T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI

PERİFERİK SİNİR KAYIPLARINDA VASKÜLARİZE VEN GREFTİ İLE SİNİR ONARIMI

Dr. Rizvan İMAMALİYEV

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA
2013

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI

PERİFERİK SİNİR KAYIPLARINDA VASKÜLARİZE VEN GREFTİ İLE SİNİR ONARIMI

Dr. Rizvan İMAMALİYEV

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Tunç ŞAFAK

ANKARA
2013

Bu çalışma, jürimiz tarafından Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik cerrahi Anabilim Dalı'nda uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı: **Prof. Dr. Tunç ŞAFAK**

(Hacettepe Üniversitesi) **İmza**

Üye: **Prof. Dr. Gökhan TUNÇBİLEK**

(Hacettepe Üniversitesi) **İmza**

Üye: **Doç. Dr. Ersoy KONAŞ**

(Hacettepe Üniversitesi) **İmza**

TEŞEKKÜR

Uzmanlık tezi çalışmam boyunca her türlü desteği sağlayan değerli hocam **Prof. Dr. Tunç ŞAFAK**'a,

Asistanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen değerli **hocalarıma**,

Çalışmanın histopatolojik değerlendirmesini yapan **Doç. Dr. Pergin ATİLLA** ve **Dr. Nilgün ÇABUŞ**'a,

Çalışmanın istatistiksel analizini yapan **Dr. Eda KARAİSMAİLOĞLU**'na

Çalışmam sırasında her türlü kolaylığı sağlayan Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Laboratuvarı çalışanlarına,

Deney çalışmalarım boyunca her türlü desteği sağlayan **asistan arkadaşlarıma**,

Bilgi ve tecrübelerini aktaran **Uzm. Dr. Mert ÇALIŞ**'a,

Asistanlık eğitimim boyunca her konuda beni destekleyen ve yanımda olan sevgili **eşime** ve minik **kızıma**

En içten teşekkür ve sevgilerimi sunarım.

Dr. Rizvan İMAMALİVEY

Ankara, 2013

ÖZET

İmamaliyev R., Periferik sinir kayıplarında Vaskülarize Ven Grefti ile sinir onarımı, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı Uzmanlık tezi, Ankara 2013

Periferik sinir yaralanmalarında primer onarımın mümkün olmadığı durumlarda greftli sinir onarımı gündeme gelmektedir. Sinir grefti ile onarım bu durumda altın standart olarak kullanılmaktadır. Özellikle çoklu sinir yaralanmalarında, donör alan kısıtlılığı durumlarında ve ya donör alan morbiditesini azaltmak için alternatif greftler kullanılmaktadır. Bunlardan en yaygın kullanılanı ven greftidir. Bu çalışmada sinir onarımı vaskülarize ven grefti ile yapılmıştır.

Çalışmaya 4 grup (N=6) toplam 24 adet sıçan dahil edildi. Sıçanların sağ safen sinirinde 1 cm' lik defekt oluşturuldu. Sham grubunda defekt boş bırakılarak herhangi bir işlem yapılmadı. Diğer gruplarda sırasıyla sinir grefti, ven grefti ve vaskülarize ven greftiyle onarımlar yapıldı. 3 ay sonunda sıçanlar sakrifiye edilerek alınan örnekler sinir rejenerasyonu açısından makroskopik ve mikroskopik olarak değerlendirildi. Sham grubunda herhangi bir rejenerasyon gözlemlenmezken geri kalan her 3 grupta akson demetlerinin oluştuğu, Sinir grefti grubunda bu demetlerin iyi organize olmasına rağmen Ven grefti ve Vaskülarize ven grefti gruplarında daha az organize olduğu gözlemlendi. Vaskülarize ven grefti grubunda Sinir grefti ve Ven grefti grubuna kıyasla Schwann hücre proliferasyonu ve intranöral anjiyogenezin daha fazla olduğu görüldü. Schwann hücre artışı Vaskülarize ven grefti grubunda istatistiksel olarak yüksek bulundu($p<0.05$).

Vaskülarize ven grefti ile sinir onarımı uzun dönem sonuçları açısından Sinir grefti ve Ven greftine alternatif olarak kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: Sinir onarımı, Sinir grefti, Ven grefti, Vaskülarize ven grefti, Schwann hücresi, intranöral anjiyogenez

ABSTRACT

İmamaliyev R., Nerve Repair With Vascularized Vein Graft in Peripheral Nerve Losses, Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Plastic, Reconstructive, Aesthetic Surgery Fellowship Thesis, Ankara 2013

When primary repair is not possible, peripheral nerve losses are treated by grafts. In such cases, repair by nerve grafting is considered as gold standard. In cases of multiple nerve injury or paucity of donor sites, or to decrease the donor site morbidity, alternative grafts are used. The most common of these alternative grafts are vein grafts. In this study, nerve repair is performed by vascularized vein grafts.

The study was performed on a total of 24 rats, divided into 4 groups (N=6). A 1 cm defect was made on the right saphenous nerve of the rats. In the sham group, no procedures were performed to repair the defect. The defects of the other groups were repaired by nerve grafts, vein grafts and vascularized vein grafts, respectively. After 3 months, the rats were sacrified; and the samples were macroscopically and microscopically evaluated for nerve regeneration. There was no nerve regeneration in the sham group; newly generated axonal bundles were observed in the other 3 groups. These bundles were well-organized in the nerve graft group, while the bundles of the vein graft and vascularized vein graft groups were observed to be less organized. Schwann cell proliferation and intraneural angiogenesis rates were higher in the vascularized vein graft group. Increase in Schwann cells in the vascularized vein graft group was statistically higher ($p<0.05$).

Considering the long term results, nerve repair by vascularized vein grafting can be used as an alternative to nerve grafts and vein grafts.

Keywords: Nerve repair, Nerve graft, Vein graft, vascularized vein graft, Schwann cell, Intraneural angiogenesis

İÇİNDEKİLER

Sayfa no:

ONAY SAYFASI i
TEŞEKKÜR ii
ÖZET iii
ABSTRACT iv
İÇİNDEKİLER v
KISALTMALAR vii
ŞEKİLLER viii
RESİMLER ix
TABLOLAR xi
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Sinir Sistemi 3
2.1.1. Santral Sinir Sistemi (SSS) 3
2.1.2. Periferik Sinir Sistemi (PSS) 3
2.2. Sinir Sisteminin Morfoloji ve Fizyolojisi 4
2.2.1. Periferik Sinir Sisteminin Embriyolojisi 4
2.2.2. Periferik Sinir Sisteminin Anatomi ve Histolojisi 5
2.2.3. Periferik Sinirin Kanlanması 8
2.3. Periferik Sinir Yaralanması 8
2.3.1. Periferik Sinir Yaralanmalarının Sınıflaması 8
2.3.2. Sinir İyileşmesi 11
2.3.3. Sinir İyileşmesini Etkileyen Faktörler 12
2.3.3.1. Nörotrofik faktörler 13
2.3.3.2. “Neurite – Promoting” Faktörler 14
2.3.3.3. Matriks Faktörleri 15
2.3.3.4. Metabolik ve Diğer Faktörler 15
2.3.3.5. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF) 17
2.4. Periferik Sinir Onarımı 18

3. GEREÇ VE YÖNTEM 24
3.1. Çalışmada Kullanılan Alet ve Malzemeler 24
3.2. Deney Protokolünün Hazırlanması 25
3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması 28
3.4. Rejenerasyonun Değerlendirilmesi 32
3.4.1. Makroskopik Değerlendirme 32
3.4.2. Mikroskopik Değerlendirme 32
3.5. İstatistiksel Analiz 33
4. BULGULAR 34
4.1. Makroskopik Bulgular 34
4.2. Mikroskopik Bulgular 34
4.3. İstatistiksel Bulgular 42
5. TARTIŞMA 46
6. SONUÇ 49
7. KAYNAKLAR 50

KISALTMALAR

PSS **:** Periferik sinir sistemi

SSS **:** Santral sinir sistemi

OSS **:** Otonomik sinir sistemi

NGF **:** Sinir büyüme faktörü (Nerve Growth Factor)

IGF-1 **:** İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 (Insulin- like Growth Factor-1)

BDNF **:** Beyin kaynaklı sinir büyüme faktörü (Brain-Derived Nerve Factor)

CNTF **:** Siliar nörotrofik faktör (Ciliary Neurotrophic Factor)

NT **:** Nörotrofin

N-CAM **:** Nöral hücre adezyon molekülü (Neural Cell Adhesion Molecule)

VEGF **:** Vasküler endotelyal büyüme faktörü (Vascular Endothelial Growth Factor)

ŞEKİLLER

Sayfa no:

Şekil 2.1. Sinir hücresinin yapısı 6

Şekil 2.2. Aksonun yapısı 6

Şekil 2.3. Periferik sinirin katmanları 7

Şekil 2.4. 1.derece yaralanma 9

Şekil 2.5. 2.derece yaralanma 10

Şekil 2.6. 3. 4. ve 5. derece yaralanma 10

Şekil 2.7. Akson rejenerasyonu 12

Şekil 2.8. Epinöral sinir onarımı 19

Şekil 2.9. Grup fasiküler onarım 20

Şekil 2.10. Fasiküler onarım 20

Şekil 3.1. Standart diseksiyon sonrası 27

Şekil 3.2. Sinir defektinin oluşturulması 29

Şekil 3.3. Sinir grefti ile onarım 30

Şekil 3.4. Ven grefti ile onarım 31

Şekil 3.5. Vaskülarize ven grefti ile onarım 32

RESİMLER

Sayfa no:

Resim 3.1. Femoral kılıfın diseksiyonu 26

Resim 3.2. Süperfisyel epigastrik arter ve venin bağlanması 26

Resim 3.3. Safen sinirin diseksiyonu 27

Resim 3.4. Sinirde 1 cm'lik defekt oluşturulması 28

Resim 3.5. Sinir grefti ile onarım 29

Resim 3.6. Ven grefti ile onarım 30

Resim 3.7. Vaskülarize ven grefti ile onarım 31

Resim 4.1. Sham grubu; fasiküllerde aksonlar arasında ve perinöryumda ödeme bağlı açılmalar izleniyor 35

Resim 4.2. Sham grubu; büyük büyütmede ödemli bir fasikül izleniyor 35

Resim 4.3. Sinir grefti grubu; perinöryumda fibroblast çekirdekleri, kollajen fibriller arasında ödem ve fasikül içinde aksonlar arasında ileri derecede ödem seçiliyor. 36

Resim 4.4. Sinir grefti grubu; perinöryumla çevrili bir fasikül ve içinde aksonlar ile aralarında Schwann hücre çekirdekleri seçiliyor 37

Resim 4.5. Sinir grefti grubu; bir başka fasikülde aksonlar arasında hafif ödem görülüyor. 37

Resim 4.6. Ven grefti grubu; fasiküller arasında kollajen fibriller kalın demetler oluşturmakta ve bağ dokusunda çok sayıda bazıları stazlı damar var 38

Resim 4.7. Ven grefti grubu; fasiküller oluşturmuş akson demetlerinin az organize oldukları dikkati çekiyor. 39

Resim 4.8. Ven grefti grubu; perinöryum ve aksonlarda belirgin ödem olan örnek 39

Resim 4.9. Vaskülarize ven grefti grubu; rejenere olma sürecindeki aksonlar arasında Schwann hücre çekirdekleri ve bağ dokusu kollajen demetleri arasında fibroblastlar izleniyor 40

Resim 4.10. Vaskülarize ven grefti grubu; organize olmamış akson demetleri, kalın kollajen demetler ve yaygın kanama odakları 41

Resim 4.11. Vaskülarize ven grefti grubu; sinir fasikülünü oluşturan aksonlar arasında ödem ve çevresinde kanama odakları dikkati çekmekte 41

TABLOLAR

Sayfa no:

Tablo 4.1. Farklı deney gruplarında 1 mm^2' deki Schwann hücre sayısı..... 42

Tablo 4.2. Kruskal-Wallis testi..... 42

Tablo 4.3. Sinir grefti – Kontrol..... 43

Tablo 4.4. Ven grefti - Kontrol..... 44

Tablo 4.5. Vaskülarize ven grefti - Kontrol 44

Tablo 4.6. Ven grefti – Sinir grefti..... 44

Tablo 4.7. Vaskülarize ven grefti – Sinir grefti..... 45

Tablo 4.8. Vaskülarize ven grefti – Ven grefti..... 45

1. GİRİŞ

Periferik sinir sistemi (PSS) yaralanmaları günümüzde sık karşılaştığımız travmalardandır. Bu yaralanmalar; akut delici-kesici aletlerle yaralanmalardan uzun süreli bası nöropatilerine, doğum travmalarından iatrojenik yaralanmalara kadar değişik şekillerde karşımıza çıkmaktadır. Delici-kesici sinir yaralanmalarında ideal onarım, mümkün olan en kısa zamanda kesik sinir uçlarının uç-uca dikilmesidir (sinir koaptasyonu). Yaralanma sonrası distal sinir segmentinde Wallerian dejenerasyon, proksimal segmentde ise aksonal tomurcuklanma gelişir. Bu aksonal tomurcuklanma bölgesi dejenerasyona uğramış distal sinir segmentini kılavuz gibi kullanarak sinir iyileşmesini gerçekleştirir. Sinir onarımındaki en önemli olay, gergin olmayan primer koaptasyondur. Ancak her zaman istenilen koşulları sağlamak mümkün değildir. Travmatik kayıplar veya tümör cerrahisi ile oluşan kayıplar sonrasında periferik sinirlere onarımsal (rekonstrüktif) cerrahi işlemler uygulama ihtiyacı doğar [1].

Günümüzde bu amaçla otojen sinir grefti uygulaması sinir kayıpları onarımında tercih edilmektedir [2]. Bir çok iletici-yapı (sinir konduiti) örnekleri de (biyolojik veya sentetik tüpler) deneysel olarak sinir kayıpları onarımlarında denenmişlerdir. Bunlara örnek olarak otojen ven greftleri [3], arter greftleri [4], mezotelyal iletici-yapılar [5], sentetik tüpler [6], bazal membranlar [7], fasyal-sinovyal tüpler [8], kas dokusu [9], ven-kas birlikte kullanımları, epinöral kılıf [10] veya amniyotik zardan tüp oluşturma [11] tekniklerini sayabiliriz. Bu tekniklerin her birinde farklı derecelerde başarılı sonuçlar alınsa da günümüzde en başarılı sonuçlar sinir greftleri ile alınmaktadır. Fakat sinir grefti uygulamalarında donör alan morbiditesi bu teknik için bir dezavantaj oluşturmaktadır. Bu dezavantaj göz önüne alınarak bazı durumlarda klinikte otojen iletici-yapı görevi gören ven grefti kullanılmaktadır. Ven grefti ile sinir onarımında başarılı sonuçlar alınmasına rağmen Brunelli ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalar sonrası ven duvarında bulunan fibroblastların, iskeminin de tetiklemesi ile fibrozisi arttırması uzun dönem sonuçlarını kötü etkilediği görülmüştür [12]. 2000'li yıllarda yapılan çalışmalarda

damar duvarını oluşturan endotel hücrelerinin nöral kök hücrelerin yenilenmesini sağlayan faktörler salgıladığı[13], damarların intima ve adventisiya tabakasından NGF salgılandığı[14], ven grefti kaynaklı hücrelerin sinir rejenerasyonunda rol aldığı[15] ve sinir ucunu saran ven greftinin skar formasyonunu azalttığı[16] görülmüştür.

Literatürde olan bu çalışmalar da göz önünde bulundurularak sıçanlarda yaptığımız çalışmada ven grefti dolaşımı bozulmayacak şekilde(çevre yumuşak dokudan ayrılmadan) sinir onarımında kullanılmıştır. Sıçanların femoral sinir ve femoral venini kullanarak yaptığımız bu çalışmada vaskülarize ven grefti ile sinir onarımı grubu konvansiyonel sinir grefti ve ven grefti ile sinir onarımı grubu ile sinir iyileşmesi açısından histopatolojik olarak karşılaştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sinir Sistemi

Sinir sistemi, tüm vücudumuzu bir haberleşme ağı şeklinde saran vücut dokumuzdur. Vücut içinde veya dışında yer alan resöptörlerden elde edilen bilgilerin transferi, analizi ve entegrasyonunu; direk veya indirek olarak motor, visseral, endokrin, mental aktiviteler ile organizasyon ve koordinasyonunu sağlayan ana sistemimizdir [17]. Anatomik olarak sinir sistemi iki bölüme ayrılır:

2.1.1. Santral Sinir Sistemi (SSS)

Beyin ve spinal korddan oluşur. Vücut içinden ve dışından gelen bilgileri değerlendiren, istemli veya istemli olmayan hareketlerin yapılması için gerekli uyarıları veren, zeka, hafıza, öğrenme ve emosyonel fonksiyonların düzenlendiği merkezdir [17].

2.1.2. Periferik Sinir Sistemi (PSS)

SSS dışında kalan bütün sinir yapılarını içerir. Hücre gövdeleri SSS'inde olan sinir hücrelerinin uzantılarından, ganglionlardan ve ganglionlardan çıkan sinir hücre uzantılarından oluşur. Bu sistemin afferent bölümü, periferdeki reseptörlerden gelen duyuları SSS'ne, efferent bölümü ise SSS'nin oluşturduğu motor cevapları perifere taşımakla görevlidir. PSS'nin isteğimiz doğrultusunda çalışan çizgili kaslara giden motor implusları taşıyan kısmı somatik sinir sisteminin periferik kısmını oluştururken; düz kaslar, kalp kası ve hormonal bezler gibi isteğimiz dışında fonksiyon gören organ ve sistemler ile onlara giden motor impulsları taşıyan bölümü otonomik sinir sisteminin (OSS) periferik kısmını oluşturur. OSS parasempatik ve sempatik sistem olmak üzere iki kısma ayrılır.

PSS kranial ve spinal olmak üzere iki kısma ayrılır. Kranial sinirler 12 çift, spinal sinirler 31 çift olup simetrik olarak vücut bölgelerine dağılırlar. Spinal sinirler, Medulla Spinalis'ten her seviyede bir çift olmak üzere servikal (8 çift), torakal (12 çift), lumbal (5 çift) ve sakral (5 çift) olmak üzere ayrılırlar. Bunlar gövde, ekstremiteler, toraks, karın ve pelvis boşluğundaki organ ve yapıları inerve ederler. Kranial sinirler ise, beyin ve beyin sapından çıkarak genellikle baş ve boyun ile ilgili yapıları inerve ederler. Periferik sinirler vücut dağılımları sırasında komşu sinirlerle dallanmalar oluşturabilirler. Sık olan dallanma bölgelerine 'Sinir Pleksusu' denir. (Brakial, Lumbal ve Sakral pleksus gibi) [18-20].

2.2. Sinir Sisteminin Morfoloji ve Fizyolojisi

Fonksiyonel sinir onarımının yapılabilmesi için; periferik sinir sisteminin genel ve mikroanatomisinin, nöronlar ile destek bağ dokuları arasındaki ilişkinin, duyu ve motor son organlar ile sinirler arasındaki karışık biyokimyasal ilişkinin bilinmesi gereklidir.

