



Trombositten zengin plazmanın sıçan modelinde sinir rejenerasyonuna etkileri

Levent KÜÇÜK¹, Hüseyin GÜNAY¹, Oytun ERBAŞ², Ülkü KÜÇÜK³,
Funda ATAMAZ⁴, Erhan COŞKUNOL¹

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, İzmir;

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, İzmir;

³Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Kliniği, İzmir;

⁴Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, İzmir

Amaç: Çalışmamızda trombositten zengin plazmanın periferik siyatik sinir yaranması modelinde sinir rejenerasyonunu arttırıcı etkisi olup olmadığını belirlemeye çalıştık.

Çalışma planı: On iki sıçana ait 24 siyatik sinirde sinir kesisi modeli yapıldıktan sonra tüm sinirler aynı cerrah tarafından epinöral sütürlere anarıldı. Daha sonra sıçanların yarısında (trombositten zengin plazma grubu) onarım bölgesine trombositten zengin plazma, diğer yarısında da (kontrol grubu) aynı bölgeye serum fizyolojik uygulandı. Operasyondan 12 hafta sonra yapılan motor ve elektromiyografik değerlendirmeler sonrası histopatolojik örnekler için denekler sakrifiye edildi.

Bulgular: Motor iyileşme trombositten zengin plazma grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha iyi idi. Elektromiyografik ve histomorfometrik bulgular açısından gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğu görüldü ($p < 0.05$).

Çıkarımlar: Yaptığımız deneysel çalışma trombositten zengin plazmanın sinir rejenerasyonu üzerine pozitif etkilerinin olduğunu göstermiştir.

Anahtar sözcükler: Büyüme faktörü; periferik sinir yaranması; trombositten zengin plazma; sinir rejenerasyonu; siyatik sinir.

Periferik sinir yaranmalarında hasarlı nöronların yapısal bütünlüğünü tekrar sağlayıp sinirde fonksiyonel iyileşme cerrahi tedavinin öncelikli amacıdır. Sinir rejenerasyon mekanizmalarının büyük çoğunlukla anlaşılmasına dair ve cerrahi teknikler ile kullanılan materyallerdeki gelişmelere rağmen, büyük sinir gövdelerinde meydana gelen ciddi yaranmalarda fonksiyonel iyileşme hala tam olarak sağlanamamaktadır.^[1]

Sinir rejenerasyon ve hedef organ reinervasyon süreçleri, nörona ait sayısız faktörleri içeren karmaşık bir

olaydır.^[1] Daha önceki çalışmaların çoğu cerrahi teknik, sütür materyalleri gibi mekanik faktörleri ele alsa da, kimyasal ve biyolojik ajanların sinir iyileşmesi üzerine olan etkileri merak konusu olmaya devam etmektedir.^[1-6]

Trombositler, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (platelet-derived growth factor, PDGF), dönüştürücü büyüme faktörü- β (transforming growth factor, TGF- β), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (insulin-like growth factor-1, IGF-I), fibroblast büyüme faktörü (fibroblast growth factor, FGF) ve vasküler endotelial

Yazışma adresi: Dr. Levent Küçük, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Bornova, İzmir.

Tel: +90 232 – 390 27 83 e-posta: kucuklevent@yahoo.com

Başvuru tarihi: 13.08.2013 **Kabul tarihi:** 14.10.2013

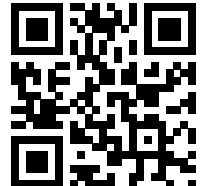
©2014 Türk Ortopedi ve Travmatoloji Derneği

Bu yazının çevrimiçi İngilizce versiyonu

www.aott.org.tr adresinde

doi: 10.3944/AOTT.2014.13.0029

Karekod (Quick Response Code)



büyüme faktörü (vascular endothelial growth factor, VEGF) gibi çok farklı büyüme faktörlerini (BF) içerirler ve aktive olduklarında bu faktörleri salarlar.^[1,7-10] Dolayısıyla, hastanın kendi kanından santrifüjle hazırlanan trombosit zengin plazma (TZP), yoğun oranda, tendon, kemik, bağ, kas ve kemik iyileşmesinde etkili olan BF içermektedir.^[1,7,9,11] Bu BF'lerin ortak özelliği, farklılaşmamış hücrelerin kemotaktik ve mitotik özelliklerini arttırarak anjiyogenezi başlatması ve doku iyileşmesine olumlu katkıda bulunmasıdır. Trombosit zengin plazmanın sinir iyileşmesine olan katkısı daha yakın dönemde araştırılmaya başlanmış ve umut verici sonuçlar elde edilmiştir.^[1,4,8,10]

