

T.C.
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
HAYDARPAŞA EĞİTİM HASTANESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
SERVİS ŐEFLİĐİ

NÖROMA OLUŞUMUNDA EPİNÖRİUMUN ROLÜ
(DENEYSEL ÇALIŞMA)

Bilge Kağan AYSAL
J. Tbp. Yzb.

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
UZMANLIK DALI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İstanbul 2015

T.C.
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
HAYDARPAŞA EĞİTİM HASTANESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
SERVİS ŐEFLİĐİ

NÖROMA OLUŞUMUNDA EPİNÖRİUMUN ROLÜ
(DENEYSEL ÇALIŞMA)

Bilge Kağan AYSAL
J. Tbp. Yzb.

Gülhane Askeri Tıp Akademisi
Haydarpaşa EĞitim Hastanesi Komutanlığı'nın
Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Uzmanlık EĞitim Programı
İçin ÖngördüĐü
TIPTA UZMANLIK TEZİ
Olarak hazırlanmıőtır

Tez Danıőman Öğretim Üyesi:
Hüseyin KARAGÖZ
Doç. Tbp. Yb.

İstanbul 2015

ONAY

GATA Askeri Tıp Fakóltesi Dekanlığı'na;

“Nöroma oluşumunda epinöriumun rolü” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez danışmanı: Doç. Tbp. Yb. Hüseyin KARAGÖZ

Üye : Prof. Dr. Türker ÖZKAN.....(İMZA)

Üye : Prof. Hv. Tbp. Tuğg. Melih Hamdi ÜNAL.....(İMZA)

Üye : Doç. Tbp. Yb. Hüseyin KARAGÖZ.....(İMZA)

Üye (Yedek) : Doç. Dr. Gaye Taylan FİLİNTE(İMZA)

Üye (Yedek) : Doç. Tbp. Alb. Fatih ZOR.....(İMZA)

ONAY:

J. Tbp. Yzb. Bilge Kağan AYSAL'ın 29.06.2015 tarihinde savunduğı bu tez Akademi Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görölmüş ve kabul edilmiştir.

Hayati BİLGİÇ

Prof. Dz. Tbp. Tümamiral

Askeri Tıp Fakóltesi Dekanı

Eğitim Hastanesi Baştabibi

TEŞEKKÜR

Öncelikle şu anda olduğum insan haline gelmemde sonsuz payı olan ve beni yetiştiren annem Sn. Demet Aysal ile babam Sn. Abdulkadir Aysal'a; üzerimdeki desteği çok büyük olan kız kardeşim Sn. Damla Gül Zorlu'ya ve destekleri göz ardı edilemeyecek kadar fazla olan müstakbel eşim Sn. Gülçağ Tavşanoğlu'na kalbimden teşekkür ederim.

Kendimi hekimlik mesleği içinde geliştirmem konusunda bana büyük katkıları olan, nosyon veren ve bakış açısı kazandıran Prof. Dr. Sn. Fikret Arpacı başta olmak üzere, Prof. Dr. Fuat Yüksel'e, Prof. Dr. Haluk Duman'a, Prof. Dr. Ersin Ülkür'e, Doç. Dr. Fatih Uygur'a, Doç. Dr. Yalçın Külahçı'ya, tez danışmanım Doç. Dr. Hüseyin Karagöz'e, Yrd. Doç. Dr. Fikret Eren'e, Op. Dr. Celalettin Sever'e, Op. Dr. Sinan Öksüz'e, deneysel çalışmamı gerçekleştirmemde emeği geçen Op. Dr. Cihan Şahin ile Op. Dr. Bora Özel'e, Op. Dr. Sinan Öztürk'e ve Dr. Ceyhun Cesur'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca tüm destekleri ve yardımları için Plastik Cerrahi Kliniği ve Yanık Merkezimizin değerli hemşireleri ile değerli personeline,

Deney Hayvanları Araştırma Merkezi sorumlusu Sn. Vet. Alb. Göksel Nursoy'a, veteriner hekim Muhammed Artan'a, Yrd.Doç.Dr. Nurettin Çanakoğlu'na ve deney hayvanlarımızın bakımını büyük bir özveri ile üstlenen Sn. Sami Dağlar ile Sn. Mustafa Yılmaz'a içtenlikle teşekkür ederim.