2.2.1. Periferik Sinir Sisteminin Embriyolojisi

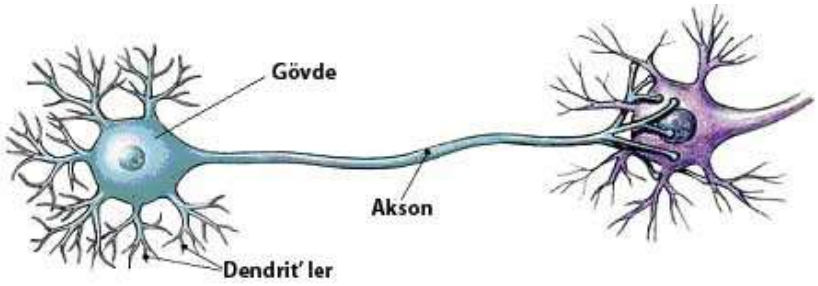
Periferik sinir sistemi embriyolojik olarak ektodermden köken alır. Embriyonik hayatın 3. ve 4. haftasında nöroektodermde oluşan nöral krest hücreleri, daha sonra dorsal kök ganglionu, "Schwann" hücreleri ve diğer nöroblastik hücreleri oluşturmak üzere mezoderm içine doğru göç ederler. Spinal kord gelişimi ile birlikte, daha sonra ön boynuzu oluşturacak olan bazal tabakadan kaynaklanan motor nöronların aksonları mezoderm kökenli kasların içine doğru büyümeye başlarlar. Dorsal kök ganglionları rudimenter dorsal boynuz ve perifere doğru iki yönlü olarak büyümeye başlarlar. Transjenik fareler ile yapılmış biyokimyasal çalışmalar, "Schwann" hücre kaynaklı uyarıların bağ dokusu kılıfının gelişiminin başlamasından sorumlu olduğunu göstermiştir [21]. Fetal hayatın 4. ayında "Schwann" hücreleri bu

aksonların miyelinizasyonuna başlarken bu işlem bazı motor aksonlarda doğumdan sonraki birinci yıla kadar başlamaz [22, 23].

2.2.2. Periferik Sinir Sisteminin Anatomi ve Histolojisi

Periferik sinir sistemi nöronlardan, destekleyici bağ dokusu ve hücre elemanları ile son organlardan oluşan karmaşık bir yapıdır. Çevreden gelen uyarıları merkezi sinir sistemine, buradan çıkan uyarıları da son organlara iletme görevini yürütür. Afferent lifler dorsal, efferent lifler ise ventraldeki köklere yerleşmişlerdir. Buradan çıkan lifler dorsal ve ventral spinal kordları, bunlar da duyu ganglionlarından sonra birleşerek periferik sinirleri oluşturur. Sinir lifleri bağ dokusu ile desteklenen, fasikül adı verilen demetler halinde seyrederler. Periferik sinirler içindeki bağ dokusu oranı sinirden sinire ve bulundukları yerlere göre %25- 85 oranında değişmektedir. Eklem bölgelerinde bu oran artar. Bağ dokusu oranlarında değişmenin bir başka nedeni de, fasiküler pleksus formasyonu ve fasiküler dallanmadır. Son on yıl içerisinde yapılan çalışmalarda, periferik sinirlerin internal topografileri daha iyi ortaya konulabilmiştir. Pleksus formasyonu ve fasiküller arası geçiş olmakla birlikte, bu durum intranöral diseksiyonu, fasiküler tamiri ve interfasiküler sinir interpozisyon greftlemeyi engelleyecek derecede değildir. Sinir topografisini ortaya koymak için 0,5 – 1 mm aralıklarla kesitler alarak inceleyen Slingluff ve arkadaşları fasiküllerin pleksus içerisinde dallanmadan veya komşu fasiküle birleşmeden yaklaşık 5 mm kadar ilerlediklerini göstermişler [24]. Daha sonra yapılan çalışmalarda periferik sinirlerin internal topografileri ortaya konulabilmiştir.

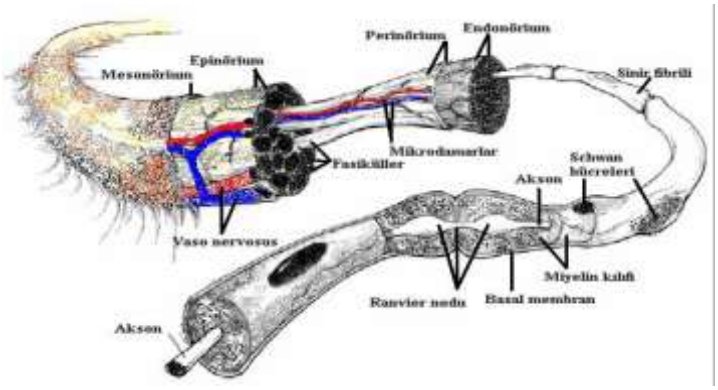
Sinir sisteminin fonksiyonel ünitesi nörondur. Nöronun hücre çekirdeği ve diğer birçok organellerini içerdiği soması, alıcı fonksiyonlarını gören dendritleri ve son organa giden aksonu mevcuttur (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Sinir hücresinin yapısı

Aksonun önemli iki komponenti mevcuttur. Bunlar, hücre içi ve hücre dışı iyon farkı oluşturarak aksiyon potansiyellerinin oluşumunu ve buna bağlı sinir iletisini sağlayan zarı (aksolemma), ve hücresel komponentleri somadaki gibi olmayan, birçok mikroflamanların bulunduğu sitoplazmasıdır.

"Schwann" hücreleri periferik sinir sisteminin nöronal satellit hücreleridir. Miyelin üreten bu hücreler aksonu değişik sıklıkta sarmaktadırlar (Şekil 2.2). Miyelinin kalınlığı sardığı aksonun çapı ile orantılı olup, çapı büyük olan fibrillerin daha kalın miyelin yapısı vardır. Motor nöronların miyelin katı duyu nöronlarından daha kalındır[25]. Miyelinli ve miyelinsiz fibriller hepsi farklı yapılarda olmak kaydı ile "Schwann" hücresi tarafından sarılmaktadır. Miyelinsiz olanlarda tüm siniri üniform olarak sararken, miyelinli olanlarda ise arada Ranvier boğumlarını oluşturacak şekilde sararlar. Ranvier boğumunda sinir elemanları buraya gelen akımı arttırıcı yapıdadır. Buradaki mitokondri sayısı normal yerlere göre beş kat fazladır. Diğer enerji üreten hücre elemanları da bu bölgede daha fazladır.



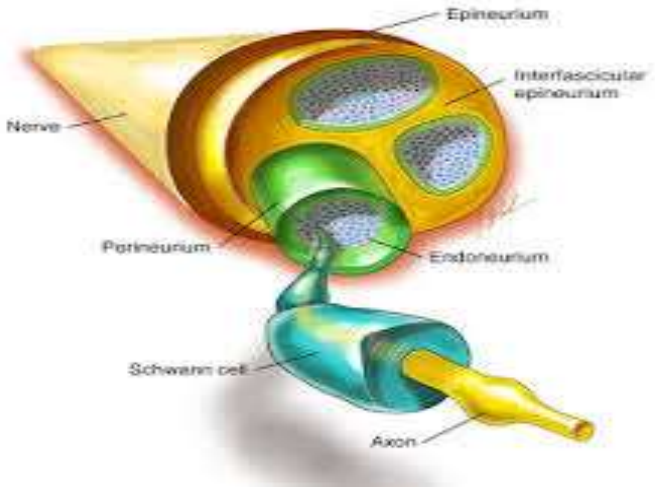
Şekil 2.2. Aksonun yapısı

Periferik sinirler 3 ana katmandan oluşur:

a- Epinöryum: Gevşek kollajen bağ dokusundan oluşur. Dış epinöryum fasikülleri grup halinde saran en dış kılıfdır. Buradan grup fasiküllerin arasına giren ve fasikülleri içeriden saran uzantıları iç epinöryumu (interfasiküler epinöryum) oluşturur. Periferik sinirden kesit alındığında, sinir fasikülü epinöryum oranı sinirden sinire, kişiden kişiye ve aynı sinirde geçtiği anatomik yerlere göre değişiklik gösterir (%25-75) [26]. Örneğin eklem ve kemik çıkıntılar yakınından geçen daha yüzeyel sinir bölümlerinde dış stresleri absorbe etmek amacı ile epinöral kılıf daha kalındır [27] (Şekil 2.3).

b- Perinöryum: Perinöryum, her bir sinir fasikülünü saran kılıfdır. Zar yapısı ortalama on tabaka halinde katmanlanmış, düzleşmiş hücrelerden oluşmuştur. Kan-beyin bariyerinin devamı gibi işlev görür; difüzyonu düzenler ve intrafasiküler basıncın oluşumunda etkilidir [28], Ayrıca enfeksiyonun endonöryuma geçişine bariyer etkisi yapar[29]. Perinöryumun çıkartılması sinir iletisini engeller. Ancak epinöryumu çıkarmanın sinir iletisine akut etkisi yoktur (Şekil 2.3).

c- Endonöryum: Endonöryum, aksonları paketleyen ve perinöryum içinde tutan kollajen doku içeren yapıdır, elastin içermez. Schwann hücre tüpünün (schwann hücresi ve miyelinli aksondan oluşan silindirik yapı) oluşumuna katılır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Periferik sinirin katmanları

2.2.3. Periferik Sinirin Kanlanması

Periferik sinirler kan akımı bakımından zengindir [30]. Segmental damarlar olarak arterler epinöryuma girerler. Burada bir pleksus oluşturduktan sonra perinöral pleksus oluşturmak amacı ile devam ederler. Perinöral damarlar endonöryuma girmeden oblik longitudinal uzun bir seyir izlerler. Bu seyir sırasında endonöral basınç artışına hassastırlar [31]. Endonöral ağ ise arterioller, kapiller ve venüllerden oluşur. Bu seyir tüm fasikül boyunca devam eder. Endonöryum içinde lenfatikler yoktur. Longitudinal vasküler pleksuslar arasında bağlantılar vardır ve bu bağlantıların varlığının avantajı, sinirin yatağından mobilizasyonuna toleransı arttırmasıdır [32]. Ancak halen geniş sinir diseksiyonunun ve mobilizasyonunun sinir rejenerasyonu üzerine etkileri açıkca tanımlanmamıştır.

2.3. Periferik Sinir Yaralanması

Sinir yaralanmaları; 1947 yılında Seddon ve 1951 yılında Sunderland tarafından [33, 34] hasarlanan sinir komponentlerine, fonksiyonlarına ve spontan iyileşme olup olmamasına göre sınıflandırılmıştır.

2.3.1. Periferik Sinir Yaralanmalarının Sınıflaması

Seddon periferik sinir yaralanmaları için basit bir şema oluşturmuştur.

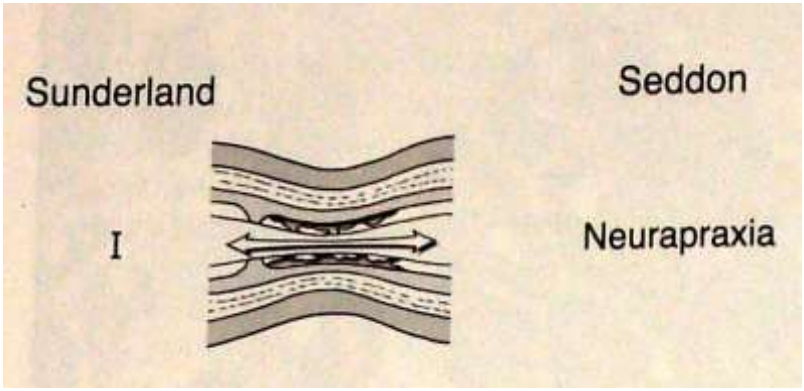
Nöropraksi: Aksonal devamlılık ile birlikte geçici ileti bloğu varlığıdır. Aksonal yaralanmanın en basit şeklidir ve genellikle kompresyon veya traksiyon yaralanmaları ile ilişkilidir.

Aksonotmezis: Çevre bağ doku bileşenlerinin sağlam olduğu aksonal devamlılık kaybı durumudur. Bu yaralanma Wallerian dejenerasyon ile sonuçlanır. Rejenerasyon sağlam proksimal sinir ucundan başlar ve yaklaşık olarak 1mm/gün hızında distale ilerler.

Nörotmezis: Cevre bağ doku kılıfının da tamamen zarar gördüğü akson devamlılık kaybı olan yaralanma ceşididir.

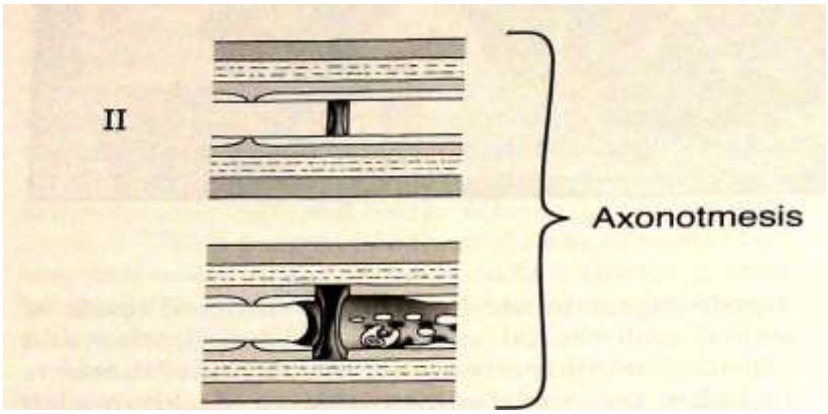
Klinikte sinir yaralanması genellikle karışık karakterdedir ve her zaman Seddon sınıflamasına karşılık gelmeyebilir. Buna karşılık yaralanmanın derecesinin bilinmesi tedavinin belirlenmesi açısından önemlidir. Bu nedenle Sunderland, Seddon sınıflamasını modifiye ederek, sinirin fasiküler yapısının önemliliğini daha çok vurgulayan ve 5 gruptan oluşan yeni bir sınıflama tariflemiştir [35].

1. derece yaralanma (nöropraksi): Lokalize ileti bloğu vardır. Segmental demiyelinizasyon oluşmuştur. Akson yaralanması olmadığı icin rejenerasyon gerekli değildir. Yeniden miyelinizasyon süreci (yaklaşık 12 hafta içinde) sonrasında iyileşme tamdır (Şekil 2.4).



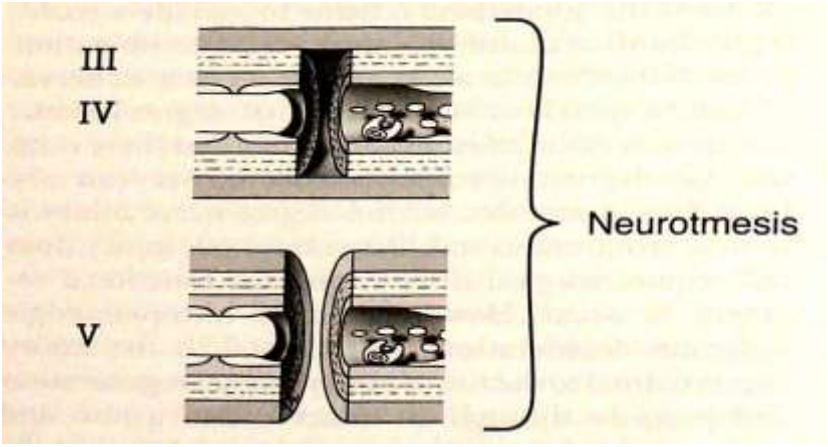
Şekil 2.4. 1.derece yaralanma

2.derece yaralanma (aksonotmezis): Aksonal yaralanma oluşur. Distal uc Wallerian dejenerasyonuna uğrar. Proksimal uc aksonlar yaklaşık 1 mm/gün uzama hızında büyürler. Bağ dokusu katmanları yaralanmamıştır. Rejenerasyon seviyesi Tinnel testi ile takip edilebilir. Motor son organların denervasyon sürecini tolere edebildiği sürece iyileşme tamdır (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. 2.derece yaralanma

3. derece yaralanma (nörotmezis): Endonöryum ve aksonal yaralanma vardır. Wallerian dejenerasyonun yanında endonöryumda fibrozis de vardır. Endonöryumdaki fibröz doku fibrillerin ilerlemesini engelleyebileceğinden iyileşme tam olmayabilir. (Şekil 2.6)



Şekil 2.6. 3. 4. ve 5. derece yaralanma

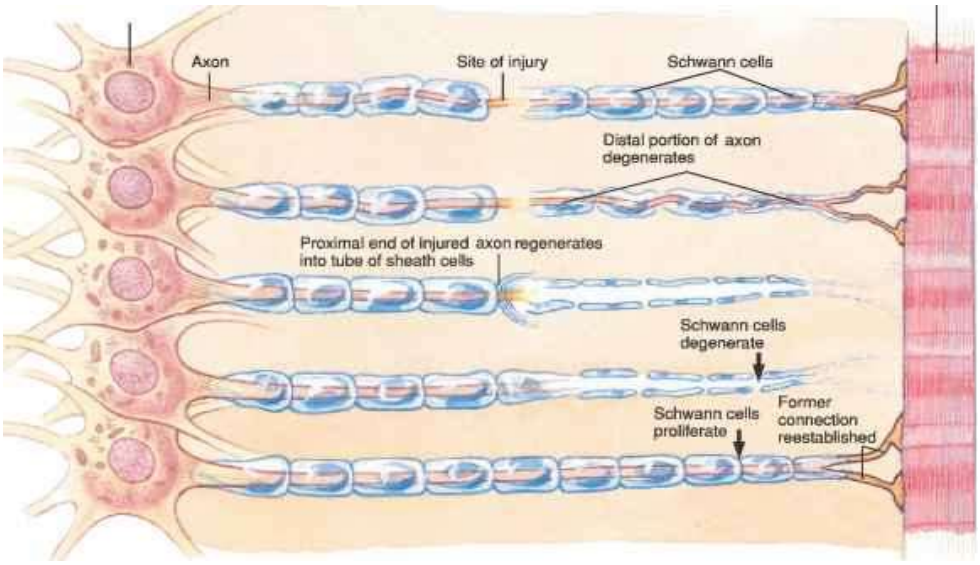
4.derece yaralanma (nörotmezis): Aksonal, endonöral ve perinöral yaralanma vardır. Yaralanma alanında tam bir skar dokusu vardır. Skar bloğu kaldırılmadan iyileşme olmayacaktır. (Şekil 2.6)

5.derece yaralanma (nörotmezis): Epinöral kılıfı da içeren tam kesi ve ayrılma vardır. Herhangi bir rejenerasyon oluşmadan cerrahi olarak onarılmalıdır (Şekil 2.6).