Bu çalışmanın amacı, sıçanlarda oluşturulan periferik sinir kesisi modelinde primer onarım bölgesine lokal olarak uygulanan TZP'nin sinir rejenerasyonunu arttırıcı etkileri olabileceğini göstermektir. Bu bağlamda olası etkiler, mekanik, elektrofizyolojik ve histolojik yöntemler ile değerlendirilmiştir.

Gereç ve yöntem

Bu çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından incelendi ve gerekli onay alındı. Ağırlıkları 200 ile 240 g arasında değişen 12 Wistar albino sıçan çalışmaya alındı. Rastgele seçilen hayvanlar her birinde 6 sıçan, 12 siyatik sinir olacak şekilde otolog TZP ve kontrol olarak iki gruba ayrıldı.

Kuyruk veninden alınan 1 ml kan sitratlı tüpe kondu. 700 RCF'de 7 dakika santrifüj sonrası tüpün üst kısmındaki plazma alındı ve opere edilen her iki sinire eşit olarak uygulandı.

Siyatik sinir kesisi modelini oluşturmak için cerrahi yapıldı. Ketamin-ksilazin karışımı (75 mg/kg ketamin + 5 g/kg ksilazin) intraperitoneal yolla verilerek genel anestezi sağlandı. Sıçanlar operasyon masasına yüzüstü pozisyonda sabitlendikten sonra gerekli cerrahi alan temizliği yapıldı. Siyatik çentiğinin 1 cm distalinden diz eklemi posteriorundaki dallanma bölgesinin 1 cm distaline kadar her iki siyatik sinir ortaya kondu. Dallanmanın proksimalindeki 3-3.5 cm'lik sinir segmenti dikkatlice dissekte edilerek çevre yumuşak dokulardan tamamen ayrıldı. Siyatik sinir üç dala ayrıldığı noktanın 1.5 cm proksimalinden mikro makasla transvers olarak kesildi. Sinir onarımı aynı cerrah tarafından (LK) epinöral sütürlerle (10-0 Ethilon®; Ethicon Inc., Somerville, NJ, ABD) yapıldı.

Trombosit zengin plazma grubunda, eriyebilen jelatin süngere (0.5x0.5x0.1 cm, Spongostan®; Ethicon Inc., Somerville, NJ, ABD) hazırlanan TZP enjekte edilerek onarım bölgesinin üzerine yerleştirildi. Kontrol grubunda, serum fizyolojik enjekte edilmiş aynı büyüklükteki eriyebilen jelatin sünger (Spongostan®) onarım hattının üzerine yerleştirildi. Yara, eriyebilen sütür materyali (3-0 Vicryl®; Ethicon Inc., Somerville, NJ, ABD)



Şekil 1. (a) Eğimli tabla; yandan görünüm. (b) Motor değerlendirme sırasında yandan görünüm. (c) Eğimli tabla; arkadan görünüm. (d) Motor değerlendirme sırasında arkadan görünüm. [Bu şekil, derginin www.aott.org.tr adresindeki çevrimiçi versiyonunda renkli görülebilir.]

Tablo 1. Elektrodiagnostik değerlendirme, motor fonksiyon ve mikroskopik değerlendirme sonuçları.

	TZP grubu	Kontrol grubu	p*
	Ortalama±SS	Ortalama±SS	
Tırmanma açısı (derece)	63.6±0.89	38.33±2.58	0.02
Gastroknemius kası BKAP amplitüdü (mV)	14.01±5.02	5.78±2.39	0.01
İnterdijital kas BKAP amplitüdü (mV)	0.85±0.54	0.24±0.42	0.01
Akson sayısı	1,969.50±93.02	879±34.81	0.001

*Mann-Whitney U-testi.

