

급성 안면신경 손상 모델에서 혈소판 풍부 혈장의 신경재생 효과

전남대학교 의과대학 이비인후과학교실,¹ 생리학교실,² 재활의학과학교실,³ 병리학교실⁴

조형호¹ · 이상철¹ · 장수정² · 김송희² · 정한성² · 박종성² · 한재영³ · 이경화⁴ · 조용범¹

Effect of Platelet Rich Plasma on Facial Nerve Regeneration in Acute Nerve Injury Model

Hyong Ho Cho, MD¹, Sang Chul Lee, MD¹, Su Jeong Jang², Song Hee Kim², Han Seong Jeong, MD², Jong Seong Park, MD², Jae Young Han, MD³, Kyung Hwa Lee, MD⁴ and Yong Bum Cho, MD¹

¹Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery; ²Physiology; ³Rehabilitation Medicine; ⁴Pathology, Chonnam National University Medical School, Gwangju, Korea

ABSTRACT

Background and Objectives : The object of this study was to evaluate the effect of platelet rich plasma (PRP) on facial nerve regeneration from an axotomy injury in the guinea pig model. **Materials and Method :** Experiments involved the transection and repair of right facial nerve. The right facial nerve of 14 albino guinea pigs were completely transected and immediately sutured, followed by fibrin glue only (control group) or fibrin glue +PRP (PRP group). Western blot assay was used to detect neurotrophic factors secreted by PRP. Nerve regeneration was assessed by motor function, electrophysiology, and histology studies. **Results :** High levels of neurotrophin-3, angiopoietin-1, glial cell line derived neurotrophic factors, nerve growth factors and brain derived neurotrophic factors were demonstrated in PRP. Motor function recovery, compound motor action potentials, and axon count showed significant improvement in guinea pig treated with PRP. **Conclusion :** There was an improved functional outcome with the use of PRP in comparison with control. The increased nerve regeneration found in this study may be due to the neurotrophic factors secreted by PRP. (Korean J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg 2009;52:486-91)

KEY WORDS : Facial nerve · Regeneration · Platelet-rich plasma · Nerve growth factors.

서 론

안면신경은 개개인의 표정을 표현하고, 눈을 감게 하여 눈을 보호하며, 식사시 입을 닫아 음식을 삼킬 수 있게 해주는 중요한 신경이다. 임상적으로, 안면신경의 병변 제거나 안면신경 주변의 질환 제거를 위하여 안면신경을 절단하여야 하는 경우가 종종 발생하게 되는데, 이러한 안면신경의 절단은 환자 개인의 얼굴 외관에 심각한 변형을 유발하여 사회활동에 많은 지장을 초래하고, 눈을 잘 감지 못하게 되어 각막의 손상이 유발될 수 있으며, 음식을 삼키는 초기 단계에서 음식이 입 밖으로 나올 수 있다. 안면신경 절단 후 만족스러운 안면신경 기능의 회복을 위해서는 안면신경 손상 후에 정상기능을 가지는 안면 운동신경이 존재하고 이 신경이 재생되어 확장하면서 손상 말단 부위까지 연

논문접수일 : 2008년 12월 31일 / 심사완료일 : 2009년 4월 9일

교신저자 : 조형호, 501-746 광주광역시 동구 학1동 5번지

전남대학교 의과대학 이비인후과학교실

전화 : (062) 220-6772 · 전송 : (062) 228-7743

E-mail : victocho@hanmail.net

결되어야 궁극적인 신경기능을 회복할 수 있다.¹⁻⁴⁾

안면신경 손상 후에 좋은 기능 회복을 위해서는 매체가 되는 적절한 환경을 조성하기 위해 손상부위의 적절한 연결과 동시에 신경세포로서의 기능을 하는 세포를 공급하여 주고, 신경의 재생을 촉진시키는 신경 성장인자의 공급이 필요하다.^{1,2,5-7)} 최근까지 안면신경 손상의 가장 적절한 임상적 치료는 미세수술을 이용하여 손상된 신경의 단단을 문합하거나 이것이 힘들 때에는 신경을 이식하는 방법이 사용되고 있다. 이 방법은 신경 기능회복을 위한 적절한 환경을 조성해주는 장점이 있지만 그 결과는 만족스럽지 못하다. 최근 들어 안면신경 등 말초 운동신경 손상 모델에 신경 성장인자의 공급을 위한 방법으로 대표적인 신경 성장인자인 BDNF(brain derived neurotrophic factor)의 공급이나, 성장인자가 풍부하다고 알려져 있는 혈소판 풍부 혈장(platelet rich plasma, PRP), 생물학적 활성을 가진 기저막 기질인 Matrigel의 사용으로 안면신경 손상부위에서 축삭(axon)의 발현 증가와 안면신경 기능의 회복이 보고되고 있으며, 이를 통하여 더욱더 좋은 안면신경재생 효과되고 있으며, 이를 통하여 더욱더 좋은 안면신경재생 효과