Tezimin malzeme alım aşamasında emeği geçen ve güler yüzünü eksik etmeyen GATA HEH Lojistik birimi, fiyat tespit birimi ve doğrudan malzeme alımı aşamasında emeği geçen tüm görevlilere,

Başta Dr. Gizem Narlı, Doç. Dr. Zafer Küçükodacı ve Sn. Fikret Otuzoğlu olmak üzere patoloji servisinde emeği geçen tüm görevlilere,

Liv Hospital Kök Hücre ve Genetik Araştırma Laboratuvarı'ndan Prof Dr. Erdal Karaöz, Eren Şahin, Münire Tuğçe Kaya ve Serli Canikyan'a,

İstatistiklerimizin hazırlanması aşamasında emeği geçen Sn. Özlem Köksal'a

Medikal illüstrasyon yapan Sn. Remin-Erdem Türkoğlu çiftine ve Sn. Ahmet Tavşanoğlu'na gönülden teşekkür ederim.

Bilge Kağan AYSAL

J. Tbp. Yzb.

ÖZET

J. Tbp. Yzb. Bilge Kağan AYSA

“Nöroma Oluşumunda Epinöriumun Rolü (DeneySEL Hayvan Çalışması)”

Geçirilmiş periferik sinir yaralanmaları sonrasında sinir üzerinde ya da sinir sonlanmasında oluşan nöromanın oluşum mekanizması henüz aydınlatılmış değildir. Nöroma oluşumunun önlenmesi için birçok çalışma yürütülmüş olup son zamanlarda yapılan deneySEL çalışmalar epinörium üzerine yapılacak müdahaleleri içermektedir. Bu deneySEL çalışma ile farklı çalışmalarda kullanılmış yöntemler tek bir çalışma içinde birleştirilmiş ve deney gruplarının tamamı epinörium ile ilgili yöntemlerden seçilmiştir. Bu yolla epinörium tabakasının nöroma oluşumu üzerindeki rolünün anlaşılması öngörülmüştür.

Çalışma deneySEL hayvan çalışması olarak dizayn edilmiştir. 55 adet 12 haftalık Sprague-Dawley cinsi erişkin sıçan her birinde 11 adet olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır.

Çalışmada üç adet deney grubu ve iki adet kontrol grubu bulunmaktadır. Deney gruplarında epinöral bağlama, epinöral soyma ve epinöral kaplama teknikleri uygulanmıştır. Kontrol grupları ise negatif ve pozitif kontrol grupları olarak tasarlanmıştır. Negatif kontrol grubunda periferik sinir kesilerek proksimal sinir ucu serbest bırakılmıştır. Pozitif kontrol grubunda ise periferik sinirin proksimal ucu komşulukta bulunan kas dokusu içine implante edilmiştir.

İlk ameliyat sonrasında sıçanlar 6 ay süre ile takip edilmiş ve geçen altı ayın sonunda sakrifiye edilerek değerlendirme kısmına geçilmiştir. Histolojik inceleme, immünohistokimyasal inceleme, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile değerlendirmeler yapılmış ve gerekli istatistiksel hesaplamalar sonrasında sonuçlara ulaşılmıştır.

Çalışma bitiminde periferik sinirlerin kesilmesi sonrasında epinörium tabakasının bağlanması deney grupları içerisinde nöroma oluşumunu azaltma yönünde en başarılı yöntem olduğu gözlenmiştir. Epinöral bağlama tekniğinin periferik sinir ucunun serbest bırakılmasına ya da kas içine implante edilmesine

oranla daha başarılı olduğu sonucuna varılmıştır. Epinörium grefti ile sinir ucunun kaplanması ise nöroma oluşumunu azaltmak yerine artırdığı gözlenmiştir. Bunlara ek olarak epinörium tabakasının nöroma oluşumu üzerine etkisi olduğu, epinöriumun varlığı durumunda daha fazla oranda nöroma oluştuğu sonucuna ulaşılmıştır.