BKAP: Birleşik kas aksiyon potansiyeli; SS: Standart sapma; TZP: Trombositten zengin plazma.

ile kapatıldı. Hayvanlar kafeslerine yerleştirildi ve normal aktivitelerine izin verildi.

On ikinci hafta sonrasında motor ve elektrofizyolojik değerlendirmeler yapıldıktan sonra tüm siyatik sinirler histolojik değerlendirme için alındı. Sinir örneklerinin alınmasını takiben sıçanlar sakrifiye edildi.

Sıçanlar motor güçlerinin değerlendirilmesi için cerrahi sonrası 12. hafta dolduktan sonra Rivlin ve Tator tarafından tanımlanan eğimli tabla kullanıldı.^[12] Sıçanların kaymadan yüzey üzerinde sabit kalabildikleri en yüksek eğim derecesi değeri not edildi (Şekil 1).

Tüm elektrodiagnostik değerlendirmeler, aynı değerlendirici (FA) tarafından, aynı elektromiyografi cihazında (Nicolet Viking IIE EMG/EEG Electromyography System; Nicolet Biomedical Inc., Memphis, TN, ABD), motor değerlendirmenin hemen sonrasında, sıçanlar genel anestezi altındayken (75 mg/kg ketamin + 5 g/kg ksilazin) yapıldı. Filtre ayarları 5 Hz ila 10 kHz, uyarı süresi 0.1 ms, uyarı frekansı 1 Hz olarak belirlendi. Uyarı ve kayıt için cilt altı platin iğne elektrotları (Grass; Astro-Med, Inc., West Warwick, RI, ABD) kullanıldı. Siyatik sinir, siyatik çentik seviyesinden supramaksimal olarak uyarıldı. Birleşik kas aksiyon potansiyelleri (BKAP) gastroknemius ile 2. ve 3. interdijital kaslardan ölçüldü.

Hasarlı siyatik sinirin distali 0.1 mol/L Sorensen fosfat tampon maddesi (pH=7.3) içinde %3.6'lık glüteralaldehit ile tespit edildi. Postfiksasyon aynı tampon solüsyonunda %1'lik ozmiyum tetroksit ile yapıldı. Dereceli etanol solüsyonlarından geçirilerek dehidrasyon sağlandıktan sonra epoksi resine (Fluka; Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO, ABD) gömüldü. Daha sonra, örneklerden ultra mikrotom ile 0.5-mm kalınlıkta seri kesitler alındı (her örnekten 20 kesit). Kesitler tiyonin ile boyandı ve örnekler ışık mikroskopunda fotoğraflandı (Olympus BX51; Olympus Corp., Tokyo, Japonya). Altı rastgele alandan x10'luk büyütmede (1 merkez, 5 perifer) dijital sayıcı yardımıyla akson sayısı ölçüldü.

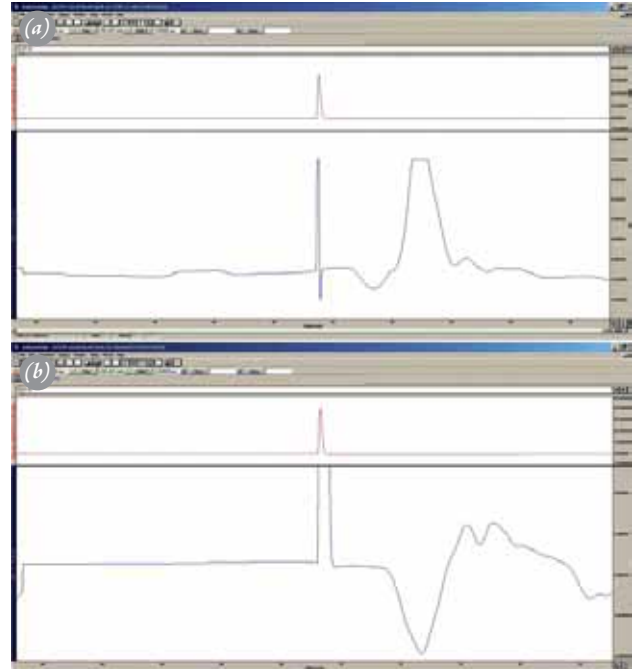
İstatistiksel analizler SPSS for Windows v.13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) yazılımından yararlanıldı.