2.3.2. Sinir İyileşmesi

Sinir hasarını takiben sinir hücresi yapısal ve fonksiyonel degişikliklere uğrar [36]. Bu degişiklik hasarın nörona yakınlığı ile ilişkilidir ve çok yakında olursa hücre ölümüne kadar gidebilir [36]. Sinir gövdesinin proksimal ve distal aksonu kesiden sonra degişik derecede travmatik dejenerasyona uğrar. Proksimaldeki değişim son Ranvier boğumu ya da bazen nörona kadar uzanır [37]. Distal segment ise Wallerian dejenerasyona uğrar. Bu dejenerasyon 48–96 saat içinde Schwann hücreleri ve makrofajların miyelin ve aksonal debrisi fagosite etmeleri ile başlar, yaklaşık üç ay sürer [37, 38]. Yıkım kalsiyuma bağlı proteolitik enzimlerle yapılır, aksonal rejenerasyon için yol hazırlanmış olur. Aksonal dejenerasyon akson yaralanması sonrası rejenerasyonun başlaması için önemli bir evredir [39]. Schwann hücreleri periferik sinir hasarını takiben bir yandan da aksonal rejenerasyon ve matürasyonun sağlanması amacıyla "Nerve Growth Factor" (NGF), "Insulin-like Growth Factor-1" (IGF–1), "Ciliary Neurotrophic Factor" (CNTF) ve "Brain-derived Neurotrophic Factor" (BDNF) gibi faktörlerin sentez ve salınımında rol alırlar, ayrıca ekstrasellüler proteinleri sentezlerler [40, 41]. Travmayı takip eden ilk 6 saat içinde proksimal akson distale doğru ilerlemek için çok sayıda kollateral ve terminal tomurcuklar verir. Bu rejenerasyon en distaldeki sağlam Ranvier boğumundan başlar [35]. Erken evrede rejenere olan üniteler distale doğru kök aksonun orijininde kümeleşirler. Aksonların periferik bağlantıları oluşunca tomurcuk sayısında da azalma olur. Her bir tomurcuğun en distal kısmı 24 saate kadar degişebilen bir sürede büyüme konisi denilen bir çıkıntı yapar, bu yapı internal aktin filamentleri ve myozin içerir ve membranı dışa çıkıntı yapan ameboid tarzda kasılan pek çok filopod içerir [36]. Bu büyüme konisi içerdiği proteazlar yardımıyla önündeki matriksi eriterek ilerlemeyi kolaylaştırır, ilave olarak endositotik aktivitesi ile retrograd olarak transfer edilen molekülleri de içine alır [37, 42]. Filopod adezyonuna uygun bir yapı (Schwann

hücre membranı gibi) algılandığında yapışma oluşur. Membranlar arası geçis olayı ile internal aktin filamentler kararlı hale gelir ve retraksiyon oluştuğunda büyüme konisi ileri doğru çekilir. Akson ve içerikleri tutunmuş filopoda doğru itilir ve akson aynı doğrultuda uzar. Bir aksondan birçok filopod, sinir fibrilinden distale bu şekilde gelişebilir veya gelişigüzel bir şekilde dallanabilir veya geriye kendine doğru büyüyebilirler. Hedef organla bir filiz bağlantı kurduğunda diğer filizler dejenere olur ve tek bir akson olgunlaşır [33] (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Akson rejenerasyonu

2.3.3. Sinir İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Sinir iyileşmesi bir çok faktörden etkilenmektedir. Lokal sinir mikroçevresi, "Schwann" hücresi gibi hücresel komponentler, ekstraselüler yapı elemanları, nörotrofik faktörler bunlardan bazılarıdır. Travmayı takiben sinir rejenerasyonu ile birlikte normal olarak, sinir hücrelerinin yaşamı için esas olan mikroçevrede kompleks nörokimyasal etkileşimler olur. Akson rejenerasyonu için sinir hücresinin yaşamı mutlaka gereklidir ve rejenerasyon bir çok kaynak tarafından üretilen nörotrofik faktörler ile kolaylaştırılır. Sinir rejenerasyonunu, kimyasal etkenlerin yanında yerel fiziksel faktörler, onarıma kadar geçen zaman ve hastanın yaşı da

etkilemektedir[43]. Yaş ilerledikçe aksonal iyileşme kötüleşmekte ve sinir yaralanmalarından alınan sonuçların kalitesi düşmektedir. Sinir iyileşmesini olumlu yönde etkileyen faktörler dört ana grupta incelenebilir.

1. Nörotrofik faktörler
2. "Neurite-promoting" faktörler
3. Matriks faktörleri
4. Metabolik ve diğer faktörler

2.3.3.1. Nörotrofik faktörler

Bu faktörler genellikle değişik kaynaklardan köken alan, nöronların sağkalımını ve büyümesini artıran makromoleküler yapıda proteinlerdir. Distal sinir güdüğü, denerve kas veya duyusal reseptör gibi inervasyon sağlanacak hedef organ veya distal yapılarda bulunmaktadır. Sinir uçları tarafından alınıp retrograd aksonal transport ile nöron gövdesine taşınırlar ve burada etkilerini oluştururlar. Büyüme faktörlerinin etkisi, hedef hücre yüzeyinde bulunan belirli trozinkinaz reseptör sınıflarına bağlanma yoluyla ortaya konur. Reseptör alanının aktivasyonu, intraselüler sinyali takip eder ve gen aktivasyonundan sonra gelir. Trofin ailesi; NGF, beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), nörotrofin-3 (NT-3), nörotrofin-4/5 ve nörotrofin-6'yı içerir. İlk olarak identifiye edilen nörotrofik faktör "Nerve Growth Factor (NGF)" (sinir büyüme faktörü) olmuştur. Fare sarkomundan salınan bir madde olarak bulunan sinir büyüme faktörünün tavuk embriyosunda duyusal ve sempatik aksonların tümöre doğru büyümesine neden olduğu bulunmuştur. Daha sonra bu molekül saflaştırılmış ve asidik fragmanı olan β-NGF' ün periferik sinir sistemindeki sempatik ve duyusal nöronlarda bulunan reseptörlere bağlandığı ortaya çıkarılmıştır. NGF, nöronal sağkalım, akson filizlerinin uzaması ve dorsal kök hücreleri ile sempatik ganglion hücrelerinden transmitter salınımını kontrol eder. Bu faktör, sempatik ve duyusal sinirler tarafından inerve edilen dokulardan salınır ve aksonal transport ile hücre gövdesine taşınarak etki gösterir. Ayrıca kemotropik etki ile aksonal filizlerin hareketini etkilediği ve büyüme konisinin morfolojisini değiştirdiği bulunmuştur. NGF ve reseptörleri yaralanma sonrasında distal sinir

ucundaki Schwann hücrelerinde sentezlenmektedir ve aksonal rejenerasyona hem tropik hem de trofik etkiler ile yardım etmektedir. Normal olarak, NGF mRNA sağlıklı sinirlerde düşük konsantrasyonlarda mevcuttur; ancak sinir yaralanmasının ardından distal sinir segmentindeki düzeyi oldukça yükselir[44]. Sinir travmasını takiben NGF'ün, motor nöron ve onların gelişimi üzerine etkisi yok veya çok az iken duyu nöronlarının gelişiminde olduğu kadar yaşamasında da önemli rol oynar[45].

Beyin kaynaklı nörotrofik faktör "Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF)" kültürde motor nöronların yaşamasını destekler ve motor nöronlar için trofik bir faktör olarak hareket eder[46]. Anterior spinal boynuzdaki motor nöronların aksonotomisini takiben hücre ölümlerinin önlenmesinde rol oynamaktadır ve doğal hücre ölümünden itibaren motor nöronların gelişimini desteklemektedir[47].

Nörotrofin ailesinin üçüncü üyesi olan nörotrofin-3, duyu ve parasempatik nöronlardaki yanıtların ayrımını ve yaşamlarını sürdürmesini sağlar ve in vitro motor nöronların yaşamını kuvvetle destekler[45]. Nörotrofin-4/5 motor nöronlar üzerindeki reseptörlerine bağlanır. Fonksiyon olarak, bu faktör motor nöronların yaşamını destekler[46], insan kası ve sıçan spinal kord eşzamanlı kültürlerindeki iskelet kaslarının innervasyonu için motor nöronların yeteneğinin artmasını sağlamaktadır[48]. Nörotrofin-6, NGF ailesinin son zamanlarda en çok tanımlanan üyesidir[49]. Düşük potensli olmasına rağmen duyu nöronları ve genç sempatikler üzerinde NGF'e benzer çeşitli etkilere sahiptir, fakat motor nöronlar üzerindeki etkisi açık değildir.

Siliar nörotrofik faktör "Ciliary Neurotrophic Factor (CNTF)" ve interlökin-6 gibi nöropoetik sitokinler de sinir iyileşmesini olumlu yönde etkiler.

2.3.3.2. "Neurite – Promoting" Faktörler

Bu faktörler, sinir kültüründe polikatyonik kültür substratına ve "Schwann" hücrelerinin bazal laminasına in-vivo olarak bağlanan glikoproteinlerdir ve kuvvetli bir şekilde aksonal filizlerin uzamasını artırırlar. Laminin, bazal laminanın major

komponentlerinden biridir ve tip IV kollajen ve proteoglikan gibi membranın diğer komponentlerine bağlanır. Schwann hücreleri tarafından üretilir ve aksonal filizlerin uzamasını artırır. Bazal laminanın diğer komponenti olan fibronektinin de aksonal filizlerin uzamasını artırdığı bulunmuştur[50]. Bu maddenin hücre tutunmasını artırdığına ve bu sayede aksonal rejenerasyonu hızlandırdığına inanılmaktadır. Ancak fibronektine olan nöronal cevap laminine gore daha zayıftır ve fibronektinin aksonların yönlenmesinde laminin gibi etkisi yoktur.

"Neural Cell Adhesion Molecule (N-CAM)" ve N-cadherin, gelişim gösteren nöronlarda bulunan ve hücre adezyonunu artıran membran glikoproteinleridir. İn-vitro ortamda bu moleküllerin antikorlarının santral ve periferal aksonların büyümesini azalttığı ortaya konmuştur[37].

2.3.3.3. Matriks Faktörleri

Sinir kesilmesi ve onarımından sonra proksimal ve distal uçlar arasındaki boşluğu erken dönemde fibrinojen ve fibronektinden oluşan bir fibrin matriks doldurmaktadır. Bu fibrin matriks, kesilen sinir uçları tarafından oluşturulur ve uçlar arasındaki açıklığa "Schwann" hücrelerinin ve diğer hücrelerin migrasyonunu kolaylaştırır. Erken dönemde bu fibrin matriksin ilavesi ile sinir rejenerasyonu hızlanmaktadır[37].

2.3.3.4. Metabolik ve Diğer Faktörler

Sinir iyileşmesini olumlu yönde etkileyen bir çok metabolik faktör vardır. Bunlar östrojen, testosteron, tiroid hormonları, adrenal hormonlar, insülin, somatomedinler, gangliozidler, katalaz, kas bazal membranı ve elektriksel uyarılar gibi faktörlerdir[37].

Makrofajlar sinir rejenerasyonunda kritik bir rol oynarlar. Kesilen sinirin distal segmenti, akson degredasyonuna ve miyelin debrislerinin temizlenmesine

yardım eden makrofajlar tarafından hızla işgal edilir. Aksonal gelişimin makrofajların eksternal uygulanmasıyla artırılabildiği ispatlanmıştır[51]. Makrofajlar salgıladıkları faktörler ile hem dorsal kök ganglionlarındaki sinir hücrelerinin aktivasyonuna yol açarlar, hem de sinir gövdesindeki nöron dışındaki hücreleri etkilerler. Dorsal kök ganglionlarındaki deneysel inflamasyonun rejenerasyonu uyardığı kanıtlanmıştır[52].

Akson kopmasını takiben nöronda tipik yapısal ve fonksiyonel değişiklikler olur. Kromatolizis denen bu fenomen; hücre ödemini, nükleusun perifere deplasmanını ve stoplazmadan bazofilik materyalin kaybolmasını kapsar. Kromatolizis granüllü endoplazmik retikulumun yeniden düzenlenmesine ve potansiyel nöron rejenerasyonunu artırmak amacıyla RNA ve protein metabolizmasında kimyasal değişikliklere neden olur. Akson kopmasını takiben oluşan hücre reaksiyonları için çeşitli açıklamalar vardır. Normalde hedef hücreler tarafından üretilen ve retrograd aksonal transport ile sinir hücre gövdelerine taşınan nörotrofik maddeler kesi dolayısıyla aktarılamaz, bu transport durmasının kromatolizise neden olduğuna inanılır. Kromatolitik reaksiyon aslında sinir yaralanmasının ardından rejenerasyon için gereklidir, fakat o ayrıca büyük aksoplazmik volüm kaybıyla beraber sinir hücresindeki travmanın şiddetini gösterir. Spesifik nöronun rejenerasyonu için bütün olasılıkların elimine edildiği süreçte kromatolizis bazen sinir hücresinin ortadan kalkmasına ve ölümüne yol açabilir. Kromatolizis göreceli olarak, yaşamayan hasarlı nöronların sayısını gösterir. Sinir travması sonrasında “Schwann” hücreleri “Büngner” bandını yapar. Rejenere olan aksonlar “Schwann” hücre yüzeyinde oluşturulan bu yol hattını izler. Lezyon proksimalindeki ana aksonlar, her biri yaralanma zonunu karşıdan karşıya geçen çok sayıda filiz gönderirler ve onların gelişimi “Büngner” bandı boyunca devam eder. Her bir filizin sonunda bir büyüme konisi vardır. Filizlerin gelişim yönünün belirlenmesi için büyüme konilerinin aktivitesi gereklidir. Mikroçevrenin moleküler kompozisyonu izin verici ya da geri itici karakterde olabilir. Bu bakımdan özellikle aksonların uzamasını uyaran “neurite-promoting factor” varlığı, büyüme substratının moleküler kompozisyonu ve yapışkanlığı önemlidir.

2.3.3.5. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)

Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) 34-46 kD' luk glikoproteindir. 121-,165-, 189-, ve 206- aminoasit rezidüsü olan 4 izoformu mevcuttur. İki çeşit fosfotirozin kinaz reseptörlerine gösterdiği yüksek afinitesi sayesinde etki etmektedir. İnsanlarda endotel hücrelerinde mitojenik cevabın yanı sıra, aktin filamanlarının organize olmasında ve kemotaksisinde indükleyici etkilere sahiptir[53]. Reseptörlerinin damar endotelinde bol miktarda bulunması nedeniyle en spesifik anjiyogenik ajandır. Endotel hücreleri için potent bir mitojendir ve aynı zamanda kan damarlarında permeabiliteyi artırır. Selektif olması nedeniyle terapötik ajan olarak kullanımı çok ilgi çekmiştir. Yeni kan damarlarının oluşumunu indüklerken, fibroblastların ve düz kas hücrelerinin rastgele replike olmalarına engel olarak potansiyel fibrozis riskini azaltır[52].

VEGF mRNA' sı, sinir sisteminde nöronlarda ve beynin kapiller damarlardan zengin bölgelerinde bulunmaktadır. VEGF' ün aksonal büyüme, nöron ve "Schwann" hücre sağkalımı, "Schwann" hücre proliferasyonu üzerine etkileri olduğu bulunmuştur. VEGF, periferik sinir sisteminde hem nörotrofik, hem de mitojenik etki göstermektedir. Ayrıca sinir büyümesi için spesifik bir büyüme faktörü olan NGF ile karşılaştırıldığında, VEGF' ün etkilerinin daha farklı olduğu görülmektedir. NGF rejenerasyon gösteren aksonların sayısı açısından daha etkili gözükmesine rağmen; VEGF, bu etkinin yanı sıra hem nöronal hem de Schwann hücre sağkalımını artırıcı etki göstermektedir. Periferik sinir sistemi hücreleri üzerine olan bu direkt etkilerin yansıra VEGF, anjiyogenez üzerinden de indirekt olarak sinir rejenerasyonunu artırmaktadır. Sinir iyileşmesinde vaskülarizasyonun önemli etkileri olduğuna dair birçok çalışma mevcuttur[54-56]. Rejenerasyon süresince, bu olayda rol alan hücrelerin metabolik ihtiyaçları artmaktadır. Artan metabolik ihtiyacın karşılanması da bu bölgenin kanlanmasının artması ile sağlanmaktadır. Bu nedenle intranöral anjiyogenezin artırılmasının sinir rejenerasyonu üzerine olumlu etkileri vardır. VEGF, yüksek anjiyogenik etkisi nedeniyle intranöral anjiyogenezi artırmakta ve bu sayede sinir rejenerasyonunu artırmaktadır[54, 55].

2.4. Periferik Sinir Onarımı

Yaralanma sonrası 48 saat içinde yapılan sinir onarımı primer onarım, 7 güne kadar yapılanlar geç primer, daha sonra yapılanlar ise sekonder onarımdır. 3 aydan sonrası ise, geç sekonder onarım olarak kabul edilir.

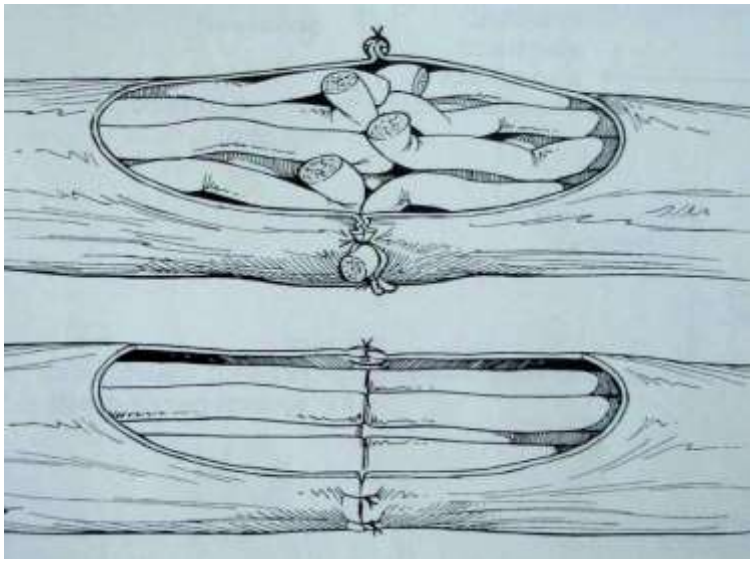
Deneysel sinir lezyonlarında lif gelişiminin, 1-3 haftadan daha önce onarılanlarda, geç onarılanlara gore daha hızlı olduğu birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir[57]. Hasarlı bir sinirde olduğu gibi, sinyallerin retrograd aksonal transport ile sinir hücre gövdesine iletilmesini onarım süreci etkiler. Sekonder sinir onarımına karşı primer onarımı savunan görüşün dayanağı travmanın ardından sinir hücre gövdesindeki metabolik değişikliklerin seyir süresidir. Sinir hücre gövdesinde optimal metabolik potansiyelin travmayı takiben 2-3. haftalarda bulunduğuna inanılmaktadır. İkinci dünya savaşı sırasında sinir travmalarının çoğu kontaminasyon nedeniyle tedaviden önce 2-3 hafta bekletilmişti. Optimal rejenerasyon potansiyeli için en uygun gecikme süresinin 3 hafta uzunluğunda olduğuna inanılırdı. Ancak gelişen konseptler muhtemelen 2-3 gün kadar oldukça kısa interval görüşünü desteklemekte, başlangıçtaki gecikmenin kısalığının akson gelişimi üzerine pozitif etkiye sahip olabileceği yönündedir[58]. Bununla birlikte geç primer onarımın erken primer onarımdan avantajlı olduğunu destekleyen klinik veri yoktur. Bunun için olanak varsa, erken primer sütür, sinir onarımı ile ilgili hala altın standarttır.

