

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA VASKÜLARİZE PEDİKÜLLÜ JEJUNUM
KONDUİTİNİN PERİFERİK SİNİR SİSTEMİ
REJENERASYONLARINDA ETKİNLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr.Majid İSMAYILZADE
UZMANLIK TEZİ

KONYA

2021

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA VASKÜLARİZE PEDİKÜLLÜ JEJUNUM
KONDUİTİNİN PERİFERİK SİNİR SİSTEMİ
REJENERASYONLARINDA ETKİNLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr.Majid İSMAYILZADE
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. BİLSEV İNCE

KONYA
2021

TEŞEKKÜR

Meslek hayatımı şekillendirdiği ve paha biçilmez tecrübelerini paylaştığı için bir ömür minnettar kalacağım **tüm Hocalarıma,**

Bireysel ve akademik gelişimimizi her daim ileriye taşımak için yolumuza ışık tutan ve bizlere bu konuda her türlü fırsatı sunan Meram Tıp Fakültesi Plastik Cerrahi Kliniği kurucusu Anabilim Dalı Başkanımız **Sayın Prof. Dr. Nedim Savacı'ya,**

Bilimin kaynağını, kullanımını ve yeniden yaratılmasını her şekliyle bizlere aşıl原因an, koşulları zorlayarak akademik başarıyı en yüksek mertebelere taşımamın mümkün olduğunu kanıtlayan, her sorunumuzu aynı mütevazılıkla dinleyip çözüm yolu bulan, aynı zamanda tez danışmanım olan **Sayın Doç. Dr. Bilsev İnce'ye,**

Cerrahide ve hastaya yaklaşımda doğru ve yanlışları keskin sınırlarıyla ortaya koyan, Plastik Cerrahi temelinde her zaman daha iyisini başarabileceğimizi bizlere gösteren, örnek cerrah olmasının yanı sıra gerektiğinde bizlere ağabeylik yapan **Sayın Doç. Dr. Mehmet Dadacı'ya,**

Güler yüzü ve iyi niyetiyle bizlere her zaman destek olan, hayatta mesleki hırslımızdan daha önemli şeyler olduğunu hatırlatan, mutluluğumuza da, üzüntümüze de ailemizden biri gibi ortak olan **Sayın Doç. Dr. Zeynep Altuntaş'a,**

Tez çalışmamın histopatolojik incelemelerini değerlendiren **Sayın Doç. Dr. Pembe Oltulu'ya** ve istatistiksel analizlerini yapan **Sayın Doç. Dr. Mehmet Uyar'a,**

Asistanlık sürecim boyunca bana bildiklerini öğreten ve yol gösteren abilerim **Dr. Serhat Yarar'a, Dr. İlker Uyar'a** ve **Dr. Mehmet Emin Cem Yıldırım'a,** eşkıdemlim **Dr. Orkun Uyanık'a,** aynı zamanda ev arkadaşım ve kardeşim **Dr. Zikrullah Baycar'a,** ve beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum **Dr. Münür Selçuk Kendir, Dr. Pınar Öztürk, Dr. Arda**

Soylu, Dr. Muaz Zuhour, Dr. Mahmut Tekecik, Dr. Hayri Ahmet Burak Nurşen, Dr. Erdem Zuhhal ve Dr. Orhan Gök'e,

Her şey için borçlu olduğum, uzakta olsalar da hep yanımdaymış gibi destek olan çok

Kıymetli Aileme ayrı ayrı teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇİNDEKİLER.....	iv
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	viii
KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER.....	xi
TABLolar.....	xii
1-GİRİŞ.....	1
2-GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Sinir Sistemi	2
2.2. Periferik Sinir Sistemi.....	3
2.3. Periferik Sinir Sistemi Histolojisi.....	3
2.4. Periferik Sinir Yaralanmaları.....	8
2.5. Periferik Sinir Onarımı.....	15
2.6. Rat siyatik sinir modeli.....	25
2.7. Rat Jejunum Anatomisi.....	26
3-GEREÇ VE YÖNTEM	28
4-BULGULAR.....	35

5-TARTIŞMA.....44

6-SONUÇ.....48

7-KAYNAKLAR.....49



Özet

Periferik sinir sistemi yaralanmalarında çözülmesi gereken problemler arasında rejenerasyonun tam sağlanamamasının yanı sıra, defektli olguların yönetiminde ortaya çıkan zorluklar yer almaktadır. Her iki problem yüz yıllardır araştırılmakta olup birçok tedavi stratejisi sunulmasına rağmen, elde edilen veriler mevcut problemleri ortadan kaldırmaya yetmemektedir. Sinir defektlerinin onarımında sinir kondütlerinin geniş kullanım alanı mevcut olup genellikle biyolojik ve sentetik kondütlerin greft şeklinde uygulanımı sunulmaktadır. Bu çalışmada, sıçanlarda pediküllü jejunum flebinin siyatik sinir rejenerasyonu üzerine etkinliğini değerlendirmeyi amaçladık.

Bu çalışma, her grupta 10 (n=10) sıçan olmak üzere 9 grup oluşturularak 90 sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Grup 1: Sham grubu- defektsiz sinir onarımı; Grup 2: Sinir grefti grubu- eksize edilen 1 cm'lik sinir segmenti ters çevrilerek sinir grefti şeklinde defekt alana tekrar koapte edildi; Grup 3: Ven greftli onarım grubu- sağ eksternal juguler venden alınan 1 cm'lik ven grefti ters çevrilerek sinir defekt alana koapte edildi ; Grup 4: Jejunum kondüitli defektli sinir onarımı grubu- abdominal alandan transfer edilen 2 cm'lik pediküllü jejunum segmenti siyatik sinirde oluşturulan 1 cm'lik defekt alana adapte edildi; Grup 5: Jejunum kondüitli defektsiz sinir onarımı grubu- abdominal alandan transfer edilen 2 cm'lik pediküllü jejunum segmenti primer epinöral onarılmış siyatik sinir etrafına sarıldı; Grup 6: Jejunum kondüitli sinir grefti grubu- abdominal alandan transfer edilen 2 cm'lik pediküllü jejunum segmenti, siyatik sinirden eksize edilen 1 cm'lik sinir segmenti ters çevrilerek sinir grefti şeklinde yerleştirildikten sonra onarım sahası etrafına sarıldı; Grup 7: Mukozasız jejunum kondüitli defektli sinir onarımı grubu- abdominal alandan transfer edilen 2 cm'lik pediküllü jejunum segmenti mukoza rezeksiyonu sonrasında siyatik sinirde oluşturulan 1 cm'lik defekt alana adapte edildi; Grup 8: Mukozasız jejunum kondüitli defektsiz sinir onarımı grubu- abdominal alandan transfer edilen 2 cm'lik pediküllü jejunum segmenti mukoza rezeksiyonu

sonrasında primer onarım sahası etrafına sarıldı ; Grup 9: Mukozasız jejunum kondüitli sinir grefti grubu-abdominal alandan transfer edilen 2 cm'lik pediküllü mukozasız jejunum segmenti, siyatik sinirden eksize edilen 1 cm'lik sinir segmenti ters çevrilerek sinir grefti şeklinde yerleştirildikten sonra onarım sahası etrafına sarıldı.

Cerrahi işlemleri takip eden 2.ayda sıçanlara yürüme testi yapılarak Siyatik Fonksiyon İndeks (SFI)' leri hesaplandı. Sıçanlar sakrifiye edildikten sonra onarılan sinirlerden alınan örnekler histopatolojik incelemelerle değerlendirildi.

Yürüme testi sonuçları sırasıyla: Grup 1: -101.399, Grup 2: -92.780, Grup 3: -74.780, Grup 4: -93.849, Grup 5: -90.878, Grup 6: -91.58, Grup 7: -71.445, Grup 8: -78.1981, Grup 9: -54.942 şeklinde hesaplandı. Bu değerlendirmeye göre 0-100 arasında değerler elde edilmekte olup 0'a yakın değerler fonksiyonel iyi sonuçları göstermektedir. Mukoza rezeksiyonlu jejunum kondüiti uygulanan gruplar (Grup 7,8 ve 9) SFI açısından istatistiksel anlamlı sonuçlar gösterdi.

Histopatolojik parametrelerin grup içindeki ortalamaları ele alınarak gerçekleştirilen karşılaştırmalarda jejunum kondüiti ile onarım uygulanan gruplarda bütün parametreler açısından olumsuz değerlerle karşılaşıldı. Mukoza rezeksiyonu sonrasında jejunum kondüiti uygulanan gruplarda ise anlamlı fark aksonal dejenerasyon, akson yoğunluğu, myelinizasyon ve disorganizasyon parametrelerinde görüldü.

Sonuç olarak, bu çalışmada pediküllü jejunum flebinin mukoza rezeksiyonu sonrasında sinir onarım sahasına yerleştirilmesinin rejenerasyon etkinliğini fonksiyonel ve histopatolojik açıdan arttırdığını deneysel model üzerinde gösterdik. Periferik sinir yaralanmalarında tübüler paterne sahip otojen dokunun vaskülarize kondüit flebi şeklinde klinik uygulanmasının rejenerasyon üzerine olumlu katkıları ileri araştırmalarla gösterilebilir.

Abstract

Regeneration following nerve injury is still among the unsolved problems of peripheral nerve surgery; so is management of defective cases. Both of the problems have been investigating for centuries and a great number of treatment strategies have been presented however none of them has overcome the aforementioned issues. Nerve conduits have a broad spectrum of usage. In the repair of nerve defects, and to the best of our knowledge, the application of biological and synthetic conduits is generally executed in the form of graft. In this study, we aimed to evaluate the effects of pedicled jejunal flap on rat sciatic nerve regeneration.

A total of 90 rats were divided into 9 groups randomly, 10 rat in each (n=10). Group 1: sham group- primary nerve repair; Group 2: Nerve graft group- following excision of a 1 cm nerve segment it was placed to the same gap in opposite direction; Group 3: Vein graft group- 1 cm vein graft obtained from the right external jugular vein was placed between the distal and proximal nerve segments of sciatic; Group 4: Defective nerve repair group with jejunal conduit- a 2 cm pedicled jejunal segment was transferred from intraabdominal area and placed to the 1 cm gap area of sciatic nerve. Group 5: Primary nerve repair group with jejunal conduit- a 2 cm pedicled jejunal segment was transferred from intraabdominal area and wrapped the sciatic nerve coaptation area. Group 6: Nerve graft group with jejunal conduit- a 2 cm pedicled jejunal segment was transferred from intraabdominal area and wrapped the coaptation areas of distal and proximal segments with a 1 cm nerve graft. Group 7: Defective nerve repair group with mucosa resected jejunal conduit- following the mucosal resection procedure a 2 cm pedicled jejunal segment was transferred from intraabdominal area and placed to the 1 cm gap area of sciatic nerve. Group 8: Primary nerve repair group with mucosa resected jejunal conduit- following the mucosal resection procedure a 2 cm pedicled

jejunal segment was transferred from intraabdominal area and wrapped the sciatic nerve coaptation area. Group 9: Nerve graft group with mucosa resected jejunal conduit- following the mucosal resection procedure a 2 cm pedicled jejunal segment was transferred from intraabdominal area and wrapped the coaptation areas of distal and proximal segments with a 1 cm nerve graft.

Walking track analysis was performed to the rats at the end of 2 months period and SFI (Sciatic Function Index) was calculated. Examples took from the rats following the sacrifice were assessed regarding to histopathological parameters.

SFI results were as follows: Group 1: -101.399, Group 2: -92.780, Group 3: -74.780, Group 4: -93.849, Group 5: -90.878, Group 6: -91.58, Group 7: -71.445, Group 8: -78.1981, and Group 9: -54.942. According to this index, values close to 0 are found to be better results. Significant differences were revealed between the mucosa resected jejunal conduit applied groups (Group 7, 8, and 9) and the others in terms of SFI.

According to comparison of mean values of histopathological parameters, unfavorable results of jejunal conduit applied groups were observed in all of them. Significant differences of axonal degeneration, axonal density, myelination and disorganization parameters were found out in mucosa resected jejunal conduit applied groups.

Consequently, in this experimental study, we demonstrated that pedicled jejunal conduits after resection of mucosa facilitated regeneration of sciatic nerve both functionally and histopathologically. Further clinical studies investigating the effects of pedicled autogenous tubular tissues on peripheral nerve regeneration can contribute to the literature.

KISALTMALAR

PSS: Periferik sinir sistemi

NGF: Nerve Growth Factor

BDNF: Brain Derived Neurotrophic Factor

NT-3: Neurotrophin-3

NT-4/5: Neurotrophin- 4/5

NT-6: Neurotrophin-6

NOP: Neurite Outgrowth-Promoting

N-CAM: Neural cell adhesion molecule

L1: Neural cell adhesion molecule

(TAG)-1: The axonal glycoprotein

ŞEKİLLER

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. Periferik sinir yapısı	4
Şekil 2. Sinir yaralanmasında Seddon ve Sunderland sınıflamaları	13
Şekil 3. Epinöral sinir onarımı	17
Şekil 4. Fasiküler sinir onarımı	18
Şekil 5. Sıçan jejunum anatomisinin ortaya konulması.	27
Şekil 6. 2 cm'lik jejunum segmentinin pediküllü şekilde izole edilerek transfer için hazır hale getirilmesi	30
Şekil 7. İntraabdominal tünelden geçirildikten sonra pediküllü şekilde siyatik sinir alanına transfer edilen jejunum kondüiti	30
Şekil 8. Tüm grupların 2.ay sonunda yürüyüş analizlerinin görüntüleri	37
Şekil 9. 3 farklı işlem yapılan gruplar arasında karşılaştırma	38
Şekil 10. Histopatolojik boyama örnekleri.	40
Şekil 11. Gruplardan bir kaçının H&E boyama görüntüleri.	41
Şekil 12. Aksonal dejenerasyon, myelinizasyon ve disorganizasyon açısından gruplar arasında karşılaştırmalar.	43

TABLÖLAR

Tablo

Sayfa

Tablo 1. Grúplardaki hayvanların SFI ve histopatolojik inceleme sonuçlarının ortalama değerleri.

39

1.GİRİŞ

Periferik sinir sistemi (PSS) merkezi sinir sistemimizle dış çevremiz arasındaki sıkı bağlantının temel yapıtaşlarını oluşturarak verilerin girdisi, entegrasyonu ve yanıt oluşturulması gibi karmaşık işlemler zincirini çok kısa sürede gerçekleştiren kompleks nöral şebekedir. PSS anatomik yerleşim ve bağlantılarına göre kraniyal ve spinal, fonksiyonlarına göre otonom ve somatik sinir sistemleri şeklinde sınıflandırılmaktadır. Somatik sinir sistemi kendi içerisinde motor ve sensöriyel; otonom sinir sistemi ise sempatik ve parasempatik şeklinde alt sınıflara ayrılmaktadır. PSS' de iletimi engelleyecek veya tamamen ortadan kaldıracak her bir durum fizyolojik ve fonksiyonel şekillere neden olabilmektedir.(1)

PSS yaralanmaları birçok etiyolojik faktör etkisi neticesinde ortaya çıkabilmektedir. Çok çeşitli semptom ve klinik prezentasyonlara sebep olan periferik sinir yaralanmaları hiçbir bulgu göstermeksizin seyredebileceği gibi en şiddetli muskuloskeletal bozukluklarla da karşımıza çıkabilmektedir.(2)

Sinir onarım zamanlaması periferik sinir sistemi yaralanmaları sonrasında sinir iyileşmesini etkilediği bilinen en önemli faktörlerden biridir. (3) Erken cerrahi onarım ile yaralanmış sinirin distal ve proksimal uçlarının uç uca koaptasyonu daha olumlu sonuçlar elde etmek açısından avantajlıdır. Cerrahi onarım zamanlaması geciktiği takdirde yara iyileşmesinin temel fizyolojisi gereği kontrakte olmuş yapıların uç uca koaptasyonu imkansız hale gelmektedir. Ve gerginlik olmadan normal anatomiye taklit edecek şekilde onarım

gerçekleştirmek için greft kullanım ihtiyacı ortaya çıkmaktadır. Primer onarım sağlanamadığı takdirde sinir grefti kullanımı altın standart teknik olarak kabul görmektedir. (4)

Uç uca sinir onarımı gerçekleştirilemediği takdirde aradaki defektli alanın rekonstrükte edilmesi için sinir greftleri, konduitler ve sinir transferleri gibi çeşitli tedavi yöntemleri oluşturulmuştur.(5) Sinir greft uygulamaları defektli onarımlarda ilk tercih edilen cerrahi yöntemlerden biri olsa da donör alan morbiditesi, skar oluşumu, ikincil insizyon gerektirmesi, sınırlı donör sinir varlığı gibi dezavantajları sebebiyle kullanımı kısıtlıdır.(5) Sinir transferleri yeni tanımlanmış yöntemler olmayıp, son yıllarda yeni gelişmelerle ivme kazanmış bir konsepttir. Donör fonksiyon kaybı ve donör kasın kas transferi için uygunsuz hale gelmesi gibi sınırlayıcı etmenler bu yöntemin olumsuzluklarını içermektedir. (6-11)

Sinir kondüitlerinin (sinir kılavuz kanalları) son yıllarda biyoteknolojinin de gelişmesiyle birlikte sinir iyileşmesi alanında kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır. Kondüitler hem biyolojik hem de sentetik materyallerden elde edilebilmesi nedeniyle ister donör saha morbiditesi isterse de kullanım kolaylığı açısından üstünlük sağlamaktadır. Literatürde ven, sinir kılıfları, arter, organik- inorganik, absorbabl (emilebilen) veya nonabsorbabl (emilmeyen) biyomateryallerin kondüit şeklinde kullanımıyla ilgili çalışmalara rastlamak mümkündür. Sinir iyileşmesi için kullanılan bütün kondüitler greft şeklinde kullanılmış olup vaskülarize pediküllü flep şeklinde kondüit kullanımıyla ilgili çalışma bulunmamaktadır. (12-15)

Bu çalışmada intraabdominal yaklaşımla hazırlanan pediküllü jejunum flebinin ratların siyatik siniri üzerine kondüit şeklinde yerleştirildikten sonra sinir rejenerasyonuna etkinliğinin araştırılması hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sinir Sistemi

Sinir sistemi merkezi ve periferik olmak üzere iki ana komponentten oluşmaktadır. Merkezi sinir sistemine dahil olan medulla spinalis ve serebral korteks dışındaki bütün sinir hücreleri ve uzantıları periferik sinir sistemine dahil edilmektedir. (16) Merkezi sinir sisteminin esas görevleri periferik sinir sistemi vasıtasıyla canlının kendisinden veya dış çevreden gelen uyarılara entegre edilerek uygun yanıt oluşturulması ve bu yanıtın motor, visseral, endokrin aktivitelerin gerçekleştirilmesi için yönlendirilmesidir. (17)

2.2. Periferik Sinir Sistemi (PSS)

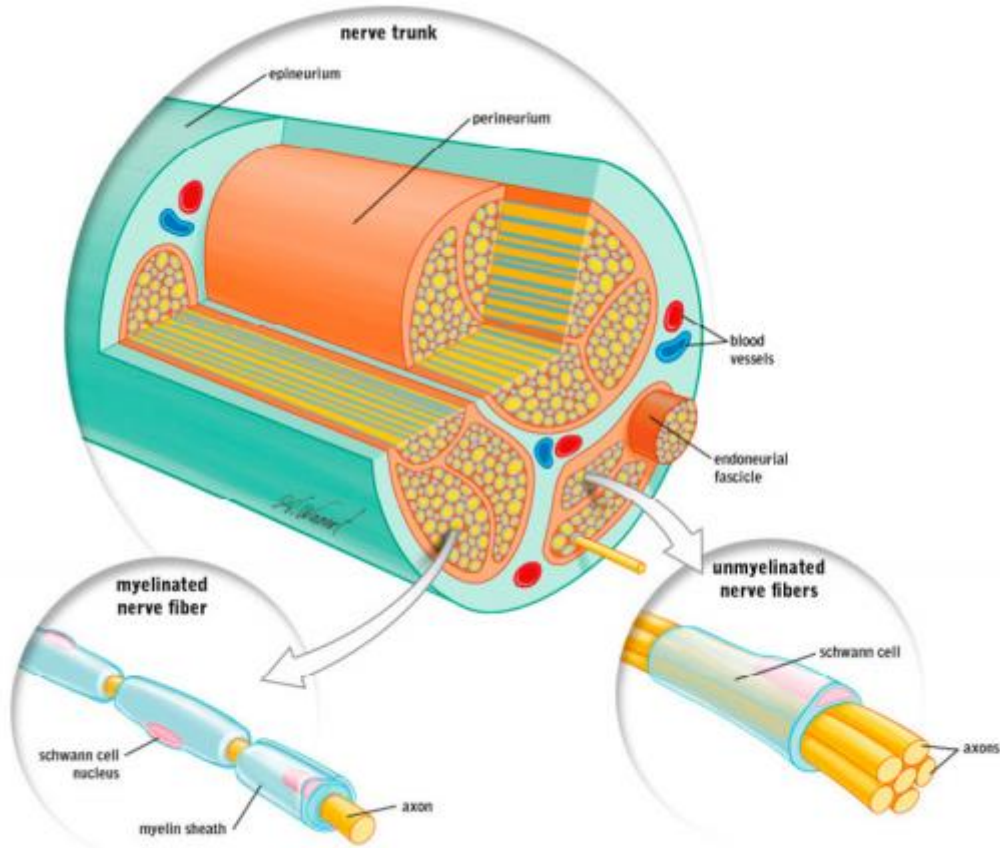
PSS serebral korteks ve omurilik dışındaki bütün sinir hücrelerini ve bağlantılarını içermektedir. Motor, sensöriyel ve otonom fonksiyonları içinde barındıran PSS afferent lifleri aracılığıyla uyarıları uygun nöral çekirdeğe iletmekte ve burada işlendikten sonra efferent lifler aksiyon potansiyelini komutanın yerine yetirilmesi gereken son organa ulaştırmaktadırlar.