Klinik pratikte en sık uygulanan önlem olan sinir ucunun kas içine implante edilmesinin serbest bırakılması üzerine belirgin bir avantajının olmadığı gözlenmiştir. Ancak sinir ucunun kas içine implante edilmesi sinir ucu etrafında fazladan bir koruyucu yumuşak doku ortamı sağladığından dolayı, nöroma oluşumunu azaltmak için periferik sinir ucunu bağlamak ve bu ucu kas içine implante etmek önerilmektedir.

ANAHTAR KELİMELEER : Nöroma, epinörium, epinöral bağlama, epinöral soyma, epinöral kaplama, sıçan, deneysel çalışma

TEZ DANIŞMANI : Doç. Dr. Hüseyin KARAGÖZ

İNGİLİZCE ÖZET

SUMMARY

Author: Bilge Kağan AYSAL, M.D.

“Role of epineurium on the prevention of neuroma (Experimental Animal Study)”

Neuroma is a painful and tender mass on a nerve or a nerve ending after peripheral nerve injury. Formation mechanism of neuroma is not known yet. Many studies have been conducted for the prevention of neuroma and recently published experimental studies include interventions on epineurium.

In this experimental study, methods which had been used in different experimental studies were used together in one study. All of the methods used in this study were chosen among the methods that include interventions on epineurium layer. Objective of this study was understanding the role of epineural layer on the formation of neuroma.

This study was designed as an experimental animal study. 55 adult Sprague-Dawley rats were randomly divided into 5 groups, each containing 11 rats. Two of the groups were control groups and three of the groups were experimental groups.

Experimental groups include epineural ligation, epineural stripping and epineural capping procedures. Control groups are negative and positive control groups. In negative control group, proximal stump was left “free” after peripheral nerve had been transected. In positive control group, the proximal stump was implanted in a muscle pocket after the peripheral nerve had been transected.

After the first operations had been performed, rats were followed for six months. After the follow-up period, tissue samples were taken from the nerve endings and the animals were sacrificed.

Histopathologic examinations, immunohistochemical examinations and real-time PCR were conducted for the assessment. The outcomes were compared after statistical analysis.

At the end of study, ligation of the epineural layer was found to be the most successful method among the included experimental procedures on the prevention of neuroma. Also, the outcomes of epineural ligation group were found to be superior to both control groups. Use of epineural layer as a graft in capping group was concluded to increase the formation of neuroma rather than preventing.

After the data were analyzed, the role of epineural layer on neuroma formation was revealed. Neuroma formation was found in “higher amounts” when epineural layer exists. Moreover, no difference was found between two control groups. But, implantation of nerve ending into a muscle pocket would lead to form additional soft tissue coverage around the nerve ending. This might prevent or decrease the symptoms of neuroma such as pain or tenderness.

In conclusion, to prevent neuroma formation, ligation of epineural layer and implantation of this ligated nerve ending into a muscle pocket is recommended.

KEY WORDS : Neuroma, epineurium, epineural ligation, epineural stripping, epineural capping, rat, experimental study

COUNSELLOR : Associate Professor Hüseyin Karagöz, MD, PhD.

İÇİNDEKİLER

ONAY	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
İNGİLİZCE ÖZET	vi
İÇİNDEKİLER	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ	xiii
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 Sinir Sistemi	2
2.1.1 Tarihçe	2
2.1.2 Sinir Sistemi Anatomisi ve Organizasyonu	3
2.1.3 Periferik Sinir Liflerinin Sınıflandırılması.....	4
2.1.4 Periferik Sinirlerin Fizyolojisi	7
2.1.5 Sinir Uyarımı ve Uyarı İletimi.....	9
2.1.6 Periferik Sinir Sistemi Histolojisi	11
2.1.7 Bir Periferik Sinirin Yapısı.....	13
2.1.8 Periferik Sinir Hasarı	15
2.2 Nöroma	26
2.2.1 Genel Bilgiler	26
2.2.2 Nöromanın Tanımı.....	28
2.2.3 Nöromanın Tanısı	29

