل التأثيرات الجانبية للمعالجات الساحجة المرافقة[160].

بالإضافة لذلك فقد أثبت استخدام البلازما الغنية بالصفيحات فعالية نوعية لتحفيز نمو الأشعار[161]، ففي إحدى المراجعات المنهجية لعدد من الدراسات السابقة تم تقييم فعالية المعالجة بالبلازما الغنية بالصفيحات في الصلع الأندروجيني المنشأ، وقد أظهرت النتائج أن المعالجة بالبلازما كانت فعالة في زيادة نمو الشعر حيث أدت إلى حدوث زيادة نوعية في كثافة وأقطار الجريبات الشعرية[162].

4.8.2 الجراحة التجميلية

أثبت استخدام البلازما الغنية بالصفيحات بالمشاركة مع معالجات أخرى مثل حمض الهيالورنيك فعالية نوعية في شفاء الجروح الجلدية، ففي دراسة أُجريت على جروح الطرفين السفليين المترافقة بانكشاف العظم ظهرت نتائج نوعية عند المعالجة المشاركة مع البلازما وذلك مقارنةً بالمعالجة بحمض الهيالورنيك بمفرده[163]، كما أظهرت دراسة أخرى نتائجاً نوعية عند استخدام البلازما الغنية بالصفيحات والهيالوماتريكس كعلاج إضافي مع الشق الجراحي في التهاب الغدد العرقية القيحي الشديد[164].

كما أجرى الباحثون عدداً من الدراسات لتقييم استخدام البلازما كعلاج مساعد في قرحات القدم السكرية وعلى الرغم من أن إحدى الدراسات (مراجعة منهجية وتحليلية) قد أظهرت فوائداً نوعية لاستخدام البلازما الغنية بالصفيحات لكن النتائج قد تكون خاضعة للتحيز مما يتطلب القيام بالمزيد من الأبحاث[165].

5.8.2 الأمراض والأذيات العصبية

ازداد تطبيق البلازما الغنية بالصفيحات كمعالجة محافظة لتناذر نفق الرسغ، حيث تملك البلازما تأثيرات مضادة للإلتهاب ومحفزة لتكون الأوعية، بالإضافة لدورها في تحفيز عودة النمو للخلايا العصبية إذ تقوم عوامل النمو

التي تحررها البلازما بالمساهمة في شفاء النسيج العصبي، كما تعمل هذه العوامل على تعديل بنية الكولاجين في قيد القابضات مما يخفف الضغط على العصب المتوسط[166].

قام (Jiabao Jiang et al) [167] بإجراء مراجعة منهجية لعدد من الدراسات الحشدية لمقارنة المعالجة بالبلازما الغنية بالصفيحات مع المعالجات المحافظة الأخرى، وقد أظهرت النتائج أن حقن البلازما الغنية بالصفيحات أكثر فعالية من المعالجات الأخرى على المدى المتوسط وذلك بالنسبة لإنقاص الألم والتورم، وتحسين وظيفة الرسغ على المدى القريب، كما أدى استخدام البلازما إلى تحسن جزئي في مؤشرات الدراسة الكهربائية، وذلك بالمقارنة مع المعالجات الأخرى.

9.2 أمان المعالجة بالبلازما الغنية بالصفيحات

عند استخدام البلازما الغنية بالصفيحات ذاتية المنشأ لا توجد مخاوف من انتقال الأمراض المعدية، أو حدوث ردود الفعل التحسسية[168]، ولكن يعد استخدام البلازما الغنية بالصفيحات غير ممكناً في عدد من الحالات، لذلك قامت (The International Cellular Medical Society) بوضع خطوط إرشادية توضح مضادات استطباب مطلقة ونسبية لاستخدام البلازما الغنية بالصفيحات في المعالجات المختلفة[169].

1.9.2 مضادات الاستطباب المطلقة

- تناذر سوء وظيفة الصفيحات
- نقص الصفيحات الحرج (تعداد الصفيحات < 10000/µl)
- انتان الدم
- الانتان الموضعي في موضع الإجراء
- المريض غير راغب بتقبل المخاطر

2.9.2 مضادات الاستطباب النسبية

- استخدام مستمر لمضادات الالتهاب الغير ستيروئيدية (NSAIDs) خلال اليومين السابقين للإجراء
- المعالجة بالحقن الموضعي للستيروئيدات خلال الشهر السابق

- المعالجة الجهازية بالستيروئيدات خلال الأسبوعين السابقين
- مرض أو حمى حديثة
- مرضى السرطان خاصة السرطانات العظمية أو الدموية
- تعداد الصفيحات أقل من (105000/µl)

الباب الثاني

الدراسة العملية

الفصل الأول

أهمية وأهداف البحث

تُعَدُّ أذيات الأعصاب المحيطية من الأذيات الشائعة التي تؤثر على نوعية الحياة عند الشخص المصاب، حيث تترك معظم الأذيات درجات مختلفة من العجز الوظيفي، وتعتمد نتائج الأذية العصبية المحيطية على خصوصية عملية الشفاء وعودة النمو العصبي والتي تتأثر بعدد كبير من العوامل المختلفة، وبالرغم من معرفة الكثير عن آليات الأذية وعودة النمو إلا أن المعالجات المثبتة التي تؤدي إلى الشفاء الوظيفي التام لازالت قليلة جداً.

تُعرف البلازما الغنية بالصفيحات على أنها مقدار محدد من البلازما الدموية التي تحتوي على تركيزٍ عالٍ من الصفيحات، وتحرر هذه التراكيز العالية من الصفيحات مجموعة متنوعة من عوامل النمو والبروتينات الأخرى، والتي تؤدي بدورها إلى تحفيز تكاثر وتمايز الخلايا مما يسرع عملية الشفاء النسيجي.

وبما أن البلازما الغنية بالصفيحات عادة ما تكون ذاتية المنشأ، فإنها نادراً ما تسبب ردود أفعال مناعية أو خطورة لانتقال الأمراض المناعية.

نظراً لهذه الخصائص فقد اقترحت عدة دراساتٍ استخدام البلازما الغنية بالصفيحات لتدبير أذيات الأعصاب المحيطية، وعلى الرغم من أن معظم الدراسات أعطت نتائجاً إيجابية نوعية، إلا أن بعضها أظهر نتائجاً مغايرة، وقد يعود هذا الاختلاف إلى عدم وجود معايير موحدة للبلازما المستخدمة في هذه الدراسات المتعددة.

يهدف هذا البحث إلى إجراء تقييم لتأثير استخدام البلازما الغنية بالصفيحات على عودة النمو العصبي كعامل مساعد لتحفيز شفاء الأنسجة في الأذيات العصبية المحيطية، بالإضافة لإجراء مقارنة بين عدة أنماط للبلازما الغنية بالصفيحات (حسب تصنيف Dohan Ehrenfest)، وذلك من أجل اختيار النمط الأفضل الذي يمكن استخدامه في هذه الأذيات.

الفصل الثاني

مواد وطرائق البحث

– اعتمد البحث على إجراء دراسة تجريبية معشاة (Randomized Controlled Trail)

– مكان وزمان البحث: تم إجراء البحث في مخبر الفيزيولوجيا في كلية الطب البشري بجامعة دمشق، كما استُخدمت حواضن حيوانات المختبر المتواجدة في كلية الصيدلة بجامعة دمشق، وقد أُجري البحث في الفترة الواقعة ما بين (2019–8) وحتى (2021–8).

– عينة البحث

تم استخدام(60) جرذ من الجرذان البيضاء الذكور من نوع (Wistar albino)، وجرى تقسيم الحيوانات بشكل عشوائي إلى خمس مجموعات متساوية بحيث تحتوي كل مجموعة على إثنا عشر جرذاً.

تم الإحتفاظ بالمجموعة الأولى كمجموعة شاهد (Normal) دون القيام بأي إجراء واستخدمت عند دراسة النتائج من أجل المقارنة. بينما أُجريت أذية سحقية (crush injury) للعصب الوركي الأيمن عند المجموعات (5-4-3-2) وذلك بإتباع الخطوات التالية:

1– تم وزن الحيوان ثم تخديره بالحقن ضمن البيرتوان باستخدام مخدر (ketamine: 50 mg/kg)، بالمشاركة مع مخدر(xylazine: 8 mg/kg) والذي يستخدم عادةً عند الحيوانات[170]، ويوضح الشكل (3) عملية التخدير.

2– شق الجلد واللفافة العضلية للناحية الخلفية للفخذ وكشف العصب الوركي الأيمن بين العضلات الاليوية والعضلات الخلفية للفخذ ويُظهر الشكل (4) كيفية إجراء الشق الجراحي.

3– بعد كشف العصب الوركي تم تطبيق الضغط على العصب باستخدام (clamp) لمدة 60 ثانية كما يظهر في الشكل(5)، حيث تُعَدُّ هذه الطريقة أحد أشيع البروتوكولات المتبعة لإحداث أذية سحقية في العصب الوركي عند الجرذان[171].

4- بالنسبة للمجموعة الثانية تم إغلاق الجرح بخياطة العضلات والجلد، أم بالنسبة لباقي المجموعات فقد تم مسبقاً سحب الدم من الوريد الذيلي واستخلاص البلازما الغنية بالصفيحات من أجل إضافتها إلى موقع الأذية، ومن ثم إغلاق الجرح بخياطة العضلات و خياطة الجلد، ويوضح الشكل (6) إضافة البلازما إلى موقع الأذية.

5- تحضير البلازما الغنية بالصفيحات: تم تحضير البلازما الغنية بالصفيحات في كل من هذه المجموعات، وذلك حسب تصنيف (Dohan Ehrenfest) المعتمد في هذا البحث[140]، وذلك على النحو التالي:

5-1- تحضير البلازما الغنية بالصفيحات النقية platelet rich plasma (PRP) في المجموعة الثالثة سحب (2.7) مل دم من الوريد الذيلي إلى أنبوب يحتوي على (0.3ml) من سيترات الصوديوم ، وتثقيل الانبوب بحيث تكون قوة الطرد المركزي (100xg) وذلك لمدة 10 دقائق، ثم يتم استخدام مِمص لنقل البلازما إلى أنبوب آخر لا يحتوي على مادة مضادة للتخثر وذلك مع تجنب سحب طبقة الكريات البيضاء، حيث نقوم بتثقيل الأنبوب الثاني بقوة (400xg) لمدة 10 دقائق، ثم التخلص من الثلثين العلويين من البلازما والإبقاء على الثلث السفلي، وأخيراً يتم تفعيل الصفيحات باستخدام محلول كلوريد الكالسيوم (0.3ml) بتركيز (10 %).

ويظهر الشكل (7) العينة الدموية بعد التثقيل الأول والمنتج النهائي للبلازما.

5-2- تحضير الفيبرين الغني بالصفيحات platelet rich fibrin (PRF) في المجموعة الرابعة بإتباع الخطوات التالية: سحب 3 مل من الوريد الذيلي إلى أنبوب لا يحتوي على مادة مضادة للتخثر ، ثم تثقيل الأنبوب بقوة طرد مركزي (400xg) وذلك لمدة 10 دقائق، مع الانتباه على تثقيل الدم بعد سحبه مباشرة، ويتم بعد ذلك سحب علقة الفيبرين الغنية بالصفيحات من الطبقة المتوسطة في الأنبوب، ويظهر الشكل (8) علقة الفيبرين الغني بالصفيحات.

5-3- تحضير البلازما الغنية بالصفيحات والكريات البيض leukocyte- platelet rich plasma (L-PRP) كالتالي: يتم سحب (2,7) مل دم من الوريد الذيلي إلى أنبوب يحتوي على (0,3ml) من سيترات الصوديوم، ثم تثقيل الانبوب بقوة (100xg) لمدة 6 دقائق، وبعد ذلك يتم استخدام مِمص لنقل البلازما إلى أنبوب آخر لا يحتوي على مادة مضادة للتخثر، مع الانتباه إلى سحب طبقة الغلالة التي تحوي الكريات البيض مع البلازما. يتم

تثقيل الأنبوب الثاني بقوة (400xg) لمدة 10 دقائق، ثم التخلص من الثلثين العلويين من البلازما والإبقاء على الثلث السفلي، وأخيراً تفعيل الصفيحات باستخدام محلول كلوريد الكالسيوم (0.3ml) بتركيز(10 %).

6- العناية بالحيوانات بعد العمل الجراحي:

6-1- إعطاء الحيوانات مسكناً للألم (tramadol 1 mg/kg) وصاد حيوي (cefazolin sodium 500 mg/kg) بالتجريع الفموي يومياً، وذلك بعد إجراء الجراحة مباشرة ولمدة 5 أيام تالية.

6-2- تغيير ضماد الجرح يومياً مع تطبيق مرهم مطهر (بوفيدون)

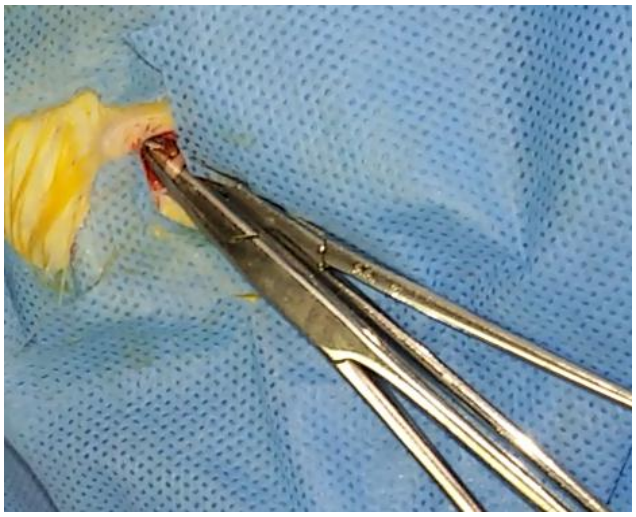
6-3- فك القطب الجراحية للجلد بعد 10 أيام من الجراحة

ملاحظة: تم اعتماد توصيات وإرشادات معهد مصادر حيوانات المختبر في المجلس الوطني للبحوث (Institute of Laboratory Animal Resources, National Research Council) وذلك بالنسبة لتنفيذ إجراءات ماحول العمل الجراحي[172].

أثناء المتابعة بعد العمل الجراحي مات ستة من الحيوانات التي أُجريت لها الجراحة خلال الأسبوع الأول، وقد توزعت بين المجموعات كالتالي(اثنان من مجموعة Damaged، واثنان من مجموعة PRP، وحيوان واحد من مجموعة PRF، وحيوان واحد من مجموعة L-PRP) وقد تم إجراء الجراحة لحيوانات إضافية بدلاً منها.

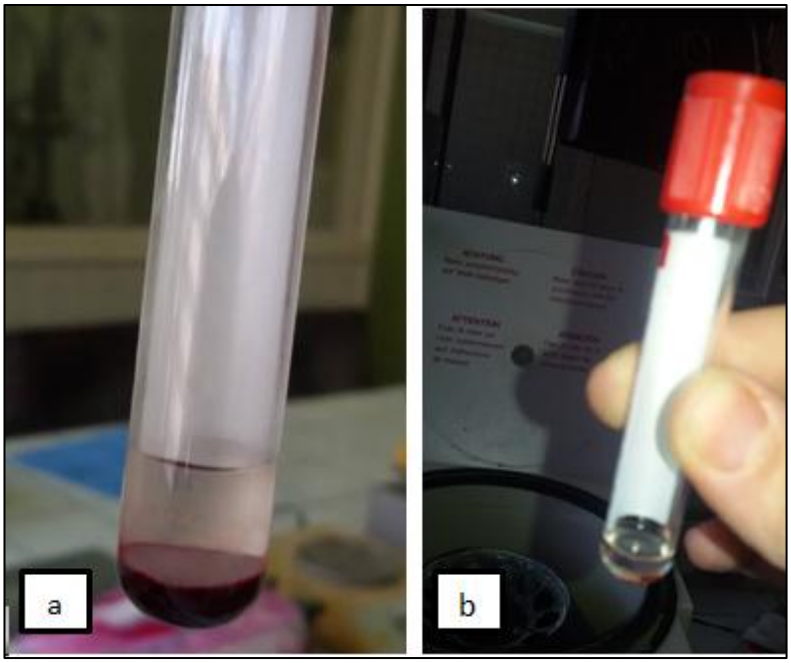
الشكل(3) التخدير ضمن البيرتوان

الشكل (4) إجراء الشق الجراحي

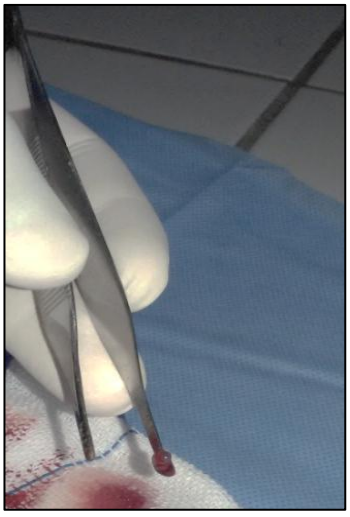


الشكل(5) إجراء الأذية الهرسية للعصب الوركي

الشكل (6) إضافة البلازما الغنية بالصفيحات



الشكل (7): a- العينة الدموية بعد التثفيل الأول b- المنتج النهائي للبلازما الغنية بالصفيحات



الشكل (8) علقة الفيبرين الغني بالصفيحات

الفصل الثالث

قياس النتائج والدراسة التحليلية الإحصائية

قياس النتائج

تم قياس نتائج البحث بإجراء نوعين من الدراسات هما الدراسة الكهربائية الفيزيولوجية والدراسة النسيجية. وقد أُجري التقييم على مرحلتين حيث أُنجزت المرحلة الاولى بعد مرور أربعة أسابيع على الجراحة بإجراء تقييمٍ لستة من الجرذان المختارة عشوائياً من كل مجموعة، بينما تم تقييم الحيوانات المتبقية في المرحلة الثانية بعد مرور ثمانية أسابيع على الجراحة.

1 – نتائج الدراسة الكهربائية الفيزيولوجية

توفر الفحوص الكهربائية الفيزيولوجية فحوصاً كميةً للفعالية العصبية في الحالات الطبيعية وبعد الأذية العصبية، حيث تساعد المعلومات التي تقدمها في تحديد شدة الأذية وموضعها، كما تقدم معلومات هامة حول التغيرات الناتجة خلال مراحل زوال وعودة التعصيب وذلك عند استخدامها في المتابعة بعد الأذية. تعد الدراسات الكهربائية الفيزيولوجية مقاربة متكاملة تتضمن دراسة الناقلية العصبية الحسية والحركية بالإضافة إلى تخطيط العضلات الكهربائي[173].