Periferik sinir anatomisi bir sinirden diğerine hatta bir sinirin trasesi boyunca bile farklılık gösterir. Ekstremitelerin proksimal segmentindeki sinirler tek fasiküllüdür ve genellikle motor ve duysal lifler karışık olarak yer alır. Periferik sinir distale ilerledikçe çok fasiküllü, motor ve duysal lifler ayrılmış olarak seyreder ve bu trase boyunca sinir içinde pleksus tarzında fasiküller arasında giriş çıkıs vardır [59, 60].

Fonksiyonel lokalizasyon, duyusal ve motor sinir liflerinin karışım miktarı, fasiküllerin sayısı ve büyüklügü onarım tekniklerinin belirlenmesinde rol oynar [61].

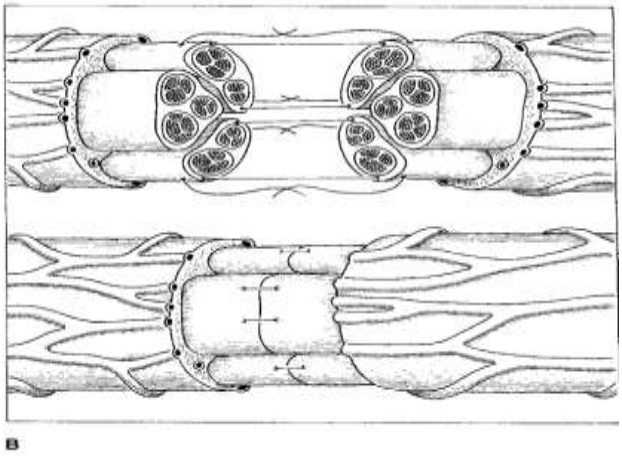
Hastaya uygun anastezi verilmesi gereklidir. Cerrahi işlemler sırasında magnifikasyon kullanmak, cerrahın tercihine göre loup veya ameliyat mikroskopu sonuçları geliştirecektir [62].

Epinöral onarım; Proksimal ve distal sinir güdükleri izole edilip zarar görmemiş olduğuna kanaat getirdiğimiz bölgeye kadar sinir uçları keskin olarak tazelenir. Fasiküler ve vasküler işaretler dikkate alınarak gergin olmayan epinöral dikişler konulur ve koaptasyon yapılır. Dikişler çok sıkılmamalıdır, fazla sıkıştırıldığı taktirde fasiküller dışarı doğru kıvrılır [63]. Epinöral onarımda epinörium içindeki fasiküllerin bir miktar trim edilmesi koaptasyon sonrası sinir uçlarının dışarı kaymasını engeller ve içeride kıvrılmadan uç uca gelmesini kolaylaştırır [64] (Sekil 2.8, A-B).



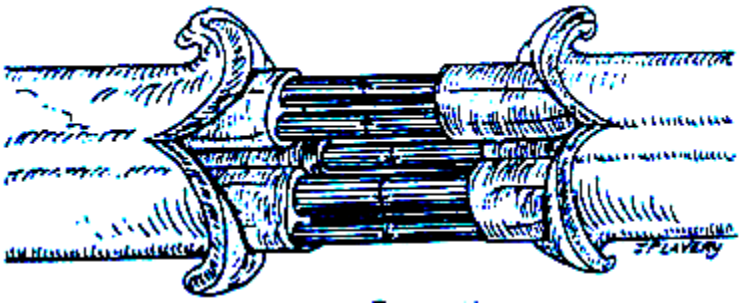
Şekil 2.8. Epinöral sinir onarımı
(A-Fasiküllerin trim edilmediği durum. B-Fasiküllerin trim edildiği durum)

Grup fasiküler onarım; Bu onarım yapılırken magnifikasyon ve mikro cerrahi aletler kullanmak gereklidir. Proksimal ve distal güdükler incelenerek güdüklerdeki fasiküller değerlendirilir ve bu fasiküller 3-4 mm diseke edilip mümkün olan en az dikiş ile koaptasyon yapılır [63]. (Sekil 2.9)



Şekil 2.9. Grup fasiküler onarım

Fasiküler onarım; Fasikül gruplarını çevreleyen internal epinörium diseke edilerek yapılan onarımdır. İnterfasiküler baglantıların kesilmemesine dikkat edilmelidir. Her fasiküle bir dikiş veya gerekiyorsa 180 derece uzağa ikinci dikiş konulabilir (Sekil 2.10).



Şekil 2.10. Fasiküler onarım

Uç uca onarımın mümkün olmadığı, defektli periferik sinir yaralanmalarında en yaygın olarak kullanılan teknik otojen sinir greftleri ile onarımdır [65]. Otojen sinir greftinin kullanılmasının amacı, bazal lamina ile birlikte Schwann hücrelerini içeren bir tüp sağlanmasıdır. Böylece proksimal sinir ucundan rejenere olan aksonlar bu tüp aracılığıyla distal güdüge ulaşırlar. Distal güdüğe ulaştıktan sonra, bunun içinde ilerleyerek hedef organa varırlar. Schwann hücrelerinin sentezledigi nörotrofik faktörlerin de bu rejenerasyona katkısı oldugu düşünülür [66].

Sinirde segmental besleyici damarlar epinöriumda longitudinal bir pleksus oluştururlar. İkinci pleksus, perinöriumdadır. Perinöriumdaki damarlar endonöriuma girmeden önce karakteristik olarak oblik seyrederler. Endonöral vasküler ağı ise kapillerler, arterioller ve venüller oluşturur. Bu ağ fasiküllerin uzunluğu boyunca devam eder ve sinirde yaralanmaya cevap olarak akımın yönü degişebilir. Endonöriumda lenfatik yoktur. Longitudinal vasküler pleksuslar arasındaki bağlantılar sayesinde sinir, beslenmesi bozulmadan yatağında aşırı hareket edebilir. Greftler ilk 2–3 gün çevreden difüzyonla beslenirler, 3.-4. günlerde proksimal ve distal güdükten damarların penetre olmaya başlaması ile beslenirler. Birkaç hafta sonra sinir yatağından beslenme daha dominanttır [66]. Deney hayvanları ile yapılan çalısmalarda, 4–5. günlerde greft revaskülarizasyonunun maksimuma ulaştığı gösterilmiştir [67, 68]. Greftin çapı arttıkça perfüzyon ve revaskülarizasyon oranı azalır, greft nekrozu riski artar. Kullanılabilecek maksimum greft uzunlugu ile ilgili kesin bir bilgi bulunmamakla birlikte, 1,5–7 cm olması gerektiğini bildiren çalışmalar mevcuttur [69-71].

Sinir defektinin büyük ya da alıcı alan kanlanmasının kötü olduğu durumlarda vaskülarize sinir greftlerinin kullanılması önerilmektedir [72, 73]. Vaskülarize sinir grefti için önerilen donör sinirler yüzeyel radial sinir (radial arter), ulnar sinir (üst ulnar kollateral arter), sural sinir (yüzeyel sural arter), yüzeyel peroneal sinir (yüzeyel peroneal arter), safen sinir (safen arter) dir [69, 74]. Vaskülarize sinir greftlerinin klinik kullanımı oldukça kısıtlıdır; çünkü büyük arterler harcanır ve teknik uygulama güçtür. Literatürde vaskülarize sinir greftlerinin, vaskülarize olmayan greftlere, sinir iyilesmesi açısından, bir üstünlügü olmadığını belirten yayınlar vardır [66].

Otolog sinir greftlerinin yerine allogreft sinir kullanılması halen deneysel aşamadadır. Çünkü rejeksiyonun önlenmesi için immünsupresyon gerekir. Siklosporin ile immünsupresyon sağlandığında Schwann hücreleri yaşar ve mükemmel sinir rejenerasyonu olur. Akson perifere ulaştıktan sonra immünsupresan kesilirse allogreft Schwann hücreleri ölür ve fonksiyon kaybı olur. Sıçanlarda Schwann hücrelerinin artması ile fonksiyon geri döner. Ancak insanlarda Schwann hücrelerinin bölünmesi ve migrasyonu tespit edilememiştir [75].

Proksimal sinir güdüğünün bulunamadığı ya da otojen donör sinir kaynağının yetersiz oldugu durumlarda eğer ven grefti tercih edilmemiş ise kullanılacak bir diğer alternatif yöntem de uç-yan sinir koaptasyonudur [76, 77]. Yaralanan sinirin distal ucunun komşu sağlam sinire koaptasyonu önerilir. Greft ihtiyacını ve donör saha morbiditesini ortadan kaldırmak ve koaptasyon alanıyla hedef organ arasındaki mesafeyi kısaltmak bu yöntemin en önemli avantajlarıdır. Buna karşılık donör sinir olarak kullanılan intakt sinirde fonksiyon kaybı olup olmadığı tartışma konusu olmuştur. Zhang erken dönemde donör sinirde fonksiyonel kayıp meydana geldiğini, ancak bir yıl sonra fonksiyonun %95'inin geri kazanıldıgını söylerken [78]; Rovak, deneysel çalışmaların kısa süreli ve hedef organlarının yakın olduğunu, bu nedenle klinik çalışmaların sonuçları ile uyumlu olamayacağını belirtmiştir [79].

Son 20 yılda, sinir defektlerinin onarımında sentetik tüplerin kullanıldığı deneysel ve klinik çalışmalar da yapılmıştır. 5 mm 'nin altındaki defektlerde silikon tüp kullanılarak başarılı sonuçlar alındığı bildirilmistir [80].

Sentetik materyallere karşı yabancı cisim reaksiyonlarının görülmesiyle birlikte poliglikolik asitten üretilen emilebilir materyaller kullanılmaya başlanmıştır. Biyolojik olarak resorbe olabilen pek çok madde tüp greft olarak kullanılabilir. Kollajen bazlı sinir yönlendiricileri gibi biyolojik materyaller de diğer alternatiflerdir. Primatlar ve kemirgenlerde sinir defektlerinde bu maddeler kullanıldığında başarılı sonuçlar alınmaktadır [81]. Laminin ve fibronektin ile kaplı "biodegradabl kollajen" greftler sıçanlarda başarılı olarak kullanılmıştır. Fibronektin greftleri gibi bu tür greftlere NGF (nerve graft factor) gibi büyüme faktörlerinin eklenmesi ile sinir hücre ölümü azalır ve aksonal rejenerasyon artar [75]. Ancak sentetik ya da emilebilir tüm sinir tüpü modellerinin temel sorunu biyolojik geçirgenliğin sağlanamamasıdır [82]. Bu biyolojik geçirgenlik salınan nörotrofik faktörlerin diffüzyonuna izin verebilmeli ve buna karşılık fibröz dokunun infiltrasyonunu engelleyebilecek kadar da seçici olmalıdır [82].

Sinir bütünlüğünü sağlamak için kullanılan diğer bir otolog doku ise ven greftleridir. Otolog ven greftleri klinik ve deneysel olarak kullanılmıştır. Chiu ve arkadaşları ven grefti ile sinir onarımı yaptıkları 13 vakada iyi sonuç aldıklarını

bildirmişlerdir[3]. Walton ve arkadaşları da, interpozisyonel ven grefti ile 18 vakada dijital sinir defekti onarmışlar ve sonuçlarının iyi olduğunu yayınlamışlardır [83]. Ven grefti kullanımının dijital sinir onarımında en uygun yöntem olduğu literatürde belirtilmektedir [84]. Daha sonraki deneysel ve klinik çalışmalarda, uzun ven greftlerinde oluşan kollaps nedeniyle iyi sonuçların ancak 3 cm ve altındaki sinir defektlerinin onarımında elde edilebildiği gösterilmiştir [85]. Bazı araştırmacılar ven greftlerindeki kollapsı engellemek amacıyla ven greftinin içini parçalanmış sinir [86] ya da kas dokusu [87] ile doldurarak kullanmışlar ve bu kombine teknikle 3 cm 'nin altındaki defektlerde iyi sonuçlar elde etmişlerdir. Rejenere sinir sonlanmalarından gelen sinir filizlerinin aksonal migrasyonu sağlayacak iskelet yapıyı oluşturabilmesi, ekstrasellüler matriks içeriğine sahip olması ve gereğinde çesitli büyüme faktörlerinin takviyesi eşliginde kullanılabilmesi; ven greftinin sinir tüpleri (nerve conduits) modelleri için gerekli tüm sartlara sahip olduğunu gösterir [88]. Bu tür sinir defektlerinin onarılmasında kullanılan resorbe olabilen pek çok sinir tüpü modellerinin aksine ven greftleri biyolojik geçirgenliklerinin olması nedeni ile uzun defektlerde sinir greftinin alternatifi olarak kullanılabilir durumdadırlar. Mevcut biyolojik geçirgenlik, salınan nörotrofik faktörlerin diffüzyonuna izin vermesi ve buna karşılık fibröz dokunun infiltrasyonunu engelleyebilecek yapıda olması açısından da avantaj sağlar [82].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Bioistatistik bölümlerinden destek alınarak Hacettepe Üniversitesi Cerrahi Araştırmalar Laboratuarında gerçekleştirilmiştir. Sıçanların bakımı ve izlemi deney hayvanları laboratuarında gerçekleşti. Çalışma öncesi Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan gerekli izin alındı (02.07.2013 tarihli 2013/36-01 kayıt numaralı Deney Hayvanları Etik Kurulu Kararı).

Bu çalışma için her biri yaklaşık 250 gr ağırlığında 24 adet erkek Wistar albino cinsi sıçan kullanılmıştır. Çalışma iki cerrahi aşama üzerinden planlanmıştır. Birinci cerrahi basamakta, sinir defekti oluşturma ve aynı seansta sinir onarımı yapılması planlanmıştır. İkinci cerrahi basamağın 3 ay sonra yapılması planlanmıştır. İkinci cerrahi basamak da deneklerin sakrifiye edilmesi ve histopatolojik inceleme için örnek alınması şeklinde planlanmıştır.

3.1. Çalışmada Kullanılan Alet ve Malzemeler

- Ketamin HCL (Ketalar)
- Xylazine (Rompun)
- Enjektör 2 ml, 1 ml
- Traş makinesi
- Cetvel
- Flaster
- Steril gazlı bez
- Povidon-iodin
- Formaldehid
- 15 numara bistüri
- Adson penset
- Dikiş kesme makası
- İğne tutucu

- 4/0 prolen dikiş
- 10/0 nylon dikiş(ethilon)
- 8/0 nylon dikiş(ethilon)
- Mikromakas
- Dişsiz mikropenset
- Dişli mikropenset
- Mikro dilatator penset
- Mikro iğne tutucu
- Mikro damar klembi
- Dijital fotoğraf makinesi (Nikon 3100)

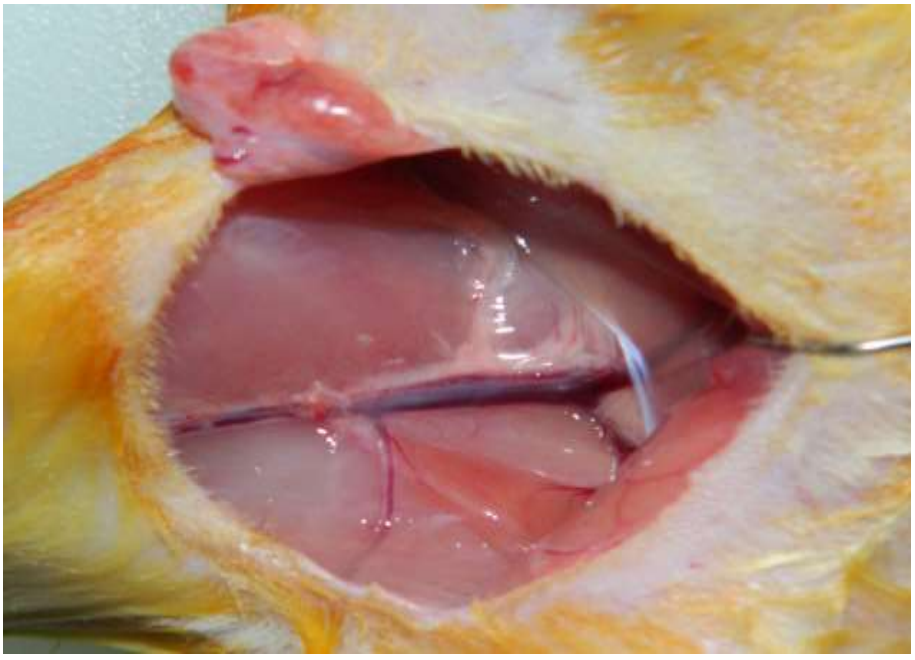
3.2. Deney Protokolünün Hazırlanması

Operasyondan önce sıçanlar 6 saat süreyle aç bırakıldılar. Anestezisi Ketalar (Ketamin Hidroklorid 10 mg/ml Parke Davis) 50 mg/kg ve Rompun (Xylazine Hidroklorid %2 Bayer) 10 mg/kg intraperitoneal olarak sağlandı.

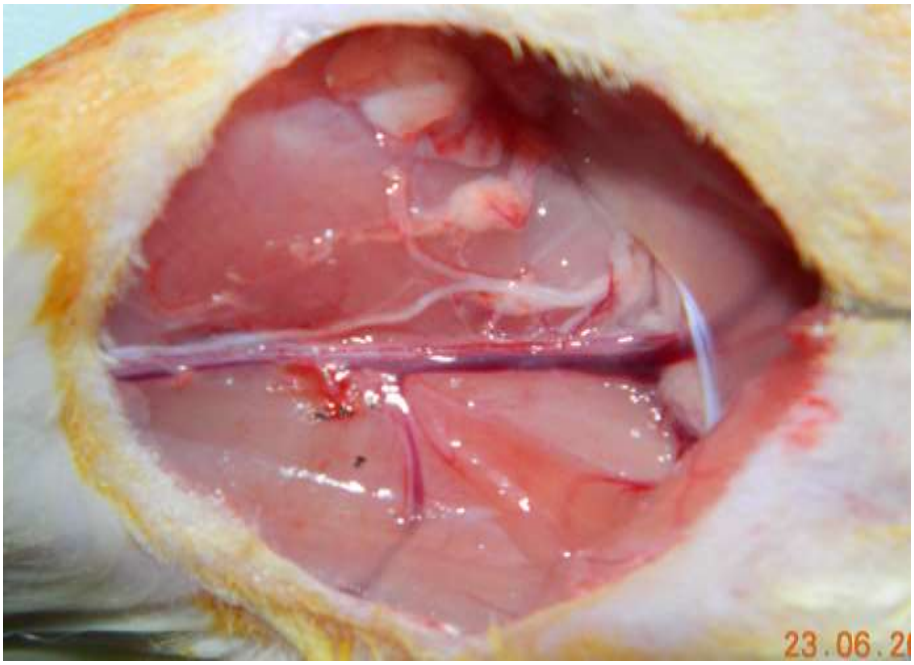
Sıçanlar operasyon masasına supin pozisyonda yatırılarak ekstremiteleri tespit edildikten sonra sağ femoral bölge ve uyluk iç yüzleri traş edildi. Baticon (Povidon İyot %10) solüsyonu ile cilt antisepsisi sağlandı.