Nöron hücre çekirdeği medulla spinalisin komşuluğundaki dorsal kök gangliyonlarında yer alan sensöriyel spinal sinirler ve hücre çekirdekleri anterior boynuzda yer alan motor spinal sinirler PSS'in temel komponentlerini oluşturmaktadırlar. Motor spinal sinirler başlıca muskuloskeletal görevleri gereği somatik sinir sistemi şeklinde de ifade edilmektedir. Somatik sinir sistemi canlının istemli eylem ve davranışlarını kontrol ediyorken, PSS'in diğer bir kısmını oluşturan otonom sinir sistemi canlının isteği dışında fonksiyon sergileyerek iç organların homeostazisini sağlamaktadır. Otonom sinir sistemi ise kendi içerisinde sempatik ve parasempatik sinir sistemleri şeklinde kategorize edilmektedir. III – XII kranial sinirlerin PSS'e ait lifleri bulunmakta olup bunlardan dördünün (III, VII, IX, and X) hem somatik hem de otonom işlevleri kontrol eden ortak lifleri bulunmaktadır. (18-19)

2.3. Periferik Sinir Sistemi Histolojisi

Sinir dokusunun esas hücresi olan nöron anatomik olarak hücre gövdesinin, nukleus ve diğer organellerin yer aldığı perikaryon, perifer dokulardan ve diğer sinir bağlantılarından

uyarıları alan dendrit ve aksiyon potansiyelini hedef organa doğru taşıyan aksondan oluşmaktadır. Histolojik olarak ise, periferik sinirler iki ana komponentten oluşmaktadır: fonksiyonel ünite şeklinde de adlandırılan parankim kısım ve stroma. Parankimal kısım akson ve onu çevreleyen Schwann hücrelerinin oluşturduğu sinir liflerini içeriyorken, stroma özelleşmiş üç tabakalı bağ doku bileşenlerini barındırmaktadır. Schwann hücrelerinin myelinizasyon işlemlerine bağlı olarak sinir lifleri myelinli ve myelinsiz şeklinde bulunabilir. Histolojik olarak stromal dokunun esas işlevi sinir lifi etrafındaki bağ dokunun kompartmanlar şeklinde izole olmasını sağlamaktır. Periferik sinirin transvers kesitlerinde sinir fibrillerinin içten dışa endonöryüm, perinöryüm ve vasküler yapılardan zengin epinöryüm ile çevrelendiği görülebilmektedir (20,21). (Şekil 1)



Şekil 1. Periferik sinir yapısı (Ilfeld BM, Preciado J, Trescot AM. Novel cryoneurolysis device for the treatment of sensory and motor peripheral nerves. Expert Rev Med Devices. 2016 Aug;13(8):713-25)

Epinöryum

Santral sinir sisteminde sinir etrafı bağ doku daha çok menenjiyal seviyede bulunmasına karşın, periferik sinirlerde bağ doku akson ve gliyal hücrelerin vücut hareketleri sırasında ezilme, bükülme ve gerime maruz kalmaması için sinir liflerine çok yakın seyretmektedir. Epinöryüm sinir liflerini koruyucu özelliğinin yanı sıra vaza nervorum şeklinde isimlendirilen, perinöryüm ve endonöryüm içerisinden geçerek arteriyol ve venüller vasıtasıyla intranöral beslenmeyi sağlayan mikrodolaşım ağını oluşturmaktadır. Embriyolojik olarak mezodermden gelişen epinöryüm insan vücudunda sinir paketinin total kesit alanının yaklaşık % 30-70 kısmını oluşturmaktadır. Genel kural olarak, bir sinir ne kadar çok fasikül içerirse çevresinde o kadar kalın epinöryüm barındırır. Periferik sinirlerdeki epinöral tabaka miktarı bireysel farklılıklar göstermekte olup sinirin anatomik lokalizasyonu ve sorumlu olduğu iş yüküne göre de değişmektedir. (22,23). Çalışmalara esasen eklem seviyesindeki sinirde bulunan epinöral miktar diğer bölgelere göre anlamlı derecede fazlalık teşkil etmektedir. Epinöral bağ doku fibroblast ve kollajenden (tip I ve II) zengin olup değişen miktarlarda yağ doku da ihtiva edebilmektedir.

Perinöryum

Perinöryum dens bir kılıf olup mekanik gerginliğe karşı çok dayanıklı bir yapıdır. (24). Bu kılıf santral sinir sistemi ve periferik sinir sistemi transisyonel zon bölgesinden geçtikten sonra uç organlara kadar kapsüllü bir şekilde uzanır ve sensöryel ve musküler son organlarda

açık (kapsülsüz) şekilde sonlanır. Perinöryum kollajen ve poligonik hücrelerin oluşturduğu tabakalarla desteklenmektedir. Memeli sinir trunkuslarında her biri bazal lamina ile kuşatılmış bu tabakaların sayısının 15'e kadar çıktığı görülmektedir. (25,26,27). Birçok çalışmanın sonucuna göre epitel-benzeri poligonik hücreler perinöryumun iç tabakasında yer almaktadır; dış katmanda epinöryumla iç-içe bağlantıları olan fibröz bağ dokusundan zengin yapısal komponentlerin eşlik ettiği bilinmektedir. (22,28). Bu ayırım fasiküllerin cerrahi onarımı sırasında perinöryumun iç tabakasına zarar vermeden dış tabakasına suture yerleştirilmesi açısından önem arz etmektedir. İç tabakada yerleşmiş olan poligonik hücreler pinositotik veziküller ve mikrofilament paketleri içermektedir. Var olan veziküller fosforile edici enzimlerden zengin içeriğe sahip olup perinöryumun metabolik diffüzyon bariyeri görevini aktif olarak üstlendiğinin göstergesidir. Yapılan araştırmalara göre, perinöryumun bariyer görevinden dolayı kan-sinir bariyeri ile birlikte endonöryum içerisindeki sıvı basıncı ve ozmotik ortam kontrolünde de önemli role sahip olduğu düşünülmektedir. (29) Bahsedildiği gibi, perinöryum kılıfı mekanik olarak çok kuvvetli yapıya sahip olup deneysel araştırmalarda perinöral membranın intrafasiküler basıncın 300- 750 mm Hg'ya kadar yükseltildiği değerlerde bile dayanıklı olduğu bildirilmiştir. (30)

Endonöryum

Endonöryum gevşek kollajenöz matriksle geniş ekstrasellüler boşluklardan oluşmaktadır. Perinöryumdan farklı olarak daha gevşek, yumşak ve sıkı olmayan bağ dokudan zengin olup vücut hareketleri sırasında sinirin kaygan bir ortam içerisinde uygun ekskürsiyonu sağlamasına yardımcı olmaktadır. (31) Mevcut matriks fibroblast, makrofaj, mast hücreleri, ekstrasellüler matriks öğeleri (kollajen fibrilleri, mukopolisakkarid ürünleri) ve kapiller ağ içermektedir. (32) Endonöryumun fibröz ve hücreli komponentleri basıncı epinöral sıvıdan daha yüksek olan endonöral sıvı içerisinde yüzmektedirler.(33) Mevcut sıvı basıncının esas hedefinin endonöryumun toksik substratlarla kontaminasyonunu önlemek

olduğu düşünölmektedir. (34) Endonöral içeriğin çoğu kısmı Schwann hücreleri ve endotelyal hücreler tarafından oluşturuluyorken, sadece % 4'lük kısmında fibroblastlar bulunmaktadır. (35) Endonöral tüplerin duvarına destek olmak için kollajen fibrilleri endonöryum içerisinde sinir liflerine oldukça yakın seyretmektedirler.

Schwann hücre özellikleri

Bazal lamina Schwann hücrelerini incelerken dış taraftan ilk olarak göze çarpan tabakadır. Bu membran Ranvier boğumları (iki Schwann hücresi arasında kalan myelinsiz alanlar) dahil olmak üzere tüm Schwann hücreleri boyunca devam ederek sinir lifi etrafında tüp formasyonu oluşturmaktadır. Sinir yaralanması sonrasında rejenerasyon sırasında uzayan sinir lifleri için rehber teşkil eden bu tüpler önem arz etmektedir. Schwann hücre plazma membranı aksolemma (akson sitoplazma yapısı) gibi trilaminar formasyondadır; ama aksolemmanın aksine membranın hem iç hem de dış tarafında aynı elektron yoğunluğu hükmetmektedir. Schwann hücreleri 3 farklı bölgeden oluşan yassı trapezoid (ikizkenar yamuk) hücrelerdir. (36) İç tarafta bulunan adaksonal sitoplazmik alan hücrenin en küçük bölgesini oluşturuyorken, en geniş kısım olan abaksonal sitoplazma (dış tabaka) orta kısımda üretilen kompakt myelin kılıfı dıştan sarar. Schmidt-Lanterman çentikleri (tam olarak fonksiyonları bilinmese de Schwann hücrelerindeki partikül ve metabolitlerin peristaltik hareketle aksona doğru hareketlendirilmesinde rol oynadığı düşünölmektedir) sıklıkla diyagonal hareketlerle sıkı myelin dokusunu çaprazlar adaksonal ve abaksonal sitoplazmalar arasında sitoplazma kondüiti oluşturmaktadır.(36) Schwann hücrelerinin dış tabakasının en göze çarpan organeli hücre nükleusudur. Hiç farklılık göstermeksizin hemen her zaman hücre çekirdeği aksonun uzun eksenini boyunca yerleşim göstermekte olup çevresinde mitokondri, endoplazmik retikulum, Golgi cisimciği, sentriyol ve π (pi) granüllerinden zengin sitoplazma

ile çevrenmektedir. Myelin üretme fonksiyonuna ek olarak, Schwann hücreleri periferik sinir rejenerasyonu sırasında çok önemli görevler üstlenmektedir.(37)

2.4. Periferik Sinir Yaralanmaları

Travmaya maruz kalan sinirde yaralanma alanında morfolojik ve metabolik değişikliklerle karakterize kompleks patofizyolojik olaylar meydana gelmektedir. Bu kompleks değişiklikler sinir hücre gövdesinde, yaralanma alanındaki distal ve proksimal güdükte ve son organ olarak kas-sinir kavşağında ve sensöryel reseptörlerde ortaya çıkmaktadır.

2.4.1. Proksimal sinir segmentinde ortaya çıkan değişiklikler

Akson transeksiyonu aksoplazmik hacmin büyük çoğunluğunun hücreden ampute olarak ayrılması anlamına gelmektedir. Ve böylesine travmatik bir olayın sadece hücre gövdesinde yapısal ve fonksiyonel değişikliklerle sınırlı kalmayıp hücreyi ölüme kadar götürmesi şaşırtıcı değildir. (38). Yaralanmayı takip eden birkaç saat içerisinde hücre gövdesinde değişiklikler görülmeye başlamakatadır. Kromatolizis olarak bilinen ve hücre gövdesinde zincirleme morfolojik değişiklikler olarak tanımlanan süreç başlamış olup takip eden dönemde hücre gövdesinde ve çekirdeğinde şişme ve daha sonra çekirdeğin merkezden dışa doğru yer değiştirmesi eylemleri gerçekleşmektedir. Ortaya çıkan olaylar neticesinde hücre bütün impulsların yönünü değiştirerek yaralanmış sinirin yapısal komponentlerini üretmeyi hedeflemektedir. (39,40) Sinirler 'sinyal modu'ndan 'büyüme modu'na doğru, protein sentezi ise nörotransmitter ilişkili üretim modundan aksonal rekonstrüksiyonun sağlanması yönünde değişikliklerle yanıt vermektedirler. (41-43) Çeşitli nöropeptidlerin, büyüme ilişkili proteinlerin ve sitoskeletal proteinlerin uyarılmış üretimleri gerçekleşen metabolik değişiklikler arasındadır. (44-48)

Proksimal segmentte aksonlar yaralanma sahasının bir miktar daha gerisinden dejenere olduğu için mevcut alanda sadece endonöral tüpler (Schwann hücrelerinin bazal laminası) boş silindir şeklinde kalmaktadır. Lezyonun ciddiyetine bağlı olarak proksimal segmentte ortaya çıkan bu retrograd dejenerasyon bir veya daha fazla sayıda internodal segmentleri içerebilir. (49).

Yaralanmaya takip eden birkaç saat içerisinde proksimal segmentteki akson bazal lamina içerisinde tüp boyunca distal segmente doğru uzanacak şekilde çok sayıda kollateral ve terminal tomurcuklar üretmeye başlar. (50,51) Birinci dalga tomurcuklanmayı ilk 2 gün içerisinde ikinci dalga takip eder. (49, 51) ‘İlk gecikme’ şeklinde tanımlanan nihai tomurcuklanma süreci olmadan erken tomurcukların tamamı dejenerasyona uğrar. (22) Son dönemde rat siyatik sinirinde yapılan rejenerasyon çalışmalarına esasen proksimal segmentten uzanan tomurcukların çok değişken davranışları olduğu tespit edilmiştir. (52) ‘Direkt’ projeksiyon ile tek tomurcuk güdük arası defekt alanda seyrettikten sonra distal Schwann hücrenin oluşturduğu tüpe dahil oluyorken, ‘dallanma’ şeklinde projeksiyonla 100’den fazla tomurcuktan sadece 5-10 adet 50-100 µm’lik alanda dallanabiliyor.

Son yapılan araştırmalara göre, Schwann hücreleri yaralanma sahasında rejenerasyon açısından çok önemli role sahiptir. Ayrıca, Schwann hücreleri fiziki kondüit görevini üstlenerek yaralanma sonrası aksonlara hedeflerine ulaşabilmeleri için rehberlik etmektedir. Aksonal rejenerasyonun gelişebilme potansiyel aksonal büyümenin miktarından ziyade Schwann hücrelerinin bu süreci nasıl yönetmesiyle bağlantılıdır.(53) Öncü aksonları myelinli olsa bile, yeni rejenerasyon olan üniteler başlarda myelinsiz şekilde üretilip ilerleyen zamanlarda myelinle donatılırlar. (54)

Distal segmente ulaşmak için büyüyen tomurcukların yaralanmış sinir alanının en kritik noktası olan güdükler arası bölgeyi aşmaları gerekmektedir. Sinir rejenerasyonunun

başarısını temsil eden en önemli faktör bu bölgede gerçekleşen lokal kimyasal ve hücrel reaksiyonların tomurcukların hedefe doğru yönelimlerini ne şekilde etkilemesiyle ilişkilidir.

2.4.2. Distal sinir segmentinde ortaya çıkan değişiklikler

Sinir transeksiyonu sonrasında distal segmentte Wallerian dejenerasyonu adıyla da bilinen yavaş ilerleyen süreç başlamaktadır. Bu süreç yaralanmanın hemen sonrasında başlar ve myelin bozulması ve Schwann hücre proliferasyonu ile karakterizedir. Schwann hücreleri ve makrofajlar yaralanma sahasına geldikten sonra yaklaşık 3-6 aylık süre boyunca buradaki myelin ve hücrel debris materyallerinin fagositoz işlemi gerçekleştirirler.

Transeksiyonu takip eden saatler içerisinde distal akson membranı eriyip akson ucunun mühürlenmesini sağlar. Akson liflerinin çözülüp dağılması yaralanmadan sonraki ilk günlerde başlar. Bu çözülmenin ilk aşamaları proteolize bağlı olarak aksoplazmik mikrotübül ve nörofilamanlarda ortaya çıkar. (55-57).

Schwann hücre proliferasyonunu tetikleyen önemli etkenlerden birisi akson- Schwann iletişiminin ortadan kalkmasıdır. Schwann hücreleri NGF gibi çeşitli nörotrofik faktörlerin üretimini arttırmaktadır. (58-59). Ek olarak, Schwann hücreleri BDNF, NT-3, NT-4/5 ve NT-6 gibi nörotrofinleri ve gliyal büyüme faktörü nörogulini üretilip büyüyen aksonlara iletir. (60, 61) Prolifere olan Schwann hücreleri Bünner bantları şeklinde adlandırılan kolonlarda yeniden organize olurlar ve distale doğru rejenere olan aksonlar bu bölgelerde bazal membran vasıtasıyla iletişim sağlarlar.

Distale doğru rejenere olan aksonların ilerlemesini laminin ve fibronektin gibi NOP (neurite outgrowth-promoting) faktörler de tetikler.(62-64) N-CAM, L1, myelin ilişkili glikoprotein ve aksonal glikoprotein (TAG)-1 gibi hücre adezyon molekülleri de bu süreçte önemli rol oynamaktadır. (65,66) Distal segmentte ekstranöral rota izlemeyen akson tomurcukları ya Schwann hücre kolonlarına bağlanır, ya da rastgele büyüme paterniyle sinir

bağ dokusu içerisine doğru büyüme gösterir. Schwann hücre kolonları proksimal segmentteki öncü aksonların tomurcukları tarafından istila edilmektedir.

Distal Schwann hücrelerinin oldukça fazla sayıda tomurcuk tarafından istilası nedeniyle sürecin başında distal sinir segmentindeki aksonların sayısı lezyondan proksimalde var olan akson sayısından daha fazla olabilmektedir.(67-69) Zaman geçtikçe, uygun distal hedefe ulaşmış rejenere aksonlar hedef organın besleyici etkisiyle matürasyonunu tamamladıktan sonra normale yakın çapa ulaşmaktadır. (68) Hedefe ulaşamayan diğer dallar ise budanarak kaybolmaktadırlar. (70) Cajal sinir rejenerasyonunun ilerleyen aylarında distal segmentte orijinal geniş fasikülün yerini alması için çok sayıda ‘minifasiküller’in oluştuğunu göstermiştir. (49) Bu hadise ‘kompartmantasyon’ şeklinde de tanımlanabilmektedir. (71) Çok sayıda minyatür fasiküllerin oluşması sinir fibrillerinin etrafını perinöral bariyerle kapatmak için normal endonöral çevre gereksinimini ortaya çıkarmaktadır. (72).

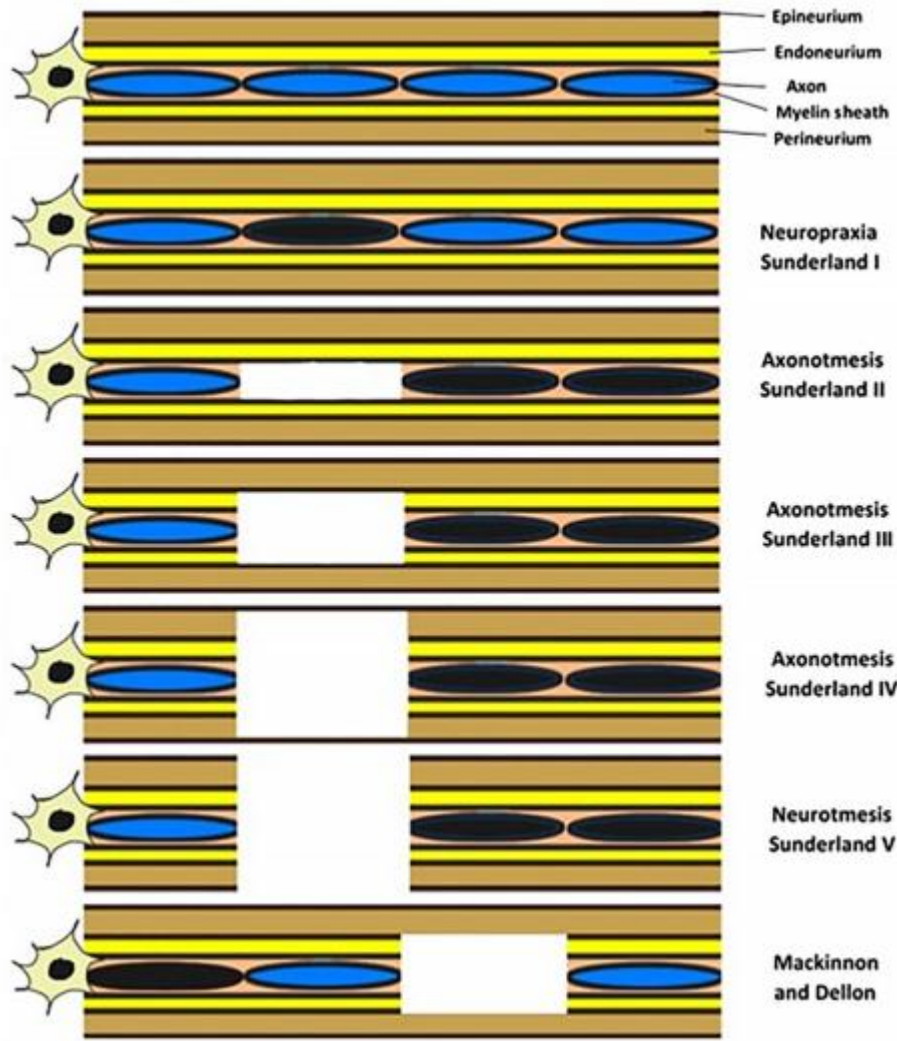
Distal segmentin uzun süreli denervasyonu endönöryum ve perinöryumda kollajen içerikte aşırı miktarda artışa ve kollajen tiplerinin dağılımındaki orantısız değişikliğe neden olmaktadır. (73) Endonöryumda kollajen üretiminde artış hem fibroblast hem de Schwann hücre aktivitesi ile ilişkili olabilir. (74,75).