과를 얻으려는 연구가 진행 중이다.^{5,8-11)} 이에 본 연구에서는 안면신경 절단을 통한 안면신경 손상 모델에서 신경 성장인자와의 복합체인 PRP 투여 후의 효과를 확인하여 안면신경 손상의 새로운 치료적 단서를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

혈소판 풍부 혈장(PRIP)의 획득

PRP의 획득을 위하여 두 단계의 원심분리 방법을 사용하였다.¹²⁾ 먼저 기니픽에서 약 5 cc의 혈액을 채취한 후 첫 번째 단계에서 부드럽고, 짧은 원심분리 방법(200/min, 20°C, 10 min)을 사용하여 밀짚 색깔의 혈장을 적혈구를 분리한다. 이후 분리된 혈장을 이용하여 두 번째 단계에서 강하고 긴 원심분리 방법(300/min, 20°C, 15 min)을 사용하여 혈소판 밀도가 $1-3 \times 10^8/\mu\text{L}$ 인 PRP를 획득하였다.

안면신경 손상 기니픽 모델의 확립 및 실험 방법

백색 기니픽(White albino Guinea Pig, 4주령, 체중 200~250 g, n=14)을 1주간의 검역과 적응기간을 거친 후 전남대학교 의과대학 연구소 실험동물 지침에 따라 동물을 사육하였다. 케타민(Ketamine hydrochloride, 유한양행, 40 mg/kg)과 Xylazine(Rompun®, 바이엘 코리아, 10 mg/kg)를 4:1의 배율로 혼합 후 복강 내로 주입하여 마취하였다. 마취된 기니픽의 우측 머리 부분에 후 이개 절개를 가하여 유양돌기부와 이하선을 확인 후 안면신경의 주분지를 노출시켰다. Zeiss 수술 현미경(Carl Zeiss, 독일) 하에서 경유돌공에서 안면신경 주분지가 나오는 부위와 안면신경이 분지하는 부위의 중간지점에서 안면신경을 절단한 후 바로 10-0 nylon을 이용하여 접합하였다. 이 후 아래의 두 가지군으로 나누어 실험을 진행하였고 모든 개체에서 안면신경의 기능 평가를 좌우로 비교하기 위해 우측의 안면신경만을 대상으로 실험하였다(Fig. 1).

대조군(n=7) : 안면신경 손상 후 10-0 나일론을 이용하여 접합하고 fibrin glue(Green-plast®, 녹십자)만 손상부

위에 도포.

PRP군(n=7) : 안면신경 손상 후 10-0 나일론을 이용하여 접합하고 fibrin glue와 함께 PRP를 Hamilton syringe를 이용하여 5 μL 를 주입.

손상된 안면신경에 조작이 끝난 후 창상을 봉합하였으며 마취에서 회복한 후 수염의 움직임과 각막반사를 통한 눈꺼풀의 움직임이 없음을 통해 손상 측(우측)의 안면신경의 기능이 소실되었음을 확인하였다. 각 군별로 각각 2마리는 손상된 안면신경내의 신경 성장인자의 존재를 알리기 위한 western blotting 용도로 사용하였고, 나머지 5마리는 안면신경 기능회복 검사와 전기생리학적 검사, 손상 6주 후의 조직학적 검사에 사용하였다.