Sağ inguinal bölgeye inguinal ligamana paralel şekilde cilt insizyonu yapıldıktan sonra doku makası ile cilt flepleri kaldırılarak femoral kılıfa ulaşıldı.Zeiss OP-MI 99 mikroskopu altında X1.6 büyütmede mikrodiseksiyon yapılarak süperfisyel epigastrik arter, ven ve sinir 8.0 nylon dikiş(ethilon) ile bağlanarak ana vasküler yapılardan izole edildi. (Resim 3.1, Resim 3.2, Resim 3.3, Şekil 3.1)

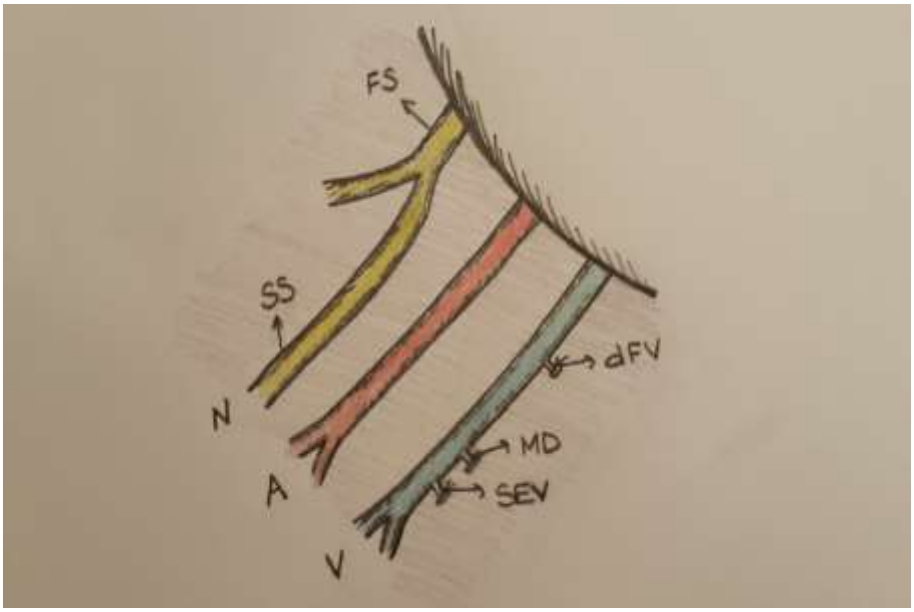
Resim 3.1. Femoral kılıfın diseksiyonu



Resim 3.2. Süperfisyel epigastrik arter ve venin bağlanması



Resim 3.3. Safen sinirin diseksiyonu



Şekil 3.1. Standart diseksiyon sonrası

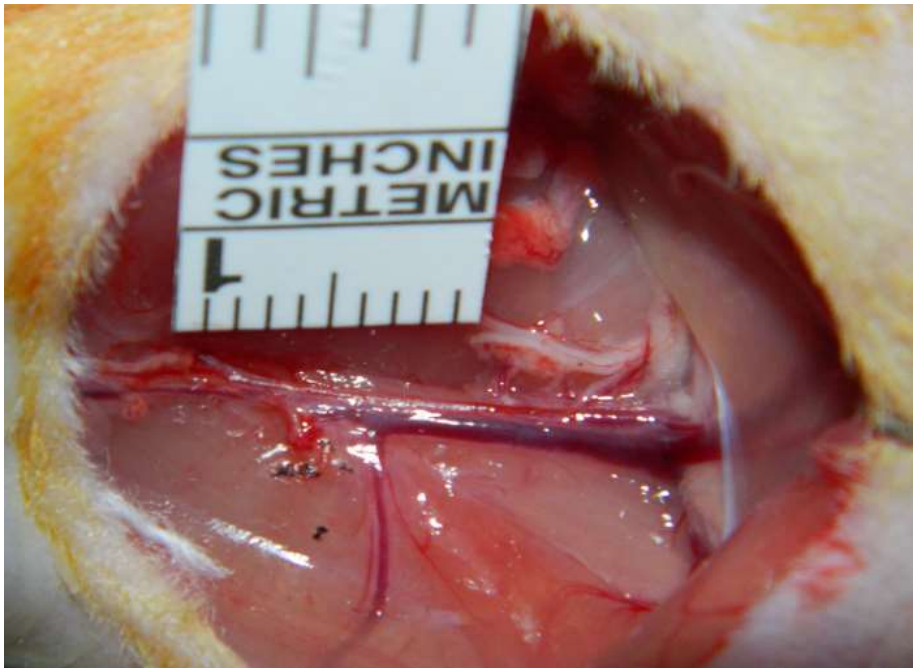
(FS: Femoral sinir, SS:Safen sinir, dFV:Derin femoral ven, MD:Musküler dal, SEV:Süperfisyel epigastrik ven)

3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması

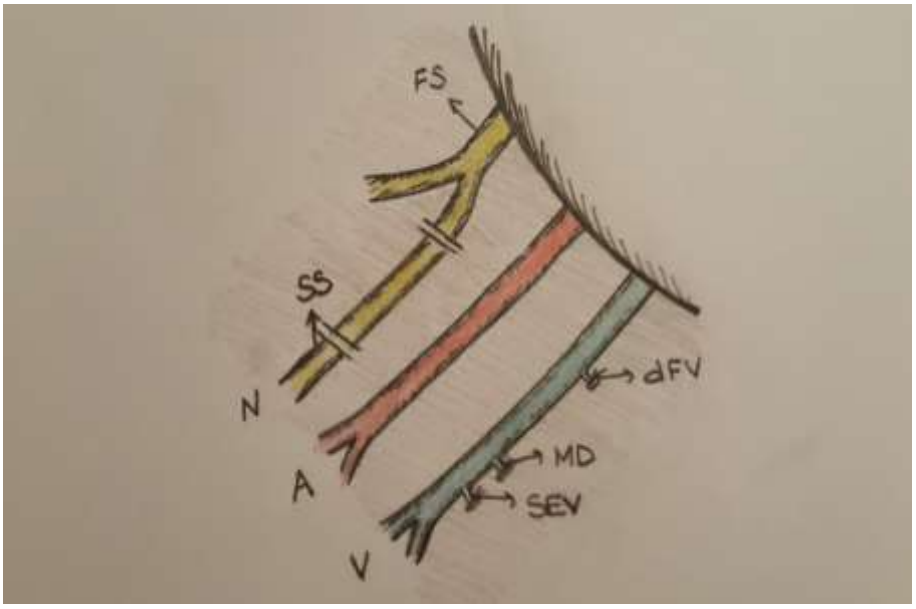
Çalışmada Femoral sinirin Safen dalında oluturulan 1 cm lik sinir defektinin onarımında 4 grup planlandı. 1. Grup Sham grubu olarak, 2. Grup sinir grefti grubu, 3. Grup konvansiyonel ven grefti grubu ve 4. Grup vaskülarize ven grefti grubu olarak ayarlandı. Her grupta 6 sıçan olmak üzere toplamda 24 sıçanda uygulama yapıldı.

Grup 1

Sham grubunda 6 sıçanda Safen sinirde 1 cm'lik sinir defekti oluşturulduktan sonra sinir proksimal ve distal uçları 8.0 nylon dikiş ile işaretlendikten sonra herhangi bir işlem yapılmayarak cilt 4.0 keskin prolen ile sütüre edilerek işleme son verildi (Resim 3.4, Şekil 3.2).



Resim 3.4. Sinirde 1 cm'lik defekt oluşturulması



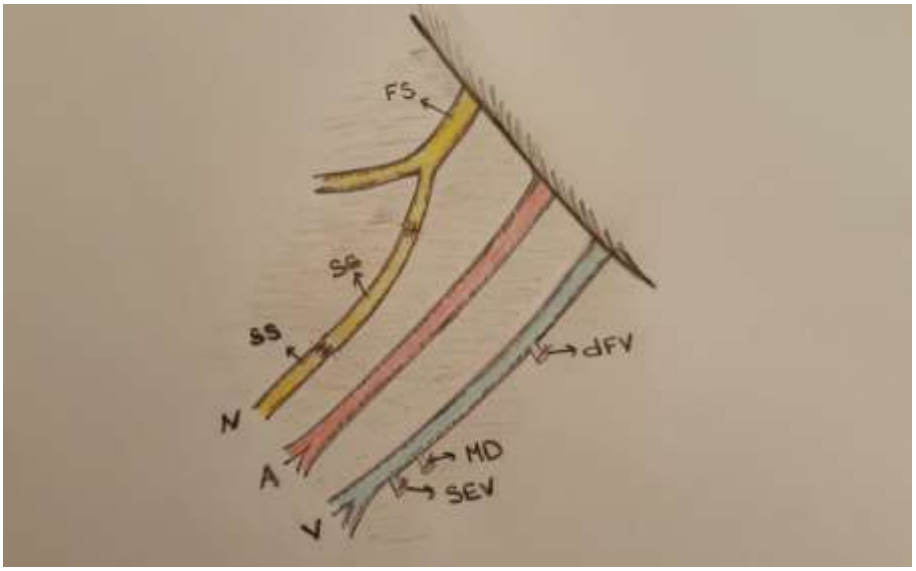
Şekil 3.2. Sinir defektinin oluşturulması

(FS: Femoral sinir, SS:Safen sinir, dFV:Derin femoral ven, MD:Musküler dal, SEV:Süperfisyel epigastrik ven)

Grup 2

Sinir Grefti grubu'nda eksize edilen Safen sinir segmenti ters çevirilerek 10-0 naylon dikiş (Etilon, Monoflament polyamide 6 suture W2850, Ethicon Ltd, U.K) ile 4 adet sütür olmak üzere koaptasyonu yapıldı (Resim 3.5, Şekil 3.3).

Resim 3.5. Sinir grefti ile onarım

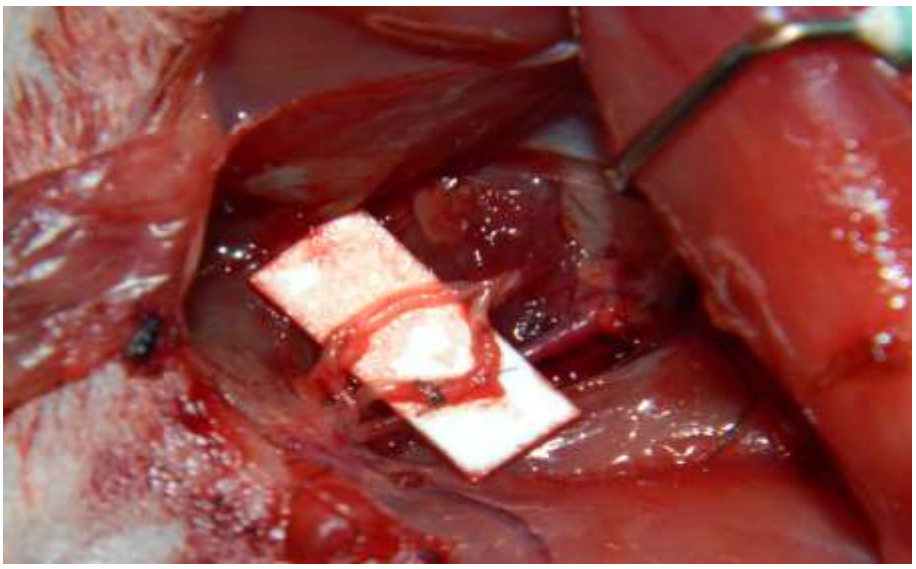


Şekil 3.3. Sinir grefti ile onarım

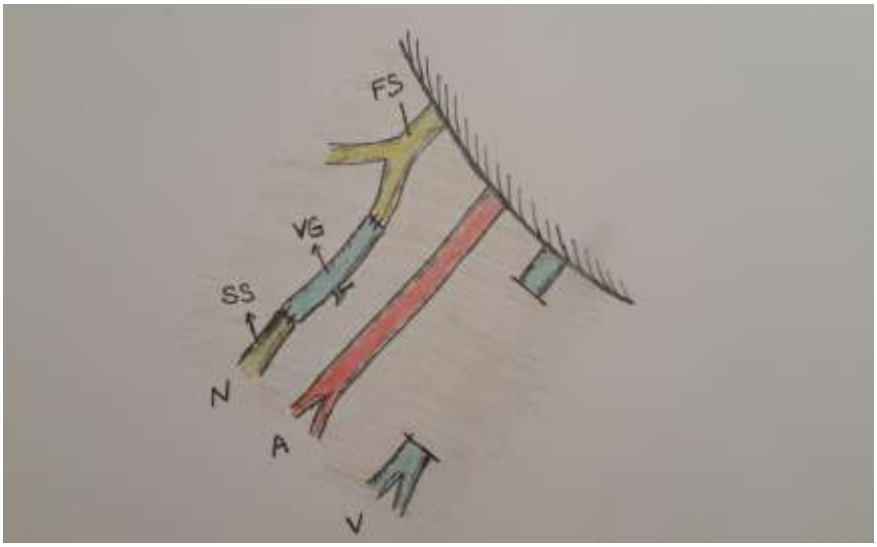
(FS: Femoral sinir, SS: Safen sinir, SG: Sinir grefti, dFV: Derin femoral ven, MD: Musküler dal, SEV: Süperfisyel epigastrik ven)

Grup 3

Konvansiyonel ven grefti grubu' nda Safen sinirde 1 cm'lik sinir defekti oluşturulduktan sonra femoral venden alınan ven grefti sinirin proksimal ve distal uçlarına ikişer adet 10/0 nylon dikiş ile sinir uçlarından epinöral, venden ise tam kat olmak üzere geçirilerek sütüre edildi (Resim 3.6, Şekil 3.3).



Resim 3.6. Ven grefti ile onarım

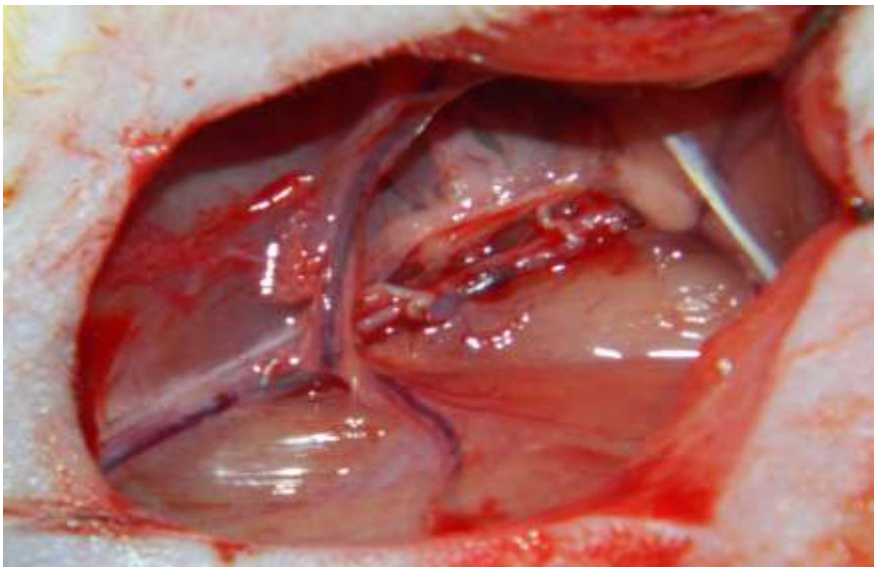


Şekil 3.4. Ven grefti ile onarım

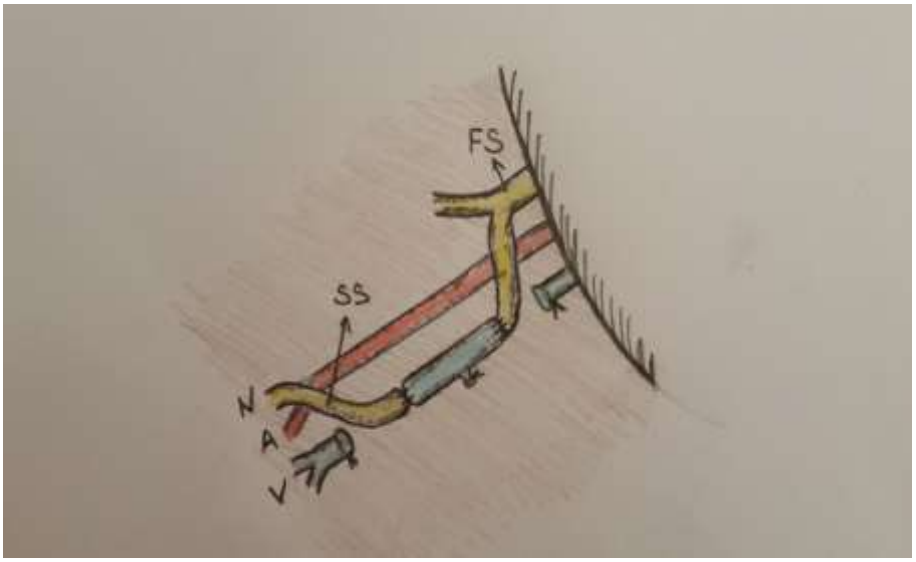
(FS: Femoral sinir, SS: Safen sinir, VG: Ven grefti, dFV: Derin femoral ven, MD: Musküler dal, SEV: Süperfisyel epigastrik ven)

Grup 4

Vaskülarize ven grefti grubu' nda Safen sinirde defekt oluşturulduktan sonra sinirin komşuluğundaki femoral vende 1 cm'lik segment çevre yumuşak dokudan ayrılmadan proksimal ve distal uçları 8/0 nylon dikiş ile bağlandıktan sonra Safen sinirin proksimal ucu ven segmentinin proksimal ucuna, sinirin distal ucu ven segmentinin distal ucuna 10/0 nylon dikişlerle sütüre edildi (Resim 3.7, Şekil 3.4).



Resim 3.7. Vaskülarize ven grefti ile onarım



Şekil 3.5. Vaskülarize ven grefti ile onarım

(FS: Femoral sinir, SS: Safen sinir, dFV: Derin femoral ven, MD: Musküler dal, SEV: Süperfisyel epigastrik ven)

3.4. Rejenerasyonun Değerlendirilmesi

Deneyin 2. aşaması tamamlandıktan sonra sinir rejenerasyonunu değerlendirmek için makroskopik ve mikroskopik çalışmalar yapılmıştır.