في هذا البحث تم تسجيل الكمونات الحركية المركبة (compound motor action potential- CMAP)، وقياس زمن التأخر (Latency time) ثم حساب سرعة النقل العصبي (Nerve conduction velocity)، وذلك باستخدام جهاز الأوسيلوغراف (oscilloscope) وفق الخطوات التالية:

1– اختيار ست جرذان بشكل عشوائي من كل مجموعة من المجموعات الخمس

2– تخدير الحيوان بالحقن ضمن البريتوان (ketamine 50 mg/kg - xylazine 8 mg/kg)

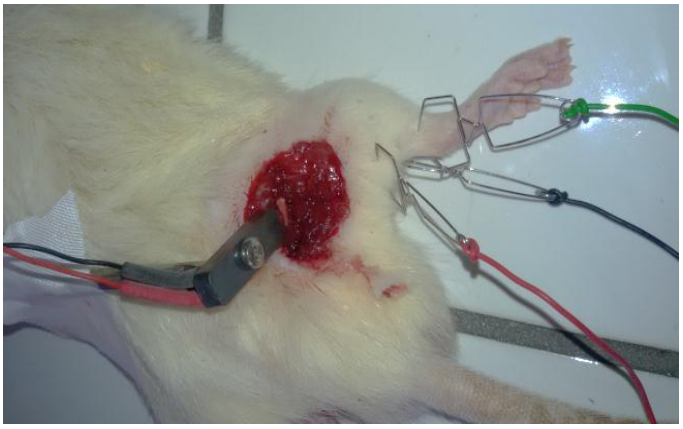
3– الكشف عن العصب الوركي الأيمن كما في الجراحة السابقة

4 – من أجل قياس الكمونات المركبة الحركية تم وضع زوج من أقطاب التنبيه على العصب الوركي بشكل مباشر وأقطاب التسجيل على عضلة الساق الخلفية بحيث وُضع قطب فعال على العضلة وقطب مرجعي على

وتر العضلة البعيد وقطب أرضي على نفس الطرف وكانت المسافة بين أقطاب التنبيه وقطب التسجيل (3cm). استُخدم منبه ذو زمن (0,04ms) من أجل تنبيه العصب الوركي وتسجيل الكمونات الحركية الناتجة مع إعادة الإجراء التنبيه ثلاثة مرات لكل حيوان ثم قياس سعة الكمونات الحركية المركبة في كل من هذه المرات وقياس زمن التأخر، ثم حساب سرعة النقل العصبي.

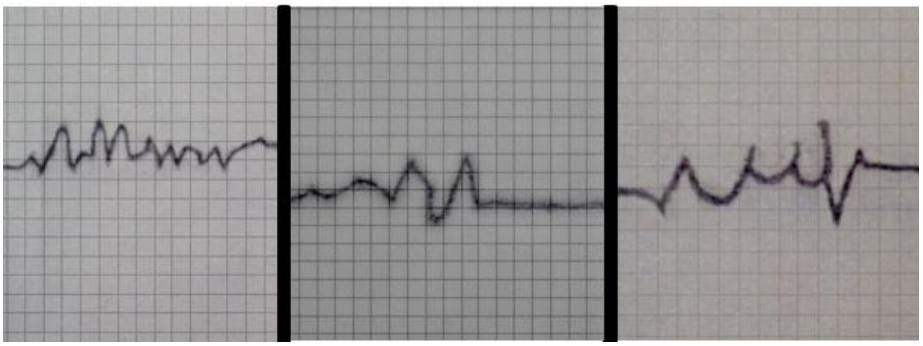
يظهر الشكل (9) ندبة العمل الجراحي، كما يظهر الشكل(10) كيفية وضع الأقطاب.

الشكل (9) ندبة العمل الجراحي



الشكل (10) كيفية تطبيق الأقطاب على العصب والعضلة

بعد مرور ثمانية أسابيع أُجريت المرحلة الثانية من التقييم كما في المرحلة الأولى، حيث تمت دراسة الحيوانات المتبقية بنفس الخطوات السابقة. ويبين الشكل (11) بعض المخططات المسجلة.



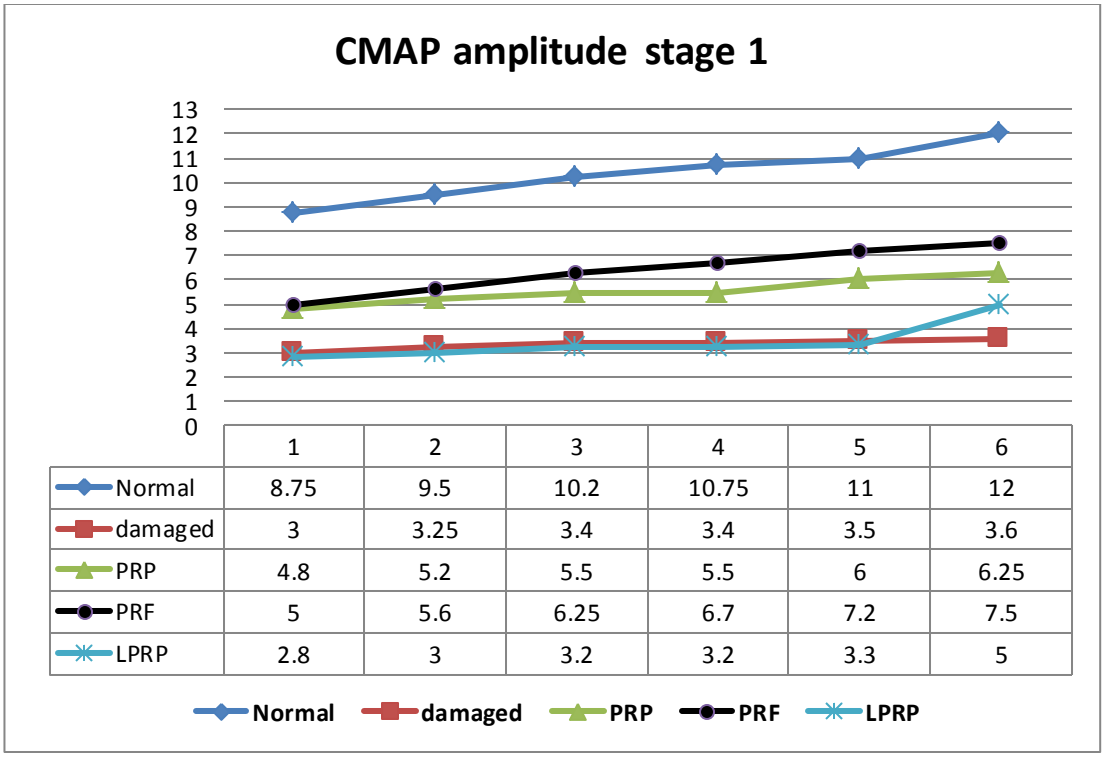
الشكل (11) يظهر بعض مخططات الدراسة الكهربائية

1.1 نتائج الدراسة الكهربائية في المرحلة الأولى

– السعة (amplitude): يظهر الجدول(4) والشكل (12) المتوسطات الحسابية لقياس سعة الكمونات الحركية المركبة للمجموعات الخمسة في المرحلة الأولى من التقييم

الجدول (4) نتائج سعة الكمونات الحركية في المرحلة الأولى

CMAP amplitude after 4 weeks					
GROUP	Normal	Damaged	PRP	PRF	LPRP
	8.75	3	4.8	5	2.8
	9.5	3.25	5.2	5.6	3
	10.2	3.4	5.5	6.25	3.2
	10.75	3.4	5.5	6.7	3.2
	11	3.5	6	7.2	3.3
	12	3.6	6.25	7.5	5
Mean	**10.36**	**3.35**	**5.54**	**6.37**	**3.41**

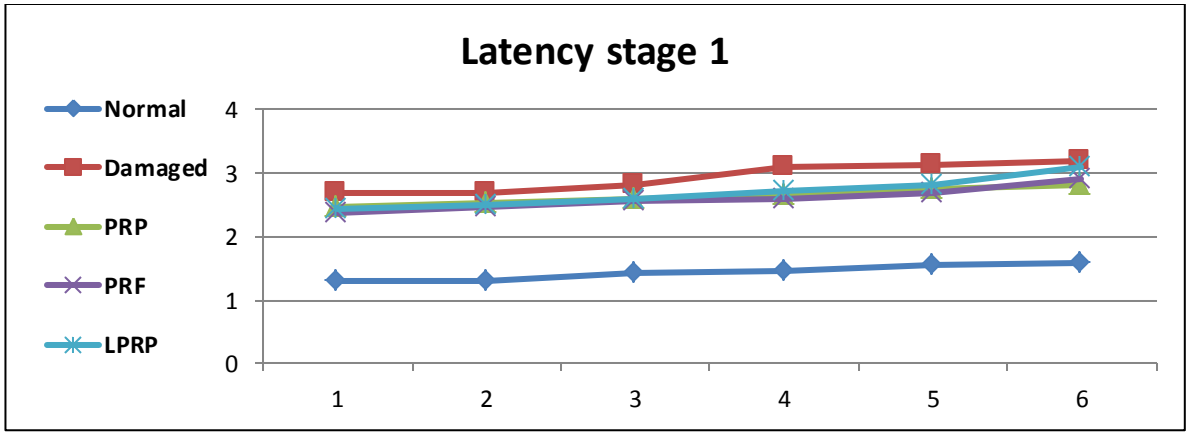


الشكل (12) مخطط تفصيلي يظهر نتائج سعة الكمونات الحركية في المرحلة الأولى

– التأخر أو الكمون (latency): يظهر الجدول(5) والشكل (13) المتوسطات الحسابية لقياس التأخر الكمونات الحركية المركبة للمجموعات الخمسة في المرحلة الأولى من التقييم.

الجدول (5) نتائج زمن التأخر في المرحلة الأولى

CMAP latency after 4 weeks					
GROUP	Normal	damaged	PRP	PRF	LPRP
	1.3	2.7	2.48	2.38	2.44
	1.3	2.7	2.54	2.48	2.5
	1.42	2.8	2.6	2.56	2.58
	1.47	3.1	2.66	2.58	2.72
	1.54	3.14	2.76	2.7	2.8
	1.58	3.2	2.8	2.9	3.1
Mean	**1.43**	**2.94**	**2.64**	**2.6**	**2.69**



الشكل (13) مخطط تفصيلي يظهر نتائج زمن التأخر في المرحلة الأولى

– سرعة النقل العصبي NCV- nerve conduction velocity

تم حساب سرعة النقل العصبي لكل حالة باستخدام المسافة وزمن التأخر باستخدام المعادلة التالية[174]

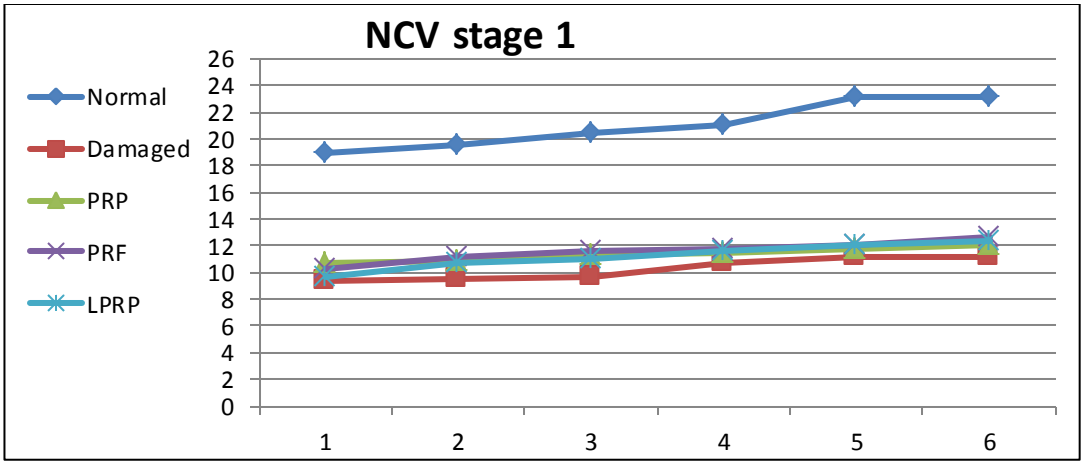
nerve conduction velocity(meter/sec) = distance / latency

ثم إيجاد المتوسط الحسابي لكل مجموعة

ويظهر الجدول(6) والشكل (14) المتوسطات الحسابية لسرعة النقل العصبي للمجموعات الخمسة في المرحلة الأولى من التقييم.

الجدول (6) نتائج سرعة النقل العصبي في المرحلة الأولى

NCV after 4 weeks					
GROUP	Normal	damaged	PRP	PRF	LPRP
	18.98	9.37	10.71	10.34	9.67
	19.48	9.55	10.86	11.11	10.71
	20.4	9.67	11.27	11.62	11.02
	21.12	10.71	11.53	11.71	11.62
	23.07	11.11	11.81	12.09	12
	23.07	11.11	12.09	12.6	12.29
Mean	**21.02**	**10.25**	**11.37**	**11.57**	**11.21**



الشكل (14) مخطط تفصيلي يظهر نتائج سرعة النقل في المرحلة الأولى

ملخص النتائج: نلاحظ من نتائج المرحلة الأولى أن سعة الكمونات والسرعة الأعلى مع التأخر الأقل كانت في مجموعة (PRF) تليها مجموعة (PRP) ثم مجموعة (LPRP) وأخيراً مجموعة الأذية (Damaged)

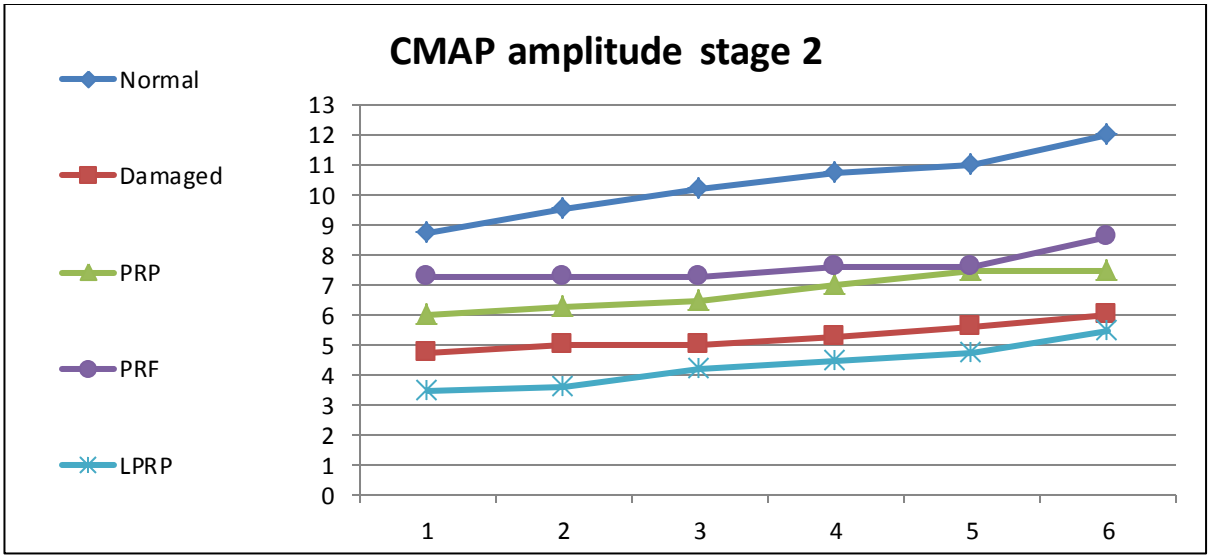
2.1 نتائج المرحلة الثانية

- السعة (amplitude)

يظهر الجدول(7) والشكل (15) المتوسطات الحسابية لقياس سعة الكمونات الحركية المركبة للمجموعات الخمسة في المرحلة الثانية من التقييم

الجدول (7) نتائج سعة الكمونات الحركية في المرحلة الثانية

NCV after 8 weeks					
GROUP	Normal	damaged	PRP	PRF	LPRP
	Normal	damaged	PRP	PRF	LPRP
	8.75	4.75	6	7.3	3.5
	9.5	5	6.25	7.3	3.6
	10.2	5	6.5	7.3	4.2
	10.75	5.25	7	7.6	4.5
	11	5.6	7.5	7.6	4.75
Mean	**12**	**6**	**7.5**	**8.6**	**5.5**



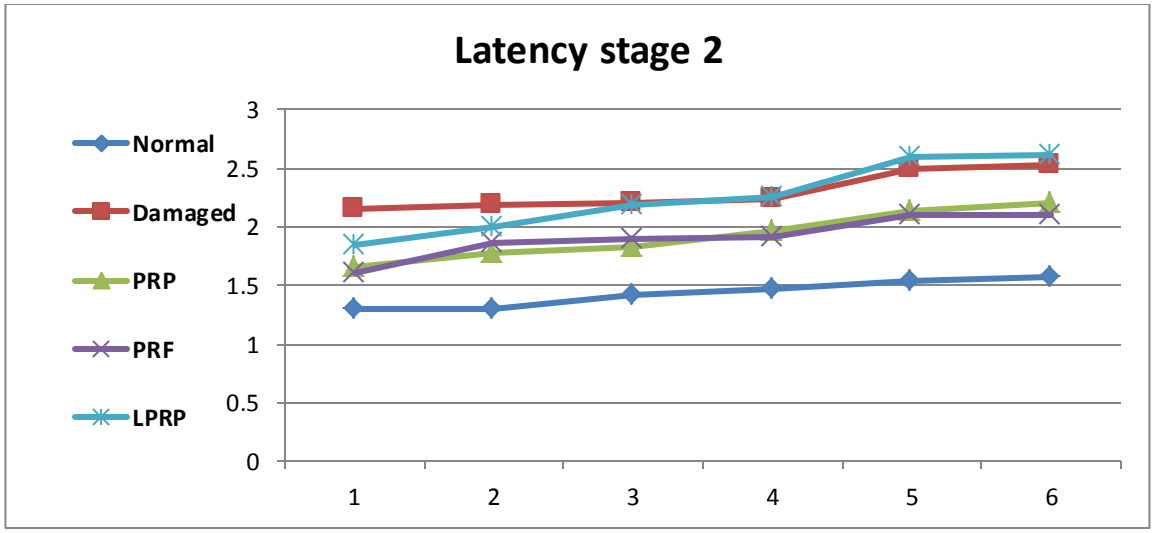
الشكل (15) مخطط تفصيلي يظهر نتائج سعة الكمونات الحركية في المرحلة الثانية

– التأخر أو الكمون (latency)

يظهر الجدول(8) والشكل (16) المتوسطات الحسابية لقياس التأخر الكمونات الحركية المركبة للمجموعات الخمسة في المرحلة الثانية من التقييم