DeneySEL çalışmalarda aksonal büyüme oranını değerlendirirken oluşturulan sinir lezyonunun biçimi, değerlendirme örnekleme ve metod seçimi gibi birçok faktör önemli rol oynamaktadır. Transeksiyon ve sütürasyon sonrası elde edilen aksonal büyüme kalitesi hemen her zaman ezilme yaralanması sonra elde edilen sonuçtan daha kötü seyretmektedir.(21) Sıçan ve tavşanlarda yapılan değerlendirmeler sonrasında aksonal rejenerasyon hızı transeksiyon ve onarım yapılan grupta 2.0- 3.5 mm/ gün iken, sadece ezilme yaralanması oluşturulan grupta 3.0- 4.4 mm/ gün şeklinde belirlenmiştir. (21)

2.4.3. Periferik sinir yaralanmaları sınıflandırması

Yaralanma sonrası bir periferik sinirin rejeneratif başarısı direkt olarak yaralanmanın ciddiyetine bağlıdır. Lezyon tipiyle ilişkili sınıflamaların amacı da yaralanan sinirin mikroskopik değişikliklerinden yola çıkarak sinirle ilişkili klinik tabloyu ve fonksiyonel prognozu olabildiğince öngörebilmektir.

İlk klasifikasyon Seddon tarafından 1943 yılında aksonun ve çevresindeki dokuların maruz kaldığı hasar boyutu göz önünde bulundurularak tasarlanmıştır.(76)(Şekil 2) Bu sınıflamada birinci derece yaralanma sinir devamlılığında herhangi bozulma olmayan en hafif nöropraksi şeklinde tanımlanmıştır. Aksonların anatomik devamlılığı ve birlikteliği sağlam olmasına karşın fonksiyonda yetersizlik sözkonusudur. İleti bloajları, motor ve sensöryel kayıplara neden olan çok küçük iskemik odaklar ve segmental demyelinizasyon eşlik edebilmesine karşın, genellikle nöroprakside Wallerian dejenerasyon fenomeni görülmemektedir. Genelde motor fibriller sensöryel liflere kıyasla daha çabuk etkilenebilmektedir. Nöroprakside musküler atrofi nadir görülse de, etkilenen sinire bağlı son organda remyelinizasyon gerçekleşene kadar geçici fonksiyon kaybıyla karşılaşmak mümkündür. Sinire bası yapan güç ortadan kalktıktan sonra günler veya haftalar içerisinde sinirde herhangi cerrahi müdahaleye gerek kalmadan komplet iyileşme görülmektedir (77).



Şekil 2. Sinir yaralanmasında Seddon ve Sunderland sınıflamaları. (Alvites R, Caseiro AR, Pedrosa SS et al. Peripheral nerve injury and axonotmesis: State of the art and recent advances, Cogent Medicine,2018;5:1)

Aksonotmezis – Seddon klasifikasyonuna göre ikinci derece periferik sinir yaralanmaları olup akson ve etrafındaki myelin kılıfı bozan ezilme yaraları şeklinde de bilinmektedir. Bağ dokudan zengin dış katmanlar olan perinöryum ve epinöryum intakt olduğu için sinirin anatomik şekli devamlılığını sürdürmektedir. Travmanın ciddiyetine göre yaralanma sahasının distalinde Wallerian dejenerasyon tablosu görülebilmektedir. Bu tip yaralanmanın prognozu rejenerasyon sırasında rehber oluşturacak dış kollajen örtünün bozulmaması nedeniyle genellikle iyi olup sinirin endonöral bütünlüğündeki bozulma

miktarına ve yaralanma sahasından hedef organa kadarki mesafeye bağlı olarak değişebilmektedir. (76,78)

Üçüncü derece yaralanma olan nörotmezis aksonların ve etrafındaki kılıfların hepsinin komplet ayrışmasıyla karakterize yaralanmadır. Bu tip sinir hasarına neden olan travmalar sıklıkla penetran yaralanmalar, traksiyon yaralanmaları ve toksik madde enjeksiyonlarıdır. Nörotmezis şeklinde hasarlanmada total fonksiyonel kayıp mevcut olup cerrahi veya başka alternatif tedavi yöntemleri olmadan iyileşmenin sağlanması pratik olarak mümkün değildir. Sinir iyileşmesi için rehber olacak kollafen kılıfın da hasar görmesi normal rejeneratif sürecin seyrini engellemektedir. (76,79).

1951 yılında Sunderland sinir yaralanmasının ciddiyetini belirleyen 5 kategoriden oluşan sınıflandırmayı geliştirdi.(80) (Şekil 2) Bu klasifikasyonda birinci derece Seddon sınıflandırmasındaki nöropraksiyle uyumlu iken, iki, üç ve dördüncü dereceler aksonotmezisin alt ünitelerine denk gelmektedir. Sunderland sınıflandırmasındaki ikinci derece yaralanmada aksonal hasara rağmen endonöral, perinöral ve epinöral devamlılığın korunduğu tarif edilmektedir. Endonöral tabakada parsiyel yaralanma gözükabilir ve bu iyileşmenin derecesini esas etkileyen faktörlerdendir. Üçüncü derece sinir hasarında aksonların, myelin kılıfların ve endonöryumun ayrışmasına rağmen, fasiküler bütünlük bozulmamış olup dış kollajen katmanlarında herhangi hasar görülmemektedir. İyileşme konservatif tedavi veya cerrahi uygulama ile sinir sıkışma alanlarının serbestlenmesi gibi nörolizli veya nörolizsiz prosedürlerle sağlanabilir. Dördüncü derece yaralanmada epinöral kılıf dışındaki bütün katmanlarda hasar görülmektedir. Sinir boyunca var olan hemoraji ve fasiküler ayrışmaya bağlı ortaya çıkan fibröz dokular yeni aksonal tomurcukların büyümesine engel olarak nöroma gelişimine zemin yaratmaktadır. Son olarak, beşinci derece yaralanma epinöral kılıf da dahil olmak üzere sinirin tüm katmanlarının ayrışmasını içermektedir.

Dördüncü ve beşinci derece yaralanmalarda hasarın cerrahi veya alternatif tedavi dışında kendiliğinden iyileşme olasılığı neredeyse imkansızdır. (77,79,81).

1988 yılında Mackinnon ve Dellon Sunderland'in sınıflamasına miks (karışık) yaralanma biçimini tarif eden altıncı dereceyi ekleyerek klasifikasyonu geliştirdi. (82). Son eklene derece aynı sinirin birden fazla farklı derecelerde lezyon içermesini tarif etmekte olup en sık penetran travmalar ve periferik sinire yakın kemik fraktürlerinde ortaya çıkmaktadır. İyileşmenin derecesi ve cerrahi girişim ihtiyacı sinir hasarının içerdiği farklı lezyonların derecesine göre değişmektedir.(81)

2.5. Periferik Sinir Onarımı

Sinir onarımı için uygun zamanın belirlenmesi süreci hastayla karşılaşıldığı ilk andan itibaren başlamaktadır. Yaralanma mekanizması veya sinirle ilişkili semptomların ortaya çıkma zamanı gibi faktörler cerrahi en uygun tedavi yönetimi açısından yönlendirmektedir. Açık yaralanma ve nörolojik defisitle başvuran hastalar çok erken zamanda yara yeri eksplorasyonunu gerektirmektedir. İntraoperatif stimülasyon ile uygun distal sinirlerin tespit edilmesi gibi bir işlem uygulanacaksa (örn. distal fasiyal sinir dalları), eksplorasyonun rezidü nörotransmitterlerin distal segmentte var olduğu ilk 72 saat içerisinde yapılması gerekmektedir. Keskin penetran yaralanmalarda çoğu zaman distal ve proksimal segmentlerin primer uç uca onarımı uygulanabilmektedir. Künt veya ezilme tipi (testere) yaralanmalarda ilk eksplorasyon sürecinde bulunan distal ve proksimal sinir uçları işaretlenip yaklaştırılabilir. 3 hafta sonrasında travmanın tam sınırı belirlenince ikincil sinir grefti operasyonu gerçekleştirilebilir. İlk operasyonda sinir uçlarının yaklaştırılması sinirlerin doğru yönde oryantasyonunu korur, sinir segmentlerinin retrakte olmasını önler ve sonuç olarak ihtiyaç olan sinir greftinin uzunluğunu minimize eder. Multipl dokuları etkileyen çok ciddi yaralanmalarda ikincil operasyon daha geç dönemde planlanıyorsa ilk seansta sinir grefti yerleştirilmesi uygulanabilir. Bu tip olgularda travma zonunun ne kadarlık mesafede etkisinin

var olduğu bilinmediğinden dolayı proksimal ve distal sinirlerin, sinir greftiyle sağlanacak onarımlarının travma zonu dışında kalacağından emin olanadek trimlenmesi oldukça önemlidir.

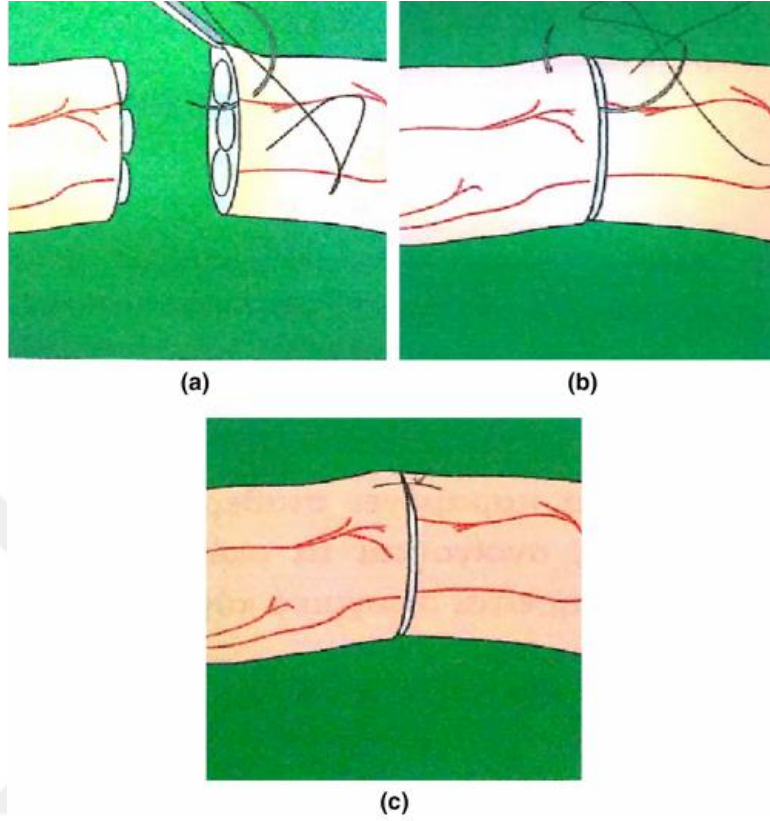
Periferik sinir yaralanmalarını sağlıklı bir şekilde yönetmek için sinir yaralanmalarının sınıflandırmasını anlamak şarttır. Bir, iki ve üçüncü derece yaralanmaların herhangi girişim ihtiyacı olmadan sorunsuz iyileşebilmesine karşın, dört ve beşinci derece yaralanmalarda cerrahi müdahale nerdeyse kaçınılmazdır. Kapalı yaralanmalar 6 hafta boyunca elektrodyagnostik ölçümlerle takip edilmektedir. Bu tip yaralanmalarda 3 ay boyunca klinik veya elektrodyagnostik iyileşme tespit edilemezse cerrahi eksplorasyon gerekmektedir. Ateşli silah yaralanmalarında sinir bileşenlerinin nadir yaralanmasından dolayı eksplorasyon 4 ay sonraya ertelenebilir. Sinirde ilkin hasar genellikle ısıya ve mermiden kaynaklanan gerilmeye bağlı ortaya çıkmaktadır. (83,84).

Yıllar boyunca periferik sinir onarımıyla ilgili çeşitli teknikler tanımlanmıştır. Tarihçe incelendiği zaman genel olarak bütün tekniklerin olabildiğince az sütürle sinir liflerinin doğru oryantasyonunu kalıcı şekilde sağlamak üzerine odaklanıldığı görülmektedir. (85) Sütür materyalinin kalitesi yabancı cisim reaksiyonu oluşturma riski nedeniyle çok büyük önem taşımaktadır. Periferik sinir onarımında en sık kullanılan mikrosütürasyon tekniklerinden 3'ü şunlardır: epinöral, fasiküler ve epi-perinöral onarım. (86).

Epinöral onarım

Bu onarım şekli fasiküler devamlılığı sürdürebilmek adına epinöral damarları rehber olarak yapılan uç uca sütürasyondan oluşmaktadır. (Şekil 3) Hem proksimal hem de distal uçta sütürler sadece epinöryumdan geçmektedirler. Sinir fasikülüne en az zarar verecek şekilde cerrahi girişim sağlanması, teknik olarak fasiküler sinir onarımından daha kolay olması ve diğer tekniklere kıyasla daha az sütür ipliğinin kullanılması epinöral onarımın

avantajları arasındadır. (87, 88) Rejenere olan yeni sinir fibrillerinin yanlış yönde büyüebilmesi bu teknikte kontrol edilmesi en zor noktalardan biridir. (86)

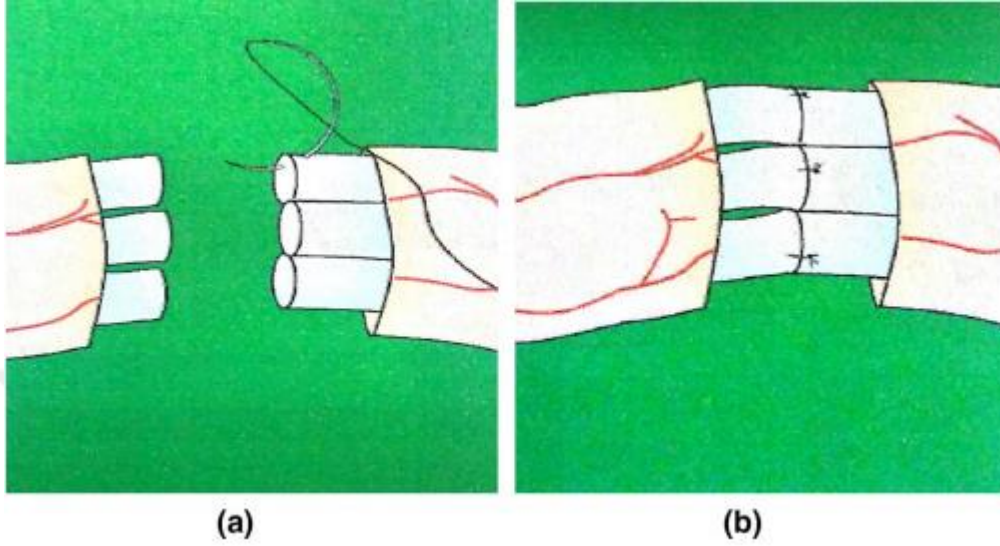


Şekil 3. Epinöral sinir onarımı: (a) iğnenin güdük sınırının 1-2 mm uzaklığında epinöryumdan geçişi, (b) iğnenin karşı taraf epinöryumdan geçişi, (c) düğüm oluşturulması. Epinöral damarlar aynı sinir bölgelerinin karşılıklı yaklaştırılması için anahtar rol oynamaktadır (Beris A, Gkiatas I, Gelalis I, Papadopoulos D, Kostas-Agnantis I. Current concepts in peripheral nerve surgery. Eur J Orthop Surg Traumatol. 2019 Feb;29(2):263-269).

Fasiküler onarım

Periferik sinirlerin fasiküler sütürasyon metoduyla onarımı ilk defa Sunderland ve Hakstian tarafından tanımlanmıştır. (89, 90) Bu teknikte esas hedef büyüyen sinir liflerinin yanlış yönlenmesini engellemek adına ilişkili iki fasikülün sütürasyonunu sağlamaktır. (Şekil 4) Epinöral onarıma kıyasla mikrocerrahi beceri açısından daha zorlu, dolayısıyla daha uzun operasyon süresi gerektiren ve sütürasyon alanında daha fazla reaksiyona neden olan bir

tekniktir. (86) Fibrozis olasılığını en az indirmek için bu tekniğe alternatif olabilecek grup fasiküler onarımın uygulanması çok fasiküllü sinirlerde (örn. median sinir) iyileşmeyi hızlandırabilir.



Şekil 4. Fasiküler sinir onarımı: (a) her bir fasikülden ayrı ayrılıkta geçen suture, (b) yaklaştırılan fasiküllerin suture edilerek onarımı (Beris A, Gkiatas I, Gelalis I, Papadopoulos D, Kostas-Agnantis I. Current concepts in peripheral nerve surgery. Eur J Orthop Surg Traumatol. 2019 Feb;29(2):263-269)

Epi-perinöral onarım

Nadiren de olsa kullanılan bu teknikte suture iğnesi hem epinöryumdan hem de ilişkili fasiküllerin perinöryumundan aynı anda geçmektedir. Zor bir teknik olsa da, bu onarım rejenere olacak sinir lifleri için uygun rehber oluşturarak fasiküler grupların kontrollü biçimde karşı karşıya gelmesini sağlamaktadır. (91)

2.5.1. Periferik sinirlerde defekt yönetimi

Periferik sinirlerin gerginliksiz onarımı sağlanamadığı durumlarda uygun alternatif metodların düşünülmesi gerekmektedir. Bu tür vakalarda uygulanabilecek cerrahi

alternatifleri sinir greftleri, kondüitler ve sinir transferleri şeklinde özetleyebiliriz. Normal fasikül yapısı ortaya çıkana kadar proksimal ve distal segment uçların tazelenmesi bu segmentlerin yeniden aynı düzlemde onarılması açısından önemlidir. Sinir onarımında her ne kadar mikrocerrahi teknik ön planda tutulsa da, sinirlerin travma zonunun uzunlamasına ekseninde ne kadarlık mesafede yayıldığını belirlemek küçümsenmemelidir. Normal fasiküler yapıların ortaya konulması için proksimal ve distal segmentlerde yaklaşık bir santimetrelük skar dokusunun uzaklaştırılması gerekmektedir. Başarısızlıkla sonuçlanan bir primer onarılmış sinir olgusunda genellikle eklemin serbest hareketlerinde onarım hattının gerginliğini minimize etmek ve travma zonunun dışında kalmak için 4 cm'lik sinir grefti gerekmektedir. (5)

Herhangi başarılı sinir onarımı için sinir topografisi bilgisine sahip olmak önem arz etmektedir. Örneğin, el bilek seviyesinde ulnar sinir % 40 oranında motor, % 60 oranında ise sensöriyel liflerden oluşmaktadır. Bu sebeple, onarım sırasında sinir segmentlerinin yanlış oryantasyonda birleştirilmesi mükemmel iyileşmeye rağmen kötü fonksiyonel sonuçlar doğurabilir. Ek olarak, iyileşme esnasında herhangi ayrışma ile karşılaşmamak için eklem hareketlerine izin verecek kadar gerilimsiz onarımın sağlanması önemlidir. Son olarak, rejenerasyon süresince karpal veya kübital tünel gibi bilinen kompresyon alanları sinir iyileşmesinde duraksamalara neden olabilmektedir. Bu yüzden, sinir tuzaklanmalarına neden olan bu bölgelerin serbestlenmesi veya sinir transpozisyonlarının gerçekleştirilmesi fonksiyonel iyileşmeyi hızlandıracaktır.(5)

Otolog Sinir Greftleri

Otolog sinir greftleri periferik sinir defektlerinde altın standart özelliğini korumakta olup aksonal rejenerasyonda büyüyen fibrillere rehberlik etmektedir. Otolog sinir greftleri santral fibrozis nedeniyle başarı oranı sınırlı olan trunkus greftleri, kablo greftleri ve greft vaskülarizasyonunun en iyi sağlandığı interfasiküler greftler şeklinde kategorize edilebilir.

(92-94) Bir sinirin tamamının (örn. ulnar sinir) dolaşımını sağlayan damarlarıyla birlikte kullanıldığı vaskülarize sinir greftleri tanımlanmış olsa da, kullanım zorluğu ve karmaşıklığı nedeniyle avasküler greftlere göre üstünlüğü gösterilememiştir.(95)

Lateral malleolden başlayıp dizin alt kısmına kadar uzanarak yaklaşık 30- 40 cm'lik uzunlukta sinir grefti sağlayabilmesi nedeniyle sural sinir en sık kullanılan seçenektir. (96) Medial antebrakiyal kutanöz sinir, lateral femoral kutanöz sinir, dorsal antebrakiyal kutanöz sinir, radyal sinir süperfisyel dalı, interkostal sinirler ve safen sinir diğer kullanılabilen seçeneklerdir.