3.4.1. Makroskopik Değerlendirme

Deneyin 2.aşamasının bitiminde sıçanların inguinal bölgesi aynı insizyon hattı kullanılarak eksplore edildikten sonra cerrahi işlem sonrası koaptasyon alanlarında fibrozis, infeksiyon, yapışıklık, nöroma oluşumu, kullanılan greftlerin makroskopik görüntüsü değerlendirilecektir.

3.4.2. Mikroskopik Değerlendirme

Sinir rejenerasyonunu histolojik açıdan değerlendirmek amacıyla Sham, sinir grefti, ven grefti ve vaskülarize ven grefti gruplarına ait periferik sinir örnekleri

alındıktan sonra %10 tamponlu nötral formalinde tespit edildiler. Tespit süresi sonunda rutin ışık mikroskop doku takip yöntemine göre dehidrate edilen ve parafine gömülen doku örneklerinden 5 mikron kalınlığında seri kesit alındı. Kesitler Hematoksilen-Eozin ve Mallory trikrom boyaları ile boyandıktan sonra Leica DM6000 mikroskop ile incelendi ve dijital olarak görüntüler bilgisayara aktarıldı.. X40 lık mikroskop büyütmesinde her bir örnekte fasiküllerde 1 mm^2 deki Schwann hücreleri iki histolog tarafından ayrı ayrı sayıldı.

3.5. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada istatistiksel analiz Hacettepe Üniversitesi Bioistatistik Anabilim Dalından yardım alınarak SPSS 13.0 programında yapılmıştır. Gruplar arasında 1 mm^2' deki Schwann hücre sayısı Kruskal-Wallis testi kullanılarak yapılmıştır.İkili grupların karşılaştırılmasında ise Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.Sonuçlar anlamlılık $p<0.05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Makroskopik Bulgular

Birinci gruba ait gözlemler: Diseksiyon sonrası defekt oluşturulan Safen sinirin proksimal ve distal uçları bulundu. Proksimal uçlarda ince fibrotik doku oluşumu görüldü. Bazı sıçanlarda proksimal sinir uçlarında nöroma formasyonu görüldü.

İkinci gruba ait gözlemler: Diseksiyon sonrası koaptasyon sütürlerini takip edecek şekilde sinir grefti proksimal ve distal uçları da içine alacak şekilde çevre dokulardan ayrıldı. Minimal doku fibrozisi geliştiği gözlemlendi.Proksimal ve distal koaptasyonlarda nöroma gözlemlenmedi.

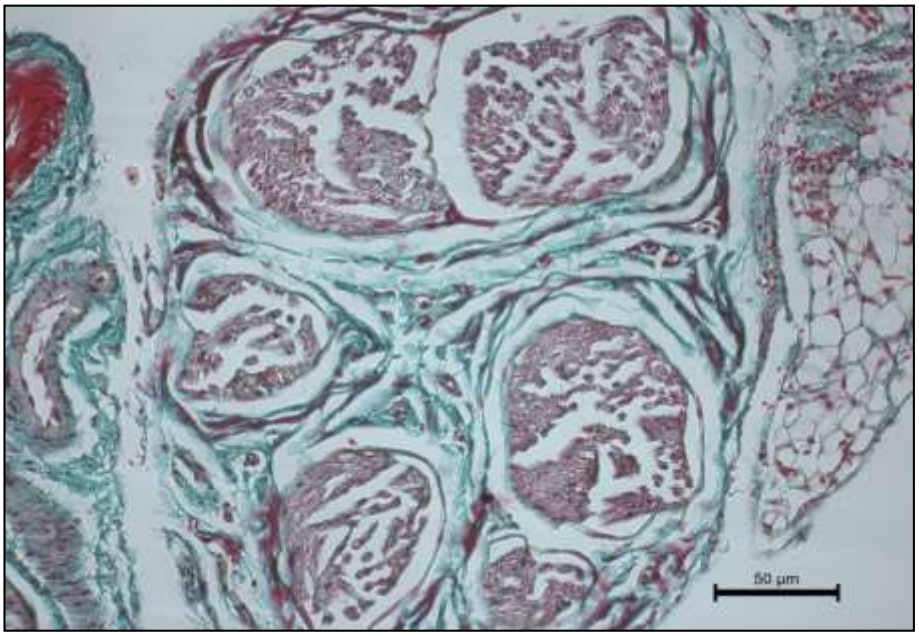
Üçüncü gruba ait gözlemler: Diseksiyon sonrası sonrası koaptasyon sütürlerini takip edecek şekilde ven grefti proksimal ve distal uçları da içine alacak şekilde çevre dokulardan ayrıldı. Minimal doku fibrozisi geliştiği gözlemlendi. Proksimal ve distal koaptasyonlarda nöroma gözlemlenmedi. Ven greftinin ilk koaptasyon haline kıyasla inceldiği gözlemlendi.

Dördüncü gruba ait gözlemler: Proksimal ve distal koaptasyon sütürleri takip edilerek safen sinirin proksimal ve distal uçları ven segmentini içerecek şekilde diseksiyon yapıldı. Herhangi bir nöroma oluşumu gözlemlenmedi. Ven segmentinde incelme saptanmadı.

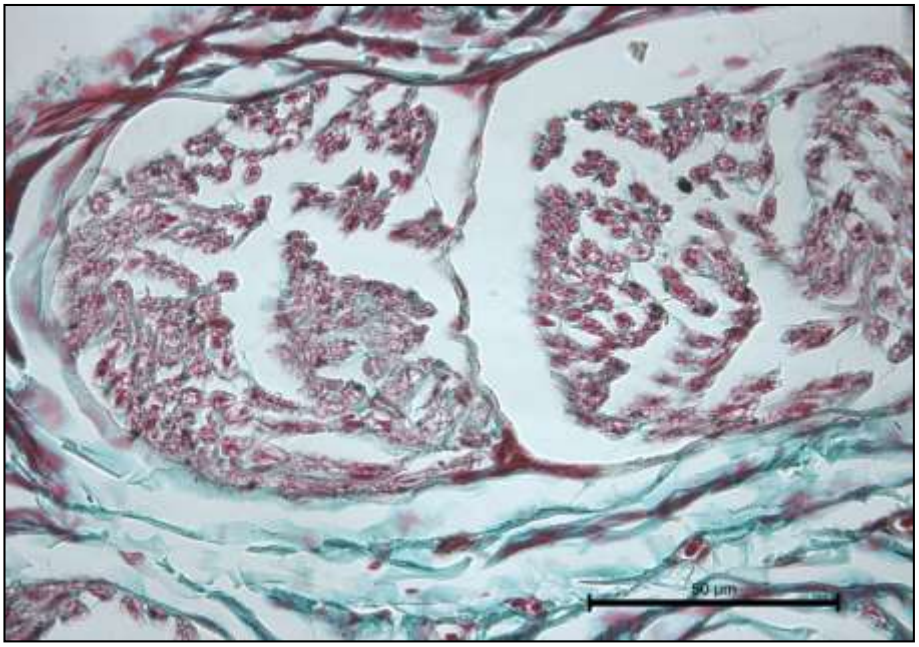
4.2. Mikroskopik Bulgular

SHAM GRUBU: Sinirin kesilerek hasarın oluşturulduğu Sham grubu örneklerinde sinir fasiküllerinin oluştuğu gözlendi. Siniri saran bağ dokusu kılıfları endonöryum, perinöryum ve epinöryum ayırd ediliyordu. Bağ dokusunda kollajen demetler arasında ve fasiküller içinde akson demetleri arasında ödeme bağlı açılmalar belirgindi. Özellikle perinöryumla sarılı fasiküllerde aksonlar arasında

ödem fazlaydı. Büyük büyütmede akson komşuluğunda Schwann hücre çekirdekleri seçiliyordu (Resim 4.1, 4.2).

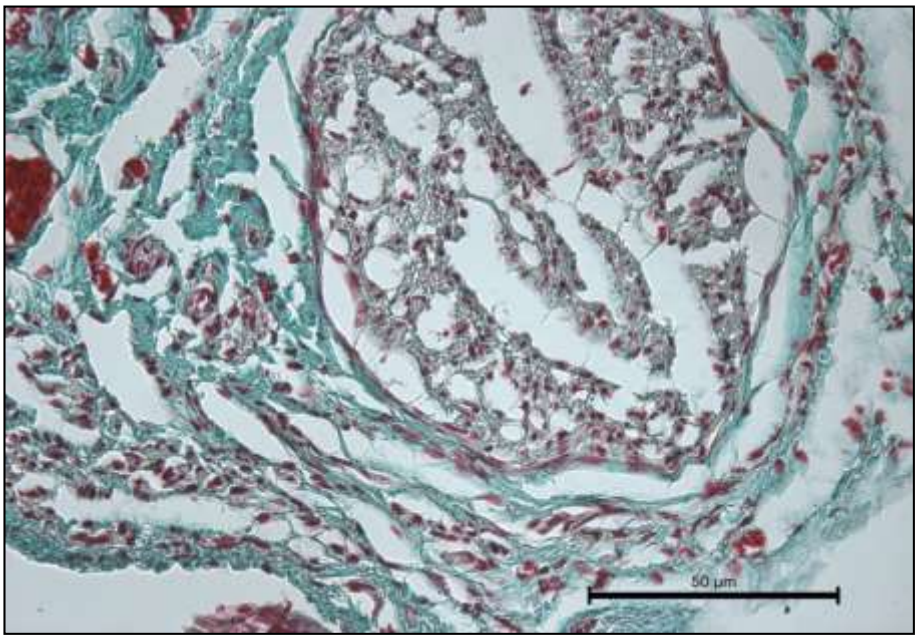


Resim 4.1. Sham grubu; fasiküllerde aksonlar arasında ve perinöryumda ödeme bağlı açılmalar izleniyor (Mallory Trikrom X200).

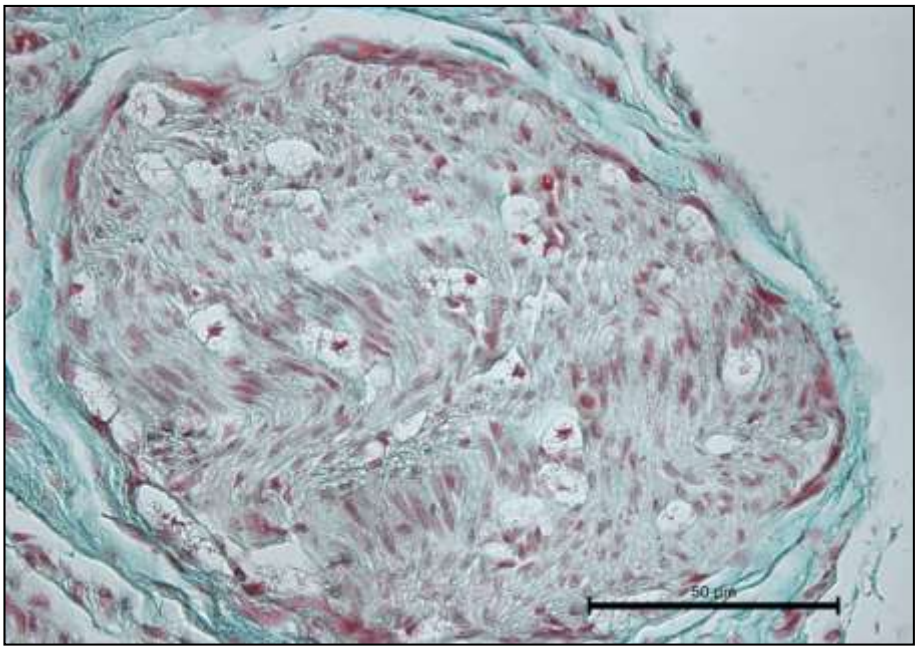


Resim 4.2. Sham grubu; büyük büyütmede ödemli bir fasikül izleniyor (Mallory Trikrom X400).

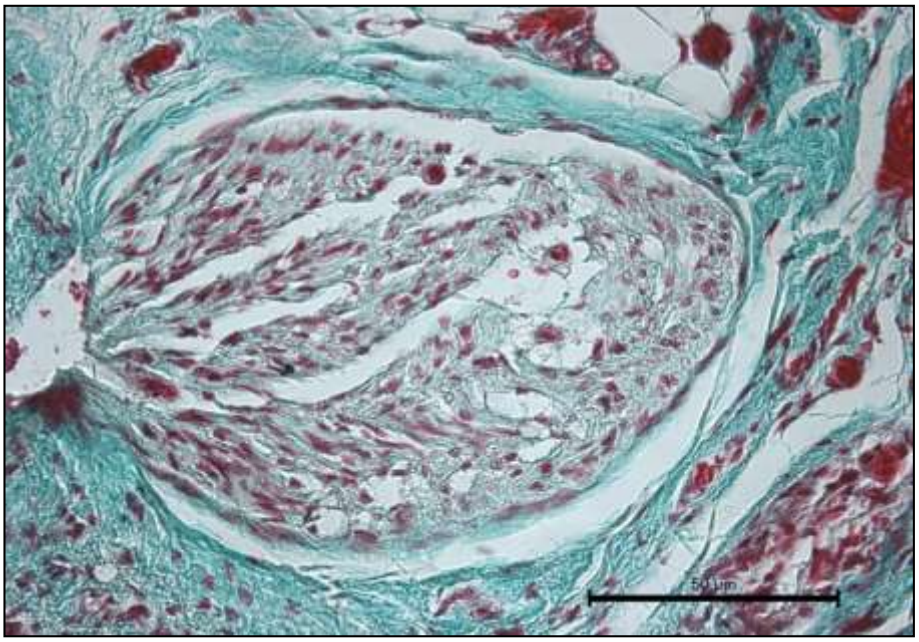
SİNİR GREFTİ GRUBU: Sinir greftine ait örneklerde de Sham grubu örneklerine benzer şekilde fasiküllerde aksonların arasında ve bağ dokusu kılıflarını oluşturan kollajen fibriller arasında ödem vardı. Ancak bu grupta ödem örneklerden biri dışında (Resim 4.3) Sham grubuna göre daha azdı. Sinirin içinde perinöryumla çevrili fasiküller ve bunların içinde aksonların aralarında da Schwann hücre çekirdekleri seçiliyordu (Resim 4.3, 4.4, 4.5).



Resim 4.3. Sinir grefti grubu; perinöryumda fibroblast çekirdekleri, kollajen fibriller arasında ödem ve fasikül içinde aksonlar arasında ileri derecede ödem seçiliyor (MalloryTrikrom X 400).

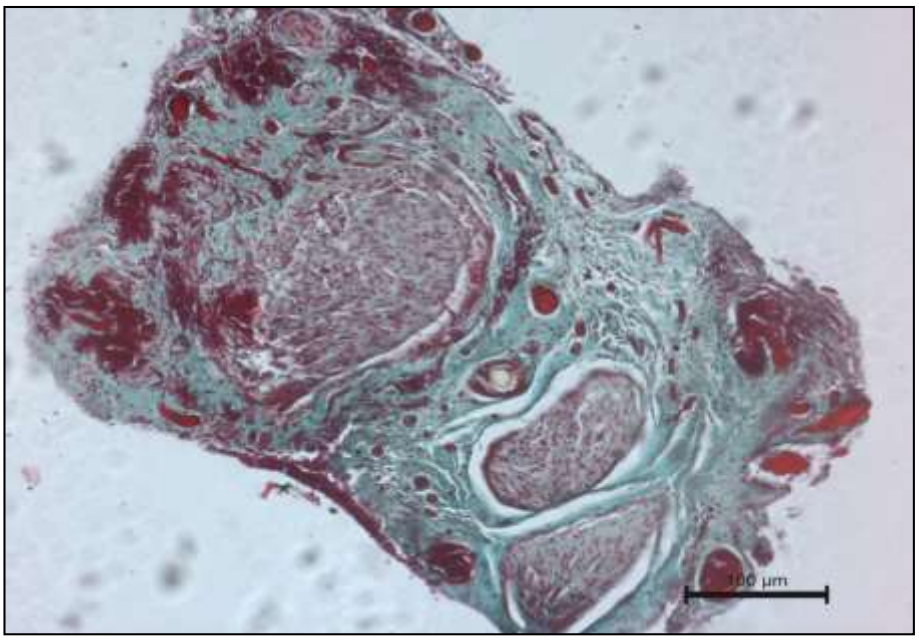


Resim 4.4. Sinir grefti grubu; perinöryumla çevrili bir fasikül ve içinde aksonlar ile aralarında Schwann hücre çekirdekleri seçiliyor (MalloryTrikrom X 400).

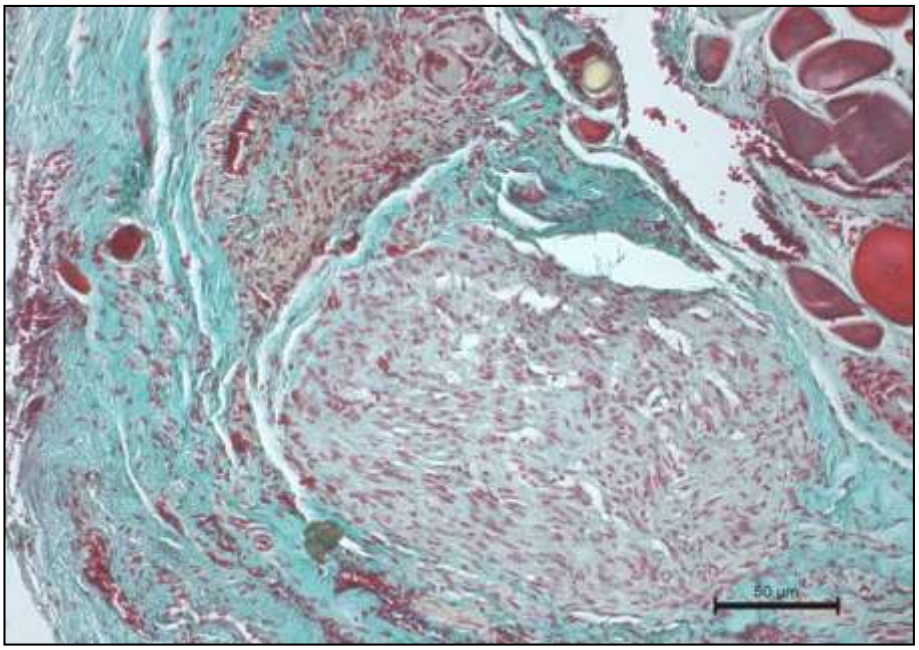


Resim 4.5. Sinir grefti grubu; bir başka fasikülde aksonlar arasında hafif ödem görülüyor. (MalloryTrikrom X 400).