2.2.4 Nöroma Tedavisi.....	36
2.2.5 Nöroma Oluşumun Önlenmesindeki Deneysel Yöntemler	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM	45
3.1 Giriş.....	45
3.2 Cerrahi Prosedür	45
3.3 Değerlendirme	54
3.3.1 Morfolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirme.....	54
3.3.2 Gerçek Zamanlı PCR ile Değerlendirme.....	55
3.3.3 İstatistiksel Analiz	57
4. BULGULAR.....	59
4.1 Makroskopik Bulgular	59
4.2 Morfolojik Bulgular	61
4.3 İmmünohistokimyasal Bulgular	67
4.4 Gerçek Zamanlı PCR Bulguları.....	72
5. TARTIŞMA	75
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	80
7. KAYNAKLAR	81

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. İnsan sinir sisteminin şematik gösterimi.....	3
Şekil 2. 2. Aksonal transportun şematik gösterimi.	8
Şekil 2. 3. Akson membranındaki iyonik dağılımın şematik gösterimi.	10
Şekil 2. 4. Schwann hücresinin aksonun etrafını sarması	12
Şekil 2. 5. Schwann hücresinin aksonun etrafında bir kaç sıra dönmesi sonucunda oluşan myelin kılıfı	12
Şekil 2. 6. Periferik sinirin şematik gösterimi.	14
Şekil 2. 7. Periferik sinir kesitinin histolojik görünümü.....	15
Şekil 2. 8. Periferik sinirin transeksiyonu sonrasında distal segmentte görülen wallerian dejenerasyon.....	16
Şekil 2. 9. Nöroma.....	26
Şekil 2. 10. Parmak amputasyonu sonrasında güdükte oluşan nöromanın temsili çizimi	27
Şekil 2. 11. Parmak amputasyon güdüğünde gelişen nöroma	27
Şekil 2. 12. Terminal nöromanın mikroskopik görüntüsü	31
Şekil 2. 13. Nöromanın USG görüntüsü	33
Şekil 2. 14. Terminal nöroma ile köken aldığı periferik sinir bağlantısını gösteren USG görüntüsü	34
Şekil 2. 15. Nöromanın MRI görüntüleri.	35
Şekil 2. 16. Epinöral kaplama tekniği	39
Şekil 2. 17. Epinöral soyma tekniği.....	39
Şekil 2. 18. Epinöral Bağlama Tekniği.	40
Şekil 2. 19. Ven grefti başlığı ile kaplama tekniği.....	40
Şekil 2. 20. Uç-yan nörorafi tekniği.....	41
Şekil 2. 21. Sinir ucunun silikon tüp ile kaplanması tekniği.	42
Şekil 2. 22. Sinir ucunun atelokollajen ile kaplanması tekniği.....	42
Şekil 3. 1. Operasyon sahası.....	45
Şekil 3. 2. Deney hayvanının operasyon öncesi hazırlanması	46
Şekil 3. 3. Cilt insizyonu ve siyatik sinirin ortaya konması	46
Şekil 3. 4. Tüm gruplarda çıkartılan 2 cm uzunluğundaki sinir segmenti.	47