الجدول (8) نتائج زمن التأخر في المرحلة الثانية

Latency after 8 weeks					
GROUP	Normal	damaged	PRP	PRF	LPRP
	1.3	2.16	1.65	1.6	1.85
	1.3	2.18	1.78	1.87	2
	1.42	2.2	1.82	1.9	2.18
	1.47	2.23	1.96	1.92	2.25
	1.54	2.5	2.13	2.1	2.6
	1.58	2.53	2.2	2.1	2.62
Mean	**1.43**	**2.30**	**1.92**	**1.91**	**2.25**



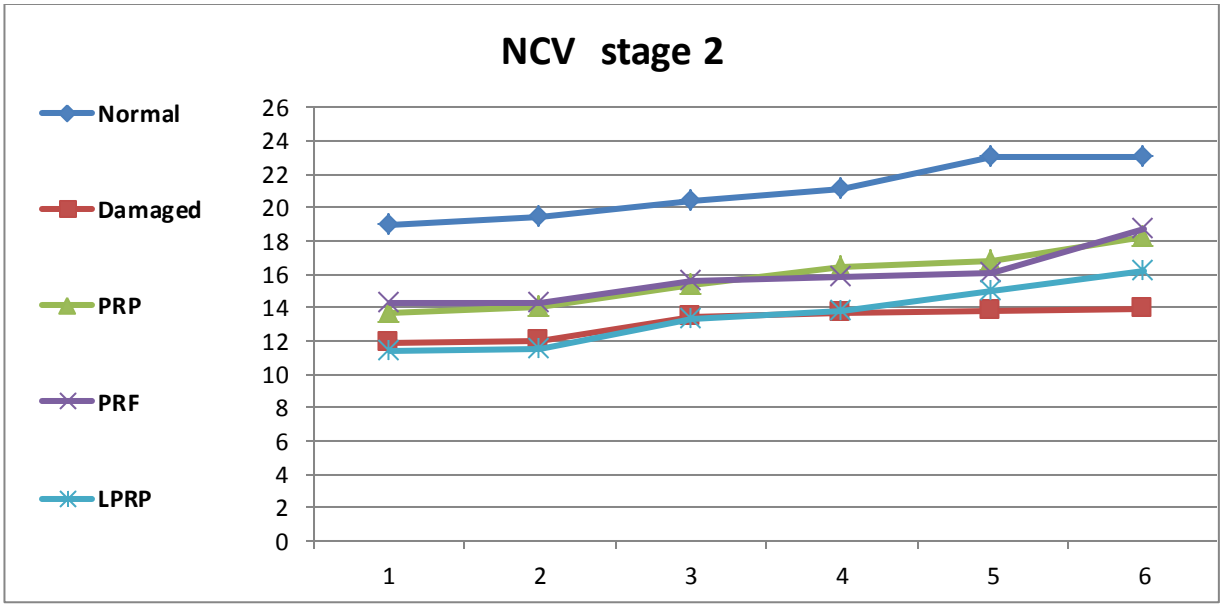
الشكل (16) مخطط تفصيلي يظهر نتائج زمن التأخر في المرحلة الثانية

– سرعة النقل العصبي (NCV) nerve conduction velocity

تم حساب سرعة النقل العصبي لكل حالة باستخدام المسافة وزمن التأخر ثم إيجاد المتوسط الحسابي لكل مجموعة، ويظهر الجدول(9) والشكل (17) المتوسطات الحسابية لسرعة النقل العصبي للمجموعات الخمسة في المرحلة الثانية من التقييم.

الجدول (9) نتائج سرعة النقل في المرحلة الثانية

NCV after 8 weeks					
GROUP	Normal	damaged	PRP	PRF	LPRP
	18.98	11.85	13.63	14.28	11.45
	19.48	12	14.03	14.28	11.53
	20.4	13.45	15.3	15.62	13.33
	21.12	13.63	16.48	15.78	13.76
	23	13.76	16.85	16.04	15
	23	13.88	18.18	18.75	16.21
Mean	**20.99**	**13.09**	**15.74**	**15.79**	**13.54**



الشكل (17) مخطط تفصيلي يظهر نتائج سرعة النقل في المرحلة الثانية

ملخص النتائج: نلاحظ من النتائج أن سعة الكمونات كانت الأعلى في مجموعة (PRF) تليها مجموعة (PRP) ثم مجموعة الأذية (Damaged) وأخيراً (LPRP)، بينما أظهر قياس التأخر وسرعة النقل العصبي أن السرعة الأعلى مع التأخر الأقل كانت في مجموعة (PRF) تليها مجموعة (PRP) ثم مجموعة (LPRP) وأخيراً مجموعة الأذية (Damaged).

3.1 التحليل الإحصائي لنتائج الدراسة الكهربائية الفيزيولوجية

تم استخدام برنامج (SPSS) لإجراء التحليل الاحصائي للنتائج، وذلك بتطبيق اختبار (One way ANOVA) وحساب التفاوت بين المجموعات وضمن المجموعات لإيجاد الفروق بين المتوسطات مع اعتبار الفرق ذو دلالة إحصائية عندما تكون قيمة ($P < 0.05$). وتظهر الجداول (10) و(11) نتائج التحليل الإحصائي للدراسة الكهربائية الفيزيولوجية في المرحلتين الأولى والثانية.

تظهر نتائج التحليل الإحصائي في المرحلة الأولى من التقييم وجود فروق ذات دلالة إحصائية عند مقارنة المجموعة الطبيعية (Normal) مع كل من المجموعات التي تعرضت للأذية حيث كانت ($P < 0.05$) وذلك بالنسبة لقياس السعة والتأخر والسرعة. كما أظهرت النتائج فروقاً ذات دلالةٍ إحصائيةٍ بمقارنة مجموعة الأذية مع

كل من مجموعتي المعالجة (PRP-PRF) في قياس سعة الكمونات بينما لم تظهر المقارنة بين المجموعتين (Damaged&LPRP) فرقاً ذو دلالة إحصائية، من جهة أخرى لم تظهر النتائج فروقاً ذات دلالة إحصائية، بالمقارنة بين مجموعة الأذية وكل من مجموعات المعالجة وذلك بالنسبة لقياس التأخر وسرعة النقل العصبي. كما لم تظهر النتائج فروقاً ذات دلالة إحصائية عند إجراء المقارنة بين مجموعات المعالجة بالنسبة لقياس التأخر وسرعة النقل العصبي، بينما كانت الفروق ذات دلالة إحصائية بالمقارنة بين المجموعات (LPRP&PRF) و(LPRP&PRP) وذلك بالنسبة لقياس سعة الكمونات.

الجدول (10) التحليل الإحصائي للنتائج الكهربائية في المرحلة الأولى

Stage 1								
CMAP Amplitude			**CMAP Latency**			**NCV**		
Groups		**P value**	Groups		**P value**	Groups		**P value**
Normal	Damaged	**.000**	Normal	Damaged	**.000**	Normal	Damaged	**.000**
Normal	PRP	**.000**	Normal	PRP	**.000**	Normal	PRP	**.000**
Normal	PRF	**.000**	Normal	PRF	**.000**	Normal	PRF	**.000**
Normal	LPRP	**.000**	Normal	LPRP	**.000**	Normal	LPRP	**.000**
Damaged	PRP	**.002**	Damaged	PRP	**.136**	Damaged	PRP	**.504**
Damaged	PRF	**.000**	Damaged	PRF	**.069**	Damaged	PRF	**.341**
Damaged	LPRP	**1.000**	Damaged	LPRP	**.282**	Damaged	LPRP	**.646**
PRP	PRF	**.527**	PRP	PRF	**.998**	PRP	PRF	**.998**
PRP	LPRP	**.003**	PRP	LPRP	**.994**	PRP	LPRP	**.999**
PRF	LPRP	**.000**	PRF	LPRP	**.950**	PRF	LPRP	**.986**

في المرحلة الثانية من التقييم أظهرت المقارنة بين المجموعة الطبيعية والمجموعات الأخرى فروقاً ذات دلالة إحصائية وذلك بالنسبة لنتائج قياس سعة الكمونات، كما أظهرت فروقاً ذات دلالة إحصائية بالنسبة لقياس التأخر

وسرعة النقل وذلك عند مقارنة هذه المجموعة مع كلٍ من المجموعتين (LPRP-Damaged) بينما لم تظهر نتائج قياس التأخر والسرعة فروقاً ذات دلالة إحصائية في المقارنات (Normal&PRP) و(Normal&PRF).

عند مقارنة مجموعة الأذية مع كلٍ من مجموعات المعالجة أظهرت النتائج فروقاً ذات دلالة إحصائية في المقارنات (Damaged&PRP) و(Damaged&PRF)، بينما لم تكن الفروق ذات دلالة إحصائية بالمقارنة بين المجموعتين (Damaged&LPRP) وذلك بالنسبة لجميع القياسات. لم تظهر النتائج فروقاً ذات دلالة إحصائية بالمقارنة بين مجموعات المعالجة وذلك بالنسبة لقياس التأخر وسرعة النقل، كما لم تظهر مقارنة سعة الكمونات فرقاً ذو دلالة إحصائية بالمقارنة بين المجموعتين (PRF-PRP)، بينما كانت الفروق ذات دلالة إحصائية عند المقارنة بين (LPRP&PRF) و (LPRP&PRP) وذلك بالنسبة لقياس سعة الكمونات.

الجدول (11) التحليل الإحصائي للنتائج الكهربائية في المرحلة الثانية

Stage 2								
CMAP Amplitude			**CMAP Latency**			**NCV**		
Groups		**P value**	Groups		**P value**	Groups		**P value**
Normal	Damaged	**.000**	Normal	Damaged	**.000**	Normal	Damaged	**.000**
Normal	PRP	**.000**	Normal	PRP	**.011**	Normal	PRP	**.000**
Normal	PRF	**.000**	Normal	PRF	**.013**	Normal	PRF	**.000**
Normal	LPRP	**.000**	Normal	LPRP	**.000**	Normal	LPRP	**.000**
Damaged	PRP	**.031**	Damaged	PRP	**.074**	Damaged	PRP	**.124**
Damaged	PRF	**.000**	Damaged	PRF	**.065**	Damaged	PRF	**.113**
Damaged	LPRP	**.351**	Damaged	LPRP	**.996**	Damaged	LPRP	**.993**
PRP	PRF	**.465**	PRP	PRF	**1.000**	PRP	PRF	**1.000**
PRP	LPRP	**.000**	PRP	LPRP	**.155**	PRP	LPRP	**.268**
PRF	LPRP	**.000**	PRF	LPRP	**.138**	PRF	LPRP	**.249**

2- نتائج الدراسة النسيجية

تؤثر الأذيات العصبية على البنى النسيجية للعصب المحيطي، مما يسبب تبدلات في المحاور وطبقة الميالين بعد الأذية وخلال مراحل عودة النمو، لذلك تستخدم الدراسات النسيجية بشكل شائع في النماذج التجريبية المخبرية، حيث تقدم معلومات هامة عن هذه التبدلات مما يساعد في تقييم عمليات التنكس وعودة النمو[175].

في البحث الحالي تم إجراء الدراسة النسيجية بعد الكشف عن العصب الوركي وإجراء الدراسة الكهربائية ، وذلك حسب الخطوات التالية[176]:

1- تثبيت النسيج باستخدام محلول بارافورمألدهيد المخفف (buffered 4 % paraformaldehyde) لمدة (2-4) ساعات بدرجة حرارة (4^{o})

2- غسل العينات بمحلول مخفف للفوسفات (Phosphate buffer solution-PBS) ثم تحفظ في محلول (glycine 0.2%).

3- غسل العينات بمحلول (PBS) ثلاث مرات لمدة دقيقتين لكل مرة.

4- نقل العينات إلى محلول (osmium tetroxide -OsO_4) في الماء المقطر، وتحفظ بدرجة حرارة (4^{o}) لمدة ساعتين.

5- غسل عدة مرات متتالية في الكحول بتراكيز متزايدة (99%- 30%) وذلك لمدة خمس دقائق في كل مرة

6- نقل العينات لمحلول xylene لمدة 30 دقيقة

7- نقل العينات لشمع البرافين مرتين متتاليتين لمدة 30دقيقة في كل مرة وعمل قوالب بارافين من العينات

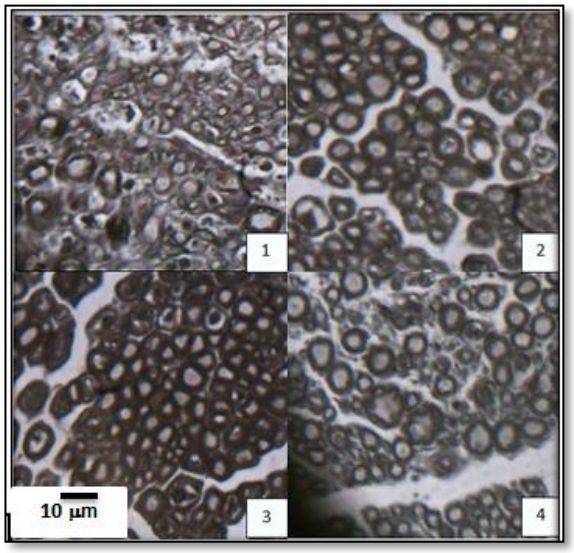
8- قطع العينات إلى مقاطع بسماكة 10-8 ميكرومتر

9- إزالة الشمع بالغسل بمحاليل كحول ذات تراكيز متدرجة ثم بالماء

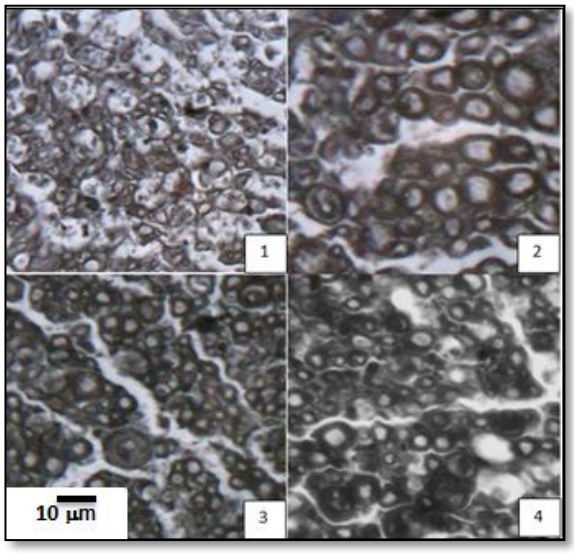
10- تلوين المقاطع النسيجية باستخدام ملون (Masson's trichrome)

11- غسل المحضرات بالماء ثم بالكحول ووضع السواتر

ويظهر الشكلان (18) و (19) بعض المقاطع النسيجية في المرحلة الأولى والثانية من التقييم



الشكل (18) المقاطع النسيجية في المرحلة الأولى (1Damaged, 2 PRP,3 PRF,4 LPRP)



الشكل (19) المقاطع النسيجية في المرحلة الثانية (1Damaged, 2 PRP,3 PRF,4 LPRP)

1.2 نتائج المرحلة الأولى

بعد تحضير المقاطع النسيجية تم إجراء تقييم كمي (Quantitative estimation) للمقاطع النسيجية و تحليل البيانات باستخدام برنامج (Image J) حيث تم أخذ القياسات التالية:

1- قياس أقطار الألياف العصبية (diameters of fibers- D) في عدة مقاطع وحساب المتوسط لكل حالة ثم حساب المتوسط لكل مجموعة، و يظهر الجدول(12) والشكل (20) متوسطات أقطار الألياف العصبية (D)

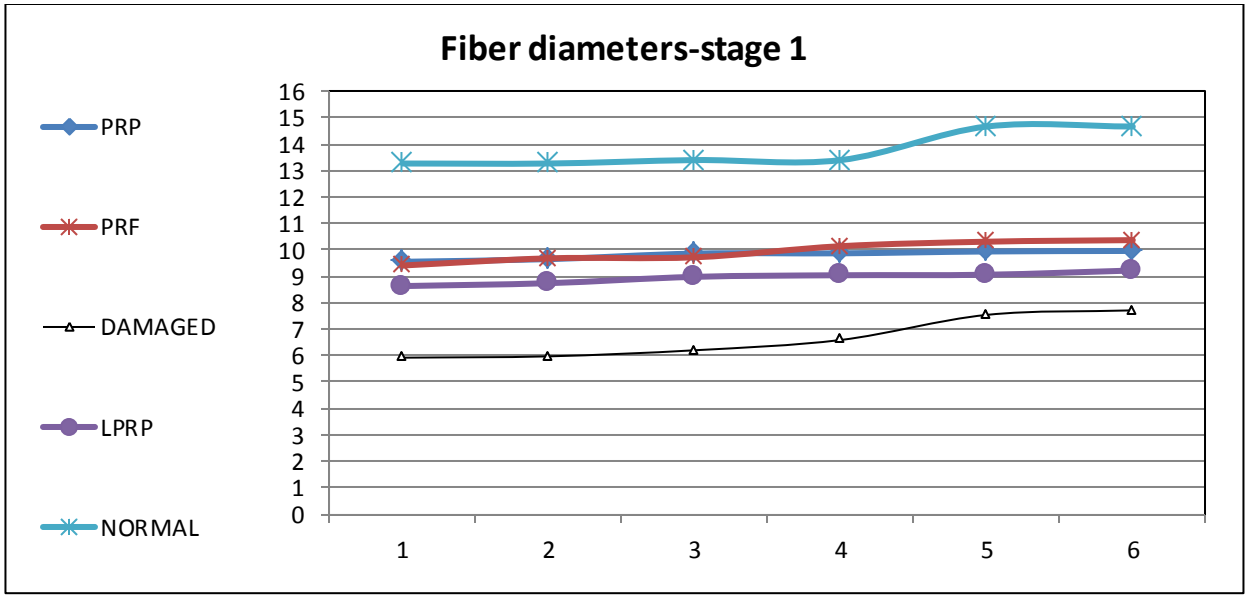
2- قياس أقطار المحاور (diameters of axons- d) في عدة مقاطع وحساب المتوسط لكل حالة ثم حساب المتوسط لكل مجموعة، ويظهر الجدول(13) والشكل (21) متوسطات أقطار المحاور العصبية.

3- حساب سماكة طبقة الميالين (Myelin sheath thickness- M)

وذلك باستخدام المعادلة M= (D−d) / 2، ويظهر الجدول(14) والشكل (22) هذه النتائج.