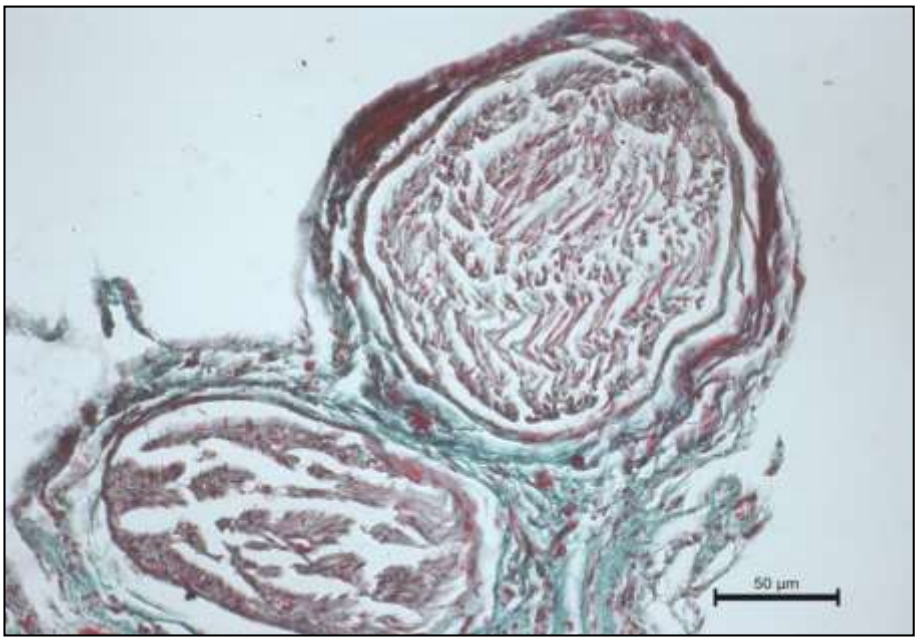
VEN GREFTİ GRUBU: Örneklerin tümünde aksonlar fasiküller oluşturmuştu ve bağ dokusu kılıflarıyla sarılmıştı. Sham ve sinir grefti gruplarından farklı olarak çok daha sıkı ve kalın bir perinöryum tabakası dikkati çekti. Perinöryumda kollajen fibriller kalın demetler oluşturmuştu. Epinöryum ve perinöryum içinde damarlanmada artış ve damarların bazılarında da staz vardı. Fasiküllerde çok sayıda Schwann hücresi bulunuyordu. Akson demetleri daha az organize olmuşlardı. Örneklerden biri (Resim 4.8) dışında fasiküllerde akson aralarında ve bağ dokusu kılıflarında ödem belirgin değildi.



Resim 4.6. Ven grefti grubu; fasiküller arasında kollajen fibriller kalın demetler oluşturmakta ve bağ dokusunda çok sayıda bazıları stazlı damar var (Mallory Trikrom X100).

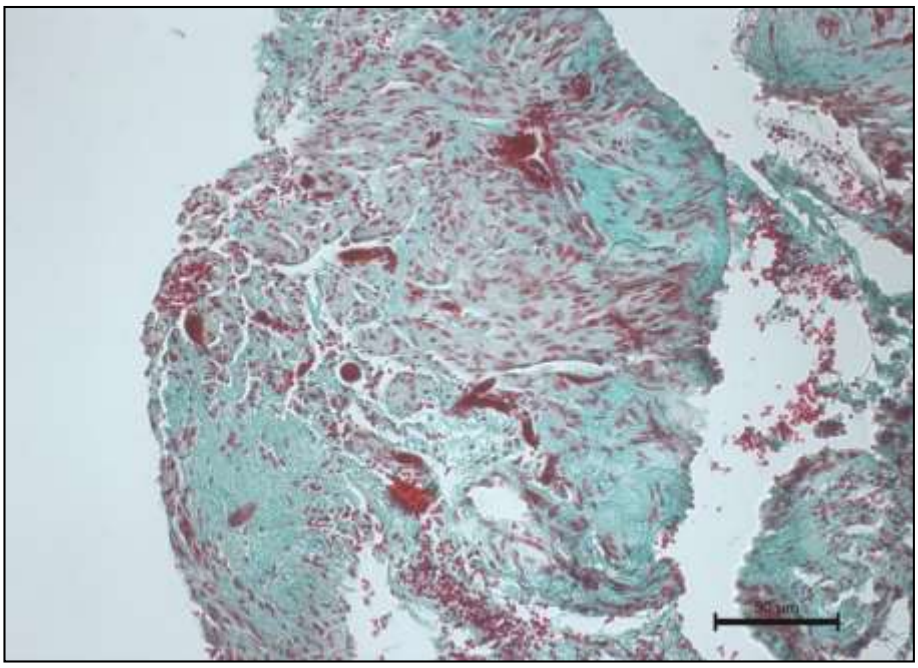


Resim 4.7. Ven grefti grubu; fasiküller oluşturmuş akson demetlerinin az organize oldukları dikkati çekiyor (Mallory Trikrom X200).

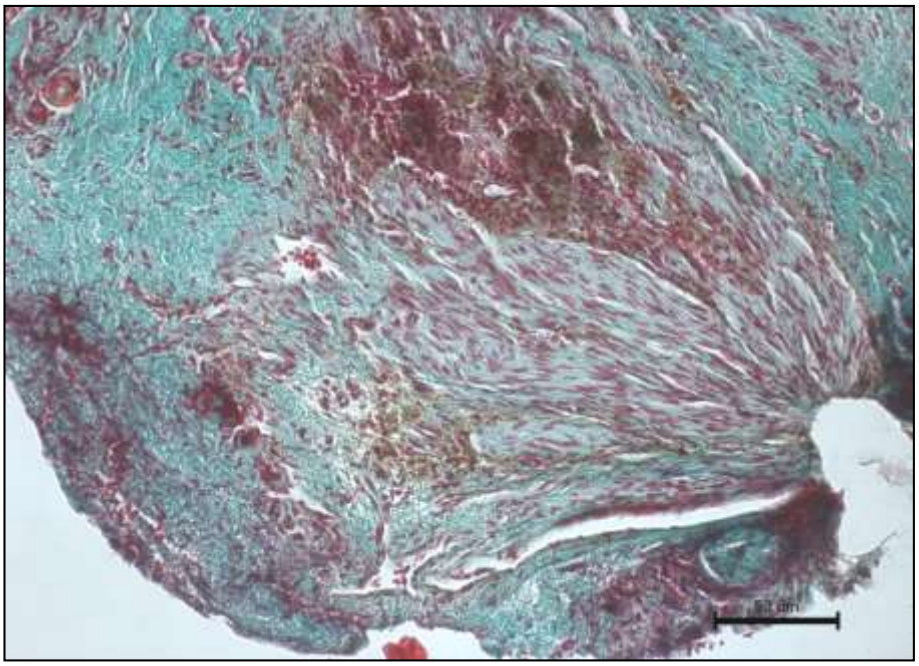


Resim 4.8. Ven grefti grubu; perinöryum ve aksonlarda belirgin ödem olan örnek. (Mallory Trikrom X 200).

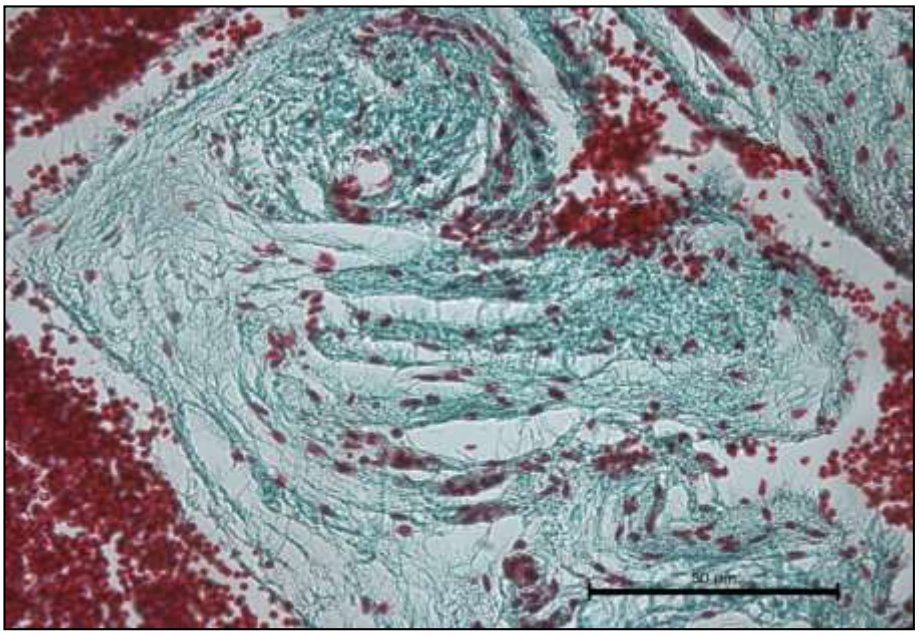
VASKÜLARİZE VEN GREFTİ GRUBU: Bu grupta kollajen fibriller perinöryumu oluşturacak şekilde organize olmamışlardı, Rejenere olmakta olan akson demetleri ven grefti grubuna benzer şekilde az organizeydi, kollajen fibriller ve Schwann hücreleri ile iç içeydi. Schwann hücreleri sayısındaki artışla birlikte fibroblast sayısında da artış dikkati çekti. Bağ dokusunda damarlanmada artış vardı. Ancak damarlarda staz ve ekstravazasyon belirgindi (Resim 4.9, 4.10, 4.11). Sinir fasikülünün oluşmaya başladığı örneklerde ise akson demetleri arasında ödem görüldü (Resim 4.11).



Resim 4.9. Vaskülarize ven grefti grubu; rejenere olma sürecindeki aksonlar arasında Schwann hücre çekirdekleri ve bağ dokusu kollajen demetleri arasında fibroblastlar izleniyor (Mallory Trikrom X 200).



Resim 4.10. Vaskülarize ven grefti grubu; organize olmamış akson demetleri, kalın kollajen demetler ve yaygın kanama odakları (Mallory Trikrom X 200).



Resim 4.11. Vaskülarize ven grefti grubu; sinir fasikülünü oluşturan aksonlar arasında ödem ve çevresinde kanama odakları dikkati çekmekte (Mallory Trikrom X 400).

4.3. İstatistiksel Bulgular

Deneyin 2. aşaması tamamlandıktan sonra her gruptan 6'şar adet örnek alınarak mikroskop altında 1 mm^2'deki Schwann hücreleri sayıldı. En düşük değerler Sham grubunda (kontrol), en yüksek değerler ise Vaskülarize ven grefti grubunda saptandı (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Farklı deney gruplarında 1 mm^2' deki Schwann hücre sayısı

Sham(kontrol)	**Sinir Grefti**	**Ven Grefti**	**Vaskülarize Ven Grefti**
160	512	992	998
384	448	736	1268
432	688	912	1728
384	560	848	1528
336	490	1056	968
320	530	528	1380

Birbirinden bağımsız olan 4 farklı grupa Kruskal-Wallis testi uygulanarak her gruptaki örnek sayısının istatistiksel açıdan anlamlı sonuç vereceği belirlendi ($p<0.001$) (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Kruskal-Wallis testi

	grup	**N**	**Mean Rank**
hücre_sayisi	kontrol	6	3,50
	sinir grefti	6	10,00
	ven grefti	6	15,50
	vaskülarize ven grefti	6	21,00
	Total	24	

Gruplar kendi aralarında Mann-Whitney testi(Bonferroni düzeltmesi) kullanılarak karşılaştırıldı (Tablo 4.3 – 4.8).

Sinir grefti grubunun kontrol(Sham) grubu ile karşılaştırılmasında sinir grefti grubunda hücre sayısı istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Ven grefti grubunun kontrol (Sham) grubu ile karşılaştırılmasında ven grefti grubunda hücre sayısı istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Vaskülarize ven grefti grubunun kontrol(Sham) grubu ile karşılaştırılmasında vaskülarize ven grefti grubunda hücre sayısı istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Ven grefti grubunun sinir grefti grubu ile karşılaştırılmasında ven grefti grubunda hücre sayısı istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Vaskülarize ven grefti grubunun sinir grefti grubu ile karşılaştırılmasında vaskülarize ven grefti grubunda hücre sayısı istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Vaskülarize ven grefti grubunun ven grefti grubu ile karşılaştırılmasında vaskülarize ven grefti grubunda hücre sayısı istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Tablo 4.3. Sinir grefti – Kontrol

	hücre_sayisi
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	21,000
Z	-2,887
Asymp. Sig. (2-tailed)	,004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,002[b]

Tablo 4.4. Ven grefti - Kontrol

	hücre_sayisi
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	21,000
Z	-2,887
Asymp. Sig. (2-tailed)	,004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,002[b]

Tablo 4.5. Vaskülarize ven grefti - Kontrol

	hücre_sayisi
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	21,000
Z	-2,887
Asymp. Sig. (2-tailed)	,004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,002[b]

Tablo 4.6. Ven grefti – Sinir grefti

	hücre_sayisi
Mann-Whitney U	3,000
Wilcoxon W	24,000
Z	-2,402
Asymp. Sig. (2-tailed)	,016
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,015[b]

Tablo 4.7. Vaskülarize ven grefti – Sinir grefti

	hücre_sayisi
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	21,000
Z	-2,882
Asymp. Sig. (2-tailed)	,004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,002[b]

Tablo 4.8. Vaskülarize ven grefti – Ven grefti

	hücre_sayisi
Mann-Whitney U	3,000
Wilcoxon W	24,000
Z	-2,402
Asymp. Sig. (2-tailed)	,016
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,015[b]

5. TARTIŞMA

Periferik sinir yaralanmaları günümüz tıbbın en önemli konuları arasında yer almaktadır. Bu konu ile ilgili yıllarca deneysel hayvan çalışmaları yapılmıştır. Yapılan deneylerde farklı türden hayvanlar kullanılsa da en yaygın olarak kullanılanı sıçanlar olmuştur. Üretilmesi, barındırılması, anestezisi ve cerrahi manipülasyonu açısından sıçanların kullanılması daha avantajlıdır. Bu avantajlar göz önünde bulundurularak biz de bu çalışmamızda deney hayvanı olarak sıçan kullandık.

Sıçanlarda yapılan sinir çalışmalarında genellikle siyatik sinir kullanılmaktadır. Ancak bizim çalışmamızda planladığımız tekniğin uygulanabilirliği açısından kullanacağımız sinire eşlik eden ven gerekmekteydi. Bu açıdan biz çalışmamızda sıçan femoral sinirinin dalı olan safen siniri kullandık. Bu siniri kullanmanın başka bir avantajı hayvanda felç durumu oluşturmamasıdır. Bu sayede sıçanlar deneyin ilk aşamasından sonra herhangi bir mobilizasyon sıkıntısı yaşamadı.

Periferik sinir kayıpları onarımında günümüzde en populer yöntem otojen sinir grefti ile onarım yöntemidir. Ancak sinir greftleri uygulamalarının ve sonuçlarının da eksik yönleri vardır. Verici alanda anestezi, parestezi, nöroma oluşumu, ağrı ve ek yara izleri oluşturma gibi dezavantajları vardır. Alıcı ve greft sinir uçları arasındaki çap uyumsuzlukları, yabancı cisim reaksiyonu yaratan fazla dikiş kullanılması, ve uzamış ameliyat süresi de otojen sinir grefti kullanımının olumsuz yönleridir. Dolayısıyla periferik sinir kayıplarında onarım için morbiditesi daha az, daha kolay ve daha iyi fonksiyonel sonuçlar sağlayacak bir yöntem bulma çalışmaları sürmektedir. Bu amaçla çeşitli doğal veya sentetik iletici yapılar ile sinir kaybı alanının tubulizasyonu tekniklerini araştıran çalışmalar da son yıllarda artış olmuştur. Yapılan deneysel çalışmalar göstermiştir ki otojen sinir greftlerine benzer şekilde çeşitli doğal veya sentetik iletici tüp yapı kullanımı ile de aksonal rejenerasyon ve ilerleme için çok uygun mikro-ortam sağlanmaktadır. Bu tip doğal iletici yapılar içinde en sık kullanılan ven greftleri olmasına rağmen amniyon tüpler ve epinöral kılıftan hazırlanan tüpler de deneysel olarak kullanılmış ve başarılı sonuçlar bildirilmiştir.

Periferik sinir defekti onarımlarında kullanılmış olan tüm bu tubulizasyon teknikleri ile ilgili calışmalar değişik derecelerde deneysel başarı içermektedir. Ancak bu deneysel teknikler bilinen tekniklere belirgin üstünlük sağlamamışlardır.

Tüp tipi iletici yapılardan sadece ven greftleri rutin klinik kullanım imkanı bulmuştur.

Ven greftleri tek başlarına sıklıkla kullanılmalarının yanında aksonal büyümeye faydalı olduğu düşünülen birçok ek uygulama ile birlikte de kullanılmışlardır. Bunlar arasında ven içine kas hücresi yerleştirme, sinir grefti yerleştirme ve Schwann hücre ekimi gibi yöntemler vardır. Sinir ve ven greftlerinin tek başlarına kullanımlarında gözlemlenen uygulamaya ait olumsuzları azaltmak azaltmak ve ven greftinin oluşturduğu mikro-çevreden faydalanmak amacı ile Keskin ve arkadaşları ven tüp greft içine sinir grefti yerleştirerek iletici yapı oluşturmayı denemişlerdir ve bunu sıçan deneylerinde kullanmışlardır[89]. Yapılan fonksiyonel, histomorfolojik ve elektrofizyolojik değerlendirme sonucunda sinir grefti sonuçları ile istatiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Benzer şekilde ven greftlerinin içine denature veya taze kas dokusu yerleştirerek elde edilen iletici yapı çalışmaları da mevcuttur[12]. Ancak bu çalışmalarda da elde edilen sonuçlarda konvansiyonel sinir greftlerine göre belirgin üstünlük bulunamamıştır. Ven içine ek uygulama yapılan bir başka çalışmada da Feng Zhang ve arkadaşları, tavşan tibial sinir kaybında içine Schwann hücreleri ekilmiş ven grefti kullanmışlardır[90]. Bu iletici yapıyı geleneksel ven grefti ile karşılaştırmışlardır. İçine Schwann hücresi ekimi yapılan ven grefti grubunda belirgin şekilde akson rejenerasyonu ve gelişmesinde iyileşme saptamışlardır. Görüldüğü gibi ven greftleri ile beraber hücre kültürleri veya kas, tendon, sinir gibi dokuların kullanımı çalışmaları da literatürdeki yerini almıştır. Ancak hiçbirisi konvansiyonel sinir grefti uygulamasına belirgin üstünlük kuramamıştır ve klinik ugulamalarda sinir greftlemesinin yerini alamamıştır.

Biz bu çalışmamızda sıçan femoral venini dolaşımı bozulmayacak şekilde (vaskülarize ven grefti) safen sinirin onarımında kullandık. Daha önce yapılan çalışmalardan bildiğimiz üzere damar duvarı hücrelerinden(özellikle endotel) başta VEGF (Vasküler endotelyal büyüme faktörü) olmak üzere bir çok nörotrofik faktör

salgılanmaktadır. VEGF'nin sinir iyileşmesindeki rolü Schwann hücrelerinin proliferasyonunu ve sağkalımını arttırması ve intranöral anjiyogenezi tetiklemesidir. Çalışmada kullandığımız vaskülarize ven greftinin dolaşımı bozulmadığı için cerrahinin ilk aşamasının tamamlanmasından sonra damar duvarındaki hücrelerden daha fazla VEGF ve benzeri nörotrofik faktörlerin salgılanacağı, bu faktörlerin Schwann hücre proliferasyonu ve intranöral anjiyogenezi arttıracağı düşünüldü.