Şekil 3. 5. Serbest sinir ucu grubu.....	47
Şekil 3. 6. Serbest sinir ucu grubunun temsili resmi.....	48
Şekil 3. 7. Kas içi implantasyon grubunun temsili resmi.	48
Şekil 3. 8. Epinöral bağlama grubu.....	49
Şekil 3. 9. Epinöral bağlama grubunun temsili resmi.....	49
Şekil 3. 10. Epinöral soyma grubu	50
Şekil 3. 11. Epinöral soyma grubunun temsili resmi.....	50
Şekil 3. 12. Epinörüm grefti elde etmek için vücut dışına çıkartılacak sinir segmentinin epinörüm tabakasının ayrılması	51
Şekil 3. 13. Epinörüm grefti olarak kullanılacak epinörüm dokusu.....	51
Şekil 3. 14. Epinöral kaplama grubu.	52
Şekil 3. 15. Epinöral kaplama grubunun temsili resmi.	52
Şekil 3. 16. RNA izolasyon kiti.....	56
Şekil 3. 17. Mikrodrop spektrofotometre cihazı	56
Şekil 3. 18. cDNA oluşturma kiti.....	57
Şekil 3. 19. Rotor-Gene Q cihazı	57
Şekil 4. 1. Makroskopi görüntüsü, serbest sinir ucu grubu	59
Şekil 4. 2. Makroskopi görüntüsü, kas içi implantasyon grubu.	59
Şekil 4. 3. Makroskopi görüntüsü, kas içi implantasyon grubu	60
Şekil 4. 4. Makroskopi görüntüsü, epinöral bağlama grubu	60
Şekil 4. 5. Makroskopi görüntüsü, epinöral soyma grubu.....	60
Şekil 4. 6. Makroskopi görüntüsü, epinöral kaplama grubu.....	61
Şekil 4. 7. Nöroma oluşum seviyeleri.	63
Şekil 4. 8. Nöroma oluşumunun histopatolojik görüntüsü.....	64
Şekil 4. 9. Sinir içi kaotik alanların gösterimi.....	64
Şekil 4. 10. Kaotik alanların oranları.....	65
Şekil 4. 11. Sinir içi bağ dokusu oranları	66
Şekil 4. 12. Sinir içi bağ dokusu oluşumu. Epinöral kaplama grubu.	67
Şekil 4. 13. S-100 antikoru ile boyama, histolojik kesitlerin görüntüleri.....	70
Şekil 4. 14. CGRP antikoru ile boyama, histolojik kesitlerin görüntüleri.	70
Şekil 4. 15. CGRP antikoru ile boyanma oranları.	72

Şekil 4. 16. Gerçek zamanlı PCR bulgularının bilgisayar yazılımı ile incelenmesi.	72
Şekil 4. 17. CNTF gen ekspresyon düzeylerinin gerçek zamanlı PCR bulguları	73
Şekil 4. 18. CRCP gen ekspresyon düzeylerinin gerçek zamanlı PCR bulguları	74



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2. 1. Periferik sinirlerin çaplarına ve hızlarına göre sınıflandırılması	6
Tablo 2. 2. Aksonal transport çeşitleri	9
Tablo 2. 3. Periferik sinirlerde mikrometre karelik alanda bulunan sodyum kanalı sayıları	11
Tablo 2. 4. Sinir zedelenmelerinde kabul görmüş uluslararası sınıflandırma sistemleri ve birbirleri ile olan karşılaştırılmaları.....	20
Tablo 4. 1. Deney gruplarının ve kontrol gruplarının morfolojik bulguları	62
Tablo 4. 2. Nöroma oluşum seviyeleri	63
Tablo 4. 3. Kaotik alanların oranları	65
Tablo 4. 4. Sinir içi bağ dokusu oranları	66
Tablo 4. 5. Deney gruplarının ve kontrol gruplarının immünohistokimyasal bulguları	68
Tablo 4. 6. S-100 antikoru ile boyanma oranları	69
Tablo 4. 7. S-100 antikoru ile boyanma oranlarının istatistiksel verileri.....	69
Tablo 4. 8. CGRP antikoru ile boyanma oranları	71
Tablo 4. 9. CGRP antikoru ile boyanma oranlarının istatistiksel verileri.....	71
Tablo 4. 10. CNTF ve CRCP gen ekspresyon düzeylerinin gerçek zamanlı PCR bulguları	73