안면신경 기능회복 검사

안면신경 기능회복을 조사하기 위한 기능 검사로 콧수염의 운동(whisker movement of vibrissae muscle)을 검사하는 방법과 각막 반사를 통한 눈꺼풀의 깜빡임(corneal reflex of eyelid)을 검사하는 방법을 사용하여 안면신경 손상 후 1주부터 6주까지 각각 매주 검사하였다. 각막 반사를 통한 눈꺼풀의 깜빡임 조사를 위해 Hadlock 등의 실험 방법을 응용하여 안구 각막 부위를 부드러운 솜으로 자극하여 눈이 깜빡이는 정도 또는 palpebral fissure가 좁아지는 정도를 측정하였다.¹³⁾ 전혀 눈꺼풀이 닫히지 않으면 0, 1/3 정도 palpebral fissure가 좁아지면 1, 1/3에서 2/3 정도 palpebral fissure가 좁아지면 2, 2/3 이상 palpebral fissure가 좁아지면 3, 완전히 눈꺼풀이 닫히면 4로 기록하였다. 또한 수염의 운동에 대한 검사는 Mattsson 등의 실험에서 사용한 방법인 수염 움직임을 비디오 촬영하여, 실험에 기록하지 않은 2명의 사람에게 기록하게 하여 평균을 측정하였다.¹⁴⁾ 기준은 수염의 움직임이 전혀 없으면 0, 수염의 하방에서 요동이 있어서 수염모냥으로부터의 움직임으로 해석되는 경우는 1, 전체 길이에 걸쳐서 일부 수염이 움직이면 2, 모든 수염이 움직이면 3, 손상시키지 않은 반대쪽과 완전 동일하게 움직일 경우 4로 기록하였다.

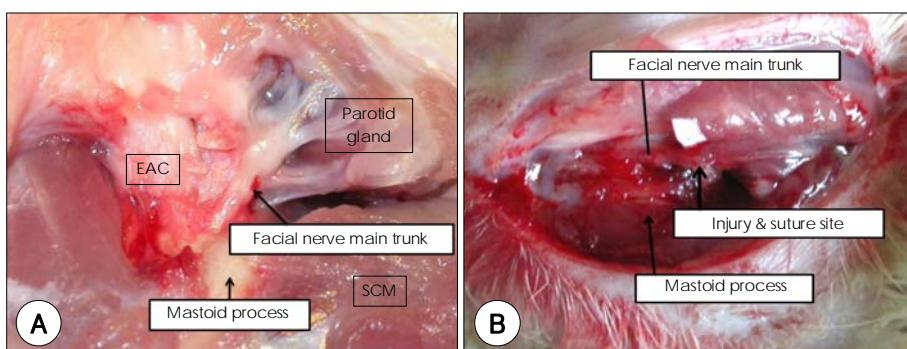


Fig. 1. Anatomy of facial nerve in guinea pig and experimental procedure. A : Normal right facial nerve in guinea pig. B : Facial nerve injury and suture site. EAC : external auditory canal, SCM : sternocleidomastoid muscle.

전기생리학적 검사

운동신경의 기능 회복을 파악하기 위하여 안면신경 손상 4주와 6주 후에 전기생리학적 검사를 시행하여 신경을 절단한 후 접합한 우측과 아무 조작도 하지 않은 좌측을 비교하였다. 먼저, 펜토바비탈(엔토빌®, 한림제약, 대한민국)을 25 mg/Kg의 농도로 복강 내에 주입하여 마취한 후, 두 개의 단극 침상전극(monopolar needle electrode)을 양측 코털 부위 피하에 각각 위치시키고, 한 개의 침상전극을 두 정부 피하에 위치시켰다. 신경 자극 방법은 Viking IV (Ni-colet Biomedical, Madison, USA)를 이용하여 안면신경이 경유돌공에서 나오는 부위를 찾아서 0.1 ms의 지속시간의 지속전압 전기를 이용하여 초최대 자극하면서 복합근 활동전위(compound motor action potentials, cMAPs)를 기록하였다(Fig. 2). 기록된 cMAPs를 좌측에 대한 우측의 비로 변환하여 진폭과 면적을 각각 비교하였다.

Western blot을 이용한 신경 성장인자(neurotrophic factors)의 분석

안면신경 손상 10일 후에 수술을 시행한 안면신경 주분지를 확인한 후 안면신경 손상부위를 포함하여 안면신경을 약 0.5 cm 채취하였다. 채취한 후 protein lysis buffer를 이용하여 대조군과 PRP군의 단백을 분리하였고 Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)를 이용한 전기영동 방법으로 분리시킨 후 Towbin's buffer(192 mM glycine, 25 mM Tris, pH 8.3, 0.1% SDS, 10% methanol)에서 60 V의 전압으로 1시간 동안 nitrocellulose (NC) membrane으로 옮겼다. 단백질이 옮겨진

membrane은 2% skim milk/TBST(10 mM Tris, pH 8.0, 150 mM NaCl, 0.1% Triton)에서 한 시간 이상 block하고, 이후 1차 항체인 neurotrophin-3(NT-3), angiopoietin-1(Ang-1), glial cell line-derived neurotrophic factor(GDNF), nerve growth factor(NGF), BDNF (Abcam, USA)를 1:1,000으로 희석한 후 다시 두 시간 동안 반응시켰다. 1차 항체와 반응시킨 membrane을 1:4,000으로 희석시킨 2차 항체(mouse anti-goat IgG, rabbit anti-goat IgG, sheep anti-goat IgG) (Abcam, USA)로 다시 한 시간 처리하고 4번 이상 씻었다. 다 씻은 membrane은 ECL(Santa Cruz, USA) kit으로 발색하고 X-ray film에 노출하여 현상액으로 확인하였다.