Cerrahinin 2. aşaması tamamlanıp her 4 grubun örnekleri incelendikten sonra vaskülarize ven grefti grubunda Schwann hücre sayısının ve intranöral anjiyogenezin daha fazla olduğu görüldü. Sinir grefti grubunda Schwann hücre sayısı daha az olmasına rağmen yeni oluşan akson demetleri daha organize durumdaydı. Ven grefti ve vaskülarize ven grefti gruplarında akson demetleri oluşumu gözlenmesine rağmen daha az organize olmuşlardı.

Vaskülarize ven grefti grubu ile ven grefti grubunun karşılaştırılmasında akson gelişimi açısından benzer sonuçlar alınsa da vaskülarize ven grefti grubunda Schwann hücre proliferasyonun ve intranöral anjiyogenezin daha fazla olması sinir iyileşmesinin uzun dönem sonucunda vaskülarize ven grefti grubunda daha iyi olacağı düşünüldü.

6. SONUÇ

Bu çalışmamızda periferik sinir kayıplarında sinir grefti, ven grefti ve vaskülarize ven grefti ile sinir onarımı sonuçları histopatolojik olarak karşılaştırılmıştır. Aksonal gelişim açısından her 3 grupta benzer sonuçlar alınmasına rağmen akson demetlerinin organizasyonu açısından sinir grefti grubunda, Schwann hücre proliferasyonu ve intranöral anjiyogenez açısından vaskülarize ven grefti grubunda daha iyi sonuçlar alındı.

7. KAYNAKLAR

1. Chehrazi B: Peripheral nerve injuries: principles of surgical management and outcome. *J Neurotrauma* 1989;6:191-196.

2. Donzelli R, Benvenuti D, Schonauer C, Marinielli G, De Divitiis E: Microsurgical nervous reconstruction using autografts. A two year follow up. *J Neurosurg. Sci.* 1998;42:79-83.

3. Chiu DTW, Janecka I, Krizek T, et al: Autogenous vein graft as a conduit for nerve regeneration. *Surg. Forum* 1980;31:550.

4. Weiss P: Nerve reunion with sleeves of frozen-dried artery in rabbits, cats, and monkeys. *Proceedings of the Society of Experimental Biology* 1943;54:274-277.

5. Lundborg G, Dahlin LB, Danielsen NP, Hansson HA, Larsson K: Reorganisation and orientation of regenerating nerve fibres, perineurium and epineurium in performed mesothelial tubes- An experimental study on the sciatic nerve of rats. *Journal of Neuroscience Research* 1981;6:265-281.

6. Mackinon SE, Dellon AL: Clinical nerve reconstruction with bioabsorbable polyglycolic acid tube. *Plast. Reconstr. Surg.* 1990;85:419-424.

7. Ide C, Tohyama K, Yotoka R, et al: Schwann cell basal lamina and nerve regeneration. *Brain Res*. 1983;288(1-2):61-75.

8. Lundborg G, Hasson HA: Nerve regeneration through preformed pseudosynovial tubes. *J. Hand Surg.* 1980;5:35.

9. Keynes RJ, Hopkins WG, Huang CH: Regeneration of mouse peripheral nerves in regenerating skeletal muscle: Guidance by residual muscle fibre basement membrane. *Brain Res.* 1984;295:275-281.

10. Ayhan S, Yavuzer R, Latifoglu O: Use of the turnover epineural sheath tube for repair of peripheral nerve gaps. *J. Reconstr. Microsurg.* 2000;16(5);371-378.

11. Davis GE, Blaker SN, Engvall E, et al: Human amnion membrane serves as a substrate for growing axons in vitro and in vivo. *Science* 1987;236:1106-1109.

12. Brunelli GA, Battison B, Vigasio A, et al. Bridging nevre defects with combined skeletal muscle and vein conduits, *Microsurgery* 1993;14; 247-251;

13. Shen Q, Goderie SK, Jin L, Karanth N, Sun Y, et al. : Endothelial cells stimulate self-renewal and expand neurogenesis of neural stem cells. *Science* 2004;304: 1338–1340.

14. Levine MH, Yates KE, Kaban LB : Nerve growth factor is expressed in rat femoral vein. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 2002;60: 729–733; discussion 734.

15. Mitra Lavasani, Sebastian Gehrmann, Burhan Gharaibeh, Katherine A. Clark, Robert A. Kaufmann, Bruno Pe´ ault, Robert J. Goitz, Johnny Huard : Venous Graft-Derived Cells Participate in Peripheral Nerve Regeneration *PLoS One* 2011;6(9):e24801. doi: 10.1371/journal.pone.0024801. Epub 2011 Sep 23.

16. Masear VR, Tulloss JR, St Mary E, et al. : Venous wrapping of nerves to prevent scarring. *J. Hand Surg.* 1990 15A: 817–818.

17. Junguiera L.C, Carneiro J, Kelley R.O: Basic histology of Nerve tissue. *Appleton, Lange* 1992. s 163-194, 7 th ed.

18. Snell RS, Organization of the nervous system. *Clinical Neuroanatomy* Boston, Little Brown, 1992, s 1.

19. William PL, Warwick R, Dyson M, *Grays anatomy*. Nerve system Philadelphia; Saunders 1989, s 12.

20. Taner D Fonksiyonel Anatomi, Sinir sistemi hakkında temel bilgiler, Ankara 1996, Pelikan Tıp Teknik Yayıncılık, s 32-39.

21. Parmantier E., Lynn B., Lawson D. Scwann cell-derived Desert hedgehog controls the development of peripheral nerve sheaths. *Neuron,* 1999;23: 713-724;

22. Sadler TW. Embryonic period: third to eight week. In Langman J, ed: *Langman's Medical Embryology*, 6th ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 61-66: 356-362; 1990.

23. Sadler TW. Central nervous system. In Langman J, ed: *Langman's Medical Embryology*, 6th ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 61-66: 362-386; 1990.

24. Slingluff CL., Terzis JK., Edgerton MT. *Plastic Surgery*, Mc. Carty, J.G., May, J.W., Littler, J.W. Edition Vol 1. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, Sounders Company, 630-697; 1990.

25. Williams PL., Landon DN. *Plastic Surgery*, Mc. Carty, J.G., May, J.W., Littler, J.W. Edition Vol 1. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, Sounders Company, 630-697; 1990.

26. Sunderland S: The connective tissue of peripheral nerves. *Brain* 1965;88:841-854.

27. Sunderland S, Bradley KC: The cross-sectional area of peripheral nerve trunks devoted to nerve fibers. *Brain* 1949;72:428-449,.

28. Myers RR, Powel HC, Costello ML: Endoneurial fluid pressure: direct measurement with micropipettes. *Brain Res.* 1978;148:510-515,.

29. Shanthaveerappa TR, Bourne GH: Perineural epithelium: A new concept of its role in the integrity of the peripheral nervous system . *Science* 1966;154:1464-1467.

30. Lundborg G: The intrinsic vascularization of human peripheral nerves: Structural and functional aspects. *J. Hand Surg.* 1979;4:34-41.

31. Lundborg G, Myers R, Powell H: Nerve compression injury and increased endoneural fluid pressure: A "miniature compartment syndrome" . *J. Neurol Neurosurg Psychiatry* 1983;46:1119-1124.

32. Lundborg G: Nerve injury and repair. *Churchill Livingstone*, New York 1988;Pp.32-63.

33. Lundborg G. Nerve regeneration and repair: a review. *Acta Orthop Scand*. 1987; 58: 145–169.

34. Brandt KE, Mackinnon SE. Microsurgical repair of peripheral nerves and nerve grafts. Aston SJ, Beasley RW, Tho CHM, eds. *Grabb and Smith's Plastic Surgery* Philadelphia. Lippincot-Raven, 1997; 79–90.

35. Thomas MB. Nerve Repair and Grafting. In: Green DP, HotchkissRN, Pederson WC, eds. *Green's Operative Hand Surgery*. Philadelphia Churchill Livingstone, 1999; 1381-1404.

36. Lundborg G. Nerve regeneration and repair: a review. *Acta Orthop Scand*. 1987; 58: 145–169.

37. Seckel BR. Enhancement of peripheral nerve regeneration. *Muscle- Nerve* 1990; 13: 785 -800.

38. Griffin JW, George R, Ho T. Macrophage systems in peripheral nerves. A review. *J. Neuropathol. Exp. Neurol* .1993; 52: 553–560.

39. George EB, Glass JD, Griffin JW. Axotomy-induced axonal degeneration is mediated by calcium influx through ion-specific channels. *J. Neurosci*. 1995; 15: 6445–6454.

40. Mccallister WV, Tang P, Smith J. Axonal regeneration stimulated by the combination of nerve growth factor and ciliary neurotrophic factor in an end-to-side model. *J.Hand Surg*. 2001; 26A (3): 478– 488.

41. Reimer M, Moller K, Sundler F, et. al. Increased expression, axonal transport and release of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide in the cultured rat vagus nerve. *Neuroscience* 1999; 88 (1):213–222.

42. Terzis JK, Smith KL. Repair and Grafting of the Peripheral nerve, in Mc.Carthy JG (ed). *Plastic Surgery*, Philadelphia, PA: W.B. Saunders Company, 1990; pp 630-697.

43. Terzis JK., Smith KL. Repair and Grafting of the Peripheral Nerves. In: McCarty, J.G., May, J.W., Littler, J.W. (eds.), *Plastic Surgery*, Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, W.B. Saunders Company, 630-697; 1990.

44. Saika T., Senba E., Noguchi K. Effects of Nerve Crush and Transection on mRNA Levels for Nerve Growth Factor Receptor in the Rat Facial Motoneurons. *Mol. Brain Res.* 9:157-160, 1991.

45. Henderson CE., Camu W., Mettling C. Neurotrophins Promote Motor Neuron Survival and are Present in Embryonic Limb Bud. *Nature*, 363: 266-270; 1993.

46. Yan Q., Elliott J., Snider WD. Brain-Derived Neurotrophic Factor Rescues Spinal Motor Neurons from Axotomy-İnduced Cell Death. *Nature*, 360: 753-755; 1992.

47. Oppenheim RW., Yin QW., Prevette D., Yan Q. Brain-Derived Neurotrophic Factor Rescues Developing Avian Motoneurons from Cell Death. *Nature*, 360: 755-757; 1992.

48. Yin Q., Kemp GJ., Frostick SP. Neurotrophins, Neurones and Peripheral Nerve Regeneration. *J. Hand Surg*. 23: 433-437; 1998.

49. Gotz R., Koster R., Winkler C. Neurotrophin-6 is a New Member of the Nerve Growth Factor Family. *Nature*, 372: 266-269; 1994.

50. Davis GE., Engvall E., Varon S., Manthorpe M. Human Amnion Membrane as a Substratum for Cultured Peripheral and Central Nervous System Neurons. *Brain Res.*, 430:1-10; 1987.

51. Miyauchi A., Kanje M., Danielsen N., Dahlin LB. Role of Macrophages in the Stimulation and Regeneration of Sensory Nerves by Transposed Granulation Tissue and Temporal Aspects of the Response. *Scand J. Plast. Reconstr. Surg. Hand. Surg.* 31: 17-23; 1997.

52. Lu X., Richardson PM. Inflammation near the nerve cell body enhances axonal regeneration. *J. Neurosci*, 11: 972-978; 1991.

53. Lee LY., Patel SR., Hackell NR., Mack CA., Polce DR., El-Sawy T., Hachamovitch R., Zanzonico P., Sanborn TA., Parikh M., Isom OW., Crystal RG., Rosengart TK. Focal angiogen therapy using intramyocardial delivery of an adenovirus vector coding for vascular endothelial growth factor 121. *Ann. Thorac. Surg*. 69: 14-24; 2000.

54. Hobson MI., Brown R., Green CJ., Terenghi G. Inter-relationships between angiogenesis and nerve regeneration: a histochemical study. *Br. J. Plast. Surg.* 50: 125-131; 1997.

55. Hobson MI., Green CJ., Terenghi G. VEGF enhances intraneural angiogenesis and improves nerve regeneration after axotomy. *J. Anat*. 197: 591-605; 2000.

56. Rovak JM., Mungara AK., Aydın MA., Cederna PS. Effects of vascular endothelial growth factor on nerve regeneration in acellular nerve grats. *J Reconst. Microsurg*. 20: 53-58; 2004.

57. Jacob JM., Croes SA. Acceleration of Axonal Outgrowth in Motor Axons from Mature and Old F344 Rats after a Conditioning Lesion. *Exp. Neurol.* 152: 231-237; 1998.

58. Urabe T., Zhao Q., Lundborg G., Danielsen N. Effects of Delayed Nerve Repair on Regeneration of Rat Sciatic Nerve. Restor. *Neurol. Neurosci*. 9: 1-5; 1995.

59. Williams HB, Jabaley ME, The importance of internal anatomy of the peripheral nerve repair in the forearm and hand, Hand Clin, 2; 689- 707; 1986.

60. Devali L, Mackinnon S, Nerve repair, grafting and nerve transfers, *Clin. Plast. Surg*, 30; 203-21; 2003.

61. De Mediaceli L, Seaber AV, Experimental nerve reconnection; Importance of initial repair, *Microsurgery*, 10; 56; 1989.

62. Wise AJ, Topuzoglu C, Davis P, A comparative analisis of macro and microsurgical neurorhaphy technics, *Am J Surg* ,117; 566; 1969.

63. Milesi H, Peripheral nerve repair; terminology, questions and facts, *J Reconstr. Microsurg* 2; 21; 1985.

64. Thorne CH, Beasley RW, Aston SJ at all. *Grabb-Smith's Plastic Surgery*, Mıcrosurgıcal repair of peripheral nerves and nerve grafts, s 73-83, 6 th ed. Lippincott- Williams- Wilkins 2007.

65. Paassen JI, Jansen K, Gramsbergen A, Meek MF. Transsection of peripheral nerves, bridging strategies and effect evaluation. *Biomaterials*. 2004; 25: 1583–1592.

66. Avcı G, Akan M, Yıldırım S. Sinir Onarımı ve Greftleme. *T Klin J Med Sci.* 2002; 22: 428–437.

67. Lux P, Breidenbach W, Firrell J. Determination of temporal changes in blood flow in vascularized and nonvascularized nerve grafts in the dog. *J Reconstr. Microsurg*.1988; 82: 133–144.

68. Daly PJ, Wood MB. Endoneural and epineural blood flow evaluation with free vascularized and conventional nerve grafts in the canine. *J Reconstr. Microsurg.* 1985; 2: 45–49.

69. Millesi H.Techniques for nerve grafting. Hand Clin. 2000; 16(1): 73–91.

70. Tenny JR, Lewis RC: Digital nerve grafting fortraumatic defects. use of the lateral antebrachial cutaneous nerve. *J Bone Joint Surg. Am*. 1984; 66: 1375–1379.

71. Nunley JA, Ugino MR, Goldner RD, et al: Use ofthe anterior branch of the medial antebrachialcutaneous nerve as a graft for the repair of defects of the digital nerve. *J Bone Joint Surg. Am*, 1989; 71: 563–567.

72. Breidenbach WC, Terzis JK. Vascularized nerve grafts: an experimental and clinical review. *Annals Plast. Surg.* 1987; 18(2): 137–146.

73. Breidenbach WC. Vascularized nerve grafts. A practical approach. *Orthop. Clin. North Am* 1988; 19: 81–9.

74. Payne SH. Nerve repair and grafting in the upper extremity. *J South Orthop. Assoc.* 2001; 10(3): 173–189.

75. Ochs S. The early history of material transport in nerve. *Society for Neuroscience*, 8 th annual meeting. UCLA, LA 157, 1979.

76. Liu K, Chen L-E, Seaber A-V, et al. Motor functional and morphological findings following end-to-side neurorraphy in the rat model. *J Orthop. Research* 1999; 17: 293–300.

77. Özbek S, Özcan M, Noyan B, Kurt MA, Tirelioglu S, Bozkurt C, Karaca K, Filiz G End-to-Side Nerve Coaptation: Is an additional proximal coaptation useful when available? *Ann Plast. Surg*. 2005; 55(3): 281–288.

78. Zhang Z, Jinyan B, Soucacos PN, Beris A.E,et al. Long term observations with end-to-side neurorraphy to repair the main nerve trunk of of the forelimb in the rabbit model. *J Reconstr. Microsurg*. 1999; 15: 631.

79. Rovak JM, Cederna PS, Kuzon W. Terminolateral neurorraphy: A review of the literature. *J Reconstr. Microsurg*. 2001; 17(8): 615–623.

80. Dahlin LB, Lundborg G. Use of tubes in peripheral nerve repair. *Neurosurg. Clin. North Am.* 2001; 12: 341–352.

81. Mackinnon SE, Dellon AL. Clinical nerve reconstruction with a bioabsorbable polyglycolic acid tube. *Plast. Reconstr. Surg.* 1990; 85: 419–424.

82. Hudson T. W, Evans G. R. D, Schimidt C. E.Engineering strategies for peripheral nerve repair. *Clin. in Plast. Surg.*1999; 26(4): 617–28.

83. Walton RL, Brown RE, Matory WE, Borah GL, Dolph JL. Autogenous vein graft repair of digital nerve defects in the finger. A retrospective clinical study. *Plast. Reconstr. Surg.* 1989 Dec; 84(6): 944–9; discussion 950–2.

84. Chiu DT, Strauch B. A prospective clinical evaluation of autogenous vein grafts used as a nerve conduit for distal sensory nerve defects of 3cm or less. *Plast. Reconstr. Surg*. 1990; 86: 928–934.

85. Chiu DT. Autogenous venous nerve conduits. A review. *Hand Clin.* 1999; 15: 667–671.

86. Tang JB. Group fascicular vein grafts with interposition of nerve slices for long ulnar nerve defects: report of three cases. *Microsurgery*. 1993; 14: 404–408.

87. Battiston B, Tos P, Cushway T, Geuna S. Nerve repair by means of vein filled with muscle grafts.I. Clinical results. *Microsurgery*. 2000; 20: 32–36.

88. Lundborg G. A 25-Year Perspective of Peripheral Nerve Surgery: Evolving Neuroscientific Concepts and Clinical Significance. *J Hand Surg*. 2000: 25(3): 391–414.

89. Keskin M, Akbaş H, Uysal A, Canan S, Ayyıldız M et al: Enhancement of nerve regeneration and orientation across a gap with a nerve graft within a vein conduit graft: a functional, stereological, and electrophysiological study. *Plast. Reconstr. Surg.* 2004;Vol113(5):1372-80.

90. Zhang F, Blain B, Beck J, Zhang J, Chen Z ,et al: Autogenous venous graft with one-stage prepared Schwann cells as a conduit for repair of long segmental nerve defects. *J Reconstr. Microsurg.* 2002;vol18(4):295-302.