di. Sonuçlar ortalama±SS şeklinde kaydedildi. Grupları karşılaştırırken Mann-Whitney U-testi kullanılırken, p değeri 0.05'ten küçük olasılık katsayıları istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

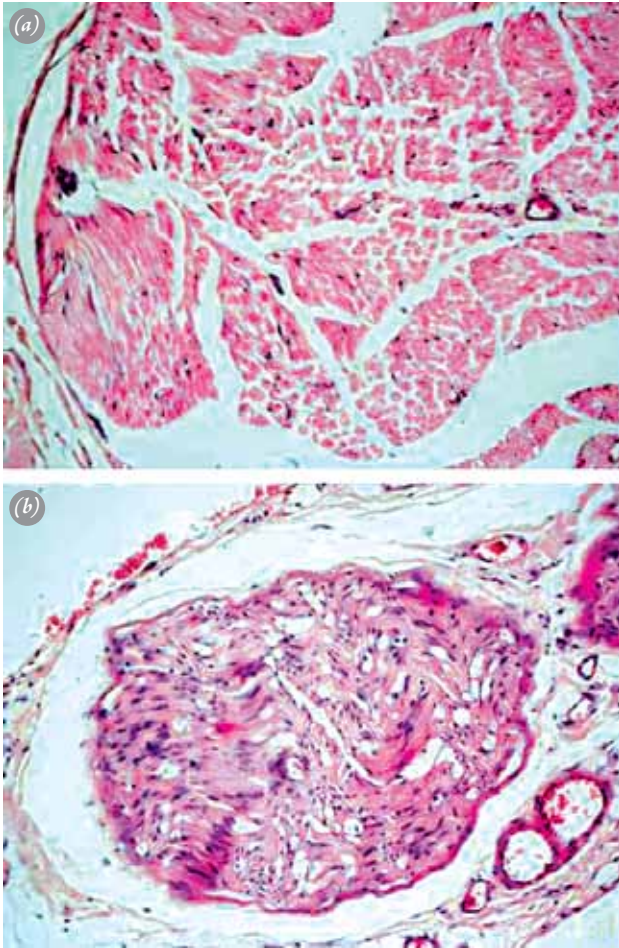
Bulgular

Tırmanma açısı TZP grubunda 63.6±0.89 derece iken, kontrol grubunda 38.33±2.58 derece olarak ölçüldü. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (p<0.05) (Tablo 1).

TZP grubunda BKAP amplitüdüleri gastroknemius kasında 14.01±5.02 mV, interdijital kaslarda 0.85±0.54 mV bulundu. Kontrol grubunda BKAP amplitüdüleri gastroknemius kasında 5.78±2.39 mV iken, interdijital



Şekil 2. Gastroknemius kasından elde edilen EMG kayıt örnekleri. (a) TZP uygulanan grup. (b) Kontrol grubu. TZP grubunda elde edilen BKAP amplitüdünün kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu görülmekte. [Bu şekil, derginin www.aott.org.tr adresindeki çevrimiçi versiyonunda renkli görülebilir.]



Şekil 3. (a) TZP grubuna ait histolojik kesit (Tiyonin x 200). (b) Kontrol grubuna ait histolojik kesit (Tiyonin x 200). [Bu şekil, derginin www.aott.org.tr adresindeki çevrimiçi versiyonunda renkli görülebilir.]

kaslarda 0.24 ± 0.42 mV değerinde ölçüldü (Şekil 2). İki grup arasındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu kaydedildi ($p < 0.05$) (Tablo 1).

Kontrol grubunda $\times 100$ 'lük büyütmede saptanan ortalama total akson sayısı 879.3 ± 34.81 iken, TZP uygulananlarda ortalama total akson sayısı $1.969.5 \pm 93.02$ idi (Şekil 3). İki grup arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$) (Tablo 1).