الجدول (12) نتائج قياس أقطار الألياف العصبية في المرحلة الأولى

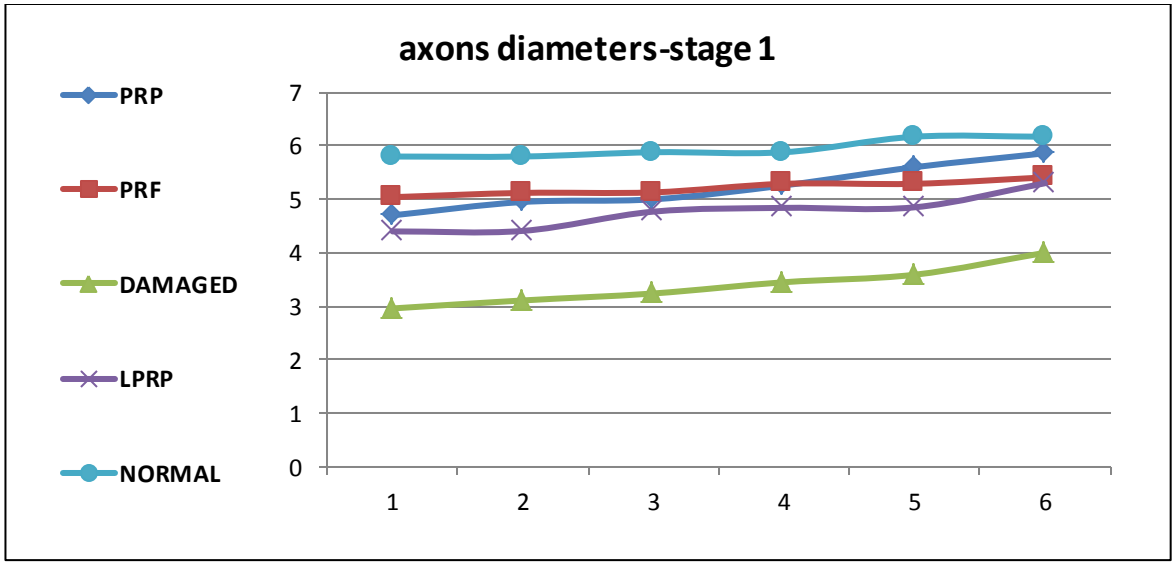
Fibers diameters-stage 1					
GROUP	**Normal**	**damaged**	**PRP**	**PRF**	**LPRP**
	13.27	6.2	9.86	9.72	8.98
	13.4	6.59	9.96	10.31	8.63
	13.4	5.92	9.55	10.37	9.04
	14.67	5.97	9.87	9.68	9.06
	14.67	7.71	9.94	10.14	9.22
	13.27	7.54	9.65	9.41	8.74
Mean	**13.78**	**6.65**	**9.8**	**9.93**	**8.94**



الشكل (20) مخطط تفصيلي يظهر نتائج قياس أقطار الألياف العصبية في المرحلة الأولى

الجدول (13) نتائج قياس أقطار المحاور العصبية في المرحلة الأولى

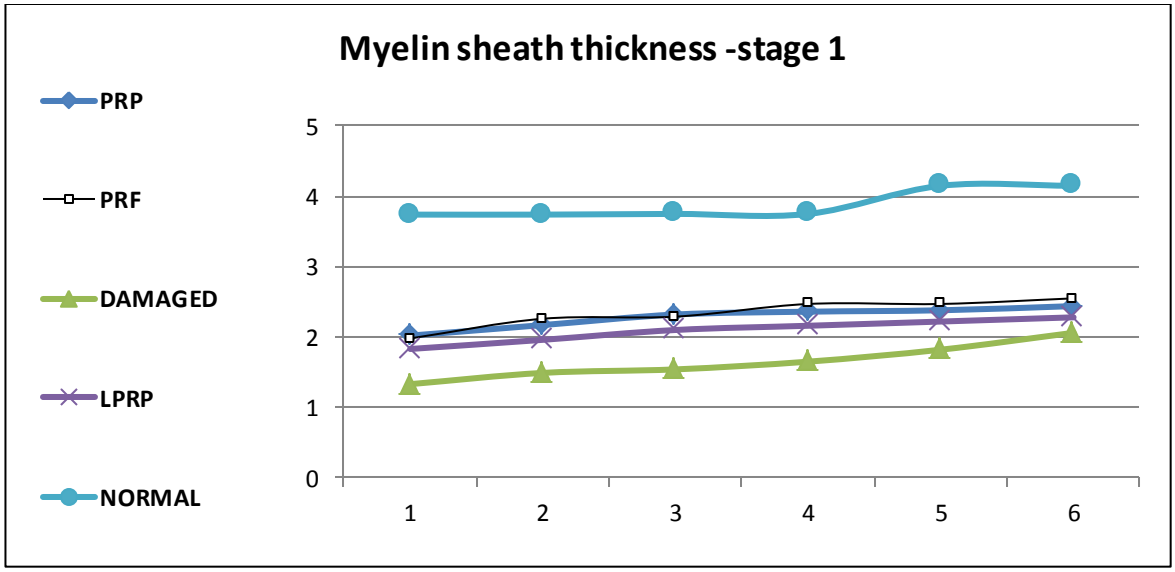
axons diameters-stage 1					
GROUP	Normal	damaged	PRP	PRF	LPRP
	5.8	2.96	4.7	5.04	4.4
	5.8	3.11	4.95	5.12	4.41
	5.88	3.24	5	5.13	4.77
	5.88	3.45	5.26	5.29	4.84
	6.17	3.59	5.6	5.29	4.85
	6.17	4	5.86	5.41	5.3
Mean	**5.95**	**3.39**	**5.22**	**5.21**	**4.76**



الشكل (21) مخطط تفصيلي يظهر نتائج قياس أقطار المحاور العصبية في المرحلة الأولى

الجدول (14) نتائج قياس سماكة الميالين في المرحلة الأولى

Myelin sheath thickness -stage 1					
GROUP	Normal	damaged	PRP	PRF	LPRP
	3.75	1.54	2.02	2.26	1.83
	3.75	1.82	2.32	1.98	1.96
	3.74	1.33	2.38	2.47	2.1
	3.74	1.65	2.17	2.47	2.16
	4.15	2.06	2.44	2.55	2.22
	4.15	1.49	2.36	2.29	2.28
Mean	**3.88**	**1.64**	**2.28**	**2.33**	**2.09**



الشكل (22) مخطط تفصيلي يظهر نتائج قياس سماكة الميالين في المرحلة الأولى

ملخص النتائج: نلاحظ أن المتوسط الأعلى كان في مجموعة (PRF) ثم مجموعة (PRP)، يليه متوسط مجموعة (L-PRP) وأخيراً مجموعة الأذية (Damaged)، وذلك بالنسبة لقياس أقطار الألياف وسماكة الميالين. بينما كان المتوسط الأعلى لمجموعة (PRP) ثم مجموعة (PRF)، يليه متوسط مجموعة (L-PRP) وأخيراً مجموعة الأذية (Damaged) وذلك بالنسبة لقياس أقطار المحاور العصبية.

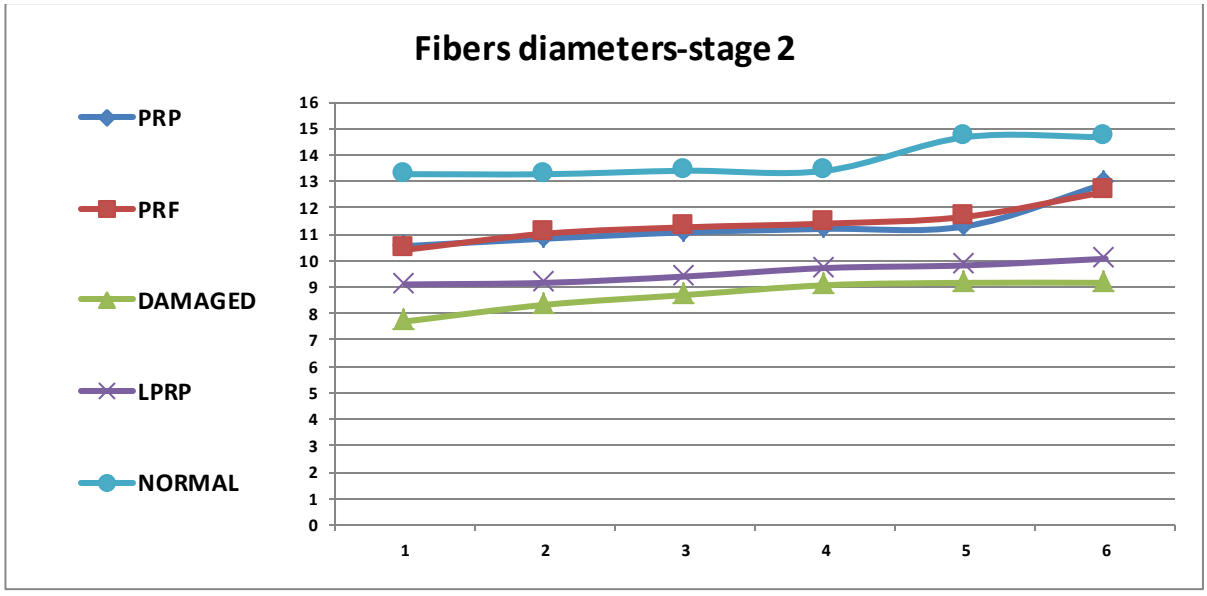
2.2 نتائج المرحلة الثانية

تم إجراء القياسات لأقطار المحاور والألياف العصبية ثم حساب سماكة طبقة الميالين كما في المرحلة الأولى، وتظهر الجداول (15) و(16) و(17)، والأشكال (23) و(24) و(25) نتائج المرحلة الثانية.

ملخص النتائج: نلاحظ أن المتوسط الأعلى كان في مجموعة (PRF) ثم مجموعة (PRP)، يليه متوسط مجموعة (L-PRP) وأخيراً مجموعة الأذية (Damaged)، وذلك بالنسبة لقياس أقطار الألياف وأقطار المحاور العصبية. بينما كان المتوسط الأعلى لمجموعة (PRP) ثم مجموعة (PRF)، يليه متوسط مجموعة (L-PRP) وأخيراً مجموعة الأذية (Damaged) وذلك بالنسبة لقياس سماكة الميالين.

الجدول (15) نتائج قياس أقطار الألياف العصبية في المرحلة الثانية

Fibers diameters-stage 2					
GROUP	**Normal**	**damaged**	**PRP**	**PRF**	**LPRP**
	13.27	7.7	10.55	10.41	9.1
	13.27	8.33	10.83	11.02	9.16
	13.4	8.7	11.07	11.26	9.4
	13.4	9.07	11.2	11.4	9.72
	14.67	9.16	11.3	11.66	9.82
	14.67	9.16	12.91	12.6	10.07
Mean	**13.78**	**8.68**	**11.31**	**11.39**	**9.54**

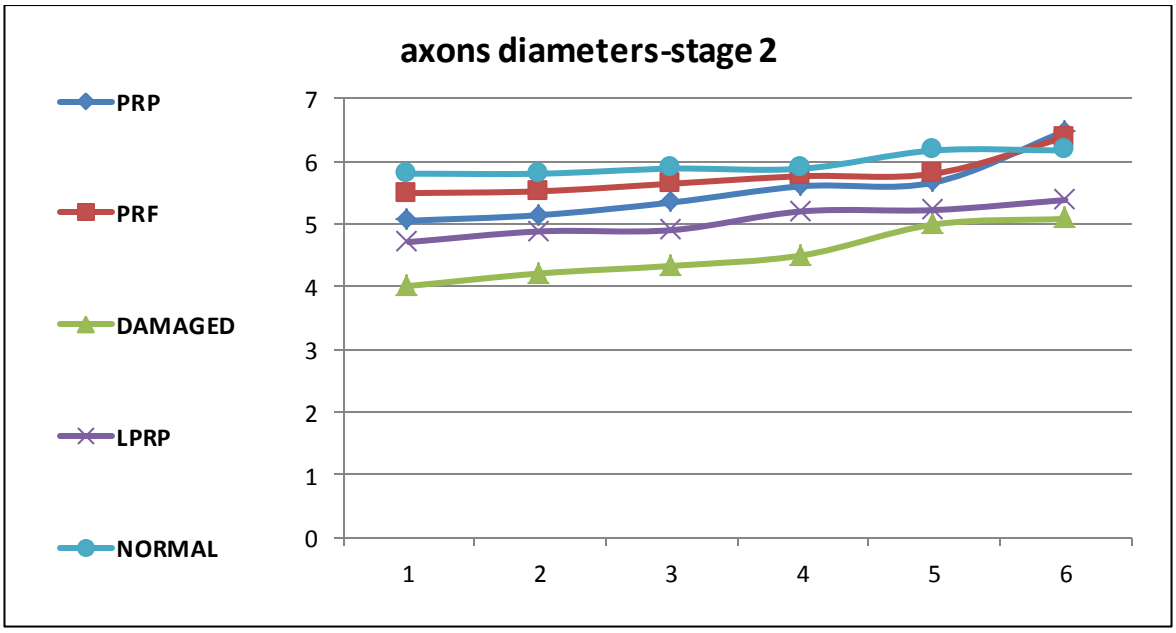


الشكل (23) مخطط تفصيلي يظهر نتائج قياس أقطار الألياف العصبية في المرحلة الثانية

الجدول (16) نتائج قياس أقطار المحاور العصبية في المرحلة الثانية

axons diameters-stage 2					
GROUP	**Normal**	**damaged**	**PRP**	**PRF**	**LPRP**
	5.8	4.01	5.05	5.49	4.71
	5.8	4.21	5.14	5.52	4.88
	5.88	4.33	5.34	5.64	4.9
	5.88	4.5	5.6	5.76	5.2
	6.17	4.99	5.66	5.8	5.22
	6.17	5.08	6.48	6.38	5.38
Mean	**5.95**	**4.52**	**5.54**	**5.76**	**5.04**

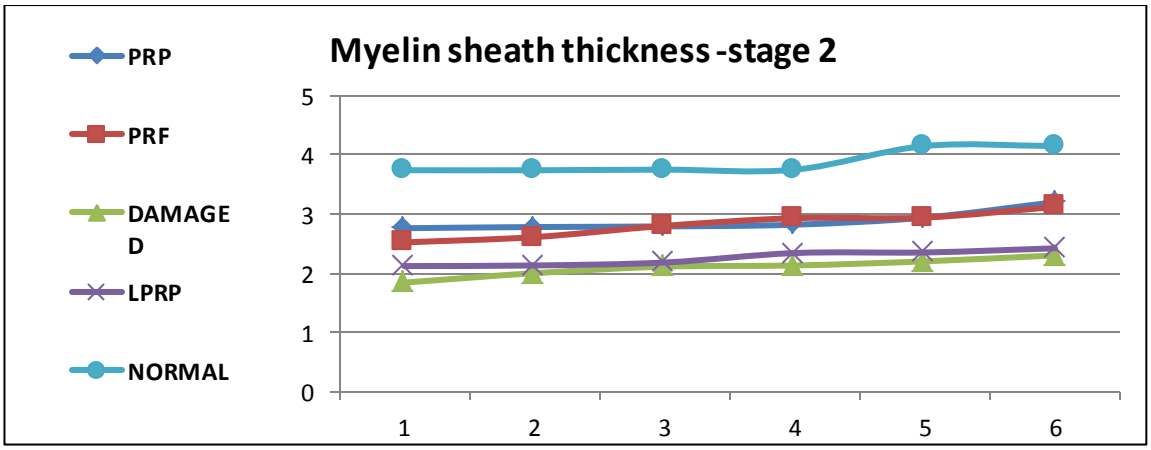
\



الشكل (24) مخطط تفصيلي يظهر نتائج قياس أقطار المحاور العصبية في المرحلة الثانية

الجدول (17) نتائج قياس سماكة طبقة الميالين في المرحلة الثانية

Myelin sheath thickness -stage 2					
GROUP	**Normal**	**damaged**	**PRP**	**PRF**	**LPRP**
	3.74	1.84	2.76	2.52	2.12
	3.74	2	2.78	2.61	2.13
	3.75	2.11	2.79	2.8	2.18
	3.75	2.13	2.82	2.93	2.34
	4.15	2.2	2.94	2.94	2.35
	4.15	2.3	3.2	3.12	2.42
Mean	**3.88**	**2.09**	**2.88**	**2.82**	**2.25**



الشكل (25) مخطط تفصيلي يظهر نتائج قياس سماكة الميالين في المرحلة الثانية

3.2 التحليل الإحصائي لنتائج الدراسة النسيجية

تم استخدام برنامج (SPSS) لإجراء التحليل الاحصائي للنتائج، وذلك بتطبيق اختبار (One way ANOVA) وحساب التفاوت بين المجموعات وضمن المجموعات لإيجاد الفروق بين المتوسطات مع اعتبار الفرق ذو دلالة

إحصائية عندما تكون قيمة (P < 0.05). وتظهر الجداول (18) و(19) نتائج التحليل الإحصائي للدراسة النسيجية في المرحلتين الأولى والثانية.

تظهر نتائج التحليل الإحصائي في المرحلة الأولى من التقييم وجود فروق ذات دلالة إحصائية عند مقارنة المجموعة الطبيعية (Normal) مع كل من المجموعات التي تعرضت للأذية حيث كانت (P < 0.05) وذلك بالنسبة لجميع القيم المُقاسة. كما أظهرت النتائج فروقاً ذات دلالةٍ إحصائيةٍ بمقارنة مجموعة الأذية مع كل من مجموعات المعالجة الثلاث في جميع القياسات السابقة أيضاً، بينما لم تكن الفروق ذات دلالة إحصائية عند إجراء المقارنة بين مجموعات المعالجة بالبلازما في جميع القياسات، ماعدا المقارنة بين المجموعتين (LPRP&PRF) بالنسبة لقياس أقطار الألياف العصبية حيث كانت (P = 0.049).