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

µl	: Mikro litre
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ATP	: Adenozin Trifosfat
BDNF	: <i>Brain Derived Neurotrophic Factor</i>
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
cDNA	: Tamamlayıcı DNA
CGRP	: <i>Calcitonin Gene-Related Peptide</i>
CNTF	: <i>Ciliary Neurotrophic Factor</i>
CRCP	: <i>Calcitonin Gene-Related Peptide Reseptor Component Protein</i>
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EMA	: Epitelyal Membranı Antijeni
ESWT	: <i>Extracorporeal Shockwave Therapy</i>
EŞDT	: Ekstrakorporeal Şok Dalgası Tedavisi
FDA	: Amerikan ilaç ve yiyecek kurumu (<i>US Food and Drug Administration</i>)
FK-506	: Takrolimus
GAPDH	: Giseraldehit 3 Fosfat Dehidrogenaz
GATA HEH	: Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Haydarpaşa Eğitim Hastanesi
IGF-1	: <i>Insulin-like Growth Factor-1</i>
IL-1	: Interlökin-1
JAK-STAT	: <i>Janus Kinase - Signal Transducer and Activator of Transcription</i>
M. Ö.	: Milattan Önce
M. S.	: Milattan Sonra
MAP-Kinaz	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
mS	: Milisaniye
mV	: Milivolt

Nd:YAG	: <i>Neodymium-doped: Yttrium Aluminium Garnet</i>
ng	: nanogram
NGCAM/L1	: <i>Neurofascin Related Cell Adhesion Molecule / L1 Family</i>
NGF	: <i>Nerve Growth Factor</i>
OX7-SAP	: <i>OX7-Saporin</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffered Saline</i>
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDGF	: <i>Platelet Derived Growth Factor</i>
RNA	: Ribonükleik Asit
TMS	: Transkutanöz Manyetik Stimülasyon
USG	: Ultrasonografi

1. GİRİŞ

Nöroma genel anlamıyla sinir yaralanması sonrasında, sinir ucunda yer alan ağrılı bir kitle olarak ifade edilebilir. Bir periferik sinirin yaralanmasını takiben (örneğin kesilmesi) düzensiz ve uygun olmayan şekilde rejenere olan aksonlardan oluşmaktadır (1). Ağrılı olması nöromayı önemli bir klinik antite haline getirir ve ekstremité amputasyonları sonrasında gelişen nöromalar güdük ağrısının sık görülen sebeplerinden birisidir (2). Halen Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) 1,7 milyon ekstremité amputasyonlu birey bulunmaktadır ve 2050 senesinde bu sayının ikiye katlanacağı ön görülmektedir (3). Tüm majör amputasyonlu bireylerin yaklaşık olarak %25'inin amputasyon güdüğünde gelişen semptomatik nöroma oluşumuna bağlı olarak kronik ağrı yaşayacağı düşünülmektedir (4, 5). Sayılar ve oranlar göz önünde tutulduğunda nöroma oluşumunun önemli bir klinik problem olduğu anlaşılmaktadır. Nöroma konusunda Literatürde tanımlanmış 150'den fazla cerrahi tedavi olduğu düşünüldüğünde, ideal bir tedavi şekli olmadığı anlaşılmaktadır (6).

Sinir transeksiyonu sonrasında proksimal sinir güdüğünden çıkan ve hedefsiz bir şekilde organize olmadan rejenere olan aksonal yapıların ilerleyerek ağrılı bir kitle oluşturmalarının önlenmesi amacıyla literatürde yapılmış deneysel çalışmalar mevcuttur. Sinir güdüğünün bağlanması, komşuluğunda bulunan çizgili kas dokusunda açılan bir cep içine implante edilmesi, epinöriumun soyularak fasiküllerin serbest bırakılması ya da epinöral kılıfın uzatılarak bağlanması gibi teknikler deneysel çalışmalarda kullanılmış ve etkinlikleri gösterilmiştir (7-10). Değişik çalışmalarda bu yöntemlerin ayrı ayrı başarılı sonuçları bildirilmiş olmasına rağmen, bu yöntemlerin sonuçlarının birbirleri ile karşılaştırıldığı bir çalışma mevcut değildir. Bu sebeple anılan tekniklerden hangisinin nöromanın engellenmesinde daha etkili olduğu tam olarak bilinmemektedir.