Tartışma

Periferik sinir hasarı sonrasında hasarlı segmentin distalinde demiyelinizasyon ve aksonal dejenerasyon gelişir.^[13] Sinirdeki rejeneratif yanıtın yanı sıra periferik sinir cerrahisindeki güncel gelişmelere rağmen, sinir onarımı sonrası elde edilen fonksiyonel iyileşme çoğu zaman beklenenden uzaktır.^[14] Sinir yaralanmasının özellikle ekstremitenin proksimal kısmında olduğu durumlarda, sinir iyileşme süresinin gecikmesine bağlı olarak, hedef

organlarda geri dönüşümsüz hasarlar ortaya çıkabilir. Cerrahi ve mekanik faktörlere ek olarak biyolojik ve kimyasal faktörlerin de araştırılması, sinir onarımından elde edilecek sonuçları olumlu etkileyebilecek klinik uygulamaların önünü açabilir.

Bütünlüğü korunan, normal bir periferik sinirde sinir dokusu üzerine etkili olan trofik faktörler hedef organda üretilir ve hücre gövdesi boyunca retrograd olarak taşınır. Sinirin bütünlüğünü bozan hasar sonrası meydana gelen Wallerian dejenerasyonda rol alan Schwann hücreleri (SH), aynı zamanda rejenerasyonu düzenleyen bazı trofik faktörlerin üretilmesinden de sorumludur. Schwann hücreleri tarafından üretilen sinir büyüme faktörü, beyin kaynaklı nörotropik faktör, siliyer nörotropik faktör ve glial hücre hattı kaynaklı nörotropik faktör gibi BF'ler iyileşmenin modülasyonunda görev alırlar.^[1] Nörotropinler, SH'den salındıktan sonra hasarlı aksonlar çevresinde diffüz olarak dağılırlar. Rejenere olan aksonlar, nörotropin yoğunluğunun yüksek olduğu distal segmente doğru uzanım gösterme eğilimindedir.

Trombositlerin alfa granüllerinde, mitojenik ve kemotaktik özelliği olan PDGF, TGF- β , IGF-1, FGF ve VEGF gibi büyüme faktörleri bulunmaktadır.^[8,9] Bu BF'ler klasik nörotropik faktörler olmamakla beraber, sinir rejenerasyonundaki etkileri kapsamlı olarak araştırılmaktadır.

IGF-1 reseptörleri periferik sinir hücrelerinin aksonlarında, sinir uçlarında, SH'lerde ve motor nöronların hücre gövdelerinde bulunmaktadır. IGF-1'in nörotropik bir faktör gibi davranarak motor, duyu ve sempatik nöronlarda büyüme tomurcuğu oluşumunu başlattığı, ileri doğru sinir uzanımını desteklediği ve apoptozisi engellediği gösterilmiştir.^[15,16]

FGF, çok sayıda biyoaktivitesi olan bir faktördür. Mezoderm kaynaklı hücrelerin proliferasyon ve farklılaşmasını uyarır, embriyonik gelişme, doku onarımı, yara iyileşmesi, nöroproteksiyon ve sinir rejenerasyonuna katkıda bulunur.^[17,18] Periferik sinir yaralanmalarında yaralanma bölgesinde FGF reseptörlerinin sayısının ve afinitelerinin arttığı literatürde gösterilmiştir.^[11]

TGF- β 'nın üç formundan ikisi olan TGF- β 2 ve TGF- β 3, SH proliferasyonu ve farklılaşmasında önemli role sahiptir. Bunun yanı sıra, birçok nörotropik faktörün etkinliğini gösterebilmesi için gerekli olan bir faktördür.^[19]

VEGF ise anjiyojenik bir faktör olmakla beraber çeşitli reseptörler aracılığıyla hücre proliferasyonunu uyarak ve antiapoptotik etkiye aracılık eder. Bu reseptörlerin nöral dokularda, özellikle SH ve hasarlı aksonların filizlenmeye başladığı tomurculuklarda bulunduğu bilinmektedir.^[20]

Son yıllarda içerdiği bu faktörler nedeniyle TZP'nin periferik sinir rejenerasyonundaki etkisini araştıran çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Farrag ve ark., fasyal sinir kesisi modeli oluşturdukları çalışmalarında cerrahi sinir onarımı sonrası uygulanan TZP'nin biyolojik ajan verilmeyen ya da fibrin yapıştırıcı verilen sıçanlara göre daha iyi fonksiyonel iyileşme sağladığını bildirmişlerdir.^[3]