الجدول (18) التحليل الإحصائي للنتائج النسيجية في المرحلة الأولى

Stage 1								
Fibers diameters D			**axons diameters d**			**Myelin sheath thickness M**		
Groups		**P value**	Groups		**P value**	Groups		**P value**
Normal	Damaged	**.000**	Normal	Damaged	**.000**	Normal	Damaged	**.000**
Normal	PRP	**.000**	Normal	PRP	**.012**	Normal	PRP	**.000**
Normal	PRF	**.000**	Normal	PRF	**.010**	Normal	PRF	**.000**
Normal	LPRP	**.000**	Normal	LPRP	**.000**	Normal	LPRP	**.000**
Damaged	PRP	**.000**	Damaged	PRP	**.000**	Damaged	PRP	**.001**
Damaged	PRF	**.000**	Damaged	PRF	**.000**	Damaged	PRF	**.000**
Damaged	LPRP	**.000**	Damaged	LPRP	**.000**	Damaged	LPRP	**.020**
PRP	PRF	**.995**	PRP	PRF	**1.000**	PRP	PRF	**.994**
PRP	LPRP	**.113**	PRP	LPRP	**.190**	PRP	LPRP	**.631**
PRF	LPRP	**.049**	PRF	LPRP	**.216**	PRF	LPRP	**.386**

الجدول (19) التحليل الإحصائي للنتائج النسيجية في المرحلة الثانية

Stage 2								
Fibers diameters D			**axons diameters d**			**Myelin sheath thickness M**		
Groups		**P value**	Groups		**P value**	Groups		**P value**
Normal	Damaged	**.000**	Normal	Damaged	**.000**	Normal	Damaged	**.000**
Normal	PRP	**.135**	Normal	PRP	**.458**	Normal	PRP	**.000**
Normal	PRF	**.206**	Normal	PRF	**.938**	Normal	PRF	**.000**
Normal	LPRP	**.048**	Normal	LPRP	**.006**	Normal	LPRP	**.000**
Damaged	PRP	**.000**	Damaged	PRP	**.002**	Damaged	PRP	**.000**
Damaged	PRF	**.000**	Damaged	PRF	**.000**	Damaged	PRF	**.000**
Damaged	LPRP	**.310**	Damaged	LPRP	**.206**	Damaged	LPRP	**.678**
PRP	PRF	**1.000**	PRP	PRF	**.890**	PRP	PRF	**.986**
PRP	LPRP	**.003**	PRP	LPRP	**.259**	PRP	LPRP	**.000**
PRF	LPRP	**.002**	PRF	LPRP	**.040**	PRF	LPRP	**.001**

في المرحلة الثانية من التقييم أظهرت المقارنات (Normal&Damaged) و(Normal&LPRP) فروقاً ذات دلالة إحصائية بالنسبة لجميع القيم المقاسة، كما أظهرت النتائج فروقاً ذات دلالة إحصائية في المقارنات (Normal&PRP) و(Normal&PRF) وذلك بالنسبة لقياس سماكة الميالين، بينما لم تكن الفروق ذات دلالة إحصائية بين المجموعات (Normal&PRP) و(Normal&PRF) عند قياس كلٍ من أقطار المحاور والألياف العصبية. أظهرت النتائج فروقاً ذات دلالةٍ إحصائيةٍ بالمقارنة بين مجموعة الأذية ومجموعتي المعالجة (Damaged&PRP) و(Damaged&PRF)، بينما لم تظهر فروق ذات دلالة إحصائية بالمقارنة (LPRP&Damaged) وذلك بالنسبة لجميع القيم المقاسة. بالمقارنة بين مجموعات المعالجة لم تظهر فروق ذات دلالة إحصائية بين المجموعتين (PRF&PRP) في جميع القياسات. بالمقارنة بين المجموعتين (LPRP&PRP) كما لم يظهر فرق ذو دلالة إحصائية عند قياس أقطار المحاور العصبية، بينما أعطت المقارنة بين هاتين

المجموعتين فروقاً ذات دلالة إحصائية عند قياس أقطار الألياف العصبية وسماكة الميالين، وأخيراً كانت الفروق ذات دلالة إحصائية بالمقارنة بين المجموعتين (LPRP&PRF) في جميع القياسات السابقة.

الفصل الرابع

المناقشة

1 مناقشة نتائج الدراسة الكهربائية

1.1 المقارنة بين المجموعة الطبيعية وكل من مجموعات المعالجة والأذية

أظهرت نتائج الدراسة الكهربائية في المرحلة الأولى من التقييم فروقاً ذات دلالة إحصائية عند مقارنة المجموعة الطبيعية مع كل من المجموعات التي تعرضت للأذية وذلك بالنسبة لجميع القياسات (سعة الكمونات الحركية المركبة، زمن التأخر، سرعة النقل العصبي)، كما كانت النتائج مشابهة في المرحلة الثانية من التقييم، وذلك على الرغم من تحسن جميع المعايير المقاسة في مجموعات المعالجة.

تتناسب هذه النتائج مع التطور المعتاد للأذيات العصبية السحقية، إذ تتغير هذه القياسات بشكل نوعي بعد الأذية مقارنة بالحالة الطبيعية في المرحلة الاولى من عملية عودة النمو العصبي[177]، فبعد الأذية العصبية ينقص عدد الألياف العصبية التي تعصب العضلة مما يؤدي لانخفاض السعة، كما يؤدي تأذي طبقة الميالين إلى نقصان سرعة النقل العصبي بشكل ملحوظ، وفي مرحلة عودة النمو تبدأ المحاور العصبية بالنمو عبر منطقة الأذية ليصل عدد منها إلى النسيج المستهدف المناسب، ثم تتابع المحاور نموها مع إعادة تشكيل طبقة الميالين بحيث تكتمل عملية الشفاء الوظيفي، وهكذا تتناسب سعة الكمونات المقاسة مع عدد المحاور التي نجحت في الوصول إلى النسيج المستهدف، بينما تتعلق سرعة النقل العصبي بالتغيرات التي تحدث في المرحلة الأخيرة من الشفاء الوظيفي[178].

2.1 المقارنة بين مجموعة الأذية ومجموعات المعالجة

أظهرت النتائج فروقاً ذات دلالة إحصائية بالمقارنات بين المجموعتين (Damaged&PRP)، والمجموعتين (Damaged&PRF)، وذلك بالنسبة لقياس سعة الكمونات.

تدل سعة الكمونات الحركية عادة على عدد الألياف العصبية المعصبة للعضلة، لذلك تعتبر الفروق النوعية بين كل من مجموعات المعالجة (PRF) و(PRP) ومجموعة الأذية دلالة هامة على التأثير الإيجابي للبلازما الغنية بالصفيحات في تحفيز وتسريع عملية عودة النمو المحوري.

من الممكن أن التركيز العالي للصفيحات في منطقة الأذية النسيجية قد أدى إلى تحفيز بدء الإصلاح النسيجي بشكل أسرع وذلك من خلال تفعيل الاستجابة الالتهابية باكراً، حيث تقوم الصفيحات بتصنيع عدد من العوامل ماقبل التهابية مثل (TXA2)، كما تطلق السيروتونين والهيستامين واللذين يزيدان من النفوذية الوعائية مما يسمح بوصول المزيد من الخلايا الالتهابية إلى موقع الأذية، بالإضافة لذلك تعمل الصفيحات على تحفيز تجمع الكريات البيض في مكان الأذية[179].

تساهم هذه الاستجابة الالتهابية بدورها وبشكل نوعي في مرحلة التنكس الوليرياني من خلال الخلايا الالتهابية والوسائط الالتهابية المتنوعة التي تحررها، والتي تعمل على التخلص من البقايا الخلوية للمحاور العصبية وخلايا شوان مما يخلق بيئة ملائمة لبدء مرحلة عودة النمو.

بالإضافة لما سبق من الممكن أن يعود تأثير البلازما إلى قدرة الصفيحات على تحرير العديد من العوامل التي تضبط هذه الاستجابة الالتهابية، فعلى سبيل المثال يملك عامل النمو المشتق من الصفيحات (PDGF) القدرة على تحفيز تمايز الخلايا البالعة من النمط الالتهابي إلى النمط البنائي مما يسمح بالانتقال للمرحلة التالية من عملية الإصلاح النسيجي بشكل باكر[180]. كما تفرز الصفيحات العامل الصفيحي الرابع (PF4) والذي يملك خصائصاً معدلة للاستجابة الالتهابية من خلال تنظيم تكون الأوعية [181]، بالإضافة لذلك تحرر الصفيحات عامل النمو التحويلي (TGF-β) والذي أثبت فعالية عالية في التأثير على الاستجابة المناعية حيث يؤدي لتقليل الالتهاب التالي للأذية وإنقاص تكون الندبة الدبقية[182].ومن الواضح أن تعديل الاستجابة الالتهابية وتنظيمها من أهم الآليات المحتملة التي تؤثر بها البلازما الغنية بالصفيحات في المراحل الأولى من عودة النمو العصبي.

بالإضافة للتأثيرات السابقة فإن البلازما الغنية بالصفيحات قدمت بيئة مجهرية تتضمن تراكيز عالية من عوامل النمو والمواد الحيوية الأخرى مما يحفز عملية الشفاء وعودة النمو العصبي، حيث تحتوي الصفيحات على كميات

نوعية من عامل التغذية العصبية (BDNF)، والذي تقوم بقبطه وتخزينه في الحبيبات إلفا ليتم تحريره فيما بعد عند تفعيل الصفيحات[183]، ويملك هذا العامل وظائفاً حيوية هامة خلال مرحلة التجدد العصبي حيث يعاكس الموت الخلوي للخلايا العصبية والخلايا الدبقية بعد الأذية الرضية كما يحفز نمو المحاور العصبية وذلك خلال التطور الطبيعي لهذه العملية[184]، وقد أثبتت الدراسات فعالية نوعية للعامل (BDNF) عند استخدامه من منشأ خارجي، ففي دراسة ضمن المختبر أُجريت من قبل (Zurita et al) [185] تم استخدام غشاء الفيبرين الغني بالصفيحات والمشبع بالعوامل (BDNF,NGF) في المزارع الخلوية للخلايا الجذعية لنقي العظام، مما أدى إلى تحفيز البقاء الخلوي والتمايز للنمط العصبي.

بالإضافة لما سبق من الممكن أن يكون التأثير الإيجابي للبلازما ناتجاً عن بعض العوامل الأخرى التي تحررها الصفيحات مثل عامل النمو (VEGF) والذي يعد من أهم العوامل المكونة للأوعية حيث يحفز تكاثر وهجرة الخلايا البطانية مما يزيد التوعية الدموية حول العصب المتأذي، كما يعد (VEGF) عاملاً تغذوياً عصبياً حيث يقوم بتحفيز تكاثر خلايا شوان ونمو المحاور العصبية من خلال التأثير على مستقبلاته الموجودة بشكل أساسي في خلايا شوان ومخاريط النمو المحورية[186].

كما تحرر الصفيحات عامل النمو الشبيه بالأنسولين (IGF-1)، والذي تتواجد مستقبلاته في المحاور العصبية وخلايا شوان والعصبونات الحركية، وقد أكدت الدراسات أن العامل (IGF-1) يعمل كعامل تغذوي عصبي للخلايا العصبية حيث يحفز نمو المحاور العصبية ويمنع الموت الخلوي[187].

بالإضافة لما سبق تقوم الصفيحات بتحرير عامل النمو الليفي الأساسي (bFGF) والذي أدى استخدامه إلى زيادة نوية في عدد الألياف العصبية النامية خلال عودة النمو العصبي[188].

توافقت نتائج البحث الحالي مع نتائج دراسات سابقة، فعلى سبيل المثال قام (Torul et al)[189] بمقارنة تأثير الفيبرين الغني بالصفيحات (PRF) والبلازما الغنية بعوامل النمو (PRGF) على الأذية العصبية السحقية، وقد أظهرت نتائج هذه الدراسة فروقاً نوعية بين مجموعة (PRF) ومجموعة الأذية بالنسبة لقياس سعة الكمونات الحركية، بينما لم تُسجل أية فروق نوعية عند قياس زمن التأخر.

في دراسة أخرى أجراها (Li et al) [190] تم استخدام البلازما الغنية بالصفيحات (PRP) بعد إجراء أذية سحقية للعصب الوجهي، وقد أظهرت نتائج مجموعة البلازما سعة أعلى مع زمن تأخر أقل للكمونات الحركية المركبة وذلك بالمقارنة مع مجموعة الأذية.

في دراسة (Sánchez et al) [191] تمت مقارنة تأثير البلازما الغنية بالصفيحات مع المحلول الملحي ومجموعة الشاهد وذلك بعد الأذية العصبية السحقية، وقد أظهرت النتائج تأثيراً نوعياً للبلازما حيث ظهرت الكمونات المركبة الحركية بالتقييم الكهربائي في مجموعة البلازما بينما بقيت غائبة في باقي المجموعات.

في دراسة أخرى قام (Y. Zhu et al)[192] بمقارنة تأثير استخدام تراكيز مختلفة من البلازما الغنية بالصفيحات على الأذيات العصبية السحقية، وقد أظهرت نتائج قياس سعة الكمونات العصبية تحسناً نوعياً عند استخدام البلازما بتراكيز (×4.5) و(×6.5)، وذلك بالمقارنة مع استخدام التركيز (×2.5) ومجموعة الشاهد.

من جهة أخرى فقد أظهرت عدة دراسات نتائجاً مغايرة، فعلى سبيل المثال في دراسة (Bayram et al)[193] تم استخدام غشاء الفيبرين الغني بالصفيحات على شكل أنبوب لتدبير الأذية العصبية السحقية، ولم تظهر النتائج النسيجية والكهربائية تحسناً نوعياً بالمقارنة مع مجموعة الشاهد، ومن الممكن أن يعود الاختلاف بين نتائج البحث الحالي ونتائج هذه الدراسة إلى اختلاف طريقة تحضير واستخدام الفيبرين الغني بالصفيحات.

لم تظهر المقارنة بين المجموعتين (Damaged&LPRP) فروقاً ذات دلالة إحصائية، مع العلم أن المجموعة (LPRP) قد سجلت قيماً أعلى من مجموعة الأذية في المرحلة الأولى بينما ـ وبشكل مثير للاهتمام ـ كانت نتائج مجموعة الأذية أفضل من مجموعة (LPRP) في المرحلة الثانية من التقييم.

يمكن الاستنتاج مما سبق بأن وجود الكريات البيض بتراكيز عالية في نمط البلازما (LPRP) لم يقدم فائدة نوعية بل أدى لتأثير سلبي معاكس للتأثيرات الإيجابية للبلازما الغنية بالصفيحات، وقد يعود هذا التأثير السلبي إلى زيادة فعالية ومدة الاستجابة الالتهابية التقويضية مما قد يؤخر الوصول للمرحلة التالية من الشفاء النسيجي، فعلى سبيل المثال تزداد تراكيز الوسائط الالتهابية (TNF-α, IL-1β) عند استخدام البلازما الغنية بالصفيحات والكريات

البيض (LR-PRP)، بينما يؤدي حقن البلازما الغنية بالصفيحات والفقيرة بالكريات البيض (LP-PRP) إلى زيادة مستويات (IL-4,IL10) والتي تعد وسائطاً مضادة للالتهاب[194].

كما يمكن أن يكون هذا التأثير ناتجاً عن زيادة فعالية الأرومات الليفية مما قد يؤهب لحدوث التندب الليفي ويعيق عودة النمو العصبي وبشكل خاص في المرحلة الثانية من الشفاء النسيجي، حيث أثبتت دراسة قام بها (Devereaux et al)[195] أن البلازما الغنية بالصفيحات والكريات البيض (LR-PRP) تملك القدرة على تفعيل هجرة وتكاثر الأرومات الليفية وتنظيم تصنيع مكونات المادة خارج الخلوية، وذلك عند مقارنتها بالبلازما الغنية بالصفيحات والفقيرة بالكريات البيض (LP-PRP).

على الرغم من وجود العديد من الدارسات حول تأثير هذا النمط من البلازما على الأنسجة المختلفة فإنه لم تتم دراسة تأثير هذا النمط من البلازما على الأذيات العصبية السحقية حتى الآن.

لم تظهر المقارنة بين كل من مجموعات المعالجة ومجموعة الأذية فروقاً ذات دلالة إحصائية بالنسبة لقياس التأخر وسرعة النقل العصبي في كلا مرحلتي التقييم، ومن المرجح أن يعود ذلك إلى أن هذه القياسات الدالة على الشفاء الوظيفي لم تتحسن بشكل نوعي خلال الفترة الزمنية للبحث حيث تحتاج هذه المقاييس عادة لمدة زمنية أطول[196]، ولكن من الملاحظ أن النتائج في مجموعات المعالجة كانت أفضل من مجموعة الأذية وذلك في كلا المرحلتين، لذلك يمكن القول بأن البلازما الغنية بالصفيحات قد أدت لتحسن هذه القياسات ولكن لم يكن التحسن نوعياً وذو دلالة إحصائية.

3.1 المقارنة بين مجموعات المعالجة

أظهرت نتائج المقارنات بين المجموعتين (PRP&LPRP) والمجموعتين (PRF&LPRP) فروقاً ذات دلالة إحصائية بالنسبة لقياس سعة الكمونات، بينما لم تظهر المقارنات فروقاً ذات دلالة إحصائية بالنسبة لقياس التأخر وسرعة النقل. تؤكد هذه النتائج على وجود تأثير سلبي للتراكيز العالية من الكريات البيض في البلازما الغنية بالصفيحات عند استخدامها لتحفيز عودة النمو العصبي.

لم تظهر نتائج البحث الحالي فروقاً ذات دلالة إحصائية بين مجموعتي المعالجة (PRF) و (PRP) في جميع المعايير السابقة وفي كلا مرحلتي التقييم، مع ملاحظة أن نتائج المجموعة (PRF) كانت أفضل من مثيلاتها في مجموعة (PRP) بفروق غير هامة إحصائياً.

وهكذا يمكن القول بأن نتائج المقارنة بين المجموعتين أظهرت أن كلا هذين النمطين من البلازما يمتلك تأثيرات إيجابية متماثلة على عودة النمو العصبي، حيث يحتوي كلا هذان النمطان على تراكيز متشابهة من عوامل النمو.

يتميز الفيبرين الغني بالصفيحات بوجود بنية طبيعية متينة من ألياف الفيبرين تميزه عن البلازما الغنية بالصفيحات النقية، ويمكن أن تعد هذه الخاصية ذات أهمية في الأذيات العصبية الأخرى كالأذيات العصبية القطعية حيث أن علقة الفيبرين يمكن أن يُطبق كغلاف يحيط بمنطقة الأذية، مما يقدم شكلاً قنوياً يسهل عودة النمو العصبي ويمنع نمو ألياف الكولاجين حول العصب[197]، ولكن يبدو أن هذه الخاصية لم تقدم فائدة إضافية عند استخدام الفيبرين للأذيات السحقية في هذا البحث، لأن غمد العصب يبقى سليماً في هذا النمط من الأذيات العصبية. وكان التأثير الإيجابي لهذان النمطان من البلازما متعلقاً بعوامل النمو والمواد الحيوية الأخرى التي ارتشحت إلى داخل العصب.

تمت دراسة تأثير الفيبرين الغني بالصفيحات في دراسات سابقة نذكر منها دراسة (Torul et al)[189] والتي تم ذكرها سابقاً، إذ أظهرت النتائج تأثيرات نوعية متماثلة لاستخدام الفيبرين الغني بالصفيحات والبلازما الغنية بعوامل النمو على الأذيات العصبية السحقية مع عدم وجود فروقٍ ذات دلالة إحصائية عند المقارنة بين هذين النمطين من البلازما.

لم يظهر التحليل الإحصائي لقياس التأخر وسرعة النقل فروقاً ذات دلالة إحصائية وذلك عند المقارنة بين مجموعات المعالجة، على الرغم من أن مجموعة (LPRP) قد سجلت النتائج الأقل مما يدعم الاستنتاجات السابقة حول التأثير السلبي المحتمل لهذا النمط من البلازما على عودة النمو العصبي.