Son yıllarda nöromanın önlenmesi için epinöriumla ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışma nöroma oluşumu üzerinde epinöriumun gerçekten rolü olup olmadığını araştırmak için tasarlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Sinir Sistemi

2.1.1 Tarihçe

Periferik sinirler ile ilgili Hipokrat öncesi döneme dayanan herhangi bir bilgi mevcut değildir ve genellikle tendon ile sinir arasında belirgin bir farktan söz edilmemiştir. Periferik sinirler ile ilgili yazılı kaynaklarda rastlanılan bilgiler ilk olarak M.Ö. 460-370 yılları arasına denk gelen Hipokrat döneminde kaydedilmiştir. “*On the articulations*” isimli eserinde Hipokrat (11), kol çıkıklarının tedavisinde periferik sinirlere zarar vermemek için aşırı gerimden kaçınılması gerektiğini vurgulamıştır. Hipokrat buna ek olarak “*Hipokrat*” adlı eserinde soğğun ve kesilmelerin periferik sinirler üzerine olan etkileri ile ilgili bilgiler vermiştir (11, 12). Hipokrat’tan yaklaşık yarım milenyum sonra Galen (M.S. 130 - 200) periferik sinir yaralanmaları ile ilgili bilgiler sunmuştur ve sinirlerin kesilmesi sonucunda duylarda ve kas gücünde azalma olduğunu fakat yaralanan sinirin iyileşemeyeceğini belirtmiştir. Bu görüş yaklaşık 16 asır boyunca, 18. yüzyıla kadar geçerli kabul edilmiştir (11).

1505 senesinde Osmanlı Devleti Döneminde Cerrah İbrahim tarafından yazılmış olan “*Alaim-i Cerrahin*” adlı 22 bölümden oluşan kitapta Platon’un ve Hipokrat’ın periferik sinirler üzerine olan görüşlerine atıflar bulunmaktadır (13-15). Bu eserde Platon’un kemiğin kemik ile birleşeceği, kasın kasa yapışacağı ancak sinirin asla sinir ile birleşmeyeceği yönündeki görüşleri ile Hipokrat’ın sinirin sinir ile birleşeceği şeklindeki karşıt görüşü yazılmıştır. Aynı eserde Hipokrat’ın periferik sinir onarımı ile ilgili bir anekdotundan bahsedilmiştir: Hipokrat Tigris Nehri üzerinde seyahat etmekteyken ayak bileğinden yaralanan bir hırsızın yarasını tedavi ettiğini, bu yaralanmada periferik sinir yaralanması da mevcut olduğunu ve kesilen sinir uçlarını bir kadın saçını sütür materyali olarak kullanarak birleştirdiğini, hastanın topallamadan yürüyebildiğini ancak yaranın içinde kalıcı bir şişlik oluştuğunu belirtmiştir. Bu şişlik tahmini olarak bir nöromadır.

Schwann tarafından 1839 senesinde Schwann hücresi tanımlanmıştır (16). Bilinen ilk sinir onarımı 1847 yılında Paget tarafından yapılmıştır, Paget median siniri onarmış ve tam iyileşme olduğunu bildirmiştir (17). 1850 senesinde Waller

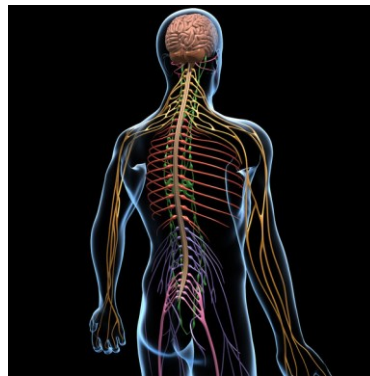
sinir yaralanmalarıyla ilgili çalışmalar yapmış ve periferik sinir yaralanmaları neticesinde distal segmentteki dejenerasyonu ve proksimal segmentteki rejenerasyonu anlatmıştır.