Ding ve ark.^[21] 24 sıçanı üç gruba ayırarak yaptıkları çalışmada kavernoöz sinirde ezilme yaralanması oluşturduktan sonra yaralanma bölgesine TZP uygulamışlardır. Yazarlar TZP uygulanan grubun fonksiyonel iyileşmesini ve histolojik parametrelerini anlamlı olarak daha iyi bulmuşlardır. Siyatik sinirde ezilme yaralanması oluşturularak yapılan benzer bir çalışmada da TZP'nin olumlu etkisi gösterilmiştir.^[4]

Sariguney ve ark. ise sinir kesisi modelinde TZP'nin ideal cerrahi onarımı takiben uygulandığında etkili olduğunu, cerrahi onarımın yetersiz olduğu durumlarda ise etkisiz olduğunu vurgulamışlardır.^[22]

Büyüme faktörlerinin bahsedilen olumlu etkilerinin yanında tatminkar sonuçların elde edilemediği çalışmalarda mevcuttur. Welch ve ark., oluşturdukları sinir kesisi ve direkt onarım modelinde BF'lerin iyileşmeye anlamlı etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.^[23] Pişkin ve ark. da, sinir defektinin kollajen tüplerle rekonstrükte edildiği modellerinde BF'nin sinir rejenerasyonunu geliştirmede sonucuna varmışlardır.^[24]

Çalışmamız kesi bölgesine tek doz uygulanan TZP'nin klinik, histomorfometrik ve elektromiyografik olarak hasarlı sinirlerde total akson sayısını artırarak motor fonksiyon kazanımını arttırdığını göstermektedir. Denek sayısının göreceli olarak düşük olması çalışmanın zayıf yönü olarak değerlendirilebilir. Bununla birlikte, deneyin canlı hayvanlar üzerinde yapıldığı düşünüldüğünde, istatistiksel analiz için yeterli kabul edilebilecek canlı denek sayısından daha fazla sayıda denekle çalışma yapmanın hayvan hakları ve etik açıdan uygun olmayacağı inancını taşımaktayız. Çalışma planlamamızda eleştirilebilecek ikinci nokta, deneklerin her iki bacağına da sinir kesisi yapılması ve bir tarafın kontrol grubu olarak bırakılmaması olabilir. Yine de, motor fonksiyonu değerlendirirken eğimli tabla düzeneğinde sağlıklı sonuç elde edilebilmesi için her iki bacağın da aynı grupta yer alması gerektiğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, çalışmamız TZP'nin sinir rejenerasyonu üzerine pozitif etkileri olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, klinik uygulamalara başlamadan önce TZP'nin sinir rejenerasyonu üzerindeki etkisini destekleyen ve standart tedavi yöntemleri önerebilen çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz.

Teşekkür: Histolojik değerlendirmelerdeki katkılardan dolayı Dr. Yiğit UYANIKGİL'e teşekkür ederiz.

Çıkar örtüşmesi: Çıkar örtüşmesi bulunmadığı belirtilmiştir.