2. مناقشة نتائج الدراسة النسيجية

1.2 المقارنة بين المجموعة الطبيعية ومجموعات المعالجة والأذية

أظهرت نتائج الدراسة النسيجية فروقاً ذات دلالة إحصائية عند مقارنة المجموعة الطبيعية مع كل من المجموعات التي تعرضت للأذية في المرحلة الأولى والثانية من التقييم ، وذلك بالنسبة لجميع القياسات (أقطار الألياف، أقطار المحاور، سماكة الميالين)، ماعدا المقارنة بين المجموعة الطبيعية وكل من المجموعتين (PRP) و(PRF) في المرحلة الثانية من التقييم إذ لم تظهر النتائج فروقاً ذات دلالة إحصائية وذلك بالنسبة لقياس أقطار الألياف والمحاور العصبية. يدل ذلك وبشكل واضح على تحسن نوعي في هاتين المجموعتين، ويدعم الاستنتاجات التي تم التوصل إليها من تحليل النتائج الكهربائية حول وجود تأثير إيجابي لهذه الأنماط من البلازما الغنية بالصفيحات

2.2 المقارنة بين مجموعة الأذية ومجموعات المعالجة

عند المقارنة بين مجموعة الأذية وكل من مجموعات المعالجة، أظهرت النتائج فروقاً ذات دلالة إحصائية بالنسبة لجميع القياسات، ماعدا المقارنة بين المجموعتين (Damaged&LPRP) والتي لم تسجل فروقاً ذات دلالة إحصائية في المرحلة الثانية من التقييم بالنسبة لجميع القياسات.

تؤكد هذه النتائج على التأثير الإيجابي للبلازما الغنية بالصفيحات على عودة النمو العصبي بعد الأذيات السحقية، وبشكل خاص النمطين (PRP) و (PRF). فبالإضافة لتأثيرات البلازما الغنية بالصفيحات التي تم ذكرها مسبقاً تملك البلازما الغنية بالصفيحات تأثيرات إيجابية على خلايا شوان، فقد أظهر (Zheng et al) [198] تأثيرات مرتبطة بالجرعة للبلازما الغنية بالصفيحات على تكاثر وهجرة خلايا شوان وذلك في دراسة أُجريت ضمن المختبر، ومن المثبت مسبقاً أن خلايا شوان تؤدي دوراً حيوياً في عملية الشفاء، إذ تعمل على تحفيز النمو المحوري كما تحرر عواملاً اغتذائية عصبية تنظم نمو المحاور العصبية[199].

كما أنه من المحتمل أن البلازما الغنية بالصفيحات قد أدت دوراً في منع الضمور والتليف في العضلات المعصبة بالعصب المتأذي، إذ تحرر الصفيحات عند تفعيلها عامل النمو الشبيه بالأنسولين (IGF-1) والذي تم

إثبات قدرته على منع الموت الخلوي لخلايا شوان وتعزيز النمو المحوري وإنقاص معدل الضمور العضلي التالي لفقد التعصيب[200].

تتوافق النتائج النسيجية في البحث الحالي مع عدة دراسات سابقة، ففي دراسة (Sánchez et al) [191] التي تم ذكرها سابقاً، وبالإضافة إلى النتائج النوعية من الناحية الكهربائية فقد أدى استخدام البلازما الغنية بالصفيحات إلى زيادة نوعية في أقطار المحاور العصبية وإنقاص نسبة حدوث الضمور العضلي وذلك عند استخدامها بعد الأذيات العصبية السحقية.

أظهرت المقارنة بين المجموعتين (Damaged&LPRP) فروقاً ذات دلالة إحصائية في المرحلة الأولى من التقييم، بينما لم تظهر أية فروق في المرحلة الثانية مع ملاحظة أن نتائج المجموعة (LPRP) كانت أعلى في كلا المرحلتين.

يدل ذلك على وجود تأثير ضعيف لهذا النمط من البلازما على عودة النمو العصبي، مع فعالية أقل في المرحلة الثانية من التقييم، وكما ذكرنا سابقاً من المحتمل أن يكون هذا ناتجاً عن زيادة مدة وشدة الاستجابة الالتهابية مع زيادة القابلية للتندب الليفي مما يعيق عودة النمو المحوري في المرحلة الثانية من الشفاء.

3.2 المقارنة بين مجموعات المعالجة

في المرحلة الأولى لم تظهر المقارنات بين المجموعتين (PRP&LPRP) والمجموعتين (PRF&LPRP) فروقاً ذات دلالة إحصائية في جميع المعايير النسيجية، ما عدا عند قياس أقطار الألياف العصبية حيث ظهر فرق ذو دلالة إحصائية بالمقارنة بين المجموعتين (PRF&LPRP).

في المرحلة الثانية من التقييم أظهرت المقارنة بين المجموعتين (PRF&LPRP) فروقاً ذات دلالة إحصائية بالنسبة لجميع المعايير السابقة، بينما كانت الفروق ذات دلالة إحصائية في المقارنة (PRP&LPRP) بالنسبة لأقطار الألياف العصبية وسماكة الميالين.

تؤكد هذه النتائج على الاستنتاجات السابقة التي تشير إلى وجود تأثيرات سلبية للتركيز العالي للكريات البيض تعاكس التأثير الايجابي للتركيز العالي للصفيحات مما ينقص من فعالية البلازما، وبشكل خاص في المرحلة

الثانية. أكدت دراسة سابقة قام بها (Sundman et al) [201] حول تأثير المحتوى الخلوي للبلازما الغنية بالصفيحات على مستويات عوامل النمو والسيتوكينات، إذ أظهرت النتائج ترافق نمط البلازما الغنية بالصفيحات والكريات البيض (LPRP) مع زيادة في تراكيز العوامل الالتهابية والتقويضية مثل الميتالوبروتياز (MMP-9) والانترلوكين (IL-1β)، وإنخفاض مرافق في تراكيز بعض عوامل النمو مثل (TGF-b1) وذلك بالمقارنة مع النمط (PRP).

لم تظهر المقارنة بين المجموعتين (PRP&PRF) أية فروق ذات دلالة إحصائية في مرحلتي التقييم وذلك بالنسبة لجميع المعايير المقاسة. تدعم هذه النتائج ما توصلت له الدراسة الكهربائية، وتؤكد على التأثير المتماثل لهذين النمطين من البلازما على الأذيات العصبية السحقية. وعلى الرغم من وجود خصائص نوعية للفيبرين الغني بالصفيحات تميزه عن البلازما الغنية بالصفيحات، فإن هذه الخصائص لم تعط تحسناً إضافياً لهذه المجموعة بالمقارنة مع مجموعة النمط (PRP) عند استخدامها في هذا النمط من الأذيات العصبية.

الاستنتاجات

1- أدى استخدام أنماط البلازما الغنية بالصفيحات (PRP) و(PRF) إلى حدوث تحسن نوعي في عودة النمو العصبي بعد الأذيات العصبية السحقية وذلك وفقاً لتحليل النتائج الكهربائية والنسيجية

2- أظهر استخدام نمطي البلازما (PRP) و(PRF) تأثيراً إيجابياً متماثلاً حيث لم تظهر أية فروق نوعية بين المجموعتين.

3- ترافق استخدام البلازما من النمط (LPRP) مع تحسن نوعي في المراحل الأولى من الشفاء النسيجي، إذ أحرزت هذه المجموعة فروقاً نوعية في المرحلة الأولى من التقييم بالنسبة للنتائج النسيجية فقط، من جهة أخرى فقد أدى وجود استخدام النمط (LPRP) إلى تقليل التأثير الإيجابي للبلازما في المراحل التالية من عودة النمو، حيث ظهرت فروق نوعية بالمقارنة مع الأنماط الأخرى في تحليل النتائج الكهربائية والنسيجية وبشكل خاص في المرحلة الثانية من التقييم.

التوصيات والمقترحات

بالاعتماد على النتائج النوعية التي أظهرها البحث نقترح إجراء المزيد من الدراسات السريرية من أجل استخدام البلازما الغنية بالصفيحات كمعالجة مساعدة في تدبير الأذيات العصبية السحقية

كما نقترح التركيز على الفيبرين الغني بالصفيحات والذي أبدى فعالبة نوعية مشابهة لفعالية البلازما الغنية بالصفيحات النقية (PRP) بالإضافة لكونه سهل التحضير مع تكلفة أقل وذلك بالمقارنة مع الأنماط الأخرى.

نقترح مراقبة النتائج لمدة أطول في الدراسات اللاحقة، إذ أن قصر زمن البحث الحالي أدى لظهور فروق ذات دلالة إحصائية بين المجموعة الطبيعية ومجموعات المعالجة، وذلك في القياسات التي تحتاج زمناً أطول للعودة إلى القيم الطبيعية.

قائمة المراجع

1- Menorca, R. M., Fussell, T. S., & Elfar, J. C. (2013). Peripheral nerve trauma: mechanisms of injury and recovery. Hand clinics, 29(3), 317.
2- Robinson, L. R. (2004). Traumatic injury to peripheral nerves. Supplements to clinical neurophysiology, 57, 173-186.
3- Trumble, T. E. (2000). Peripheral nerve injury: pathophysiology and repair. Trauma, 4, 1047-55.
4- Alves, R., & Grimalt, R. (2018). A review of platelet-rich plasma: history, biology, mechanism of action, and classification. Skin appendage disorders, 4(1), 18-24.
5- Ehrenfest, D. M. D., Rasmusson, L., & Albrektsson, T. (2009). Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF). Trends in biotechnology, 27(3), 158-167.
6- Cao, Y., Zhu, X., Zhou, R., He, Y., Wu, Z., & Chen, Y. (2021). A narrative review of the research progress and clinical application of platelet-rich plasma. Ann Palliat Med, 10(4), 4823-4829.
7- Takeuchi, M., Kamei, N., Shinomiya, R., Sunagawa, T., Suzuki, O., Kamoda, H., ... & Ochi, M. (2012). Human platelet-rich plasma promotes axon growth in brain–spinal cord coculture. Neuroreport, 23(12), 712-716.
8- Ye, F., Li, H., Qiao, G., Chen, F., Tao, H., Ji, A., & Hu, Y. (2012). Platelet-rich plasma gel in combination with Schwann cells for repair of sciatic nerve injury. Neural Regeneration Research, 7(29), 2286.
9- Cho, H. H., Jang, S., Lee, S. C., Jeong, H. S., Park, J. S., Han, J. Y., ... & Cho, Y. B. (2010). Effect of neural-induced mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma on facial nerve regeneration in an acute nerve injury model. The Laryngoscope, 120(5), 907-913.
10- Kim, J. Y., Jeon, W. J., Kim, D. H., Kim, Y. H., Youn, I., & Park, J. W. (2014). An inside-out vein graft filled with platelet-rich plasma for repair of a short sciatic nerve defect in rats. Neural regeneration research, 9(14), 1351.
11- Yu, W., Wang, J., & Yin, J. (2011). Platelet-rich plasma: a promising product for treatment of peripheral nerve regeneration after nerve injury. International Journal of Neuroscience, 121(4), 176-180.
12- Taylor, C. A., Braza, D., Rice, J. B., & Dillingham, T. (2008). The incidence of peripheral nerve injury in extremity trauma. American journal of physical medicine & rehabilitation, 87(5), 381-385.
13- Noble, J., Munro, C. A., Prasad, V. S., & Midha, R. (1998). Analysis of upper and lower extremity peripheral nerve injuries in a population of patients with multiple injuries. Journal of Trauma and Acute Care Surgery, 45(1), 116-122.
14- Chhabra, A., Ahlawat, S., Belzberg, A., & Andreseik, G. (2014). Peripheral nerve injury grading simplified on MR neurography: As referenced to Seddon and Sunderland classifications. Indian Journal of Radiology and Imaging, 24(03), 217-224.
15- Visser, C. P. J., Coene, L. N. J. E. M., Brand, R., & Tavy, D. L. J. (1999). The incidence of nerve injury in anterior dislocation of the shoulder and its influence on functional recovery: a prospective clinical and EMG study. The Journal of bone and joint surgery. British volume, 81(4), 679-685.
16- Geuna, S., Raimondo, S., Ronchi, G., Di Scipio, F., Tos, P., Czaja, K., & Fornaro, M. (2009). Histology of the peripheral nerve and changes occurring during nerve regeneration. International review of neurobiology, 87, 27-46.
17- Waxman, S. G. (2016). Clinical neuroanatomy. McGraw-Hill Education.
18- Terzis, J. K., & Smith, K. L. (1990). The peripheral nerve: structure, function, and reconstruction. Raven Press.

19- Barrett, K. E., Barman, S. M., Boitano, S., & Brooks, H. (2012). Ganong's Review of Medical Physiology. 24 edn.
20- Winograd, J. M., & Mackinnon, S. E. (2006). Peripheral nerve injuries: repair and reconstruction. Plastic surgery, 7, 471-514.
21- Mackinnon, S. E., Dvali, L. T., Berger, R. A., & Weiss, A. P. C. (2004). Basic pathology of the hand, wrist and forearm: nerve. Hand surgery. Philadelphia: Lipincott Williams and Wilkins, 37-49.
22- Hoffman, P. N., & Griffin, J. W. (1993). The control of axonal caliber. In Peripheral neuropathy (Vol. 1, pp. 389-402). Saunders Philadelphia.
23- Al, M. (2013). Junqueira's basic histology: text and atlas. Edisi ke, 14.
24- Topp, K. S., & Boyd, B. S. (2012). Peripheral nerve: from the microscopic functional unit of the axon to the biomechanically loaded macroscopic structure. Journal of Hand Therapy, 25(2), 142-152.
25- Sunderland, S. S. (1990). The anatomy and physiology of nerve injury. Muscle & Nerve: Official Journal of the American Association of Electrodiagnostic Medicine, 13(9), 771-784.
26- Stewart, J. D. (2003). Peripheral nerve fascicles: anatomy and clinical relevance. Muscle & nerve, 28(5), 525-541.
27- Kierszenbaum, A. L., & Tres, L. (2015). Histology and Cell Biology: an introduction to pathology E-Book. Elsevier Health Sciences.
28- Allt, G., & Lawrenson, J. G. (2000). The blood–nerve barrier: enzymes, transporters and receptors—a comparison with the blood–brain barrier. Brain research bulletin, 52(1), 1-12.
29- Lundborg, G., & Dahlin, L. B. (1996). Anatomy, function, and pathophysiology of peripheral nerves and nerve compression. Hand clinics, 12(2), 185-193.
30- Kaya, Y., & Sarikcioglu, L. (2015). Sir Herbert Seddon (1903–1977) and his classification scheme for peripheral nerve injury. Child's Nervous System, 31(2), 177-180.
31- Robinson, L. R. (Ed.). (2006). Trauma rehabilitation. Lippincott Williams & Wilkins.
32- Maggi, S. P., Lowe, J. B., & Mackinnon, S. E. (2003). Pathophysiology of nerve injury. Clinics in plastic surgery, 30(2), 109-126.
33- Chhabra, A., Ahlawat, S., Belzberg, A., & Andreseik, G. (2014). Peripheral nerve injury grading simplified on MR neurography: As referenced to Seddon and Sunderland classifications. Indian Journal of Radiology and Imaging, 24(03), 217-224.
34- Seddighi, A., Nikouei, A., Seddighi, A. S., Zali, A. R., Tabatabaei, S. M., Sheykhi, A. R., ... & Naeimian, S. (2016). Peripheral nerve injury: a review article. International Clinical Neurosciences Journal, 3(1), 1-6.
35- Ozturk, C. (2015). Peripheral nerve surgery models sciatic nerve crush injury model. In Plastic and reconstructive surgery (pp. 513-517). Springer, London.
36- Colohan, A. R., Pitts, L. H., & Rosegay, H. (1996). Injury to the peripheral nerves. Trauma, 3, 853-62.
37- Wang, J. T., Medress, Z. A., & Barres, B. A. (2012). Axon degeneration: molecular mechanisms of a self-destruction pathway. Journal of Cell Biology, 196(1), 7-18.
38- Fu, S. Y., & Gordon, T. (1997). The cellular and molecular basis of peripheral nerve regeneration. Molecular neurobiology, 14(1), 67-116.
39- Sulaiman, O. A., & Gordon, T. (2009). Role of chronic Schwann cell denervation in poor functional recovery after nerve injuries and experimental strategies to combat it. Neurosurgery, 65(suppl_4), A105-A114.
40- Lundborg, G. (2000). A 25-year perspective of peripheral nerve surgery: evolving neuroscientific concepts and clinical significance. The Journal of hand surgery, 25(3), 391-414.

41- Klimaschewski, L., Hausott, B., & Angelov, D. N. (2013). The pros and cons of growth factors and cytokines in peripheral axon regeneration. International review of neurobiology, 108, 137-171.
42- Sulaiman, O. A., Boyd, J. G., Gordon, T., Kettenmann, H., & Ransom, B. R. (2005). Axonal regeneration in the peripheral system of mammals. Neuroglia, 454-466.
43- Krystosek, A., & Seeds, N. W. (1981). Plasminogen activator release at the neuronal growth cone. Science, 213(4515), 1532-1534.
44- Burnett, M. G., & Zager, E. L. (2004). Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. Neurosurgical focus, 16(5), 1-7.
45- Önger, M. E., Delibaş, B., Türkmen, A. P., Erener, E., Altunkaynak, B. Z., & Kaplan, S. (2016). The role of growth factors in nerve regeneration. Drug discoveries & therapeutics, 10(6), 285-291.
46- Geraldo, S., & Gordon-Weeks, P. R. (2009). Cytoskeletal dynamics in growth-cone steering. Journal of cell science, 122(20), 3595-3604.
47- Gordon, T., Tyreman, N., & Raji, M. A. (2011). The basis for diminished functional recovery after delayed peripheral nerve repair. Journal of Neuroscience, 31(14), 5325-5334.
48- Battiston, B., Papalia, I., Tos, P., & Geuna, S. (2009). Peripheral nerve repair and regeneration research: a historical note. International review of neurobiology, 87, 1-7.
49- Austin, P. J., & Moalem-Taylor, G. (2010). The neuro-immune balance in neuropathic pain: involvement of inflammatory immune cells, immune-like glial cells and cytokines. Journal of neuroimmunology, 229(1-2), 26-50.
50- Rotshenker, S. (2011). Wallerian degeneration: the innate-immune response to traumatic nerve injury. Journal of neuroinflammation, 8(1), 1-14.
51- Boivin, A., Pineau, I., Barrette, B., Filali, M., Vallieres, N., Rivest, S., & Lacroix, S. (2007). Toll-like receptor signaling is critical for Wallerian degeneration and functional recovery after peripheral nerve injury. Journal of Neuroscience, 27(46), 12565-12576.
52- Ramaglia, V., Daha, M. R., & Baas, F. (2008). The complement system in the peripheral nerve: friend or foe?. Molecular immunology, 45(15), 3865-3877.
53- Fregnan, F., Muratori, L., Simões, A. R., Giacobini-Robecchi, M. G., & Raimondo, S. (2012). Role of inflammatory cytokines in peripheral nerve injury. Neural Regeneration Research, 7(29), 2259.
54- Gardiner, N. J. (2011). Integrins and the extracellular matrix: key mediators of development and regeneration of the sensory nervous system. Developmental neurobiology, 71(11), 1054-1072.
55- Temporin, K., Tanaka, H., Kuroda, Y., Okada, K., Yachi, K., Moritomo, H., ... & Yoshikawa, H. (2008). Interleukin-1 beta promotes sensory nerve regeneration after sciatic nerve injury. Neuroscience letters, 440(2), 130-133.
56- Shubayev, V. I., Angert, M., Dolkas, J., Campana, W. M., Palenscar, K., & Myers, R. R. (2006). TNFα-induced MMP-9 promotes macrophage recruitment into injured peripheral nerve. Molecular and Cellular Neuroscience, 31(3), 407-415.
57- Dubový, P., Raška, O., Klusáková, I., Stejskal, L., Čelakovský, P., & Haninec, P. (2011). Ciliary neurotrophic factor promotes motor reinnervation of the musculocutaneous nerve in an experimental model of end-to-side neurorrhaphy. BMC neuroscience, 12(1), 1-12.
58- Holtmann, B., Wiese, S., Samsam, M., Grohmann, K., Pennica, D., Martini, R., & Sendtner, M. (2005). Triple knock-out of CNTF, LIF, and CT-1 defines cooperative and distinct roles of these neurotrophic factors for motoneuron maintenance and function. Journal of Neuroscience, 25(7), 1778-1787.
59- Yang, P., Wen, H., Ou, S., Cui, J., & Fan, D. (2012). IL-6 promotes regeneration and functional recovery after cortical spinal tract injury by reactivating intrinsic growth program of neurons and enhancing synapse formation. Experimental neurology, 236(1), 19-27.