조직학적 검사

안면신경 손상 6주 후 과용량의 펜토바비탈을 복강 내에 주입하여 동물을 희생시키고, 안면신경 손상부위를 포함하여 안면신경을 약 1 cm 채취하였다. 사용된 10-0 Nylon을 수술 현미경하에 찾은 뒤 손상부위 말단을 찾아서 표본을 제작하였다. 절단된 조직은 2% glutaraldehyde에 고정하고, 2% osmium tetroxide에 후 고정을 시행하였다. 100% epon에 포매시킨 다음 1 μ m 두께의 semithin 절편을 만든 후, 각 조직편을 toluidine blue에 염색하였다.

염색 후 광학현미경하에 손상 아래부위에서 축삭이 관찰되는 대표부위를 선택하여 400배에서 각 3군데에서 관찰하여 디지털 영상을 얻었으며, 임의의 $2,500 \mu\text{m}^2$ 면적에서의 축삭의 개수를 얻고 이를 토대로 축삭의 밀도를 비교하였다.

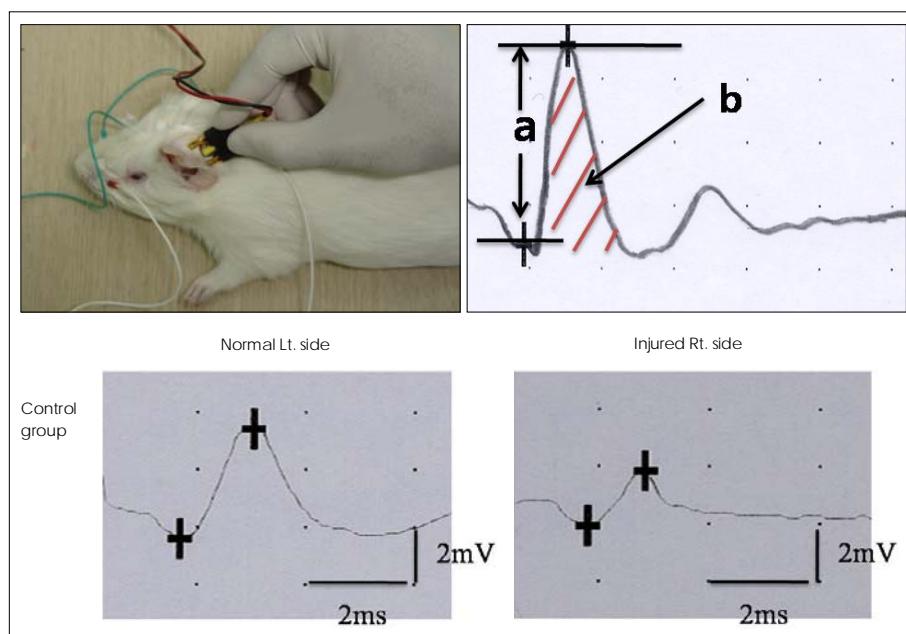


Fig. 2. Electrophysiologic test method and the wave of compound motor action potential. There was decreased amplitude and area in injured side 4 weeks after surgery. (a : amplitude, b : area).

통계학적 분석

통계학적 분석은 unpaired student t-test로 검증했고, $p<0.05$ 를 기준으로 통계적 유의성을 평가하였다. 결과치는 평균 \pm SE (standard error)로 계산하였다.

결 과

안면신경 기능회복 검사결과

안면신경 기능회복을 조사하기 위하여 시행한 기능검사에서 손상 4주 후부터 유의한 기능회복을 관찰할 수 있었다. 각막반사를 통한 눈꺼풀의 움직임은 안면신경 손상 후 4주에 대조군은 1.0 ± 0.0 , PRP군은 2.0 ± 0.0 , 손상 후 5주에 대조군은 1.2 ± 0.2 , PRP군은 2.0 ± 0.0 , 손상 후 6주에는 대조군은 1.4 ± 0.2 , PRP군은 2.5 ± 0.3 으로 대조군에 비하여 PRP군에서 통계학적으로 유의하게 기능의 개선이 있었다($p<0.05$) (Fig. 3).