Otolog sinir greftleri rejenerasyon için endonöral tüp ve Schwann hücreleri barındırarak immünojenik olmayan platform görevi görmektedirler. Buna karşın, nöroma oluşması, donör alanda sensöryel kayıp ve sinir greftinin sınırlı beslenmesi gibi dezavantajlar mevcuttur. Genel olarak, gerilimsiz primer sinir onarımı en tercih edilen yöntem olsa da, periferik sinir defekti varlığında otolog sinir grefti kullanımı altın standarttır. (5)

Sinir Transferleri

Sinir transferi veya nörotizasyon, hedefe yakın bölgedeki distal denerve segmente başka bir sinir transfer ederek rejenerasyon sürecini azaltmaya yönelik bir cerrahi işlemdir.(5) Her ne kadar birçok otör sinir transferi sonrasında umut verici sonuçlar elde ettiklerini belirtse de, transfer edilen sinirlerin kullanımıyla ilgili sabit klinik yönetim mevcut değildir.(97,98) Geçtiğimiz birkaç on yılda proksimal yaralanmaların tedavisinde primer sinir onarımı veya sinir grefti kullanımının yerine sinir transferlerinin tercih edildiği görülmektedir.(85) Dolayısıyla sinir grefti kullanımı azaldığı için ilişkili donör alan morbiditeleri ile de daha nadir karşılaşılmaktadır. Ek olarak, erken reinnervasyon bu tekniğin en önemli

avantajlarından biridir. Buna karşın, donör sinir alanında fonksiyonel kayıp meydana gelmektedir ve donör sinirin innerve ettiği kasın da göreceli feda edilebilir olması gerekmektedir. (5)

Uç-yan Nörorafi

1873 yılında Letievant çok fazla doku kaybıyla karakterize ciddi yaralanmalarda yaralanmış sinirin distal güdüğünün yakınındaki sağlam sinirin yan yüzeyine uygun çapta ve derinlikte alan hazırlandıktan sonra sütüre edilmesinin uygulanabilir yöntem olduğunu belirtmiştir. (99) Lundborg ve ark. diğer rutin cerrahi metodların uygulanamadığı özellikli durumlarda uç-yan nörorafinin önemli bir tedavi aracı olduğunu vurgulamışlardır. (100) Bu teknikle sinir onarımı gerçekleştirdikten sonra rejenerasyon süreci tartışmalıdır. Mevcut yöntemde ileri sürülen 3 esas hipotez şunlardır: pencere açılan sinirin kollateral tomurcuklanması, terminal tomurcuklanması ve proksimal güdüğünden aksonal kontaminasyon. (101) Var olan bilgiler doğrultusunda, uç- yan nörorafi ile ilgili kanıtlandığı bilinen tek şey sensöryel tomurcuklanmanın, dolayısı ile sensöryel iyileşmenin genellikle motor tomurcuklanmadan daha kolay olduğu yönündedir. (102) Çift uç- yan nörorafi ilk defa Viterbo tarafından tanımlanmıştır.(103) Bu tekniğe esasen, hem proksimal hem de distal güdükler ayrı ayrılıkta donör sinire uç-yan şekilde sütüre edilmektedir. Distal güdüğün başarılı reinnervasyonunu belirten çok fazla miktarda deneysel çalışma olmasına rağmen, klinik çalışmalar halen tartışmalı şekilde kalmaktadır. (104-106)

Sinir Allogreftleri

Sinir allogreftleri periferik sinir defektlerinin rekonstrüksiyonunda alternatiflerden biri olup periferik sinirle benzer yapısal özellikler içermektedir. (107) Sinir allogreftleri periferik sinirlerin multisegmental yaralanmalarında tercih edilebilir olup canlı donör Schwann hücreleri barındırmaktadırlar. Sağladıkları nörotropik etki nedeniyle içi boş kondüitlerden

daha etkili olduğu düşünölen sinir allogreftleri 7 cm'ye kadar defekt alanda kullanılabilmektedir. (108) Donör alan morbiditesi olmamasına rağmen, beraberinde oluşan immünsüpresyonun yan etkilerini de göz önünde bulundurmak önemlidir. Buna karşın, son yıllarda immünojenik olmayan sinir allogreftlerin kullanımıyla ilgili başarılı sonuçlar bildirilmektedir. (109)

Sinir Kondüitleri

Sinir grefti kullanımında nöroma oluşması, cilt skarı ve donör alanda his kaybı gibi ortaya çıkan komplikasyonları minimize etme ihtiyacı sinir defektlerinin kondüitler vasıtasıyla köprüleme yöntemini ortaya çıkarmıştır. Sinir kondüiti ile köprüleme yönteminde proksimal ve distal sinir güdüğü kondüitin her iki tarafına yerleştirilerek rejenere olan aksonların distale doğru büyümesi ve yanlış aksonal yönelimin engellenmesi sağlanmaktadır. Her iki sinir güdüğü için trofik destek sağlamanın yanı sıra, kondüitler onarım hattını izole ederek etraf yumşak dokuların bu alana invazyonunu önlemektedir. Ek olarak, sinir kondüitleri hazne içerisinde nörotrofik faktörlerin birikmesini sağlayarak oluşturdukları mikroçevre yaralanma sonrası dönemde aksonal rejenerasyonu hızlandırmaktadır.

Cajal'ın sinir kemotaksisi ile ilgili hipotezlerinden sonra sinir kondüitleri vasıtasıyla köprüleme yöntemi popüler hale gelmiştir.(49) Brushart ve ark. rat siyatik sinirlerinde yaptıkları çalışmada sinir kondüitlerinin ürettikleri mikroçevre ile çok daha güçlü ve hatasız sinir rejenerasyonu ve fonksiyonel iyileşmeye neden olduklarını göstermiştir. (110) Başka bir çalışma serisinde, Koerber ve ark. sinirlerin kondüitle onarımının primer onarıma göre üstünlükleri olduğunu deneysel olarak sergilemiştir. (111) Meek ve Coert ise Avrupa ve Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu'nu çeşitli emilebilen sinir kondüitlerinin etkililiğini değerlendirmek için ikna etmiştir. (112) Weber ve ark. gerçekleştirdikleri randomize kontrollü çalışmada 5 farklı tıp merkezinde periferik sinir yaralanması nedeniyle tedavi ettikleri 136 hastayı analiz etmişlerdir. (113) Hastalar randomize şekilde poliglikolik asitli (PGA)

kondüitlerle onarılmış ve direkt onarım uygulanmış olan gruplara dağıtılmıştır: PGA kondüit ile onarım sağlanan hastaların % 91'i değerlendirme sonuçlarından memnun iken, bu oran direkt onarım uygulanan grupta % 49 şeklindeydi. Taras ve ark. periferik sinir yaralanması nedeniyle kondüit ile onarım sağlanan 73 hastadan alerjisi olan 2 hasta dışında geri kalanların sonuçlarının olumlu olduğunu bildirmişlerdir. (114) Ashley ve ark. obstetrik brakial pleksus palsisi olan 7 yenidoğanı NeuraGen kondüiti kullanarak opere etmiş ve yüz güldürücü sonuçlar elde ettiklerini rapor etmişlerdir. (115)

Sinir kondüitlerinde esas aranan özellikler permeabilite (besin maddeleri ve oksijenin rejenerasyon sahasına difüzyonunun gerçekleşebilmesi gerekmektedir) ve esnekliktir (mekanik travmalara karşı korunmak için). Dokularda yüksek miktarda çözülmenin ödem ve inflamasyona, az çözülmenin ise kronik immün rejeksiyona neden olmasından dolayı bir kondüitin degradasyon (çözülme) oranı önem arz etmektedir. (116) Sinir kondüitlerinin kullanımı 3 cm'e kadar olan defektlerin onarımında kullanılabilir. (5)

Sinir kondüitleri biyolojik otolog sinir kondüitleri ve sentetik sinir kondüitleri şeklinde alt sınıflara ayrılmakta olup bu özellikleri kondüitin vücutta çözünürlüğünü belirlemektedir. Biyolojik sinir kondüitleri genellikle arterler, venler, kaslar veya dokuların izotiplerinden (heterojen kollajen tüpler, kas bazal laminası, insan amniyotik membran) oluşmaktadır. (117,118) Bu kondüitlerin rejenerasyon sonrası dönemde inert (vücut içerisinde hiçbir reaksiyona girmeyen, etkisiz) maddeler içerisinde çözülme gibi avantajları bulunmaktadır. Sentetik olup çözülemeyen kondüitler silikon, plastik ve politetrafloroetilen gibi maddelerden üretilirken, çözülebilen kondüitler genellikle kollajen, kitin, poliglikolik asit, glikolize trimetilen karbonat, polilaktik asit, polikarbolakton, doğal kollajen ve hidrojelden imal edilmektedirler. (119-121)

Sinir kondüiti kullanımının birkaç avantajları bulunmaktadır. Bunlardan birincisi, donör alan morbiditesi olmadan sinir defektlerinin rekonstrükte edilmesidir. Önceden hazır bir

şekilde bulundurulabilen konduitleerin skar dokusuna karşı bariyer görevi de bilinmektedir. Öte yandan, 3 cm'den büyük defektlerde kullanılamamaları, laminin platformu ve dolayısıyla Schwann hücre barındırmamaları ve rejenerasyon sürecinde her birinin sonuçları etkileyecek biçimde farklı davranış sergilemesi dezavantajlarını oluşturmaktadır. (5)

Doku mühendisliği gelişen teknolojiler ile birlikte sinir konduitlelerinin daha etkili şekilde kullanımında önemli rol oynamaktadır. Sinir büyüme faktörlerini üretme kapasitesi olan biyoaktif Schwann hücreleri aynı zamanda yüzeylerindeki yapışkan moleküller sayesinde ekstrasellüler matriks salgılayarak büyüyen aksonlara öncülük etme yeteneğine sahiptirler. Schwann hücreleri tarafından salgılanan nörotrofik faktörler rejenere olan aksonların mikroçevresini oluşturmada en önemli görevi üstlenmektedirler. (122,123) Tüplerin içerisine serpilmiş Schwann hücreleri veya kök hücreler sinir aksonlarının rejenerasyonunu tetikleyebilirler. Özel 3D tasarımla şekillendirilmiş sinir konduit tüpleri rejenere aksonları içerecek şekilde üretilebilir ve mekanik olarak aksonlara rehberlik edebilir. (124) Biyo-emilebilir ve bileşik konduitler (nörotrofik faktörler, sinir destekliyiçi ürünler, Schwann hücreleri ve sinir kök hücreleri içeren) periferik sinirlerin kemotaktik rejenerasyonunu hızlandırmış ve sinir onarımının etkililiğini arttırmıştır. (125-131)

Gulati ve ark. Schwann hücrelerinin kültürü yapılmış asellüler greftlerini ratların peroneal sinirlerindeki 2 cm' lik defekt alana yerleştirdikten sonra alıcı alanda daha erken aksonal rejenerasyon olduğunu ve içi boş asellüler greftlerden daha iyi sonuçlarla karşılaştıklarını belirtmişler. (123) Bunting ve ark. ise güdükler arası defektin uzun olduğu zorlayıcı vakalarda biyo-emilebilir cam ipliklerin kullanılabileceğini sunmuştur. (132) Sundback ve ark. poligliserol sebasat (PGS) ile poli (laktid- ko- glikolid) PLGA konduitleri in-vitro ortamda Schwann hücrelerinin metabolik aktiviteleri, yapışması, proliferasyonu ve apoptozu açısından karşılaştırmış ve PGS'nin sinir rekonstrüksiyonu için mükemmel aday olduğu kanısına varmıştır. (133) Hadlock ve ark. içerisine Schwann hücreleri yerleştirmek

için uzunlamasına hizalanmış kanalları olan polimer köpük kondüitler hazırlamışlardır.(134) Polimer- köpük şekillendirme ve içerisinde kanallar barındıran kendine özgü mimarisi nörotrofik faktörlerin kondüite doğru kontrollü salınımını sağlamıştır. Fansa ve Keilhoff izojenik Schwann hücrelerini kültürde ürettikten sonra venler, kaslar, sinirler ve epinöral tüpler gibi asellüler otolog matrikslere yerleştirmişlerdir. (135) Kas- Schwann hücre grubunda iyi rejenerasyon bulguları saptanırken, diğer gruplarda rejenerasyon kalitesinde düşüş olduğu gözlemlenmiştir. Kas- Schwann hücre grefti grubunda sistematik ve organize rejenerasyonun yanı sıra rejenere olan fibrillerin daha doğru yönde oryante olduğu bildirilmiştir. Bütün venöz ve epinöral greftler daha düzensiz rejenerasyon sergilemişlerdir. Varejão ve ark. rat siyatik sinir modelinde 10 mm'lik defekt alana taze çizgili kas dokusu veya fosfatlı salinle doldurulan biyo-emilebilir poli (DL-laktid-ε- kaprolakton) kondüit yerleştirdikten sonra fonksiyonel iyileşmeyi karşılaştırmıştır. (136) Motor fonksiyonel iyileşmenin kas-grefti grubunda 8-12 aylar arasında anlamlı derecede fazla olduğu tespit edilmiştir. Akson rejenerasyonunda ilerleme distal güdükte ağırlıklı olmak üzere kas yerleştirilmiş tüplerde içi boş kondüitlere göre daha fazla görüldü.

Son yıllarda, sinir kondüitlerinin klinik çalışmaları da devam etmekte olup periferik sinir rejenerasyonunda iyileşmeyi hızlandırdığı görülmüştür. Chiu ve ark. 34 sinir yaralanması olan 22 hastayı çalışmaya dahil ederek 3 cm \geq defektlerde otolog ven greftini sinir kondüiti şeklinde kullanmışlardır. (137) Gu ve ark. ise 55 yaşında erkek hastanın sağ önkolunda median sinirdeki 30 mm'lik defekt için kitosan/ PGA sinir kondüitlerini kullanmışlardır. Operasyonu takiben üçüncü yılda hastanın hem fonksiyonel hem de sensöryel açıdan olumlu sonuçlar gösterdiği bildirilmiştir.(138)

2.6. Rat siyatik sinir modeli

Rat siyatik siniri sinir yaralanması, sinir rejenerasyonu ve periferik sinir sistemi hastalıkları ile ilgili deneysel araştırmalarda en sık kullanılan hayvan modelidir. Ratlarda

siyatik sinir L4-S1 spinal segmentlerin oluşturduğu trunkustan ayrılan en kalın periferik sinirdir. Trokanterik bölgede unifasiküler haldeyken, 5-7 mm distale doğru ilerledikçe önce iki, sonra 4 fasiküle ayrılmaktadır. Tibial kısım tibial ve sural sinirlere dal verirken, peroneal kısım peroneal sinire ve baldırın üst lateral kısmının duyasunu almak için hamstring kasını delen sensöryel sinire dal vermektedir.

Geliştirilen sinir kondütlerinin doğru ve objektif şekilde incelenmesinin sağlanması için sensitif ve dakik değerlendirme metodlarına ihtiyaç vardır. Sinir rejenerasyonunun değerlendirilmesi uzun yıllardır elektrofizyolojik ve histomorfolojik metodlarla sağlanmıştır. Başarılı sinir rekonstrüksiyonunun esas kanıtı olan fonksiyonel iyileşme ise her zaman bu verilerle aynı oranda ilişkili olmamaktadır.(139) Bu yüzden de, fonksiyonel değerlendirme artık Medinaceli ve ark. tarafından tanımlanan ve sonrasında Bain ve ark. tarafından modifiye edilen siyatik fonksiyon indeksine istinaden yapılmaktadır.(140,141) Son yirmi yılda periferik sinir onarımı veya sinir greftiyle ilişkili birçok deneysel çalışma bu metodu kullanarak gerçekleşmiştir. (142-147)

Siyatik Fonksiyon İndeksi (SFI) ratın etkilenmiş ayak parmakları ile ayağı arasındaki çeşitli ölçümlere istinaden hesaplanmaktadır. Bu ölçümler standardize yürüme kulvarında ratın bıraktığı ayak izleri üzerinde yapılmaktadır.

2.7. Rat Jejunum Anatomisi

Rat ince barsağı ilk bölüm olan duodenum ile başlamakta olup yaklaşık 9-10 cm uzunluğundadır. Duodenumun kranial kısmı (pars cranialis duodeni) karaciğerin visseral yüzeyi ve sağ karın ön duvarı ile, inen kısmı ise (pars descendens duodeni) sağ böbrek ile komşudur. İlk duodenal fleksura olan kranial duodenal fleksura kranial ve inen kısımlar arasında yer almaktadır. Duoedunumun inen kısmıyla çıkan kısmı (pars ascendens duodeni)

arasında ikinci fleksura olan fleksura duodeni caudalis bulunmaktadır. Duodenumun çıkan kısmı orta hatta doğru jejunumla devam etmekte olup duodenumun son kısmı ile jejunum arasında bir diğer duodenojejunal fleksura yer almaktadır. İnce barsağın bu kısmı abdominal kavitenin sağ tarafını doldurmaktadır. Uzunluğu yaklaşık 90-130 cm arasında değişebilen jejunum çok miktarda lup yaparak abdominal kavitenin ventral kısmını doldurmaktadır. Takip eden kısmı ileum oluşturmakta olup uzunluğu yaklaşık 2-3 cm arasında değişmektedir. Duodenumun çapı 2,5- 3 mm, jejunumun 4-5 mm, ileumun ise 3-5 mm arasında değişebilmektedir. (148)

Çok sayıda jejunal arterler ana mezenterik trunkustan çıkan jejunal trunkuslardan ayrıldıktan sonra mezojejunum şeklinde adlandırılan zar yapı içerisinde seyrederek jejunum ve ileumun kraniyal kısmının beslenmesini sağlamaktadır. (Şekil 5) Barsak segmentleri üzerinde oluşan jejunal arklar jejunal arterlerin terminal kısımlarını oluşturmaktadır.



Şekil 5. Sıçan jejunum anatomisinin ortaya konulması.

Jejunum ve ileum benzer yapı ve fonksiyonlara sahip olmakla birlikte besinlerin sindirimi ve absorpsiyonundan sorumludurlar. Rat ince barsak yapısındaki villus yapıları literatürde birkaç kez araştırma konusu olmuş ve Clarke 1971 yılında duodenum dahil edilmekle birlikte ortalama 146.000 villus yapısının olduğunu bildirmiştir. Daha sonra Forrester 1972 yılında jejunum ve ileumda yaklaşık 127.600 villüs yapısının olduğunu belirtmiştir. (149) Sindirim kanal içeriği ve dokular arasında bariyer görevi gören epitel yapısı

besin transportu, sindirimi ve absorpsiyonu kolaylaştırmak için hormonların salınımını kontrol etmektedir. Bu tabakadaki hücreler kanalın kayganlığının sağlanması ve korunması için mukus salgısını gerçekleştirmektedirler. (150)

3. GEREÇLER VE YÖNTEM

Bu çalışma Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Kurulu'ndan etik kurul onayı alındıktan sonra Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen dişi Wistar Albino sıçanlar ile gerçekleştirildi. (Karar sayısı: 2017- 034) Çalışmada 250-300 gr ağırlığında toplam 90 adet belirtilen cinste ve türde sıçan kullanıldı. Sıçanların tüm bakım ve takipleri yine KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi tarafından gerçekleştirildi. Bu hayvanların hepsi aynı laboratuvarında standart şartlar altında bakımları, beslenmeleri düzenli olarak yapıldı. Barsak içeriğiyle kontaminasyonu minimize etmek için jejunal segmentlerin sinir kondüiti şeklinde kullanılması planlanan gruplar operasyondan önceki geceden itibaren aç bırakıldı.

3.1. Anestezi

Tüm cerrahi prosedürler ve deney sonunda sakrifikasyon işlemi için ötenazi anestezi altında gerçekleştirilmiştir. Xylazine (10mg/kg- Rompun®, Bayer,Türkiye) ve Ketamin (90 mg/kg - Ketalar®,Eczacıbası, Türkiye) karışımı birlikte uygulanmıştır. Cerrahi sonrasında analjezi amacıyla 100 mg/kg Parasetomal içme sularına karışdırılmıştır.

3.2 Cerrahi işlem

Çalışmada tüm sıçanların sağ uyluk siyatik sinirleri kullanıldı. Objektif değerlendirmenin sağlanması için sıçanların sol taraflarındaki siyatik sinirlerine herhangi işlem uygulanmadı. Uygun anestezi sağlandıktan sonrasında siyatik sinir diseksiyonu için sağ posterior bacak ve gluteal bölge, jejunum diseksiyonu içinse abdominal bölge tıraş edildi.