60- Ben-Yaakov, K., Dagan, S. Y., Segal-Ruder, Y., Shalem, O., Vuppalanchi, D., Willis, D. E., ... & Fainzilber, M. (2012). Axonal transcription factors signal retrogradely in lesioned peripheral nerve. The EMBO journal, 31(6), 1350-1363.
61- Grosheva, M., Nohroudi, K., Schwarz, A., Rink, S., Bendella, H., Sarikcioglu, L., ... & Angelov, D. N. (2016). Comparison of trophic factors' expression between paralyzed and recovering muscles after facial nerve injury. A quantitative analysis in time course. Experimental Neurology, 279, 137-148.
62- Sacchetti, M., & Lambiase, A. (2017). Neurotrophic factors and corneal nerve regeneration. Neural regeneration research, 12(8), 1220.
63- Önger, M. E., Delibaş, B., Türkmen, A. P., Erener, E., Altunkaynak, B. Z., & Kaplan, S. (2016). The role of growth factors in nerve regeneration. Drug discoveries & therapeutics, 10(6), 285-291.
64- Li, R., Zou, S., Wu, Y., Li, Y., Khor, S., Mao, Y., ... & Xiao, J. (2017). Heparin-based coacervate of bFGF facilitates peripheral nerve regeneration by inhibiting endoplasmic reticulum stress following sciatic nerve injury. Oncotarget, 8(29), 48086.
65- McGregor, C. E., & English, A. W. (2019). and The role of BDNF in peripheral nerve regeneration: activity-dependent treatments Val66Met. Frontiers in cellular neuroscience, 12, 522.
66- Hart, M. N. (1998). Greenfield's Neuropathology. Journal of Neuropathology and Experimental Neurology, 57(1), 95.
67- Trumble, T. E. (2000). Peripheral nerve injury: pathophysiology and repair. Trauma, 4, 1047-55.
68- Grant, G. A., Goodkin, R., & Kliot, M. (1999). Evaluation and surgical management of peripheral nerve problems. Neurosurgery, 44(4), 825-839.
69- Jones, L. K. (2012). Nerve conduction studies: basic concepts and patterns of abnormalities. Neurologic clinics, 30(2), 405-427.
70- Padua, L., Di Pasquale, A., Liotta, G., Granata, G., Pazzaglia, C., Erra, C., ... & Martinoli, C. (2013). Ultrasound as a useful tool in the diagnosis and management of traumatic nerve lesions. Clinical neurophysiology, 124(6), 1237-1243.
71- Zaidman, C. M., Seelig, M. J., Baker, J. C., Mackinnon, S. E., & Pestronk, A. (2013). Detection of peripheral nerve pathology: comparison of ultrasound and MRI. Neurology, 80(18), 1634-1640.
72- Schwartz, S. I. (Ed.). (1999). Principles of surgery: Pretest self-assessment and review. McGraw-Hill, Health Professions Division.
73- Beris, A., Gkiatas, I., Gelalis, I., Papadopoulos, D., & Kostas-Agnantis, I. (2019). Current concepts in peripheral nerve surgery. European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology, 29(2), 263-269.
74- Chen, Y., Guo, W., Xu, L., Li, W., Cheng, M., Hu, Y., & Xu, W. (2016). 17β-Estradiol promotes Schwann cell proliferation and differentiation, accelerating early remyelination in a mouse peripheral nerve injury model. BioMed research international, 2016.
75- Hobbenaghi, R., Javanbakht, J., Hosseini, E., Mohammadi, S., Rajabian, M., Moayeri, P., & Hassan, M. A. (2016). Retraction Note: Neuropathological and neuroprotective features of vitamin B12 on the dorsal spinal ganglion of rats after the experimental crush of sciatic nerve: an experimental study. Diagnostic pathology, 11(1), 1-1.
76- Teodori, R. M., Betini, J., de Oliveira, L. S., Sobral, L. L., Takeda, S. Y. M., & Montebelo, M. I. D. L. (2011). Swimming exercise in the acute or late phase after sciatic nerve crush accelerates nerve regeneration. Neural plasticity, 2011.
77- Zhang, X., Xin, N., Tong, L., & Tong, X. J. (2013). Electrical stimulation enhances peripheral nerve regeneration after crush injury in rats. Molecular medicine reports, 7(5), 1523-1527.

78- Andia, I., & Maffulli, N. (2018). A contemporary view of platelet-rich plasma therapies: Moving toward refined clinical protocols and precise indications. Regenerative Medicine, 13(06), 717-728.
79- Boron, W. F., & Boulpaep, E. L. (2016). Medical physiology E-book. Elsevier Health Sciences.
80- Etulain, J. (2018). Platelets in wound healing and regenerative medicine. Platelets, 29(6), 556-568.
81- Szpaderska, A. M., Egozi, E. I., Gamelli, R. L., & DiPietro, L. A. (2003). The effect of thrombocytopenia on dermal wound healing. Journal of Investigative Dermatology, 120(6), 1130-1137.
82- Forbes, S. J., & Rosenthal, N. (2014). Preparing the ground for tissue regeneration: from mechanism to therapy. Nature medicine, 20(8), 857-869.
83- Patel, S. R., Hartwig, J. H., & Italiano, J. E. (2005). The biogenesis of platelets from megakaryocyte proplatelets. The Journal of clinical investigation, 115(12), 3348-3354.
84- Larivière, B., Rouleau, M., Picard, S., & Beaulieu, A. D. (2003). Human plasma fibronectin potentiates the mitogenic activity of platelet-derived growth factor and complements its wound healing effects. Wound repair and regeneration, 11(1), 79-89.
85- Chapman, H. A. (1997). Plasminogen activators, integrins, and the coordinated regulation of cell adhesion and migration. Current opinion in cell biology, 9(5), 714-724.
86- De Pascale, M. R., Sommese, L., Casamassimi, A., & Napoli, C. (2015). Platelet derivatives in regenerative medicine: an update. Transfusion medicine reviews, 29(1), 52-61.
87- Larivière, B., Rouleau, M., Picard, S., & Beaulieu, A. D. (2003). Human plasma fibronectin potentiates the mitogenic activity of platelet-derived growth factor and complements its wound healing effects. Wound repair and regeneration, 11(1), 79-89.
88- Etulain, J., Mena, H. A., Negrotto, S., & Schattner, M. (2015). Stimulation of PAR-1 or PAR-4 promotes similar pattern of VEGF and endostatin release and pro-angiogenic responses mediated by human platelets. Platelets, 26(8), 799-804.
89- Bikfalvi, A. (2004, June). Platelet factor 4: an inhibitor of angiogenesis. In Seminars in thrombosis and hemostasis (Vol. 30, No. 03, pp. 379-385). Copyright© 2004 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA..
90- Nurden, A. T., Nurden, P., Sanchez, M., Andia, I., & Anitua, E. (2008). Platelets and wound healing. Frontiers in Bioscience-Landmark, 13(9), 3532-3548.
91- Polgar, J., Matuskova, J., & Wagner, D. D. (2005). The P-selectin, tissue factor, coagulation triad. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 3(8), 1590-1596.
92- Gawaz, M., Langer, H., & May, A. E. (2005). Platelets in inflammation and atherogenesis. The Journal of clinical investigation, 115(12), 3378-3384.
93- Koupenova, M., Clancy, L., Corkrey, H. A., & Freedman, J. E. (2018). Circulating platelets as mediators of immunity, inflammation, and thrombosis. Circulation research, 122(2), 337-351.
94- Nurden, A. T. (2011). Platelets, inflammation and tissue regeneration. Thrombosis and haemostasis, 105(S 06), S13-S33.
95- Hom, D. B., Linzie, B. M., & Huang, T. C. (2007). The healing effects of autologous platelet gel on acute human skin wounds. Archives of facial plastic surgery, 9(3), 174-183.
96- Borregaard, N., Sørensen, O. E., & Theilgaard-Mönch, K. (2007). Neutrophil granules: a library of innate immunity proteins. Trends in immunology, 28(8), 340-345.
97- Krysko, D. V., D'Herde, K., & Vandenabeele, P. (2006). Clearance of apoptotic and necrotic cells and its immunological consequences. Apoptosis, 11(10), 1709-1726.
98- Anderson, J. M. (2000). The cellular cascades of wound healing. Bone engineering, 1, 81-93.

99- Schultz, G. S., Sibbald, R. G., Falanga, V., Ayello, E. A., Dowsett, C., Harding, K., ... & Vanscheidt, W. (2003). Wound bed preparation: a systematic approach to wound management. Wound repair and regeneration, 11, S1-S28.
100- Flad, H. D., & Brandt, E. (2010). Platelet-derived chemokines: pathophysiology and therapeutic aspects. Cellular and Molecular Life Sciences, 67(14), 2363-2386.
101- Marx, R. E. (2004). Platelet-rich plasma: evidence to support its use. Journal of oral and maxillofacial surgery, 62(4), 489-496.
102- Froum, S. J., Wallace, S. S., Tarnow, D. P., & Cho, S. C. (2002). Effect of platelet-rich plasma on bone growth and osseointegration in human maxillary sinus grafts: three bilateral case reports. International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry, 22(1).
103- Carmeliet, P., & Jain, R. K. (2011). Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. Nature, 473(7347), 298-307.
104- Xue, M., & Jackson, C. J. (2015). Extracellular matrix reorganization during wound healing and its impact on abnormal scarring. Advances in wound care, 4(3), 119-136.
105- Paul, W., & Sharma, C. P. (2015). Wound-healing Dressings and Drug Delivery. Advances in Wound Healing Materials: Science and Skin Engineering. Smithers Rapra Technology Ltd, 81-102.
106- Forbes, S. J., & Rosenthal, N. (2014). Preparing the ground for tissue regeneration: from mechanism to therapy. Nature medicine, 20(8), 857-869.
107- Poon, I. K. H., Hulett, M. D., & Parish, C. R. (2010). Molecular mechanisms of late apoptotic/necrotic cell clearance. Cell Death & Differentiation, 17(3), 381-397.
108- Guo, S. A., & DiPietro, L. A. (2010). Factors affecting wound healing. Journal of dental research, 89(3), 219-229.
109- Andia, I. (2016). Platelet-rich plasma biology. Clinical Indications and Treatment Protocols with Platelet-Rich Plasma in Dermatology. Barcelona, Ediciones, 3-15.
110- Anitua, E. (1999). Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. International journal of Oral and maxillofacial Implants, 14(4), 529-535.
111- Andia, I., Rubio-Azpeitia, E., Martin, J. I., & Abate, M. (2015). Current concepts and translational uses of platelet rich plasma biotechnology. Biotechnology.
112- Oryan, A., Alidadi, S., & Moshiri, A. (2016). Platelet-rich plasma for bone healing and regeneration. Expert opinion on biological therapy, 16(2), 213-232.
113- Anitua, E., Pino, A., & Orive, G. (2016). Plasma rich in growth factors promotes dermal fibroblast proliferation, migration and biosynthetic activity. Journal of wound care, 25(11), 680-687.
114- Anitua, E., Sanchez, M., Merayo-Lloves, J., De la Fuente, M., Muruzabal, F., & Orive, G. (2011). Plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) stimulates proliferation and migration of primary keratocytes and conjunctival fibroblasts and inhibits and reverts TGF-β1–induced myodifferentiation. Investigative ophthalmology & visual science, 52(9), 6066-6073.
115- Akeda, K., An, H. S., Okuma, M., Attawia, M., Miyamoto, K., Thonar, E. M., ... & Masuda, K. (2006). Platelet-rich plasma stimulates porcine articular chondrocyte proliferation and matrix biosynthesis. Osteoarthritis and Cartilage, 14(12), 1272-1280.
116- Kim, T. H., Kim, S. H., Sándor, G. K., & Kim, Y. D. (2014). Comparison of platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), and concentrated growth factor (CGF) in rabbit-skull defect healing. Archives of oral biology, 59(5), 550-558.
117- Everts, P., Onishi, K., Jayaram, P., Lana, J. F., & Mautner, K. (2020). Platelet-rich plasma: new performance understandings and therapeutic considerations in 2020. International journal of molecular sciences, 21(20), 7794.

118- Marx, R. E. (2001). Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP?. Implant dentistry, 10(4), 225-228.
119- Creaney, L., & Hamilton, B. (2008). Growth factor delivery methods in the management of sports injuries: the state of play. British journal of sports medicine, 42(5), 314-320.
120- Everts, P. A., Knape, J. T., Weibrich, G., Schönberger, J. P., Hoffmann, J., Overdevest, E. P., ... & van Zundert, A. (2006). Platelet-rich plasma and platelet gel: a review. The Journal of extra-corporeal technology, 38(2), 174.
121- Galliera, E., Corsi, M. M., & Banfi, G. (2012). Platelet rich plasma therapy: inflammatory molecules involved in tissue healing. Journal of biological regulators and homeostatic agents, 26(2 Suppl 1), 35S-42S.
122- Marx, R. E. (2004). Platelet-rich plasma: evidence to support its use. Journal of oral and maxillofacial surgery, 62(4), 489-496.
123- Vendramin, F., Franco, D., & Franco, T. (2001). Methods to obtain autologous platelet-rich plasma gel. Revista Brasileira de Cirurgia Plástica, 24(2), 212-218.
124- Dhurat, R., & Sukesh, M. (2014). Principles and methods of preparation of platelet-rich plasma: a review and author's perspective. Journal of cutaneous and aesthetic surgery, 7(4), 189.
125- Mazzucco, L., Balbo, V., Cattana, E., Guaschino, R., & Borzini, P. (2009). Not every PRP-gel is born equal Evaluation of growth factor availability for tissues through four PRP-gel preparations: Fibrinet®, RegenPRP-Kit®, Plateltex® and one manual procedure. Vox sanguinis, 97(2), 110-118.
126- Kushida, S., Kakudo, N., Morimoto, N., Hara, T., Ogawa, T., Mitsui, T., & Kusumoto, K. (2014). Platelet and growth factor concentrations in activated platelet-rich plasma: a comparison of seven commercial separation systems. Journal of Artificial Organs, 17(2), 186-192.
127- Sampson, S., Gerhardt, M., & Mandelbaum, B. (2008). Platelet rich plasma injection grafts for musculoskeletal injuries: a review. Current reviews in musculoskeletal medicine, 1(3), 165-174.
128- Giusti, I., Rughetti, A., D'Ascenzo, S., Millimaggi, D., Pavan, A., Dell'Orso, L., & Dolo, V. (2009). Identification of an optimal concentration of platelet gel for promoting angiogenesis in human endothelial cells. Transfusion, 49(4), 771-778.
129- Repsold, L., & Joubert, A. M. (2018). Eryptosis: An erythrocyte's suicidal type of cell death. BioMed Research International, 2018.
130- Fitzpatrick, J., Bulsara, M. K., McCrory, P. R., Richardson, M. D., & Zheng, M. H. (2017). Analysis of platelet-rich plasma extraction: variations in platelet and blood components between 4 common commercial kits. Orthopaedic journal of sports medicine, 5(1), 2325967116675272.
131- de Melo, B. A. G., Luzo, Â. C. M., Lana, J. F. S. D., & Santana, M. H. A. (2019). Centrifugation conditions in the L-PRP preparation affect soluble factors release and mesenchymal stem cell proliferation in fibrin nanofibers. Molecules, 24(15), 2729.
132- Zhou, Y., & Wang, J. H. (2016). PRP treatment efficacy for tendinopathy: a review of basic science studies. BioMed Research International, 2016.
133- Fedorova, N. V., Ksenofontov, A. L., Serebryakova, M. V., Stadnichuk, V. I., Gaponova, T. V., Baratova, L. A., ... & Galkina, S. I. (2018). Neutrophils release metalloproteinases during adhesion in the presence of insulin, but cathepsin G in the presence of glucagon. Mediators of inflammation, 2018.
134- Weirather, J., Hofmann, U. D., Beyersdorf, N., Ramos, G. C., Vogel, B., Frey, A., ... & Frantz, S. (2014). Foxp3+ CD4+ T cells improve healing after myocardial infarction by modulating monocyte/macrophage differentiation. Circulation research, 115(1), 55-67.