전기생리학적 검사

운동신경의 기능 회복을 위하여 안면신경 손상 4주와 6주 후에 시행한 전기생리학적 검사에서 정상 안면신경인 좌측에 대한 손상된 안면신경인 우측의 비로 변환하였을 때, 진폭은 손상 후 4주에 대조군 $35.02\pm4.30\%$ PRP군은 $51.36\pm7.45\%$, 손상 후 6주에는 대조군 $40.84\pm3.77\%$ PRP군은 $60.30\pm5.45\%$ 로 대조군에 비하여 PRP군에서 의의있게 높았다($p<0.05$). 면적 역시 손상 후 4주에 대조군 $29.68\pm3.03\%$, PRP군은 $51.16\pm4.11\%$, 손상 후 6주에는 대조군 $21.54\pm2.74\%$, PRP군은 $53.22\pm2.67\%$ 로 대조군에 비하여 PRP군에서 의의있게 높았다($p<0.05$) (Fig. 4).

신경 성장인자의 western blotting 결과

안면신경 손상 10일 후에 수술을 시행한 안면신경 주분지를 채취한 후 protein lysis buffer를 이용하여 단백을 분리하였고 이를 각각 전기영동 기법으로 분리한 후 신경 성장인자의 양을 확인하였다. 항체는 NT-3, Ang-1, GDNF, NGF, BDNF를 사용하여 각각의 신경 성장인자를 측정한 결과 혈소판 풍부 혈장은 모든 신경 성장인자가 대조군에 비하여 많은 양으로 존재하고 있었다(Fig. 5).

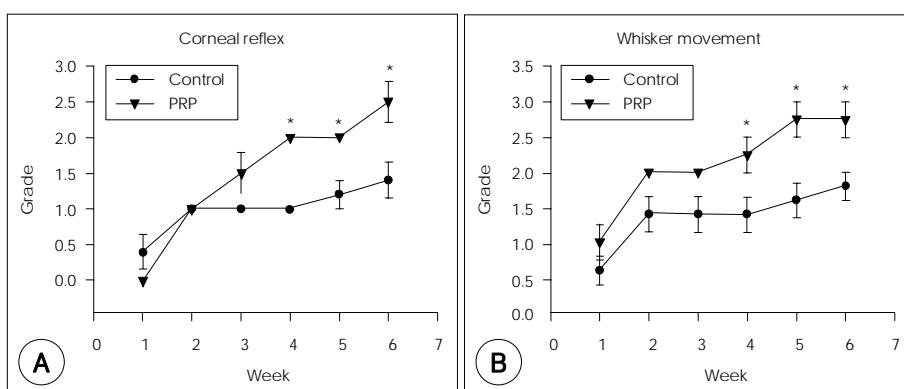


Fig. 3. Functional assesment of facial nerve. A : Corneal reflex of eyelid. B : Whisker movement of vibrissae muscle. There were more functional recovery in PRP group than control group. * $p<0.05$, unpaired student t-test.