Cerrahi bölgeler Baticonol® (Alg, İstanbul) ile temizlendi ve ratlar operasyon tahtası üzerine önce yüz üstü yatırıldı. Sağ gluteal bölgeden sağ uyluğa doğru uzanan yaklaşık 2 cm'lik insizyonla girildikten sonra cilt flepleri eleve edildi. M. Biceps femoris kranial kısmı boyunca m.fascia lata kaldırıldı ve siyatik sinir gözlendi. Otomatik ekartör yardımıyla yeterli ekspozisyon sağlandıktan sonra siyatik sinir mikroskop altında etraf dokulardan nazikçe diseke edildi. (Carl Zeiss, f170, Opmi pico, Germany)

Sonrasında yara yeri üzerine steril nemli gazlı bez konularak sıçan ters çevrildi ve sırt üstü pozisyona alındı. Abdominal orta hatta 3-4 cm'lik vertikal insizyonla girildikten sonra cilt ve cilaltı tabakalar ekarte edildi. Karın ön duvar rektus kasları ve periton yine orta hat vertikal insizyonla ayrıldıktan sonra batına ulaşıldı. Jejunal luplar ve mezojejunum etraf dokulardan kibarca diseke edilerek ayrıldı ve ortaya konuldu. Batın bölgesinin açık olduğu cerrahi süre boyunca yaklaşık 10 dakika aralıklarla batın içerisi 5 cc steril serum fizyolojik ile yıkılarak dokuların ve organların sıvı kaybı engellendi. Transfer edilmesi planlanan 2 cm'lik jejunal segment belirlendikten sonra mevcut segmenti besleyen jejunal arter jejunal trunkusa kadar takip edildi. (Şekil 6) Mevcut segment proksimal ve distal kısımdan mikromakas ile kesilerek ayrıldıktan sonra geride kalan jejunal segmentler uç uca 7/0 propylene dikiş materyali (Doğan®, Polipropilen sentetik, emilmeyen, monofilaman suture P0812, Türkiye) ile mikroskop altında devamlı suture edilerek onarıldı. Anastomoz kaçacağını minimize etmek için 4 adet primer sutureasyon tekniğiyle ek dikiş atılarak destek sağlandı. İzole edilmiş olan 2 cm'lik pediküllü jejunum segmentini vasküler bağlantısının ayırmadan sağ uyluk posterior bölgede siyatik sinir alanına yerleştirmek için sağ uyluk intraabdominal kısımdan tünel oluşturuldu. Tünelden siyatik sinir alanına doğru transfer gerçekleştirildikten sonra karın ön duvarı ve cilt 4/0 propylene (Doğan®, Polipropilen sentetik, emilmeyen, monofilaman suture P3165, Türkiye) ile suture edilerek onarıldı.(Şekil 7)



Şekil 6. 2 cm'lik jejunum segmentinin pediküllü şekilde izole edilerek transfer için hazır hale getirilmesi



Şekil 7. İntraabdominal tünelden geçirildikten sonra pediküllü şekilde siyatik sinir alanına transfer edilen jejunum kondüiti

Daha sonra rat son pozisyonu almak üzere yeniden yüz üstü yatırıldı. Siyatik sinirde gruplara göre uygulanan farklı işlemler sonrasında jejunum segmenti tek taraflı uzunlamasına insizyonla açıldı ve sinir etrafına sarıldı. Sardıktan sonra uzunlamasına insizyon 8/0 nylon dikişler ile (Etilon, Monofilament polyamide 6 suture W2850, Ethicon Ltd, U.K) onarıldı ve sinirin jejunal konduit içerisinde sabitlenmesi sağlandı. Daha sonra cilt 4/0 propylene (Doğsan®, Polipropilen sentetik, emilmeyen, monofilaman suture P3165, Türkiye) ile suture edilerek onarıldı. Cerrahi sonrası 5 gün boyunca insizyon hatlarına günlük Baticonol® (Alg, İstanbul) sürülerek açık pansumanla takip edildi.

3.3.Gruplar

Bu çalışma, her grupta 10 (n=10) sıçan olmak üzere 9 grup oluşturularak 90 sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Tüm gruplarda, kullanılan dikiş materyalleri ve cerrahi tekniği standart şekilde ve tek cerrah tarafından gerçekleştirildi.

Grup 1 (Sham grubu- defektsiz sinir onarımı): Random seçilen 10 rat ile bu grup oluşturuldu. Siyatik sinir çentikten geçtikten 1 cm sonra tam kat kesildi. Daha sonra 8/0 nylon dikişler ile (Etilon, Monofilament polyamide 6 suture W2850, Ethicon Ltd, U.K) primer epinöral onarım gerçekleştirildi. Daha sonra cilt 4/0 propylene (Doğsan®, Polipropilen sentetik, emilmeyen, monofilaman suture P3165, Türkiye) ile suture edilerek onarıldı.

Grup 2 (Sinir grefti grubu): Random seçilen 10 rat ile bu grup oluşturuldu. Önceden periferik sinir çalışmaları için tanımlandığı şekilde siyatik çentikten geçtikten 5 mm sonra 8 mm sinir segmenti çıkararak 1 cm'lik sinir defekti oluşturuldu. (151) Eksize edilen sinir segmenti ters çevrilerek sinir grefti şeklinde defekt alana tekrar adapte edildi. Distal ve proksimal uçlar 8/0 nylon dikişler ile (Etilon, Monofilament polyamide 6 suture W2850, Ethicon Ltd, U.K) epinöral koapte edilerek onarıldı. Daha sonra cilt 4/0 propylene (Doğsan®, Polipropilen sentetik, emilmeyen, monofilaman suture P3165, Türkiye) ile suture edilerek onarıldı.

Grup 3 (Ven greftli onarım grubu): Random seçilen 10 rat ile bu grup oluşturuldu. Önceden periferik sinir çalışmaları için tanımlandığı şekilde siyatik çentikten geçtikten 5 mm sonra 8 mm sinir segmenti çıkararak 1 cm'lik sinir defekti oluşturuldu. (151) Daha sonra sağ servikal bölgeden yaklaşık 2 cm'lik vertikal oblik insizyonla girilerek sağ eksternal juguler ven ortaya konuldu. Distal ve proksimal uçları 7/0 propylene dikiş materyali (Doğsan®, Polipropilen sentetik, emilmeyen, monofilaman suture P0812, Türkiye) ile bağlandıktan sonra

mikromakas ile ayrılan 1 cm uzunluğunda eksternal juguler ven grefti ters çevrilerek sinir defekt alana yerleştirildi. 8/0 nylon dikişler ile (Etilon, Monofilament polyamide 6 suture W2850, Ethicon Ltd, U.K) siyatik sinir distal ve proksimal uçlarına koapte edildi. Servikal ve gluteal alanlar 4/0 propylene (Doğsan®, Polipropilen sentetik, emilmeyen, monofilaman suture P3165, Türkiye) ile suture edilerek onarıldı.

Grup 4 (Jejunum kondüitli defektli sinir onarımı grubu): Random seçilen 10 rat ile bu grup oluşturuldu. Önceden periferik sinir çalışmaları için tanımlandığı şekilde siyatik çentikten geçtikten 5 mm sonra 8 mm sinir segmenti çıkararak 1 cm'lik sinir defekti oluşturuldu. (151) Abdominal alandan transfer edilen 2 cm'lik pediküllü jejunum segmenti sinir etrafına sarıldı. Sarılan segment 8/0 nylon dikişler ile (Etilon, Monofilament polyamide 6 suture W2850, Ethicon Ltd, U.K) onarılarak sinirin kondüit içerisinde defektli şekilde sabitlenmesi sağlandı. Abdominal ve gluteal alanlar 4/0 propylene (Doğsan®, Polipropilen sentetik, emilmeyen, monofilaman suture P3165, Türkiye) ile suture edilerek onarıldı.

Grup 5 (Jejunum kondüitli defektsiz sinir onarımı grubu): Random seçilen 10 rat ile bu grup oluşturuldu. Siyatik sinir çentikten geçtikten 1 cm sonra tam kat kesildi. 8/0 nylon dikişler ile (Etilon, Monofilament polyamide 6 suture W2850, Ethicon Ltd, U.K) primer epinöral onarım sağlandıktan sonra abdominal alandan transfer edilen 2 cm'lik pediküllü jejunum segmenti sinir etrafına sarıldı. Sarılan segment 8/0 nylon dikişler ile (Etilon, Monofilament polyamide 6 suture W2850, Ethicon Ltd, U.K) onarılarak sinirin kondüit içerisinde sabitlenmesi sağlandı. Abdominal ve gluteal alanlar 4/0 propylene ile suture edilerek onarıldı.

Grup 6 (Jejunum kondüitli sinir grefti grubu): Random seçilen 10 rat ile bu grup oluşturuldu. Önceden periferik sinir çalışmaları için tanımlandığı şekilde siyatik çentikten geçtikten 5 mm sonra 8 mm sinir segmenti çıkararak 1 cm'lik sinir defekti oluşturuldu. (151)

Eksize edilen sinir segmenti ters çevrilerek sinir grefti şeklinde defekt alana tekrar adapte edildi. Distal ve proksimal uçlar 8/0 nylon dikişler ile (Etilon, Monofilament polyamide 6 suture W2850, Ethicon Ltd, U.K) epinöral koapte edilerek onarıldı. Abdominal alandan transfer edilen 2 cm'lik pediküllü jejunum segmenti sinir etrafına sarıldı. Sarılan segment 8/0 nylon dikişler ile (Etilon, Monofilament polyamide 6 suture W2850, Ethicon Ltd, U.K) onarılarak sinirin kondüit içerisinde sabitlenmesi sağlandı. Abdominal ve gluteal alanlar 4/0 propylene ile suture edilerek onarıldı.

Grup 7 (Mukozasız jejunum kondüitli defektli sinir onarımı grubu): Random seçilen 10 rat ile bu grup oluşturuldu. Önceden periferik sinir çalışmaları için tanımlandığı şekilde siyatik çentikten geçtikten 5 mm sonra 8 mm sinir segmenti çıkararak 1 cm'lik sinir defekti oluşturuldu. (151) Abdominal alandan transfer edilen 2 cm'lik pediküllü jejunum segmenti uzunlamasına insizyonla açıldı. Jejunumun villüslerden zengin mukozası sekresyon oluşumunu önlemek için mikromakasla trimlenerek eksize edildi. Sinir onarım sahası etrafına sarıldıktan sonra jejunum segmentinin uzunlamasına insizyon hattı 8/0 nylon dikişler ile (Etilon, Monofilament polyamide 6 suture W2850, Ethicon Ltd, U.K) onarılarak sinirin kondüit içerisinde defektli şekilde sabitlenmesi sağlandı. Abdominal ve gluteal alanlar 4/0 propylene (Doğsan®, Polipropilen sentetik, emilmeyen, monofilaman suture P3165, Türkiye) ile suture edilerek onarıldı.

Grup 8 (Mukozasız jejunum kondüitli defektsiz sinir onarımı grubu): Random seçilen 10 rat ile bu grup oluşturuldu. Siyatik sinir çentikten geçtikten 1 cm sonra tam kat kesildi. 8/0 nylon dikişler ile (Etilon, Monofilament polyamide 6 suture W2850, Ethicon Ltd, U.K) primer epinöral onarım sağlandıktan sonra abdominal alandan transfer edilen 2 cm'lik pediküllü jejunum segmenti uzunlamasına insizyonla açıldı. Jejunumun villüslerden zengin mukozası sekresyon oluşumunu önlemek için mikromakasla trimlenerek eksize edildi. Sinir onarım sahası etrafına sarıldıktan sonra jejunum segmentinin uzunlamasına insizyon hattı 8/0

nylon dikişler ile (Etilon, Monofilament polyamide 6 suture W2850, Ethicon Ltd, U.K) onarılarak sinirin kondüit içerisinde sabitlenmesi sağlandı. Abdominal ve gluteal alanlar 4/0 propylene (Doğsan®, Polipropilen sentetik, emilmeyen, monofilaman suture P3165, Türkiye) suture edilerek onarıldı.

Grup 9 (Mukozasız jejunum kondüitli sinir grefti grubu): Random seçilen 10 rat ile bu grup oluşturuldu. Önceden periferik sinir çalışmaları için tanımlandığı şekilde siyatik çentikten geçtikten 5 mm sonra 8 mm sinir segmenti çıkararak 1 cm'lik sinir defekti oluşturuldu. (151) Eksize edilen sinir segmenti ters çevrilerek sinir grefti şeklinde defekt alana tekrar adapte edildi. Distal ve proksimal uçlar 8/0 nylon dikişler ile (Etilon, Monofilament polyamide 6 suture W2850, Ethicon Ltd, U.K) epinöral koapte edilerek onarıldı. Abdominal alandan transfer edilen 2 cm'lik pediküllü jejunum segmenti uzunlamasına insizyonla açıldı. Jejunumun villüslerden zengin mukozası sekresyon oluşumunu önlemek için mikromakasla trimlenerek eksize edildi. Sinir onarım sahası etrafına sarıldıktan sonra jejunum segmentinin uzunlamasına insizyon hattı 8/0 nylon dikişler ile (Etilon, Monofilament polyamide 6 suture W2850, Ethicon Ltd, U.K) onarılarak sinirin kondüit içerisinde sabitlenmesi sağlandı. Abdominal ve gluteal alanlar 4/0 propylene (Doğsan®, Polipropilen sentetik, emilmeyen, monofilaman suture P3165, Türkiye) ile suture edilerek onarıldı.

3.4. Rejenerasyonun değerlendirilmesi

Sinir rejenerasyonu cerrahi işleminden 2 ay (60 gün) sonra yürüyüş testi ve histopatolojik incelemelerle değerlendirilmiştir.

3.4.1. Yürüyüş testi

2 aylık takip sonrasında çalışmadaki tüm sıçanlar 100x40x20 cm ebatlarında yürüyüş parkurunda yürütüldü. Baskı uzunluğu (PL): topuktan 3. parmak ucuna olan mesafe. Parmak

yaygınlığı (TS): 1. ve 5. parmak arasında ki mesafe. Ara parmak yaygınlığı (ITS): 2. ve 4. parmaklar arasındaki mesafe. Bu değerler kullanılarak Siyatik Fonksiyon İndeksi (SFI) hesaplandı. SFI Medinaceli ve ark. tarafından tanımlanan ve Bain ve ark. tarafından modifiye edilen formülasyona göre hesaplandı. (140,141) Bu formül: $SFI = -38.3X \left(\frac{EPL-NPL}{NPL} \right) + 109.5 X \left(\frac{ETS-NTS}{NTS} \right) + 13.3 X \left(\frac{EIT-NIT}{NIT} \right) - 8.8$ şeklindedir. Bu indekse göre 0-100 arasında değerlendirilme yapılmaktadır ve 0'a yakın değerler fonksiyonel olarak daha iyi sonuçlardır.

3.4.2. Histopatolojik inceleme

Sinir rejenerasyonunun histolojik değerlendirilmesi için sinir onarım hattını ve kondütileri de içerisine alacak şekilde 1 cm'lik uzunlamasına örnekler alındı. Bu preparatlar %10'luk formol çözeltisi ile fikse edildi. Fiksasyonu takiben örnek dokudan Mikrotom (Leica SM 2000R) ile sinir liflerine dik olacak şekilde 4 mikron kesitler alındı. Bu kesitler Hemotoksilen-Eozin, CD 34, Dual- fast blue ve Masson trikrom ile boyandı. Olympus BX-46 ışık mikroskobu ile değerlendirildi. Sinir rejenerasyonları ödem, fibrozis, inflamasyon, vaskülarizasyon, aksonal dejenerasyon, akson yoğunluğu, myelinizasyon, disorganizasyon ve baskın iltihabi hücre parametreleri açısından değerlendirilerek 0-3 arasında skorlandı.

3.4.3. İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS 24.0 (USA) bilgisayar programına girildi. Normal dağılıma uygunluk analizleri yapıldı. Normal dağılım gösteren değişkenlerin analizinde ANOVA testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen bağımsız değişkenlerin analizinde Kruskal Wallis Varyans Analizi kullanıldı. İkili karşılaştırmalar için Bon Verroni düzeltmeler Mann Whitney U testi kullanıldı. Tüm analizlerde $p < 0.05$ anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

4.BULGULAR

4. 1. Makroskopik değerlendirme ve Yürüyüş Testi

Cerrahi işlemlerden 2 ay sonra sıçanlara anestezi verilmeden önce yürüyüş testi yapılarak SFI hesaplandı. Sıçanların hiçbirinde bası yarası gözlenmedi. Cerrahi sahada ve insizyon hatlarında herhangi bir komplikasyona rastlanılmadı.

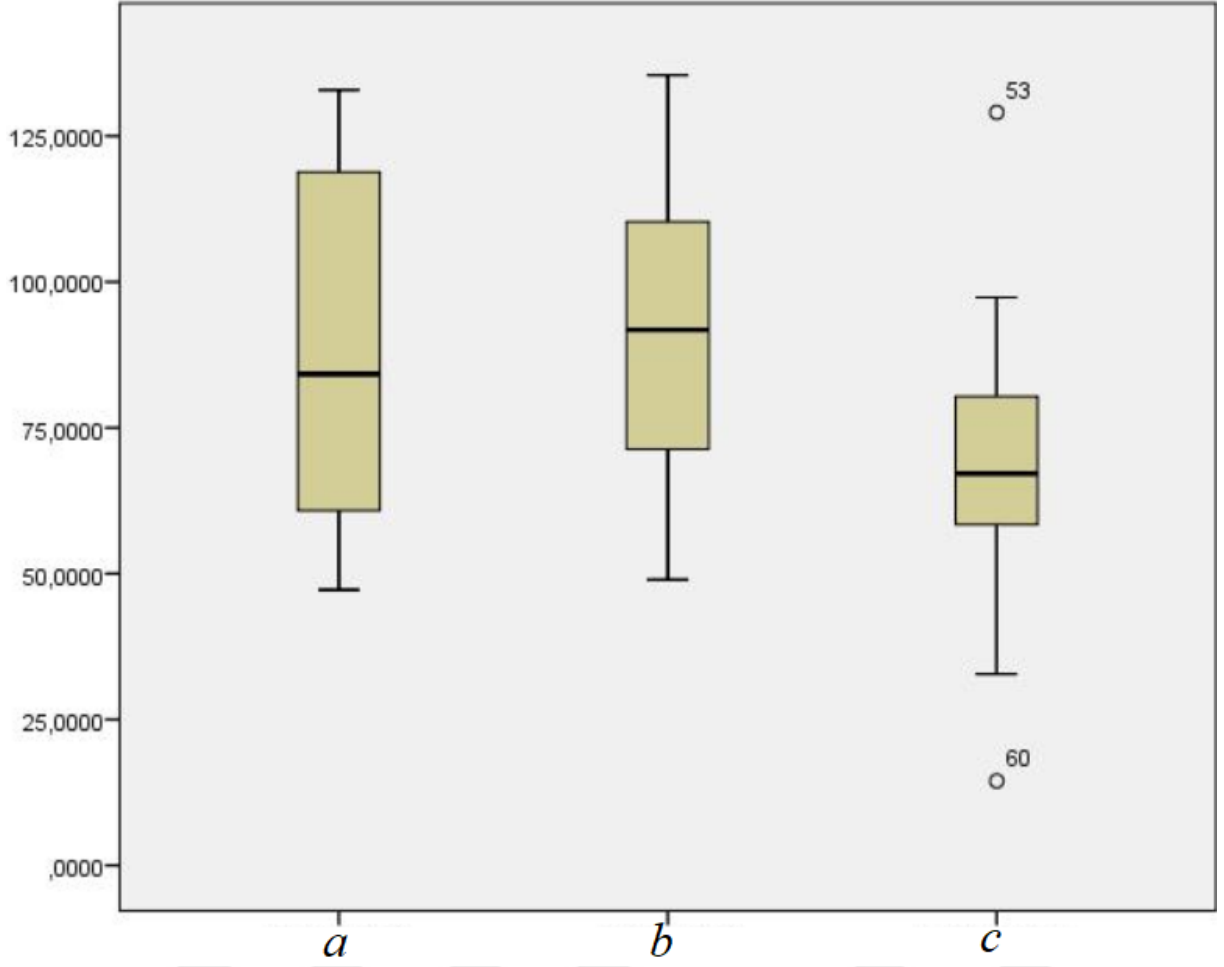
Siyatik sinir ve sinir kondüitlerin eksplorasyonu sonrasında Grup 4 ve 5'te her birinde iki ratta, grup 6'da ise bir ratta kondüitin içerisinde homojenik jel kıvamında sıvıyla dolduğu, ve bu kondüitlerde kist formasyonu geliştiği gözlemlendi. Makroskopik değerlendirmede grup 7,8 ve 9 hariç tüm gruplarda benzer ödem, inflamasyon ve fibrozis mevcuttu. Mukoza rezeksiyonu uygulanmış olan gruplarda ödem ve fibrozis belirgin oranda azdı. Aynı zamanda bu gruplarda koaptasyon hatları da rahatlıkla gözlenmekteydi.

Siyatik Sinir Fonksiyon İndeksi hesaplandı. Yürüme testinde değerlendirilen ortalama SFI değerleri sırasıyla: Grup 1'de 101.399, Grup 2'de 92.780, Grup 3'te 74.780, Grup 4'te 93.849, Grup 5'te 90.878, Grup 6'da 91.58, Grup 7'de 71.445, Grup 8'de 78.1981, Grup 9'da 54.942 olarak hesaplandı. (Tablo 1) (Şekil 7) Bu indekse göre 0-100 arasında değerlendirilme yapılmaktadır ve 0'a yakın değerler fonksiyonel olarak daha iyi sonuçlardır.