135- Ferrante, C. J., & Leibovich, S. J. (2012). Regulation of macrophage polarization and wound healing. Advances in wound care, 1(1), 10-16.
136- Kim, J. H., Park, Y. B., Ha, C. W., Roh, Y. J., & Park, J. G. (2021). Adverse reactions and clinical outcomes for leukocyte-poor versus leukocyte-rich platelet-rich plasma in knee osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis. Orthopaedic Journal of Sports Medicine, 9(6), 23259671211011948.
137- Liu, X., Zhang, R., Zhu, B., Li, Y., Liu, X., Guo, S., ... & Li, S. (2021). Effects of leukocyte-and platelet-rich plasma on tendon disorders based on in vitro and in vivo studies. Experimental and Therapeutic Medicine, 21(6), 1-7.
138- Simonpieri, A., Choukroun, J., Girard, M. O., Ouaknine, T., & Dohan, D. (2004). Immediate post-extraction implantation: interest of the PRF. Implantodontie, 13(177), 89.
139- Vinaya Kumar, R., & Shubhashini, N. (2013). Platelet rich fibrin: a new paradigm in periodontal regeneration. Cell and tissue banking, 14(3), 453-463.
140- Saluja, H., Dehane, V., & Mahindra, U. (2011). Platelet-Rich fibrin: A second generation platelet concentrate and a new friend of oral and maxillofacial surgeons. Annals of maxillofacial surgery, 1(1), 53.
141- Pontoriero, R., Lindhe, J., Nyman, S., Karring, T., Rosenberg, E., & Sanavi, F. (1988). Guided tissue regeneration in degree II furcation-involved mandibular molars: A clinical study. Journal of Clinical Periodontology, 15(4), 247-254.
142- Dohan Ehrenfest, D. M., Del Corso, M., Diss, A., Mouhyi, J., & Charrier, J. B. (2010). Three-dimensional architecture and cell composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane. Journal of periodontology, 81(4), 546-555.
143- Marx, R. E., Carlson, E. R., Eichstaedt, R. M., Schimmele, S. R., Strauss, J. E., & Georgeff, K. R. (1998). Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology, 85(6), 638-646.
144- Scherer, S. S., Tobalem, M., Vigato, E., Heit, Y., Modarressi, A., Hinz, B., ... & Pietramaggiori, G. (2012). Nonactivated versus thrombin-activated platelets on wound healing and fibroblast-to-myofibroblast differentiation in vivo and in vitro. Plastic and reconstructive surgery, 129(1), 46e-54e.
145- Jeon, Y. R., Jung, B. K., Roh, T. S., Kang, E. H., Lee, W. J., Rah, D. K., ... & Yun, I. S. (2016). Comparing the effect of nonactivated platelet-rich plasma, activated platelet-rich plasma, and bone morphogenetic protein-2 on calvarial bone regeneration. Journal of Craniofacial Surgery, 27(2), 317-321.
146- Ehrenfest, D. M. D., Rasmusson, L., & Albrektsson, T. (2009). Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF). Trends in biotechnology, 27(3), 158-167.
147- Guzel, Y., Karalezli, N., Bilge, O., Kacira, B. K., Esen, H., Karadag, H., ... & Doral, M. N. (2015). The biomechanical and histological effects of platelet-rich plasma on fracture healing. Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy, 23(5), 1378-1383.
148- Roffi, A., Di Matteo, B., Krishnakumar, G. S., Kon, E., & Filardo, G. (2017). Platelet-rich plasma for the treatment of bone defects: from pre-clinical rational to evidence in the clinical practice. A systematic review. International orthopaedics, 41(2), 221-237.
149- Shen, L., Yuan, T., Chen, S., Xie, X., & Zhang, C. (2017). The temporal effect of platelet-rich plasma on pain and physical function in the treatment of knee osteoarthritis: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Journal of orthopaedic surgery and research, 12(1), 1-12.
150- Laudy, A. B., Bakker, E. W., Rekers, M., & Moen, M. H. (2015). Efficacy of platelet-rich plasma injections in osteoarthritis of the knee: a systematic review and meta-analysis. British journal of sports medicine, 49(10), 657-672.

151- Smith, P. A. (2016). Intra-articular autologous conditioned plasma injections provide safe and efficacious treatment for knee osteoarthritis: an FDA-sanctioned, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. The American journal of sports medicine, 44(4), 884-891.
152- Gosens, T., Peerbooms, J. C., van Laar, W., & den Oudsten, B. L. (2011). Ongoing positive effect of platelet-rich plasma versus corticosteroid injection in lateral epicondylitis: a double-blind randomized controlled trial with 2-year follow-up. The American journal of sports medicine, 39(6), 1200-1208.
153- Rha, D. W., Park, G. Y., Kim, Y. K., Kim, M. T., & Lee, S. C. (2013). Comparison of the therapeutic effects of ultrasound-guided platelet-rich plasma injection and dry needling in rotator cuff disease: a randomized controlled trial. Clinical rehabilitation, 27(2), 113-122.
154- Shams, A., El-Sayed, M., Gamal, O., & Ewes, W. (2016). Subacromial injection of autologous platelet-rich plasma versus corticosteroid for the treatment of symptomatic partial rotator cuff tears. European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology, 26(8), 837-842.
155- Singh, P., Madanipour, S., Bhamra, J. S., & Gill, I. (2017). A systematic review and meta-analysis of platelet-rich plasma versus corticosteroid injections for plantar fasciopathy. International orthopaedics, 41(6), 1169-1181.
156- Le, A. D., Enweze, L., DeBaun, M. R., & Dragoo, J. L. (2018). Current clinical recommendations for use of platelet-rich plasma. Current reviews in musculoskeletal medicine, 11(4), 624-634.
157- Meschi, N., Castro, A. B., Vandamme, K., Quirynen, M., & Lambrechts, P. (2016). The impact of autologous platelet concentrates on endodontic healing: a systematic review. Platelets, 27(7), 613-633.
158- Roselló-Camps, À., Monje, A., Lin, G. H., Khoshkam, V., Chávez-Gatty, M., Wang, H. L., ... & Hernandez-Alfaro, F. (2015). Platelet-rich plasma for periodontal regeneration in the treatment of intrabony defects: a meta-analysis on prospective clinical trials. Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology, 120(5), 562-574.
159- Prataap, N., Sunil, P. M., Sudeep, C. B., Ninan, V. S., Tom, A., & Arjun, M. R. (2017). Platelet-rich plasma and incidence of alveolar osteitis in high-risk patients undergoing extractions of mandibular molars: A case–control study. Journal of pharmacy & bioallied sciences, 9(Suppl 1), S173.
160- Shin, M. K., Lee, J. H., Lee, S. J., & Kim, N. I. (2012). Platelet-rich plasma combined with fractional laser therapy for skin rejuvenation. Dermatologic surgery, 38(4), 623-630.
161- Gentile, P., Garcovich, S., Bielli, A., Scioli, M. G., Orlandi, A., & Cervelli, V. (2015). The effect of platelet-rich plasma in hair regrowth: a randomized placebo-controlled trial. Stem cells translational medicine, 4(11), 1317-1323.
162- Cervantes, J., Perper, M., Wong, L. L., Eber, A. E., Fricke, A. C. V., Wikramanayake, T. C., & Jimenez, J. J. (2018). Effectiveness of platelet-rich plasma for androgenetic alopecia: a review of the literature. Skin appendage disorders, 4(1), 1-11.
163- Cervelli, V., Lucarini, L., Spallone, D., Palla, L., Colicchia, G. M., Gentile, P., & De Angelis, B. (2011). Use of platelet-rich plasma and hyaluronic acid in the loss of substance with bone exposure. Advances in skin & wound care, 24(4), 176-181.
164- Nicoli, F., Balzani, A., Lazzeri, D., Gentile, P., Chilgar, R. M., Di Pasquali, C., ... & Cervelli, V. (2015). Severe hidradenitis suppurativa treatment using platelet-rich plasma gel and Hyalomatrix. International wound journal, 12(3), 338-343.
165- Babaei, V., Afradi, H., Gohardani, H. Z., Nasseri, F., Azarafza, M., & Teimourian, S. (2017). Management of chronic diabetic foot ulcers using platelet-rich plasma. Journal of wound care, 26(12), 784-787.

166- Ruzafa, N., Pereiro, X., Fonollosa, A., Araiz, J., Acera, A., & Vecino, E. (2021). The effect of plasma rich in growth factors on microglial migration, macroglial gliosis and proliferation, and neuronal survival. Frontiers in Pharmacology, 12, 606232.
167- Jiang, J., Xing, F., Luo, R., & Liu, M. (2022). Effectiveness of Platelet-Rich Plasma for Patients With Carpal Tunnel Syndrome: A Systematic Review and meta-Analysis of Current Evidence in Randomized Controlled Trials. Frontiers in Pharmacology, 1054.
168- Choi, J., Minn, K. W., & Chang, H. (2012). The efficacy and safety of platelet-rich plasma and adipose-derived stem cells: an update. Archives of plastic surgery, 39(06), 585-592.
169- Harmon, K., Hanson, R., Bowen, J., Greenberg, S., Magaziner, E., Vandenbosch, J., ... & Audley, D. (2011). Guidelines for the use of platelet rich plasma. URL: https://www. scribd. com/document/159334949/206-ICMS-Guidelines-for-the-Use-of-Platelet-Rich-Plasma-Draftob-oasbonasdandbowndoww.
170- Chaniotakis, I., Spyrliadis, A., Katsimpoulas, M., & Kostomitsopoulos, N. (2016). The mouse and the rat in surgical research. The anesthetic approach. Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society, 67(3), 147-162.
171- Dun, X. P., & Parkinson, D. B. (2018). Transection and crush models of nerve injury to measure repair and remyelination in peripheral nerve. In Myelin (pp. 251-262). Humana Press, New York, NY.
172- Pritchett-Corning, K. R., Mulder, G. B., Luo, Y., & White, W. J. (2011). Principles of rodent surgery for the new surgeon. J Vis Exp, 47, e2586.
173- Parker, J. L., Shariati, N. H., & Karantonis, D. M. (2018). Electrically evoked compound action potential recording in peripheral nerves. Bioelectronics in medicine, 1(1), 71-83.
174- Pollari, E., Prior, R., Robberecht, W., Van Damme, P., & Van Den Bosch, L. (2018). In vivo electrophysiological measurement of compound muscle action potential from the forelimbs in mouse models of motor neuron degeneration. JoVE (Journal of Visualized Experiments), (136), e57741.
175- Raimondo, S., Fornaro, M., Di Scipio, F., Ronchi, G., Giacobini-Robecchi, M. G., & Geuna, S. (2009). Methods and protocols in peripheral nerve regeneration experimental research: part II—morphological techniques. International review of neurobiology, 87, 81-103.
176- Carriel, V., Campos, A., Alaminos, M., Raimondo, S., & Geuna, S. (2017). Staining methods for normal and regenerative myelin in the nervous system. In Histochemistry of single molecules (pp. 207-218). Humana Press, New York, NY.
177- Kamble, N., Shukla, D., & Bhat, D. (2019). Peripheral nerve injuries: electrophysiology for the neurosurgeon. Neurology India, 67(6), 1419.
178- Rubin, D., & Daube, J. (2012). Nerve conduction studies. Aminoff's Electrodiagnosis in Clinical Neurology.
179- Menter, D. G., Kopetz, S., Hawk, E., Sood, A. K., Loree, J. M., Gresele, P., & Honn, K. V. (2017). Platelet "first responders" in wound response, cancer, and metastasis. Cancer and Metastasis Reviews, 36(2), 199-213.
180- Etulain, J. (2018). Platelets in wound healing and regenerative medicine. Platelets, 29(6), 556-568.
181- Eisinger, F., Patzelt, J., & Langer, H. F. (2018). The platelet response to tissue injury. Frontiers in medicine, 5, 317.
182- Li, S., Gu, X., & Yi, S. (2017). The regulatory effects of transforming growth factor-β on nerve regeneration. Cell transplantation, 26(3), 381-394.

183- Fujimura, H., Altar, C. A., Chen, R., Nakamura, T., Nakahashi, T., Kambayashi, J. I., ... & Tandon, N. N. (2002). Brain-derived neurotrophic factor is stored in human platelets and released by agonist stimulation. Thrombosis and haemostasis, 87(04), 728-734.
184- Li, R., Li, D. H., Zhang, H. Y., Wang, J., Li, X. K., & Xiao, J. (2020). Growth factors-based therapeutic strategies and their underlying signaling mechanisms for peripheral nerve regeneration. Acta Pharmacologica Sinica, 41(10), 1289-1300.
185- Zurita M, Otero L, Aguayo C, Bonilla C, Ferreira E, Parajón A, et al. Cell therapy for spinal cord repair: Optimization of biologic scaffolds for survival and neural differentiation of human bone marrow stromal cells. Cytotherapy. 2010;**12**(4):522-537. DOI: 10.3109/14653241003615164
186- Charles, Q. Y., Zhang, M., Matis, K. I., Kim, C., & Rosenblatt, M. I. (2008). Vascular endothelial growth factor mediates corneal nerve repair. Investigative ophthalmology & visual science, 49(9), 3870-3878.
187- Apel, P. J., Ma, J., Callahan, M., Northam, C. N., Alton, T. B., Sonntag, W. E., & Li, Z. (2010). Effect of locally delivered IGF-1 on nerve regeneration during aging: an experimental study in rats. Muscle & Nerve: Official Journal of the American Association of Electrodiagnostic Medicine, 41(3), 335-341.
188- Toledo, R. N., Borin, A., Cruz, O. L., Ho, P. L., Testa, J. R., & Fukuda, Y. (2010). The action of topical basic fibroblast growth factor in facial nerve regeneration. Otology & Neurotology, 31(3), 498-505.
189- Torul, D., Bereket, M. C., Onger, M. E., & Altun, G. (2018). Comparison of the regenerative effects of platelet-rich fibrin and plasma rich in growth factors on injured peripheral nerve: an experimental study. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 76(8), 1823-e1
190- Li, L., Cai, J., Yuan, Y., Mao, Y., Xu, L., Han, Y., ... & Wang, H. (2019). Platelet-rich *plasma can release nutrient factors to promote facial nerve crush injury recovery in* rats. Saudi Medical Journal, 40(12), 1209.
191- Sánchez, M., Anitua, E., Delgado, D., Prado, R., Sánchez, P., Fiz, N., ... & Padilla, S. (2017). Ultrasound-guided plasma rich in growth factors injections and scaffolds hasten motor nerve functional recovery in an ovine model of nerve crush injury. Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine, 11(5), 1619-1629.
192- Zhu, Y., Jin, Z., Wang, J., Chen, S., Hu, Y., Ren, L., ... & Wang, Y. (2020). Ultrasound-guided platelet-rich plasma injection and multimodality ultrasound examination of peripheral nerve crush injury. NPJ Regenerative medicine, 5(1), 1-13.
193- Bayram, B., Akdeniz, S. S., Diker, N., Helvacioglu, F., & Erdem, S. R. (2018). Effects of platelet-rich fibrin membrane on sciatic nerve regeneration. Journal of Craniofacial Surgery, 29(3), e239-e243.
194 - M Dohan Ehrenfest, D., Bielecki, T., Jimbo, R., Barbe, G., Del Corso, M., Inchingolo, F., & Sammartino, G. (2012). Do the fibrin architecture and leukocyte content influence the growth factor release of platelet concentrates? An evidence-based answer comparing a pure platelet-rich plasma (P-PRP) gel and a leukocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF). Current pharmaceutical biotechnology, 13(7), 1145-1152.
195- Devereaux, J., Dargahi, N., Fraser, S., Nurgali, K., Kiatos, D., & Apostolopoulos, V. (2020). Leucocyte-rich platelet-rich plasma enhances fibroblast and extracellular matrix activity: Implications in wound healing. International journal of molecular sciences, 21(18), 6519.
196- Mallik, A., & Weir, A. (2005). Nerve conduction studies: essentials and pitfalls in practice. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 76(suppl 2), ii23-ii31.

197- Huang, M. L., Zhai, Z., Chen, Z. X., Yang, X. N., & Qi, Z. L. (2020). Platelet-rich fibrin membrane nerve guidance conduit: a potentially promising method for peripheral nerve injuries. Chinese medical journal, 133(08), 999-1001.
198- Zheng, C., Zhu, Q., Liu, X., Huang, X., He, C., Jiang, L., ... & Zhu, Z. (2016). Effect of platelet-rich plasma (PRP) concentration on proliferation, neurotrophic function and migration of Schwann cells in vitro. Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine, 10(5), 428-436
199- Balakrishnan, A., Belfiore, L., Chu, T. H., Fleming, T., Midha, R., Biernaskie, J., & Schuurmans, C. (2021). Insights into the role and potential of schwann cells for peripheral nerve repair from studies of development and injury. Frontiers in Molecular Neuroscience, 13, 608442.
200- Slavin, B. R., Sarhane, K. A., von Guionneau, N., Hanwright, P. J., Qiu, C., Mao, H. Q., ... & Tuffaha, S. H. (2021). Insulin-like growth factor-1: a promising therapeutic target for peripheral nerve injury. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 9, 549
201- Sundman, E. A., Cole, B. J., & Fortier, L. A. (2011). Growth factor and catabolic cytokine concentrations are influenced by the cellular composition of platelet-rich plasma. The American journal of sports medicine, 39(10), 2135-2140

Abstract

Traumatic peripheral nerve injuries are common injuries that affect quality of live. Although much is known about the mechanisms of injury and nerve regeneration, there are few approved treatments that lead to functional recovery. Platelet-rich plasma (PRP) is one of the biological treatments used to stimulate tissue healing, and some studies have shown specific effects of its use after peripheral nerve injuries, but results were contradictory due to the use of different types of PRP. This research aims to evaluate the effect of PRP on peripheral nerve injuries, and compare several types of PRP.

Materials & Methods: Sixty rats were used and divided into five groups (control group 1) . crush injury was performed on the right sciatic nerves in the other groups , (group 2 damaged) was lift without treatmet , PRP were applied to the injury nerve area as follows (group 3: platelet rich plasma PRP) (group 4: Platelet rich fibrin PRF) (group 5: Leukocyte platelet rich plasma LPRP). The electrical and histological evaluation were Performed after 4 weeks and after 8 week

Results: The electrical evaluation (CMAP) and histological evaluation showed statistically significant differences comparing (Damaged& PRP) and (Damaged &PRF), and comparing (Damaged &LPRP) in the first stage of the histological evaluation only. In comparison between the treatment groups, there were no significant differences between (PRP & PRF), while there were statistically significant differences comparing (LPRP & PRF) (LPRP&PRP).

Conclusion: Platelet-rich plasma (PRP) and (PRF) stimulate nerve regeneration after traumatic peripheral nerves injuries similarly, while (LPRP) has a less specific effect.

Key words: Platelet rich plasma, Traumatic injuries of peripheral nerves, nerve regeneration.

Syrian Arab Republic
Damascus University
Faculty of medicine
Department of Physiology and Pharmacology

The Effect of Platelet-Rich Plasma on Nerve Regeneration in Peripheral Nerve Injuries

A dissertation submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree Ph.D

In Medical Physiology

By

Asmaa Shehada

Supervisor

Sobhi Al Bahri

Professor in the Department of Physiology and Pharmacology

2021-2022