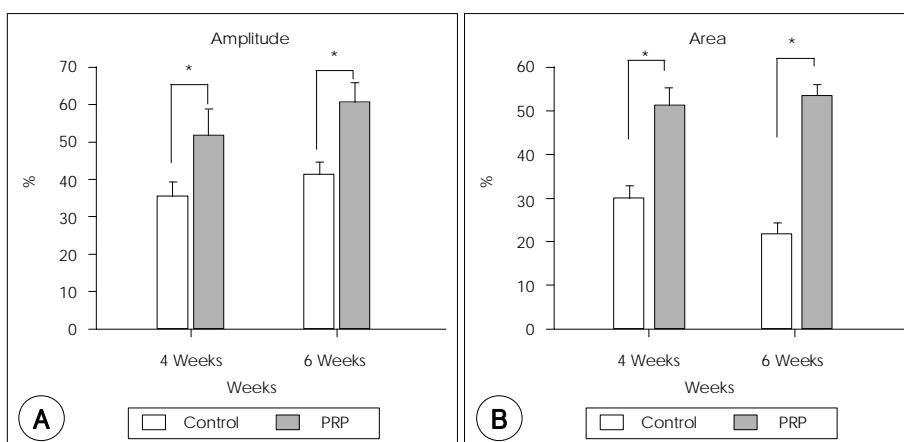
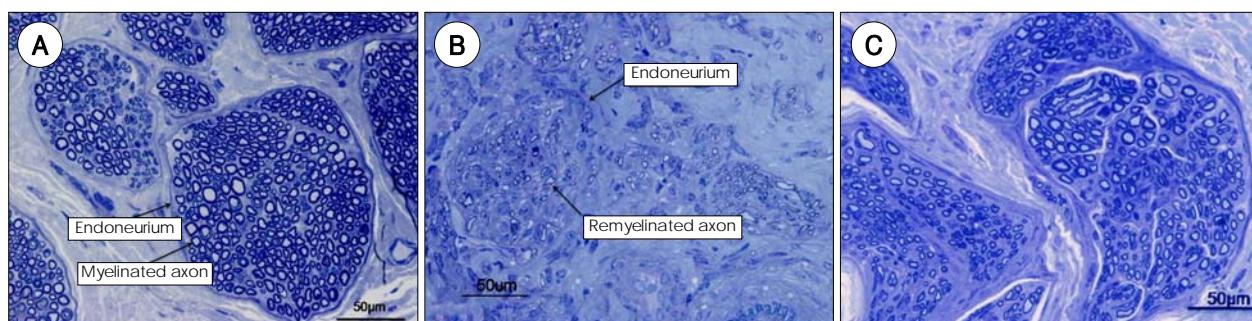
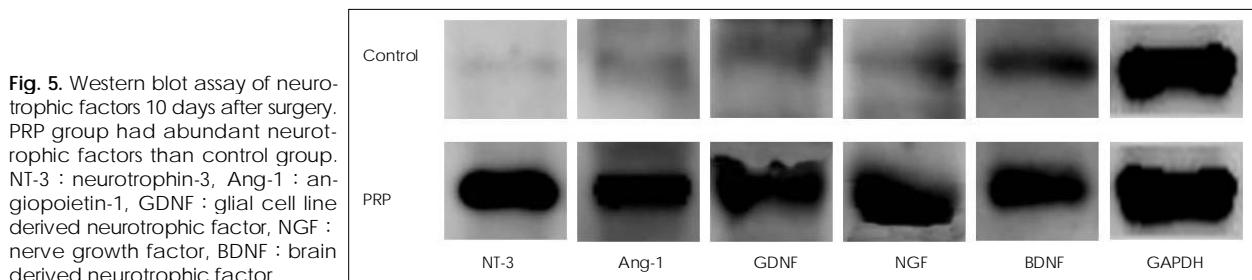


Fig. 4. Electrophysiologic test. There were more increased amplitude and area in PRP group than control group. A : Amplitude (%=right side/left side). B : Area (%=right side/left side). * $p<0.05$, unpaired student t-test.

혈소판 풍부 혈장의 신경재생 효과



조직학적 검사

안면신경 손상 6주 후 각 군의 동물을 희생시키고 시행한 조직검사에서, 정상 안면신경의 축삭은 대조군과 실험군에 비하여 두꺼운 수초(myelin)를 가졌고, 타원형 모양의 정형적인 양상을 보였다. 하지만, 대조군 및 실험군에서 축삭의 모양은 불규칙적이고, 상대적으로 얇은 수초가 보였으며 축삭의 수도 정상에서는 $41.0 \pm 4.7/2,500 \mu\text{m}^2$ 였으나, 대조군에서는 $19.0 \pm 0.8/2,500 \mu\text{m}^2$, PRP군에서는 $29.8 \pm 2.5/2,500 \mu\text{m}^2$ 로 감소되어 있었다.

대조군과 PRP군을 비교하여 보았을 때 PRP군에서 단위 면적당 축삭의 수가 대조군에 비하여 의의있게 증가함을 알 수 있고($p < 0.05$), 축삭의 두껍기도 PRP군에서 더 두꺼워진 것을 알 수 있었다(Fig. 6).