Şekil 8. Tüm grupların 2.ay sonunda yürüyüş analizlerinin görünüşleri

İstatistiksel çalışma öncelikle 3 farklı işlem yapılan gruplar arasında karşılaştırma yapılarak sağlandı. (Şekil 9)



Şekil 9. 3 farklı işlem yapılan gruplar arasında karşılaştırma: *a*: Grup 1, Grup 2 ve Grup 3; *b*: Grup 4, Grup 5 ve Grup 6; *c*: Grup 7, Grup 8 ve Grup 9'dan oluşmaktadır. Ortalama değerler: *a*:- 89,653; *b*:- 92,100; *c*:- 68,195. Mukozasız jejunum kondüiti uygulanan gruplarda SFI açısından diğer gruplara kıyasla anlamlı fark saptandı. ($p \approx .022$)

Daha sonra yapılan ikili gruplar arası karşılaştırmada (Mann-Whitney U testi) jejunum kondüiti uygulanan (Grup 4,5 ve 6) ve uygulanmayan gruplar (Grup 1,2 ve 3) arasında p değeri açısından istatistiksel anlamlılık görülmedi. Mukozasız jejunum kondüiti defektsiz sinir onarımı grubu (Grup 8) ile defektsiz sinir onarımı uygulanan grup (Grup 1) ve jejunum kondüiti defektsiz sinir onarımı (Grup 5) arasında yapılan karşılaştırmada mukozasız jejunum kondüiti uygulanan grupta daha iyi SFI sonuçları görüldü. (sırasıyla $p \approx .023$ ve $p \approx .038$) Sinir grefti üzerine etkinlik açısından mukozasız jejunum kondüiti sinir grefti grubu (Grup 9) ile jejunum kondüiti sinir grefti grubu (Grup 6) ve kondüitsiz sinir grefti uygulanan

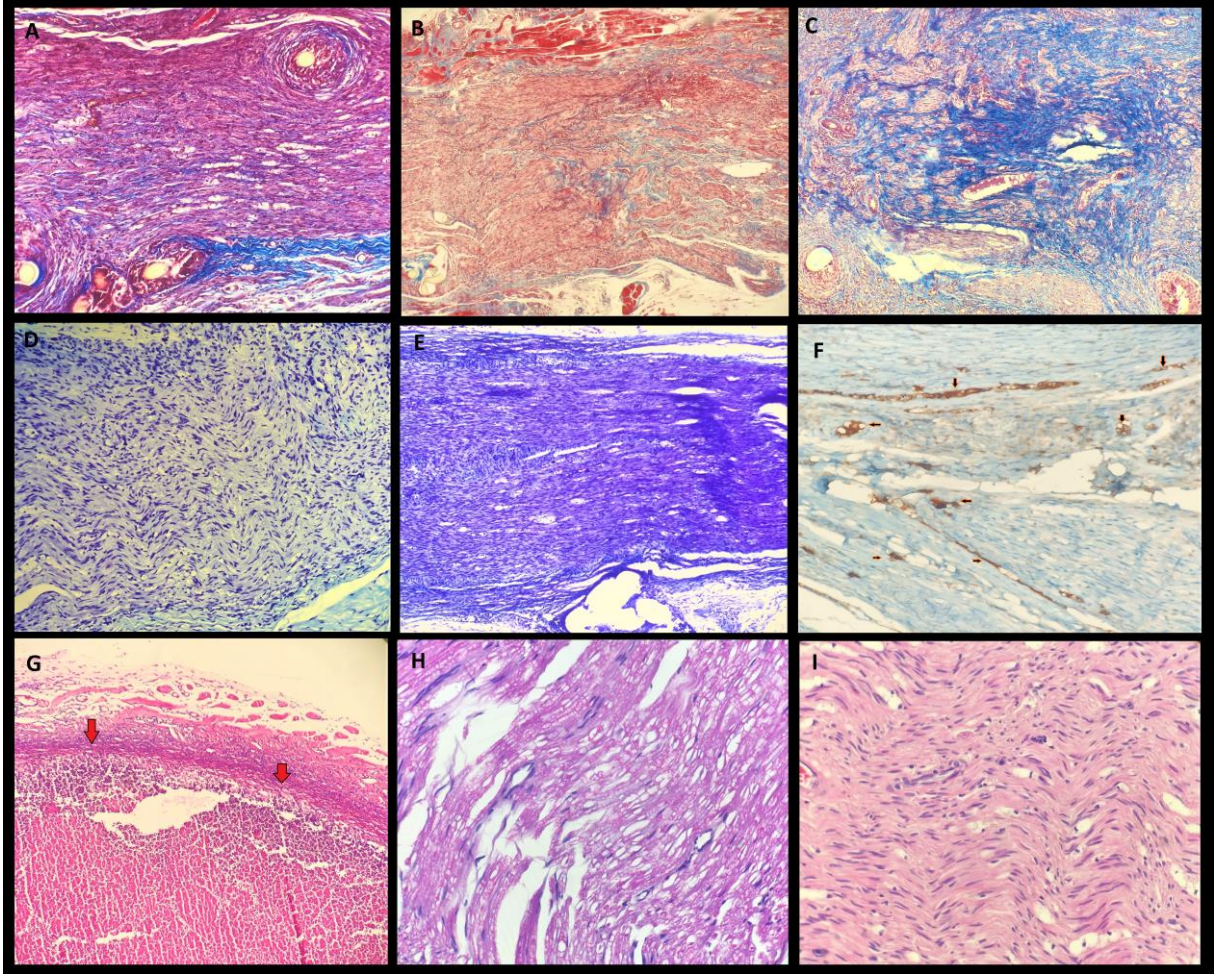
gruplar (Grup 2) arasında yapılan karşılaştırmada mukoza rezeksiyonu uygulanmış olan hayvanlarda daha iyi değerler görüldü. Defekt varlığında sinir rejenerasyonuna olan etkilerini değerlendirmek için mukozasız jejunum kondüitli defektli sinir onarımı grubu ile (Grup 7) jejunum kondüitli defektli sinir onarım grubu (Grup 4) ve ven greftli onarım grubu (Grup 3) karşılaştırıldı. Yapılan karşılaştırma sonucunda mukoza rezeksiyonlu jejunum kondüiti uygulanan grupta jejunum kondüitli gruba göre iyi sonuçlar elde edilmiş olsa da ($p \approx .005$, ven grefti grubu ile karşılaştırma istatistiksel anlamlı saptanmadı. ($p \approx .277$))

Grup	SFI	Ödem	İnflamasyon	Fibrozis	Vaskülarizasyon	Aksonal dejenerasyon	Akson yoğunluğu	Myelinizasyon	Disorganizasyon
1	101.399	+1	+1	+1.42	30.1	+2	26.14	+1.28	+2.85
2	92.780	0	+1	+1	15	+1.85	35	+2	+2.14
3	74.780	0	+1.14	+1	15.57	+1	45.42	+2	+1
4	93.849	+2	+2.42	+2.71	33.85	+2.42	14.14	+1	+2.71
5	90.878	+2	+2.57	+2.14	19.57	+2.57	20.85	+1.42	+2.28
6	91.58	+2	+2.71	+2.57	19.28	+2.71	14	+1.28	+2.14
7	71.445	+1	+1.42	+1.42	18.28	+1.14	41.14	+1.85	+1.71
8	78.1981	+0.02	+1.28	+1.42	17.42	+1.42	42.57	+2.85	+1.57
9	54.942	+0.71	+1.28	+1	18.28	+1	43.71	+2.92	+1.42

Tablo 1. Gruplardaki hayvanların SFI ve histopatolojik inceleme sonuçlarının ortalama değerleri.

4.2. Işık Mikroskopisi ile Değerlendirme

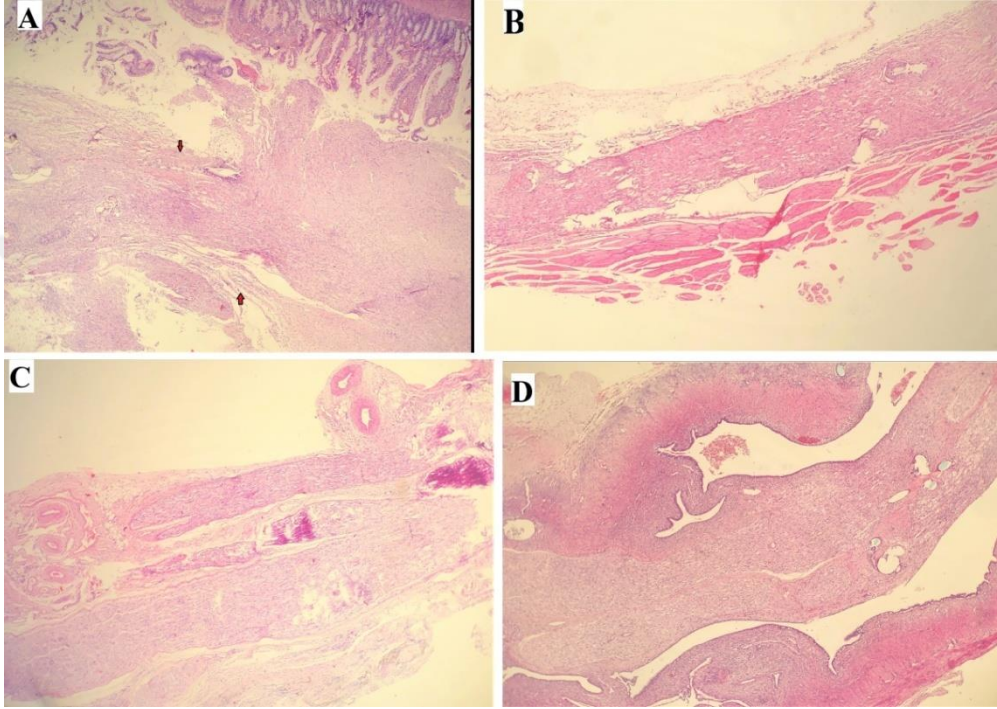
Alınan kesitler % 10' luk formol çözeltisi ile fikse edildikten sonra parafin blok ve Hemotoksilen-Eozin, LCA (lökosit common antijen)/ CD 45, Dual- fast blue ve Masson trikrom boylarıyla boyama gerçekleştirildi (Şekil 10).



Şekil 10. Histopatolojik boyama örnekleri. **A)** Masson Trichrom, X100; Fibrozis- skor +1; ince kollojen lifler (mavi renk), **B)** Masson Trichrom, X100; Fibrozis- skor +2, yer yer kalınlaşmış kollojen lifler (mavi renk), **C)** Masson Trichrom, X100; Fibrozis- skor +3, birleşen kalın kollojen lifler (mavi renk), **D)** Luxol fast Blue, X100; Myelinden fakir bir örnek, **E)** Luxol fast Blue, X100; Myelinden daha zengin bir örnek, daha mor renkli reaksiyon **F)** LCA, X100; damar yapıları kahverenkli reaksiyon vermektedir (ok), **G)** H&E, X40; Mukozası rezeke edilmeyen bir örnekte apseleşmiş kistleşme mevcut, lümende yoğun nötrofiller izlenmektedir (ok), **H)** H&E, X200; Aksonal dejenerasyon ve vakuolizasyon belirgin, **I)** H&E, X200; Aksonal dejenerasyon ve vakuolizasyon görülmemektedir.

Değerlendirilen parametrelerin gruptaki ortalama değerleri Tablo 1’de gösterilmiştir. Jejunum kondüiti ile onarım gerçekleştirilen grupta (Grup 4, 5 ve 6)

histopatolojik örneklerde mukozalardaki barsak villüsleri fark edilmekteyken, mukoza rezeksiyonu uygulanan jejunum kondütlerinde (Grup 7, 8 ve 9) bu tablo görülmedi (Şekil 11). Ayrıca yoğun iltihabi hücrelerden zengin kist formasyonu Grup 4,5 ve 6'da belirgin iken, inflamatuvar hücrelerden fakir seröz içerikli koleksiyon Grup 7, 8 ve 9'da görüldü.

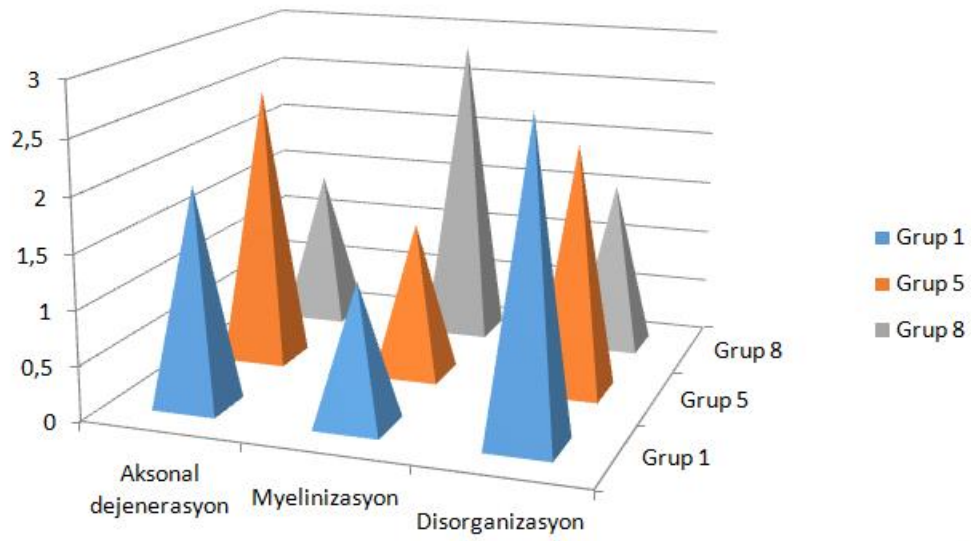


Şekil 11. Gruplardan bir kaçının H&E boyama görüntüleri. **A)** Grup 5 (Jejunum kondüitli defektsiz sinir onarımı grubu)- Yukarda barsak mukozası ve altta düzensiz geçişli fibrotik sinir geçiş alanı görülmektedir. (ok); **B)** Grup 3 (Ven greftli onarım grubu)- Düzenli sinir geçişleri görülmektedir; **C)** Grup 1 (Sham grubu- defektsiz sinir onarımı)- İyileşme alanında nöroma gelişimi fark edilmektedir; **D)** Grup 9 (Mukozasız jejunum kondüitli sinir grefti grubu)- Minimal kistleşme ve düzenli sinir geçişlerinde en iyi sonuçları içermektedir.

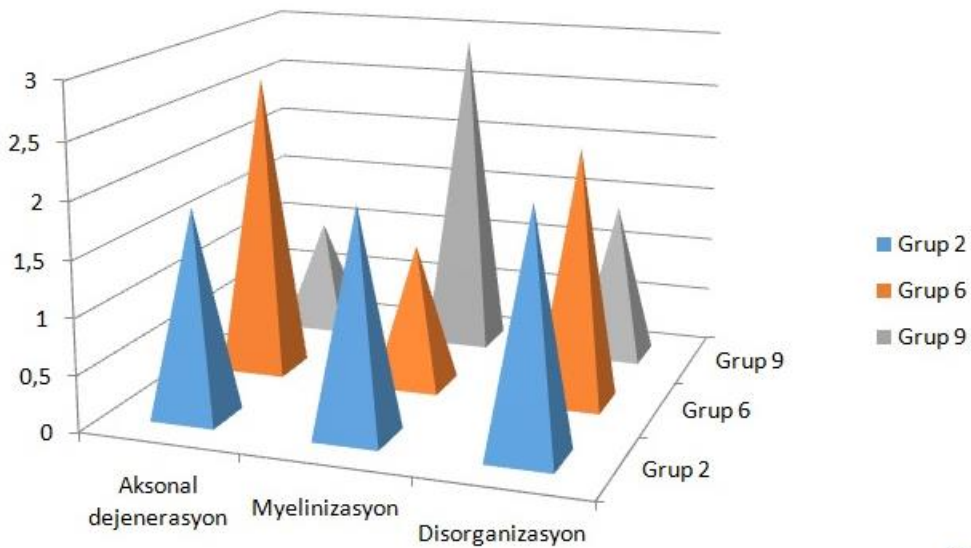
Baskın iltihabi hücre Grup 4 ve 5 dışındaki bütün gruplarda lenfosit idi. Grup 4 ve 5'te ise lenfosit, nötrofil ve plazmositten oluşan mikst hücre kümesiyle karşılaşıldı. İstatistiksel anlamlı fark mukoza rezeksiyonu uygulanan gruplarla (Grup 7, 8 ve 9) diğer gruplar arasında

saptandı. Grup 1, 2 ve 3 ile karşılaştırma sonucunda anlamlılık değeri $p \approx .044$ iken, Grup 4, 5 ve 6 ile karşılaştırma sonucunda bu değer $p \approx .005$ şeklinde idi. Histopatolojik parametrelerin grup içindeki ortalamaları ele alınarak gerçekleştirilen karşılaştırmalarda jejunum kondüiti ile onarım uygulanan gruplarda bütün parametreler açısından olumsuz değerlerle karşılaşıldı (Tablo 1). Mukoza rezeksiyonu sonrasında jejunum kondüiti uygulanan gruplarda ise anlamlı fark aksonal dejenerasyon, akson yoğunluğu, myelinizasyon ve disorganizasyon parametrelerinde görüldü (Şekil 12). Ödem, fibrozis, inflamasyon ve vaskülarizasyon açısından Grup 1, 2 ve 3'le Grup 7, 8 ve 9 arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptanmadı.

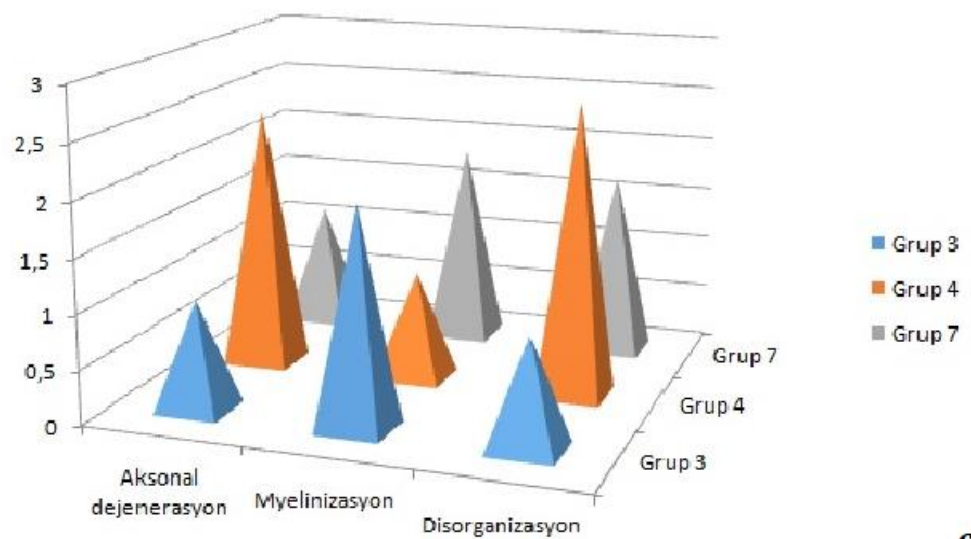




a



b



c

Şekil 12. Aksonal dejenerasyon, myelinizasyon ve disorganizasyon açısından gruplar arasında karşılaştırmalar: a) Grup 1, 5 ve 8, b) Grup 2, 6 ve 9, c) Grup 3, 4 ve 7 arasındaki karşılaştırmalar.

5. TARTIŞMA

Periferik sinir sistemi yaralanmaları toplumda çok sık karşılaşılmaya ve yüz yıllardır tedavi ve yönetimi üzerine çeşitli çalışmalar yapılmasına rağmen halen çözülmemiş problem olarak kalmaktadır. Periferik sinir yaralanmaları sonrasında oluşan histopatolojik değişiklikler, sinir dokusunun travmaya yanıtı ve sinir rejenerasyonu sırasında iyileşmeye engel olan esas faktörlerin belirlenmesi birçok araştırmaların konusu olmaya devam etmektedir. Periferik sinir yaralanmalarının her zaman sinir uçlarının uç uca onarımıyla gerçekleşecek şekilde düz ve temiz yaralarla karakterize olmaması nedeniyle defektli sinirlerin onarımı da başka bir araştırma konusudur. Hem defektin uygun şekilde tamamlanması hem de sinir rejenerasyonunun en iyi şekilde gerçekleşmesini sağlamak sinir kondüitlerine ihtiyaç doğurmuştur.