Kaynaklar

1. Yu W, Wang J, Yin J. Platelet-rich plasma: a promising product for treatment of peripheral nerve regeneration after nerve injury. *Int J Neurosci* 2011;121:176-80.
2. Guntinas-Lichius O, Wewetzer K, Tomov TL, Azzolin N, Kazemi S, Streppel M, et al. Transplantation of olfactory mucosa minimizes axonal branching and promotes the recovery of vibrissae motor performance after facial nerve repair in rats. *J Neurosci* 2002;22:7121-31.
3. Farrag TY, Lehar M, Verhaegen P, Carson KA, Byrne PJ. Effect of platelet rich plasma and fibrin sealant on facial nerve regeneration in a rat model. *Laryngoscope* 2007;117:157-65.
4. Emel E, Ergün SS, Kotan D, Gürsoy EB, Parman Y, Zengin A, et al. Effects of insulin-like growth factor-I and platelet-rich plasma on sciatic nerve crush injury in a rat model. *J Neurosurg* 2011;114:522-8.
5. Lundborg G. A 25-year perspective of peripheral nerve surgery: evolving neuroscientific concepts and clinical significance. *J Hand Surg Am* 2000;25:391-414.
6. Huang W, Begum R, Barber T, Ibba V, Tee NC, Husain M, et al. Regenerative potential of silk conduits in repair of peripheral nerve injury in adult rats. *Biomaterials* 2012;33:59-71.
7. Cervelli V, Lucarini L, Spallone D, Brinci L, de Angelis B. Use of platelet rich plasma and hyaluronic acid on exposed tendons of the foot and ankle. *J Wound Care* 2010;19:188-90.
8. Cho HH, Jang S, Lee SC, Jeong HS, Park JS, Han JY, et al. Effect of neural-induced mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma on facial nerve regeneration in an acute nerve injury model. *Laryngoscope* 2010;120:907-13.
9. Eppley BL, Woodell JE, Higgins J. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. *Plast Reconstr Surg* 2004;114:1502-8.
10. Gordon T, Sulaiman O, Boyd JG. Experimental strategies to promote functional recovery after peripheral nerve injuries. *J Peripher Nerv Syst* 2003;8:236-50.
11. Grothe C, Ninkhah G. The role of basic fibroblast growth factor in peripheral nerve regeneration. *Anat Embryol (Berl)* 2001;204:171-7.
12. Rivlin AS, Tator CH. Objective clinical assessment of motor function after experimental spinal cord injury in the rat. *J Neurosurg* 1977;47:577-81.
13. Federici T, Liu JK, Teng Q, Yang J, Boullis NM. A means for targeting therapeutics to peripheral nervous system neurons with axonal damage. *Neurosurgery* 2007;60:911-8.

14. Fenrich K, Gordon T. Canadian Association of Neuroscience review: axonal regeneration in the peripheral and central nervous systems--current issues and advances. *Can J Neurol Sci* 2004;31:142-56.
15. Apel PJ, Ma J, Callahan M, Northam CN, Alton TB, Sonntag WE, et al. Effect of locally delivered IGF-1 on nerve regeneration during aging: an experimental study in rats. *Muscle Nerve* 2010;41:335-41.
16. Koriyama Y, Homma K, Sugitani K, Higuchi Y, Matsukawa T, Murayama D, et al. Upregulation of IGF-I in the goldfish retinal ganglion cells during the early stage of optic nerve regeneration. *Neurochem Int* 2007;50:749-56.
17. Ohta M, Suzuki Y, Chou H, Ishikawa N, Suzuki S, Tanihara M, et al. Novel heparin/alginate gel combined with basic fibroblast growth factor promotes nerve regeneration in rat sciatic nerve. *J Biomed Mater Res A* 2004;71:661-8.
18. Yao CC, Yao P, Wu H, Zha ZG. Absorbable collagen sponge combined with recombinant human basic fibroblast growth factor promotes nerve regeneration in rat sciatic nerve. *J Mater Sci Mater Med* 2007;18:1969-72.
19. Haas SL, Fitzner B, Jaster R, Wiercinska E, Gaitantzi H, Jesnowski R, et al. Transforming growth factor-beta induces nerve growth factor expression in pancreatic stellate cells by activation of the ALK-5 pathway. *Growth Factors* 2009;27:289-99.
20. Rosenstein JM, Krum JM. New roles for VEGF in nervous tissue--beyond blood vessels. *Exp Neurol* 2004;187:246-53.
21. Ding XG, Li SW, Zheng XM, Hu LQ, Hu WL, Luo Y. The effect of platelet-rich plasma on cavernous nerve regeneration in a rat model. *Asian J Androl* 2009;11:215-21.
22. Sariguney Y, Yavuzer R, Elmas C, Yenicesu I, Bolay H, Atabay K. Effect of platelet-rich plasma on peripheral nerve regeneration. *J Reconstr Microsurg* 2008;24:159-67.
23. Welch JA, Kraus KH, Wells MR, Blunt DG, Weremowitz J. Effect of combined administration of insulin-like growth factor and platelet-derived growth factor on the regeneration of transected and anastomosed sciatic nerve in rats. *Am J Vet Res* 1997;58:1033-7.
24. Piskin A, Kaplan S, Aktaş A, Ayyildiz M, Raimondo S, Aliç T, et al. Platelet gel does not improve peripheral nerve regeneration: an electrophysiological, stereological, and electron microscopic study. *Microsurgery* 2009;29:144-53.