고 찰

안면신경은 두개내에서의 긴 해부학적 경로와 두개외에서의 표층 위치로 인해 뇌신경 중 가장 손상 받기 쉬운 신경으로 교통사고나, 종양성장에 따른 압박 또는 감염, 그리고 외과적 절제로 손상될 수 있다. 최근까지도 안면신경 손상이 발생될 경우 임상적 해결방법은 미세수술이 가장 선호되나 그 결과는 100% 만족할 만하지 못하며 운동기능의 완전한 회복이 어려운 것이 현실이다.¹⁵⁻¹⁷⁾

안면신경을 포함한 말초신경의 재생 과정에는 세포외 바탕질(extracellular matrix)과 신경 성장인자, 세포성분(cel-

lular component)의 상호작용이 관여한다.^{6,7)} 말초신경은 신경원(neuron)과 슈반세포로 구성되어 있고, 말초신경 재생에는 주로 슈반세포가 관여하는데 그 방법은 세포 유착 분자(cell adhesion molecules)의 형성 촉진과 세포외 바탕질을 함유한 기저막의 형성, 신경 성장인자와 신경 성장인자 수용체의 생산이 있다. 또한, Ide는 세포외 바탕질에는 신경 돌기 생성 촉진인자(neurite outgrowth promoting factors)가 존재하고 이 인자가 축삭의 확장을 증진시킴을 보고하였다.¹⁸⁾

최근 들어 여러 연구에서 신경 성장인자가 신경의 생성 및 유지, 재생에 중요한 역할을 향이 밝혀졌고, 이러한 효과 때문에 여러 연구에서 신경 성장인자인 GDNF, BDNF, ciliary neurotrophic factor(CNTF), NT-3 등이 신경 손상에서 신경의 고사를 막고 신경의 생존을 촉진시켜, 신경의 발생과 재생을 촉진시킴이 보고되었다.^{8,19)} 이중 BDNF는 운동신경에 작용하는 강력한 성장인자로 손상에 의한 신경의 고사를 막고, 축삭의 생성을 촉진시키는 효과가 있고, CNTF와 NT-3는 줄기세포를 이용한 신경 손상 치료시 잘 발현되는 신경 성장인자이다.

PRP는 혈소판 자체가 가지고 있는 α -고립에 platelet-derived growth factor, vascular endothelial growth factor, transforming growth factor beta-1, epidermal growth factor, basic fibroblast growth factor, insulin-like growth factor-1 등의 성장인자가 존재하고, 혈장내에 hepatocyte growth factor, insulin-like growth fac-

tor-1이 존재하는 것으로 알려져 있다.²⁰⁾ 혈소판은 정상 혈액내에 $200,000 \pm 75,000/\mu\text{L}$ 존재하는데, 이런 정상혈액을 원심분리과정을 거쳐 PRP를 만들게 되고, $1,000,000/\mu\text{L}$ 이상일 때 치료적 PRP라고 말할 수 있다.²⁰⁾ 본 실험에서 만든 기니핀 PRP는 혈소판의 개수가 $1-3 \times 10^8/\mu\text{L}$ 로 치료적 목적으로 사용하기에 적합하였다. 이번 실험에서 PRP가 가지고 있다고 알려진 다양한 종류의 성장인자 이외에 신경 손상시 신경을 보호하고 신경의 재생을 촉진할 수 있는 신경 성장인자의 존재를 알기위하여 시행한 western blot 검사에서 신경 성장인자인 NT-3, Ang-1, GDNF, NGF, BDNF가 발현됨을 알 수 있었다. 이를 바탕으로 PRP의 투여가 급성 신경손상 모델에서 신경 성장인자의 공급을 통하여 신경재생을 촉진하는 효과가 있음을 알 수 있었다.

PRP를 투여한 군에서의 신경재생 효과를 보기 위하여 본 연구에서는 안면신경기능검사, 전기생리학적 검사, 조직검사를 시행하였다.

실험결과 안면신경기능검사에서 손상 4주 후부터 대조군에 비하여 유의한 기능의 회복이 있음을 알 수 있었고, 또한, 손상 4주 및 6주 후에 시행한 전기생리학적 검사에서도 진폭과 면적 모두에서 대조군에 비하여 유의하게 좋아진 결과를 얻을 수 있었다. 조직학적 검사에서는 축삭의 수와 수초의 두껍기가 대조군에 비하여 유의하게 좋아진 증가함을 보여, PRP군의 기능적, 전기생리학적 검사결과가 대조군보다 나은 이유를 알 수 있었다. 단, 조직학적 검사를 손상 6주 후에만 시행하여 손상 4주 후부터의 의 있는 회복에 대한 조직학적 검사가 필요하리라 사료되며, 손상 6주 후에도 장기간 추적관찰을 시행하여 과연 어느 시기가 되면 손상된 쪽이 정상으로 돌아가는 가를 검사하는 것도 필요하리라 생각된다.

결 론

안면신경 손상 모델에서 PRP의 사용은 신경재생을 촉진시키는 효과가 있었고 이는 PRP가 다양한 종류의 신경 성장인자를 공급함으로 나타난다. 또한, 이러한 신경재생 촉진 효과는 손상 4주 후부터 저명하게 나타났다.