Sinir defektlerinin onarımında altın standart yöntem halen sinir grefti kullanımındır. (5,153-156) Sinir greftlerinin kullanımı her ne kadar ilk tercih edilen yöntem olsa da, donör alan morbiditesi ve sınırlı boyutlarda sinir grefti elde edebilme gibi bir takım dezavantajlar bu tekniği kısıtlamaktadır. Ortaya çıkan ihtiyaçlar zemininde çeşitli biyolojik ve sentetik materyallerin sinir kondüiti şeklinde kullanımı yaygınlaşmıştır. Bu konu üzerine çalışmalar 19. yüzyılın sonlarından itibaren başlamış olup halen devamlılığını sürdürmektedir. (151, 155, 157-158) Bu tübüler yapıların esas amacı etraf dokulardan bağımsız şekilde sinirin distal ve proksimal güdükleri arasında bağlantı sağlayarak sinir rejenerasyonunu hızlandırmaktır. (159) İdeal sinir kondüitinin biyoyumlu, vücutta çözülebilir, esnek, nörostimülatör yapılar için endükleyici ve yüksek geçirgen olması gerekmektedir. (116) Son dönem çalışmalarda, periferik sinir yapılarına olabildiğince benzer yapılarla sinir tübülizasyonu sağlanarak daha

uyumlu ve daha az yan etkili rejenerasyon elde edilmeye çalışılmıştır. (160) Emilebilir sentetik materyaller biyoyumlu olmaları ve immün sistemi daha az tetiklediklerinden dolayı en çok tercih edilen kondüitlerdir. Degradasyon oranı ve mekanik özellikleri üretim esnasında kontrol edilerek kondüitin hastanın ihtiyacına göre özelleştirilmesi mümkündür. (116,161) Gelişmelere açık potansiyeli olan sinir kondüitlerinin bahsedilen avantajlarına rağmen, ilerleyen dönemlerde sinir grefti ve nörorafi yöntemlerinin yerine geçip geçemeyeceği tartışma konusu olarak kalmaktadır. (162)

Çalışmamızda canlının kendi jejunum dokusu, daha önce tanımlanmış olan biyolojik kondüitlerde olduğu gibi greft şeklinde değil, pediküllü şekilde transfer edilerek sinir onarım sahasına yerleştirildi. Segmental beslenme paternine sahip jejunum dokusu en uygun jejunal dal üzerinden beslenecek şekilde hazırlandı. Transfer edildikten sonra siyatik sinir alanında da intraabdominal beslenmesi devam eden jejunum dokusu 9 gruptan 6'da uygulandı. Bu gruplardan üçünde normal villuslerden zengin mukoza anatomisi bozulmamışken, diğer üçünde sekresyon birikimini engellemek için jejunum tübüler yapısı longitudinal insizyonla uzunlamasına açıldıktan sonra mukoza rezeksiyonu işlemine tabi tutuldu. Yi ve ark. yaptıkları çalışmada domuz ince barsak mukozasını çeşitli işlemlere tabi tuttuktan sonra in vivo ortamda asellüler hale getirmiş ve sinir kılavuz kanalı şeklinde kullanarak siyatik sinir iyileşmesine olan etkisini araştırmışlardır.(163) Değerlendirme sonucunda hazırlanmış olan ince barsak mukozasının NGF benzeri etki göstererek sinir rejenerasyonunu hızlandırdığı ve gelecek klinik uygulamalarda otolog sinir greftinin yerini alabileceği bildirilmiştir. Barsak dokusunun sinir rejenerasyonuna etkisini araştıran bir başka çalışma da Arda ve ark. tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu deneysel çalışmada da 15 mm'lik ileum segmenti batın içi girişimle elde edilmiş ve siyatik sinir iyileşmesine olan etkisi açısından sinir greftiyle karşılaştırılmıştır. Greft şeklinde kullanılan intestinal segmentin sinir iyileşmesine olumlu etkileri gösterilse de, değerlendirme neticesinde sinir greftinin anlamlı daha iyi olduğu belirtilmiştir.(14)

Bizim çalışmamızda mukoza rezeksiyonu işlemine tabi tutulan jejunum kondütleriyle yapılan sinir onarımlarında fonksiyonel iyileşme açısından anlamlı farklılık görüldü. Hayvanların 2.ay cerrahileri ve örnek elde etme işlemleri sırasında makroskopik olarak dokularda ödem ve fibrozis mukozasız jejunum kondüiti uygulanan gruplarda en azdı. Her hangi mukoza rezeksiyonu yapılmadan jejunum kondüiti uygulanmış olan gruplardan Grup 4 ve 5'te her birinde iki ratta, grup 6'da ise bir ratta kist formasyonu gözlemlendi. Bunu jejunal mukoza ve submukozadaki oldukça fazla sayıda glandlardan salgılanan sekresyonların oluşturduğu düşünülmektedir. Mukozada bulunan villus yapılarının sinir rejenerasyonu üzerine öngörülen olumlu etkisinin aksine, mevcut sekresyonların oluşturduğu kistik yapılar ve inflamatuvar zemin sinir iyileşmesini ve dolayısıyla da, SFI'ni kötü yönde etkilemiştir. Defektsiz, defektli ve sinir greftiyle onarım gerçekleştirilen grupların hemen hepsinde jejunum kondüiti ile mukoza rezeksiyonlu jejunum kondüiti arasında belirgin fark mevcuttu. (Tablo 1)

Çalışmamızda ven greftiyle onarım grubu defektli onarım sağlanan jejunum ve mukozasız jejunum kondüiti grupların karşılaştırılması için oluşturuldu. Ven greftlerinin sinir defektlerinin onarımında kullanımı literatürde geniş kapsamda araştırılan konulardan biridir.(164) Ven kondütleri akson fibrillerinin nöroafi sahasında kenarlara doğru tomurcuklanmasını engelleyerek sinir rejenerasyonuna katkıda bulunmaktadır. Bunun dışında, damarın endotelyal tabakasından kondüit içerisine salgılanan nörotrofik faktörler sayesinde rejenerasyon için olumlu ortam elde edilmektedir. Ayrıca, ven kondütleri daha az miktarda inflamatuvar hücrelerin göç etmesine öncülük ederek aksonal rejenerasyonun maksimum sağlanmasına yardımcı olmaktadır (165,166) Biz çalışmada Grup 3'te hayvanların siyatik sinirlerinde oluşturulan defekt alanın onarımı için, aynı hayvanın sağ servikal bölgesine yaklaşık 2 cm'lik vertikal oblik insizyonla girdikten sonra elde ettiğimiz sağ eksternal juguler veni kullandık. Literatürde ratlar üzerinde yapılan deneysel mikrocerrahi eğitimlerinde

eksternal juguler venin yerleşim, ulaşım, yeterli çap ve uzunluk açısından kolaylıklar sağladığı bilinmektedir.(167) Çalışmamızda defektli sinir onarımlarının kıyaslanmasında mukozasız jejunum kondüiti kullanımı ile ven grefti kullanımı arasında anlamlı fark saptanmadı.

Literatürde bilinen kondüit seçeneklerinin kullanım şekli greft uygulamasına dayanmaktadır. Bundan başka, var olan doğal veya sentetik kondütler, in vivo veya in vitro ortamlarda çeşitli trofik faktörlerden zengin hale getirilerek sinir rejenerasyonu için olumlu ortam elde edilmeye çalışılmaktadır. Bilindiği üzere, yara yatağındaki kanlanma başarılı rejenerasyon için en önemli parametrelerden biridir. Vaskülarizasyon ve anjiyogenezin sinir grefti başarısı üzerine etkisi literatürde araştırılmıştır.(168) Klinik uygulamalarda, sinir grefti ihtiyacı sıklıkla ezilme tipi yaralanmalarda ve gecikmiş olgularda ortaya çıkmaktadır. Bu olgular aynı zamanda yara yatağının kanlanmadan fakir, inflamasyon ve yabancı cisimden zengin olduğu yaralar içermektedir. Dolayısıyla, sinir grefti kullanımı gerektiren defektli yaralar aynı zamanda güzel kanlanan yara zeminine de ihtiyaç duymaktadırlar. Çalışmamızın amacı beslenmesi var olan tübüler bir organın kondüit şeklinde kullanımıyla sinir rejenerasyonuna olumlu etkileri ortaya koymaktır. Böylece, pediküllü şekilde tasarlanan bir kondüit transfer edildiği bölgede ekstra kan dolaşımına ihtiyaç duymamakla birlikte, yara zemininin olumsuz koşullarından da göreceli etkilenmemektedir. Ayrıca, pediküllü flep kondüiti tasarımı, uygun olmayan onarım sahalarında greft şeklinde yerleştirilen kondütlerde karşılaşma olasılığı muhtemel olan nekroz ihtimalini de ortadan kaldırmaktadır.

Çalışmanın sonucuna göre hem fonksiyonel, hem de histopatolojik iyileşme mukoza rezeksiyonlu jejunum kondüiti uygulanmış gruplarda daha belirgindi. Ven greftiyle onarım uygulanan grup mukoza rezeksiyonlu jejunum kondüiti uygulanan gruplarla benzer sonuçlar göstermekteydi. Aksonal liflerin düzenli dizilimi ve yoğunluğu diğer gruplara göre anlamlı farklılık sergiledi. Primer onarım ve sinir greftiyle sinir devamlılığı sağlanan örneklerde

nöroma oluşumu ve aksonal liflerin kesintisiyle sık karşılaşıldı. Defektli olguların devamlılık sağlanmadan stabil bir tübüler yapı içerisinde spontan rejenerasyona bırakılmasının aksonların uç uca getirilmesi prensibine karşı üstünlük içerip içermemesi literatürde yeniden gözden geçirilmesi gereken durumlardan biridir.

6. SONUÇ

Bu çalışmada, var olan kondüitlerin kullanım prensibinden farklı olarak, pediküllü şekilde tasarlanan otojen jejunum flebinin sinir rejenerasyonu üzerine etkinliği araştırıldı. Pediküllü jejunum flebinin mukoza rezeksiyonu sonrasında sinir onarım sahasına yerleştirilmesinin rejenerasyon etkinliğini fonksiyonel ve histopatolojik açıdan arttırdığını deneysel model üzerinde gösterdik. Periferik sinir yaralanmalarında tübüler paterne sahip otojen dokunun vaskülarize kondüit flebi şeklinde klinik uygulanmasının rejenerasyon üzerine olumlu katkıları ileri araştırmalarla gösterilebilir.

7. KAYNAKLAR

1. Wojtkiewicz DM, Saunders J, Domeshek L, Novak CB, Kaskutas V, Mackinnon SE. Social impact of peripheral nerve injuries. *Hand (N Y)*. 2015;10(2):161-167.
2. Antoniadis G, Kretschmer T, Pedro MT, Konig RW, Heinen CP, Richter HP. Iatrogenic nerve injuries: Prevalence, diagnosis and treatment. *Deutsches Ärzteblatt International*. 2014;111(16), 273–279.
3. Wang E, Inaba K, Byerly S, Escamilla D, Cho J, Carey J, Stevanovic M, Ghiassi A, Demetriades D. Optimal timing for repair of peripheral nerve injuries. *J Trauma Acute Care Surg*. 2017 Nov;83(5):875-881.
4. Siemionow M, Brzezicki G. Chapter 8 current techniques and concepts in peripheral nerve repair. *Int Rev Neurobiol* 2009; 87: 141e72.
5. Ray WZ, Mackinnon SE. Management of nerve gaps: autografts, allografts, nerve transfers, and end-to-side neurorrhaphy. *Exp Neurol*. 2010;223(1):77-85. doi:10.1016/j.expneurol.2009.03.031
6. Kotani T, Toshima Y, Matsuda H, Suzuki T, Ishizaki Y. [Postoperative results of nerve transposition in brachial plexus injury]. *Seikei Geka* 1971;22:963–966.
7. Tuttle H. Exposure of the brachial plexus with nerve transplantation. *JAMA* 1913:15–17
8. Brandt KE, Mackinnon SE. A technique for maximizing biceps recovery in brachial plexus reconstruction. *J Hand Surg [Am]* 1993;18:726–733.
9. El-Gammal TA, Fathi NA. Outcomes of surgical treatment of brachial plexus injuries using nerve grafting and nerve transfers. *J Reconstr Microsurg* 2002;18:7–15.

10. Waikakul S, Wongtragul S, Vanadurongwan V. Restoration of elbow flexion in brachial plexus avulsion injury: comparing spinal accessory nerve transfer with intercostal nerve transfer. *J Hand Surg [Am]* 1999;24:571–577
11. Samardzic M, Grujicic D, Rasulic L, Bacetic D. Transfer of the medial pectoral nerve: myth or reality? *Neurosurgery* 2002;50:1277–1282.
12. Sabongi RG, Fernandes M, Dos Santos JB. Peripheral nerve regeneration with conduits: use of vein tubes. *Neural Regen Res.* 2015;10(4):529-33.
13. Sahin C, Karagoz H, Kulaheci Y et al. Minced nerve tissue in vein grafts used as conduits in rat tibial nerves. *Ann Plast Surg.* 2014;73(5):540-6.
14. Arda MS, Koçman EA, Özkara E et al. Can a Small Intestine Segment Be an Alternative Biological Conduit for Peripheral Nerve Regeneration? *Balkan Med J.* 2017;34(3):246-254.
15. Seyed Foroutan K, Khodarahmi A, Alavi H et al. Bone marrow mesenchymal stem cell and vein conduit on sciatic nerve repair in rats. *Trauma Mon.* 2015;20(1):e23325.
16. Thau L, Reddy V, Singh P. Anatomy, Central Nervous System. [Updated 2020 May 24]. In: StatPearls [Internet].
17. Junguiera L.C, Carneiro J, Kelley R.O, Basic histology, Nerve tissue, s 163-194, 7 th ed. Appleton, Lange 1992
18. Catala M, Kubis N. Groos anatomy and development of the peripheral nervous system. *Handb Clin Neurol.* 2013;115:29-41
19. Goldstein B. Anatomy of the peripheral nervous system. *Phys Med Rehabil Clin N Am.* 2001 May;12(2):207-36.
20. Mills SE (2012) *Histology for pathologists*, 4th Edition. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health

21. Geuna S, Raimondo S, Ronchi G, Di Scipio F, Tos P, Czaja K, Fornaro M (2009) Chapter 3: Histology of the peripheral nerve and changes occurring during nerve regeneration. *Int Rev Neurobiol* 87:27-46.
22. Sunderland S S. *Nerves and Nerve Injuries*, 2nd Ed. (1978). Churchill Livingstone, Edinburgh.
23. Sunderland S., Bradley KC. The cross-sectional area of peripheral nerve trunks devoted to nerve fibers. *Brain* 1949; 72, 428–449
24. Key A., Retzius G. *Studien in der anatomie des nerven systems und des bindegewebes.* (1876) Samson & Wallin, Stockholm
25. Akert K, Sandri C, Weibel ER, Peper K, Moor H. The fine structure of the perineural endothelium. *Cell Tissue Res.* 1976 Jan 27;165(3):281-95.
26. Thomas PK, Jones DG. The cellular response to nerve injury. II. Regeneration of the perineurium after nerve section. *J Anat.* 1967;101(Pt 1):45-55.
27. Thomas P, Olsson Y. *Microscopia Anatomy and Junction of the Connective Tissue Components of Peripheral Nerve.* (1984). Peripheral neuropathy, Philadelphia.
28. Millesi H, Terzis JK. Nomenclature in peripheral nerve surgery. Committee report of the International Society of Reconstructive Microsurgery. *Clin Plast Surg.* 1984 Jan;11(1):3-8.
29. Williams PL. *Gray's Anatomy.* (1999) Churchill livingstone, London.
30. Selander D, Sjöstrand J. Longitudinal spread of intraneurally injected local anesthetics. An experimental study of the initial neural distribution following intraneural injections. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1978;22(6):622-34.
31. Lundborg G. *Nerve Injury and Repair.* (2004) Elsevier, Philadelphia, PA.
32. Thomas P, Berthold C, Ochoa J. *Microscopic Anatomy of the PNS.* 1993. Peripheral neuropathy, Philadelphia.

33. Low PA. Endoneural fluid pressure and microenvironment of the nerve. In *Peripheral Neuropathy*. 1984 (P. J. Dyck, P. K. Thomas, E. H. Lambert, and R. Bunge, Eds.), pp. 599–617. WP Saunders, Philadelphia.
34. Powell HC, Myers RR, Costello ML, Lampert PW. Endoneurial fluid pressure in wallerian degeneration. *Ann Neurol*. 1979 Jun;5(6):550-7.
35. Causey G, Barton AA. The cellular content of the endoneurium of peripheral nerve. *Brain*. 1959 Dec;82:594-8.
36. Thomas PK, Ochoa J Microscopic anatomy of peripheral nerve fibers. In: PJ Dyck, PK Thomas, EH Lambert, R Bunge (Eds.). 1984. *Peripheral Neuropathy*, W.B. Saunders, Philadelphia, p. 39
37. Mirsky R. et al.. Schwann cells as regulators of nerve development. *J. Physiol. Paris* 96, 17–24 (2002).
38. Purves D, Nja A. Trophic maintenance of synaptic connections in autonomic ganglia. In *Neuronal Plasticity*. (1978). (C. W. Cotman, Ed.), pp. 27–47. Raven Press, New York.
39. Ducker TB, Kempe LG, Hayes GJ. The metabolic background for peripheral nerve surgery. *J Neurosurg*. 1969 Mar;30(3):270-80.
40. Lieberman AR. The axon reaction: a review of the principal features of perikaryal responses to axon injury. *Int Rev Neurobiol*. 1971;14:49-124.
41. Fu SY, Gordon T. The cellular and molecular basis of peripheral nerve regeneration. *Mol Neurobiol*. 1997 Feb-Apr;14(1-2):67-116.
42. Müller HW, Stoll G. Nerve injury and regeneration: basic insights and therapeutic interventions. *Curr Opin Neurol*. 1998 Oct;11(5):557-62.
43. Terzis J, Smith K. *The Peripheral Nerve. Structure, Function and Reconstruction*. (1990). Raven Press, New York.

44. Hökfelt T, Zhang X, Wiesenfeld-Hallin Z. Messenger plasticity in primary sensory neurons following axotomy and its functional implications. *Trends Neurosci.* 1994 Jan;17(1):22-30.
45. Fornaro M, Lee JM, Raimondo S, Nicolino S, Geuna S, Giacobini-Robecchi M. Neuronal intermediate filament expression in rat dorsal root ganglia sensory neurons: an in vivo and in vitro study. *Neuroscience.* 2008 Jun 2;153(4):1153-63.
46. Tetzlaff W, Bisby MA, Kreutzberg GW. Changes in cytoskeletal proteins in the rat facial nucleus following axotomy. *J Neurosci.* 1988 Sep;8(9):3181-9.
47. Schreyer DJ, Skene JH. Fate of GAP-43 in ascending spinal axons of DRG neurons after peripheral nerve injury: delayed accumulation and correlation with regenerative potential. *J Neurosci.* 1991;11(12):3738-3751. doi:10.1523/JNEUROSCI.11-12-03738.1991
48. Tetzlaff W, Alexander SW, Miller FD, Bisby MA. Response of facial and rubrospinal neurons to axotomy: changes in mRNA expression for cytoskeletal proteins and GAP-43. *J Neurosci.* 1991 Aug;11(8):2528-44.
49. Cajal RS. *Degeneration and Regeneration of the Nervous System.* (1928) Oxford University Press, London
50. Fawcett JW, Keynes RJ. Peripheral nerve regeneration. *Annu Rev Neurosci.* 1990;13:43-60.
51. Mira JC. Effects of repeated denervation on muscle reinnervation. *Clin Plast Surg.* 1984 Jan;11(1):31-8.
52. Witzel C, Brushart T. Morphology of peripheral axon regeneration. *J. Peripher. Nerv. Syst.* 2003; 8, 75–76.
53. Son YJ, Thompson WJ. Schwann cell processes guide regeneration of peripheral axons. *Neuron.* 1995 Jan;14(1):125-32.

54. Flores AJ, Lavernia CJ, Owens PW. Anatomy and physiology of peripheral nerve injury and repair. *Am J Orthop (Belle Mead NJ)*. 2000 Mar;29(3):167-73.
55. Lubińska L. Patterns of Wallerian degeneration of myelinated fibres in short and long peripheral stumps and in isolated segments of rat phrenic nerve. Interpretation of the role of axoplasmic flow of the trophic factor. *Brain Res*. 1982 Feb 11;233(2):227-40.
56. Schlaepfer WW. Structural alterations of peripheral nerve induced by the calcium ionophore A23187. *Brain Res*. 1977 Nov 4;136(1):1-9
57. Vial JD. The early changes in the axoplasm during wallerian degeneration. *J Biophys Biochem Cytol*. 1958;4(5):551-555.
58. Heumann R. Regulation of the synthesis of nerve growth factor. *J. Exp. Biol* 1987 Sep;132:133-150.
59. Thoenen H, Bandtlow C, Heumann R, Lindholm D, Meyer M, Rohrer H. Nerve growth factor: cellular localization and regulation of synthesis. *Cell Mol Neurobiol*. 1988 Mar;8(1):35-40.
60. Funakoshi H, Frisé J, Barbany G, et al. Differential expression of mRNAs for neurotrophins and their receptors after axotomy of the sciatic nerve. *J Cell Biol*. 1993;123(2):455-465.
61. Geuna S, Nicolino S, Raimondo S, Gambarotta G, Battiston B, Tos P, Perroteau I. Nerve regeneration along bioengineered scaffolds. *Microsurgery*. 2007;27(5):429-38.
62. Baron-Van Evercooren A, Kleinman HK, Ohno S, Marangos P, Schwartz JP, Dubois-Dalcq ME. Nerve growth factor, laminin, and fibronectin promote neurite growth in human fetal sensory ganglia cultures. *J Neurosci Res*. 1982;8(2-3):179-93.
63. Hall S. Axonal regeneration through acellular muscle grafts. *J Anat*. 1997;190 (Pt 1)(Pt 1):57-71.

64. Liu HM. Growth factors and extracellular matrix in peripheral nerve regeneration, studied with a nerve chamber.
65. Daniloff JK, Levi G, Grumet M, Rieger F, Edelman GM. Altered expression of neuronal cell adhesion molecules induced by nerve injury and repair. *J Cell Biol.* 1986 Sep;103(3):929-45.
66. Walsh FS, Doherty P. Cell adhesion molecules and neuronal regeneration. *Curr Opin Cell Biol.* 1996 Oct;8(5):707-13.
67. Aguayo AJ, Peyronnard JM, Bray GM. A quantitative ultrastructural study of regeneration from isolated proximal stumps of transected unmyelinated nerves. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1973 Apr;32(2):256-70.
68. Sanders FK, Young JZ. The influence of peripheral connexion on the diameter of regenerating nerve fibres. *J Exp Biol.* 1946 May;22:203-12.
69. Povlsen B, Hildebrand C. Axonal regeneration in an articular branch following rat sciatic nerve lesions. *J. Neurol. Sci.* 1993;120, 153–158.
70. Griffin JW, Hoffman PN. Degeneration and regeneration in the peripheral nervous system. In “Peripheral Neuropathy.” (1993). (P. J. Dyck and P. Thomas, Eds.), WB Saunders, Philadelphia.
71. Morris JH, Hudson AR, Weddell G. A study of degeneration and regeneration in the divided rat sciatic nerve based on electron microscopy. I. The traumatic degeneration of myelin in the proximal stump of the divided nerve. *Z Zellforsch Mikrosk Anat.* 1972;124(1):76-102.
72. Lundborg G. *Nerve Injury and Repair.* 2004. Elsevier, Philadelphia, PA.
73. Salonen V, Lehto M, Vaheri A, Aro H, Peltonen J. Endoneurial fibrosis following nerve transection. An immunohistological study of collagen types and fibronectin in the rat. *Acta Neuropathol.* 1985;67(3-4):315-21.

74. Barton AA. An electron microscope study of degeneration and regeneration of nerve. *Brain*. 1962; 85, 799–808
75. Thomas PK. Changes in the endoneurial sheaths of peripheral myelinated nerve fibres during Wallerian degeneration. *J Anat*. 1964;98(Pt 2):175-182.
76. Seddon HJ. Three types of nerve injuries. *Brain*. 1943;66:237.
77. Choi EJ, Choi YM, Jang EJ, Kim JY, Kim TK, Kim KH. Neural Ablation and Regeneration in Pain Practice. *Korean J Pain*. 2016;29(1):3-11.
78. Burnett MG, Zager EL. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. *Neurosurg Focus*. 2004 May 15;16(5):E1.
79. Campbell WW. Evaluation and management of peripheral nerve injury. *Clin Neurophysiol*. 2008 Sep;119(9):1951-65.
80. Sunderland S. A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. *Brain*. 1951 Dec;74(4):491-516.
81. Chhabra A, Ahlawat S, Belzberg A, Andreseik G. Peripheral nerve injury grading simplified on MR neurography: As referenced to Seddon and Sunderland classifications. *Indian J Radiol Imaging*. 2014;24(3):217-224.
82. Mackinnon S, Dellon A. Diagnosis of nerve injury. In *Surgery of the peripheral nerve* 1988; 74–79. New York, NY: Thieme.
83. Kline DG. Timing for brachial plexus injury: a personal experience. *Neurosurg Clin N Am*. 2009 Jan;20(1):24-6, v.
84. Midha R, Zager EL. *Surgery of Peripheral Nerves* Thieme. 2008, New York.
85. Panagopoulos GN, Megaloikonomos PD, Mavrogenis AF. The Present and Future for Peripheral Nerve Regeneration. *Orthopedics*. 2017 Jan 1;40(1):e141-e156.
86. Hirasawa Y. Peripheral nerve suture. *J Orthop Sci*. 1996; 1(3):214–229.

87. Kline DG, Hudson AR, Bratton BR. Experimental study of fascicular nerve repair with and without epineurial closure. *J Neurosurg.* 1981 Apr;54(4):513-20.
88. Snyder CC. Epineurial repair. *Orthop Clin North Am.* 1981 Apr;12(2):267-76.
89. Sunderland S. *Nerves and nerve injuries.* (1968) E& S Livingstone Ltd, Edinburgh
90. Hakstian RW. Funicular orientation by direct stimulation. An aid to peripheral nerve repair. *J Bone Joint Surg Am.* 1968 Sep;50(6):1178-86.
91. Leung P-C, Gu Y, Ikuta Y. *Microsurgery in orthopaedic practice.* (1995) World Scientific.
92. Jebson PJ, Kasdan ML. *Hand secrets.* (2006) Elsevier Health Sciences, Amsterdam
93. Seddon H. *Surgical disorders of the peripheral nerves.* (1972) Churchill Livingstone, Edinburgh
94. Millesi H. Techniques for nerve grafting. *Hand Clin.* 2000;16(1):73–91
95. Taylor GI, Ham FJ. The free vascularized nerve graft. A further experimental and clinical application of microvascular techniques. *Plast Reconstr Surg.* 1976 Apr;57(4):413-26.
96. Slutsky DJ. A practical approach to nerve grafting in the upper extremity. *Atlas Hand Clin* 2005;10:73–92.
97. Zyaei A, Saied A. Functional outcome of ulnar nerve fascicle transfer for restoration of elbow flexion in upper brachial plexus injury. *Eur J Orthop Surg Traumatol* 2010; 20: 293–297.
98. Samardzic M, Grujicic D, Rasulic L, Bacetic D. Transfer of the medial pectoral nerve: myth or reality? *Neurosurgery.* 2002 Jun;50(6):1277-82.
99. Letievant E. *Traité des sections nerveuses.* (1873) JB Baillièere et fils, Paris

100. Lundborg G, Zhao Q, Kanje M, Danielsen N, Kerns JM. Can sensory and motor collateral sprouting be induced from intact peripheral nerve by end-to-side anastomosis? *J Hand Surg Br.* 1994 Jun;19(3):277-82.
101. Dvali LT, Myckatyn TM. End-to-side nerve repair: review of the literature and clinical indications. *Hand Clin.* 2008 Nov;24(4):455-60, vii.
102. Beris A, Lykissas M, Korompilias A, Mitsionis G. End-to-side nerve repair in peripheral nerve injury. *J Neurotrauma.* 2007 May;24(5):909-916.
103. Viterbo F, Trindade JC, Hoshino K, Mazzoni A. Two end-to-side neurorrhaphies and nerve graft with removal of the epineural sheath: experimental study in rats. *Br J Plast Surg.* 1994 Mar;47(2):75-80.
104. Lykissas MG, Korompilias AV, Batistatou AK, Mitsionis GI, Beris AE. Can end-to-side neurorrhaphy bridge large defects? An experimental study in rats. *Muscle Nerve* 2007;36:664–671.
105. Hosseinian MA, Gharibi Loron A, Nemati B, Khandaghy M. Comparison of a distal end-to-side neurorrhaphy with a proximal-distal end-to-side neurorrhaphy: in a rat model. *Eur J Orthop Surg Traumatol.* 2015 Dec;25(8):1261-4.
106. Artiaco S, Tos P, Conforti LG, Geuna S, Battiston B. Termino-lateral nerve suture in lesions of the digital nerves: clinical experience and literature review. *J Hand Surg Eur Vol.* 2010 Feb;35(2):109-14.
107. Battiston B, Titolo P, Ciclamini D, Panero B. Peripheral Nerve Defects: Overviews of Practice in Europe. *Hand Clin.* 2017 Aug;33(3):545-550.
108. Means KR Jr, Rinker BD, Higgins JP, Payne SH Jr, Merrell GA, Wilgis EF. A Multicenter, Prospective, Randomized, Pilot Study of Outcomes for Digital Nerve Repair in the Hand Using Hollow Conduit Compared With Processed Allograft Nerve. *Hand (N Y).* 2016 Jun;11(2):144-51.

109. Zhu S, Liu J, Zheng C, Gu L, Zhu Q, Xiang J, He B, Zhou X, Liu X. Analysis of human acellular nerve allograft reconstruction of 64 injured nerves in the hand and upper extremity: a 3 year follow-up study. *J Tissue Eng Regen Med.* 2017 Aug;11(8):2314-2322.
110. Brushart TM, Gerber J, Kessens P, Chen YG, Royall RM. Contributions of pathway and neuron to preferential motor reinnervation. *J Neurosci.* 1998;18(21):8674-8681. doi:10.1523/jneurosci.18-21-08674.1998
111. Koerber HR, Seymour AW, Mendell LM. Mismatches between peripheral receptor type and central projections after peripheral nerve regeneration. *Neurosci Lett.* 1989 Apr 24;99(1-2):67-72.
112. Meek MF, Coert JH. US Food and Drug Administration/Conformit Europe-approved absorbable nerve conduits for clinical repair of peripheral and cranial nerves. *Ann Plast Surg.* 2008 Jan;60(1):110-6.
113. Weber RA, Breidenbach WC, Brown RE, Jabaley ME, Mass DP. A randomized prospective study of polyglycolic acid conduits for digital nerve reconstruction in humans. *Plast Reconstr Surg.* 2000 Oct;106(5):1036-45; discussion 1046-8.
114. Taras JS, Nanavati V, Steelman P. Nerve conduits. *J Hand Ther.* 2005 Apr-Jun;18(2):191-7.
115. Ashley WW Jr, Weatherly T, Park TS. Collagen nerve guides for surgical repair of brachial plexus birth injury. *J Neurosurg.* 2006 Dec;105(6 Suppl):452-6.
116. Muheremu A, Ao Q. Past, Present, and Future of Nerve Conduits in the Treatment of Peripheral Nerve Injury. *Biomed Res Int.* 2015;2015:237507.

117. Geuna S, Tos P, Titolo P, Ciclamini D, Beningo T, Battiston B. Update on nerve repair by biological tubulization. *J Brachial Plex Peripher Nerve Inj.* 2014;9(1):3. Published 2014 Mar 7.
118. Davis GE, Engvall E, Varon S, Manthorpe M. Human amnion membrane as a substratum for cultured peripheral and central nervous system neurons. *Brain Res.* 1987 May;430(1):1-10.
119. Kokkalis ZT, Mavrogenis AF, Ballas EG, Papagelopoulos PJ, Soucacos PN. Collagen nerve wrap for median nerve scarring. *Orthopedics.* 2015 Feb;38(2):117-21.
120. Ramburrun P, Kumar P, Choonara YE, Bijukumar D, du Toit LC, Pillay V. A review of bioactive release from nerve conduits as a neurotherapeutic strategy for neuronal growth in peripheral nerve injury. *Biomed Res Int.* 2014;2014:132350.
121. Xie F, Li QF, Gu B, Liu K, Shen GX. In vitro and in vivo evaluation of a biodegradable chitosan-PLA composite peripheral nerve guide conduit material. *Microsurgery.* 2008;28(6):471-9.
122. Nectow AR, Marra KG, Kaplan DL. Biomaterials for the development of peripheral nerve guidance conduits. *Tissue Eng Part B Rev.* 2012 Feb;18(1):40-50.
123. Gulati AK, Rai DR, Ali AM. The influence of cultured Schwann cells on regeneration through acellular basal lamina grafts. *Brain Res.* 1995 Dec 24;705(1-2):118-24.
124. Ceci ML, Mardones-Krsulovic C, Sánchez M, Valdivia LE, Allende ML. Axon-Schwann cell interactions during peripheral nerve regeneration in zebrafish larvae. *Neural Dev.* 2014 Oct 17;9:22.
125. Lacour SP, Fitzgerald JJ, Lago N, Tarte E, McMahon S, Fawcett J. Long micro-channel electrode arrays: a novel type of regenerative peripheral nerve interface. *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng.* 2009 Oct;17(5):454-60.

126. Chang CJ. Effects of nerve growth factor from genipin-crosslinked gelatin in polycaprolactone conduit on peripheral nerve regeneration--in vitro and in vivo. *J Biomed Mater Res A*. 2009 Nov;91(2):586-96.
127. Emel E, Ergün SS, Kotan D, Gürsoy EB, Parman Y, Zengin A, Nurten A. Effects of insulin-like growth factor-I and platelet-rich plasma on sciatic nerve crush injury in a rat model. *J Neurosurg*. 2011 Feb;114(2):522-8.
128. Rosenberg AF, Isaacman-Beck J, Franzini-Armstrong C, Granato M. Schwann cells and deleted in colorectal carcinoma direct regenerating motor axons towards their original path. *J Neurosci*. 2014 Oct 29;34(44):14668-81.
129. Di Summa PG, Kalbermatten DF, Pralong E, Raffoul W, Kingham PJ, Terenghi G. Long-term in vivo regeneration of peripheral nerves through bioengineered nerve grafts. *Neuroscience*. 2011 May 5;181:278-91.
130. Marconi S, Castiglione G, Turano E, Bissolotti G, Angiari S, Farinazzo A, Constantin G, Bedogni G, Bedogni A, Bonetti B. Human adipose-derived mesenchymal stem cells systemically injected promote peripheral nerve regeneration in the mouse model of sciatic crush. *Tissue Eng Part A*. 2012 Jun;18(11-12):1264-72.
131. Chaudhuri A, Bhattacharya N. "Human neural stem cell transplants in neurological disorders: current trends and future options," in *Human Fetal Tissue Transplantation*, 2013; pp. 265–268, Springer, London.
132. Bunting S, Di Silvio L, Deb S, Hall S. Bioresorbable glass fibres facilitate peripheral nerve regeneration. *J Hand Surg Br*. 2005 Jun;30(3):242-7.
133. Sundback CA, Shyu JY, Wang Y, Faquin WC, Langer RS, Vacanti JP, Hadlock TA. Biocompatibility analysis of poly(glycerol sebacate) as a nerve guide material. *Biomaterials*. 2005 Sep;26(27):5454-64.

134. Hadlock T, Sundback C, Hunter D, Cheney M, Vacanti JP. A polymer foam conduit seeded with Schwann cells promotes guided peripheral nerve regeneration. *Tissue Eng.* 2000 Apr;6(2):119-27.
135. Fansa H, Keilhoff G. Comparison of different biogenic matrices seeded with cultured Schwann cells for bridging peripheral nerve defects. *Neurol Res.* 2004 Mar;26(2):167-73.
136. Varejão AS, Cabrita AM, Geuna S, Patrício JA, Azevedo HR, Ferreira AJ, Meek MF. Functional assessment of sciatic nerve recovery: biodegradable poly (DLLA-epsilon-CL) nerve guide filled with fresh skeletal muscle. *Microsurgery.* 2003;23(4):346-53.
137. Chiu DT, Janecka I, Krizek TJ, Wolff M, Lovelace RE. Autogenous vein graft as a conduit for nerve regeneration. *Surgery.* 1982 Feb;91(2):226-33.
138. Gu J, Hu W, Deng A, Zhao Q, Lu S, Gu X. Surgical repair of a 30 mm long human median nerve defect in the distal forearm by implantation of a chitosan-PGA nerve guidance conduit. *J Tissue Eng Regen Med.* 2012 Feb;6(2):163-8.
139. Munro CA, Szalai JP, Mackinnon SE, Midha R. Lack of association between outcome measures of nerve regeneration. *Muscle Nerve* 1998;21:1095–1097
140. De Medinaceli L, Freed WJ, Wyatt RJ. An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. *Exp Neurol.* 1982;77:634–643.
141. Bain JR, Mackinnon SE, Hunter DA. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconstr Surg.* 1989;83:129–138.

142. Chaiyasate K, Schaffner A, Jackson IT, Mittal V. Comparing FK-506 with basic fibroblast growth factor (b-FGF) on the repair of a peripheral nerve defect using an autogenous vein bridge model. *J Invest Surg.* 2009;22:401–405.
143. Luís AL, Rodrigues JM, Geuna S, et al. Use of PLGA 90:10 scaffolds enriched with in vitro-differentiated neural cells for repairing rat sciatic nerve defects. *Tissue Eng Part A*2008;14:979–993.
144. Lubiatowski P, Unsal FM, Nair D, Ozer K, Siemionow M. The epineural sleeve technique for nerve graft reconstruction enhances nerve recovery. *Microsurgery* 2008;28:160–167.
145. Oliveira EF, Mazzer N, Barbieri CH, DelBel EA. The use of a muscle graft to repair a segmentary nerve defect: An experimental study using the sciatic nerve of rats as model. *J Neurosci Methods* 2004;133:19–26.
146. Sobeski JK, Kerns JM, Safanda JF, Shott S, Gonzalez MH. Functional and structural effects of GM-1 ganglioside treatment on peripheral nerve grafting in the rat. *Microsurgery*2001;21:108–115.
147. Meek MF, Dijkstra JR, Den Dunnen WF, et al. Functional assessment of sciatic nerve reconstruction: Biodegradable poly (DLLA-epsilon-CL) nerve guides versus autologous nerve grafts. *Microsurgery* 1999;19:381–388
148. Vdoviaková K, Petrovová E, Maloveská M, Krešáková L, Teleky J, Elias MZ, Petrášová D. Surgical Anatomy of the Gastrointestinal Tract and Its Vasculature in the Laboratory Rat. *Gastroenterol Res Pract.* 2016;2016:2632368.
149. Forrester JM. The number of villi in rat's jejunum and ileum: effect of normal growth, partial enterectomy, and tube feeding. *J Anat.* 1972 Feb;111(Pt 2):283-91.

150. Omotoso G, Muonagolu J, Enaibe B. Histological evaluation of the jejunum and ileum of rats after administration of high dose garlic aqueous extract. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2012;6(2):135-140.
151. Williams LR, Longo FM, Powel HC et al. Spatial temporal process of peripheral nerve regenerations within a silicone chamber; parameters for assay, *J Comp Neurol*, 218; 460-70; 1983
152. Blain B, Zhang F, Jones M, Richards L, Fischer K, Dorsett-Martin W, Lineaweaver WC. Vascular grafts in the rat model: an anatomic study. *Microsurgery*. 2001;21(3):80-3.
153. Miller EM. An experimental study to determine the strength of the suture line, *Arch Surg*, 2; 927; 1987
154. Grenn DP, Hotchkiss RN, Peterson WC. Nerve repair and grafting Green's *Operative Hand Surgery*, s1075-1112, Elsevier, Churcill, Livingstone, 2005
155. Hudson TW, Evans GRD, Schmidt CE. Engineering strategies for peripheral nerve repair, *Clin in Plast Surgery*, 26; 4; 1999
156. Millesi H, Nerve grafting, *Clin Plast Surgery*, 11; 105-113; 1984
157. Platt H, On the results of bridging gaps in injured nerve trunks by autogenous fascial tubulization and autogenous nerve grafts, *Br J Surg*, 7; 384-389; 1919-1920 88.
158. Braga Silva J, Marchese GM, Cauduro CG et al. Nerve conduits for treating peripheral nerve injuries: A systemic literature review. *Hand Surg Rehabil*. 2017;36(2):71-85.
159. Konofaos P, Ver Halen JP. Nerve repair by means of tubulization: past, present, future. *J Reconstr Microsurg* 2013;29:149–64.

160. Hsiang SW, Tsai CC, Tsai FJ, Ho TY, Yao CH, Chen YS. Novel use of biodegradable casein conduits for guided peripheral nerve regeneration. *J R Soc Interface* 2011;8:1622–34.
161. Biazar E, Khorasani MT, Montazeri N, Pourshamsian K, Daliri M, Rezaei M, et al. Types of neural guides and using nanotechnology for peripheral nerve reconstruction. *Int J Nanomed* 2010;5:839–52.
162. Lohmeyer JA, Siemers F, Machens HG, Mailänder P. The clinical use of artificial nerve conduits for digital nerve repair: a prospective cohort study and literature review. *J Reconstr Microsurg* 2009;25:55–61.
163. Yi JS, Lee HJ, Lee HJ, Lee IW, Yang JH. Rat peripheral nerve regeneration using nerve guidance channel by porcine small intestinal submucosa. *J Korean Neurosurg Soc.* 2013;53(2):65-71.
164. Meek MF, Coert JH. Clinical use of nerve conduits in peripheral-nerve repair: review of the literature. *J Reconstr Microsurg.* 2002 Feb;18(2):97-109.
165. Xu J, Sotereanos DG, Moller AR, Jacobsohn J, Tomaino MM, Fischer KJ, Herndon JH. Nerve wrapping with vein grafts in a rat model: a safe technique for the treatment of recurrent chronic compressive neuropathy. *J Reconstr Microsurg.* 1998 Jul;14(5):323-8; discussion 329-30.
166. Xu J, Varitimidis SE, Fisher KJ, Tomaino MM, Sotereanos DG. The effect of wrapping scarred nerves with autogenous vein graft to treat recurrent chronic nerve compression. *J Hand Surg Am.* 2000 Jan;25(1):93-103.
167. Ozturk C, Uygur S, Ozturk CN, Lukaszuk M, Siemionow M. Feasibility of using external jugular vein and its branches as Y- and X-shaped vein grafts for bridging of arterial defects and providing additional arterial sources for free flap applications in rat model. *J Reconstr Microsurg.* 2014 Jul;30(6):371-4.

168. Safari TM, Bedar M, Hundepool CA, Bishop AT, Shin AY. The role of vascularization in nerve regeneration of nerve graft. *Neural Regen Res.* 2020;15(9):1573-1579.