이를 통하여 말초 신경 손상모델에서 신경 성장인자의 주입은 신경 손상 치료의 새로운 하나의 방법으로 고려할 가치가 있을 것으로 사료되며 이에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

중심 단어 : 안면신경 · 재생 · 혈소판 풍부 혈장 · 신경 성장인자.

이 연구는 학술진흥재단 신진교수지원(과제번호 : E00138) 및 전남대학교병원 임상의학연구소 학술연구비(과제번호 : CRI08068-1) 지원에 의하여 이루어진 것임.

REFERENCES

- Zhou L, Du HD, Tian HB, Li C, Tian J, Jiang JJ. *Experimental study on repair of the facial nerve with Schwann cells transfected with GDNF genes and PLGA conduits*. *Acta Otolaryngol* 2008;128 (11):1266-72.
- Wiberg M, Terenghi G. *Will it be possible to produce peripheral nerves?* *Surg Technol Int* 2003;11:303-10.
- Fansa H, Keilhoff G. *Comparison of different biogenic matrices seeded with cultured Schwann cells for bridging peripheral nerve defects*. *Neurol Res* 2004;26 (2):167-73.
- Nishiura Y, Brandt J, Nilsson A, Kanje M, Dahlin LB. *Addition of cultured Schwann cells to tendon autografts and freeze-thawed muscle grafts improves peripheral nerve regeneration*. *Tissue Eng* 2004;10 (1-2):157-64.
- Oppenheim RW, Yin QW, Prevette D, Yan Q. *Brain-derived neurotrophic factor rescues developing avian motoneurons from cell death*. *Nature* 1992;360 (6406):755-7.
- Bryan DJ, Miller RA, Costas PD, Wang KK, Seckel BR. *Immunocytochemistry of skeletal muscle basal lamina grafts in nerve regeneration*. *Plast Reconstr Surg* 1993;92 (5):927-40.
- Wang KK, Costas PD, Jones DS, Miller RA, Seckel BR. *Sleeve insertion and collagen coating improves nerve regeneration through vein conduits*. *J Reconstr Microsurg* 1993;9 (1):39-48.
- Lohof AM, Ip NY, Poo MM. *Potentiation of developing neuromuscular synapses by the neurotrophins NT-3 and BDNF*. *Nature* 1993;363 (6427):350-3.
- Shirley DM, Williams SA, Santos PM. *Brain-derived neurotrophic factor and peripheral nerve regeneration: A functional evaluation*. *Laryngoscope* 1996;106 (5 Pt 1):629-32.
- 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 (1):157-65.
- Donzelli R, Maiuri F, Piscopo GA, De Notaris M, Colella A, Divitiis E. *Role of extracellular matrix components in facial nerve regeneration: An experimental study*. *Neurol Res* 2006;28 (8):794-801.
- Kovács K, Velich N, Huszár T, Fenyves B, Suba Z, Szabó G. *Histomorphometric and densitometric evaluation of the effects of platelet-rich plasma on the remodeling of beta-tricalcium phosphate in beagle dogs*. *J Craniofac Surg* 2005;16(1):150-4.
- Hadlock TA, Heaton J, Cheney M, Mackinnon SE. *Functional recovery after facial and sciatic nerve crush injury in the rat*. *Arch Facial Plast Surg* 2005;7 (1):17-20.
- Mattsson P, Janson AM, Aldskogius H, Svensson M. *Nimodipine promotes regeneration and functional recovery after intracranial facial nerve crush*. *J Comp Neurol* 2001;437 (1):106-17.
- Cohen D, Friedman P, Eilon A. *Malignant external otitis versus acute external otitis*. *J Laryngol Otol* 1987;101 (3):211-5.
- Mckennan KX, Chole RA. *Facial paralysis in temporal bone trauma*. *Am J Otol* 1992;13 (2):167-72.
- Yanagihara N. *Transmastoid decompression of the facial nerve in temporal bone fracture*. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1982;90 (5):616-21.
- Ide C. *Peripheral nerve regeneration*. *Neurosci Res Neurosci Res* 1996; 25 (2):101-21.
- Jubran M, Widenfalk J. *Repair of peripheral nerve transections with fibrin sealant containing neurotrophic factors*. *Exp Neurol* 2003;181 (2):204-12.
- Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. *Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration*. *Thromb Haemost* 2004;91 (1):4-15.