Sinir konusunda yapılan çalışmalara iki sefer *Nobel Tıp Ödülü* verilmiştir: İlki sinir sistemindeki hücrelerin birbirleri ile fonksiyonel bir ilişki içinde olduğunu saptadıkları için 1906 yılında Golgi ve Cajal'a; ikincisi ise aksiyon potansiyeli, refrakter periyot ve sinir iletim fizyolojisi üzerinde yaptıkları çalışmalar nedeniyle 1944 senesinde Erlanger ve Gasser'a verilmiştir (18).

Modern anlamdaki periferik sinir ile ilgili bilgiler ve yaralanma sınıflandırmaları 1948 yılında Seddon tarafından, 1945-1968 seneleri arasında ise Sunderland tarafından yapılmıştır. Periferik sinir cerrahisinin gelişimine, Millesi ve Terzis periferik sinir cerrahisinin teknik detaylarını geliştirip çeşitlendirerek önemli katkılarda bulunmuşlardır (16). Mackinnon adlı araştırmacının da periferik sinir sistemi üzerinde yoğun ve yol gösterici çalışmaları mevcuttur.

2.1.2 Sinir Sistemi Anatomisi ve Organizasyonu

Sinir sistemi, insanlarda istemli ve istemsiz hareketlerin koordinasyonunu sağlayan ve vücudun çeşitli bölümleri arasında sinyal iletimini gerçekleştiren vücut kısmıdır. Temel olarak merkezi sinir sistemi ve periferik sinir sistemi olarak iki ana bileşenden oluşur (Şekil 2. 1).



Şekil 2. 1. İnsan sinir sisteminin şematik gösterimi.

İnsan vücudu hayatını idame ettirebilmek için devamlı olarak dış dünyaya uyum sağlamak durumundadır. Bu sebeple dış dünyadan gelen bilgiler çeşitli

almaçlar tarafından alınır. Bu olaya duyu denmektedir. Sonrasında sinir iletimiyle bu bilgiler merkezi sinir sistemine iletilmekte, bu esnada birçok kontrol mekanizması devreye girmekte ya da devreden çıkmakta ve en nihayetinde gelen bilginin önemine göre merkezi sinir sisteminin basitten karmaşığa doğru organize olmuş yapısı içerisinde gerekli noktaya iletilmektedir. Merkezi sinir sisteminin bir bölgesine gelen bilgiler diğer bölgeler ile koordineli bir şekilde işlenmekte ve gerekli durumlarda bir yanıt, başka bir deyişle hareket, oluşturulmaktadır. Bunun dışında bilinç dışı hareketler olarak da adlandırılan bir çok aktivite merkezi sinir sistemi tarafından yürütülmekte ve vücudun yaşantısını devam ettirmesinde kullanılmaktadır.

Merkezi sinir sistemi üyeleri beyin ve medulla spinalistir. Periferik sinir sistemi ise temel olarak aksonal yapıları içeren periferik sinirlerden oluşur. Periferik sinirlerin pratik uygulamalarda yalnızca “sinir” olarak adlandırılması sık kullanılagelen bir eğilimdir.

Periferik sinir sistemi, istemli hareketleri hedef organa ileten motor sinirlerden ve duyuları retrograd yönde ileten duysal sinirlerden, istemsiz aktivitelerin kontrolünden sorumlu parasempatik ve sempatik sinirleri içeren otonom sinir sisteminden ve gastrointestinal sistem fonksiyonlarından sorumlu enterik sinir sisteminden oluşur.

Beyin, baş bölgesinde “*calvarium*” adı verilen kafa kemikleri içerisinde koruma altında bulunmakta, beyin-omurilik sıvısı içinde yüzmekte ve *dura mater*, *arachnoid mater* ve *pia mater* adlı üç sıra zar tarafından çevrelenip korunmaktadır. *Medulla spinalis* ise kafatası altında bulunan *foramen magnum*dan çıkmakta ve omurlardan oluşan kemik yapı olan vertebral kolon içerisinde boyundan kuyruk sokumuna kadar ilerlemektedir. Periferik sinirler *medulla spinalis* ve beyin ile bağlantı kurarak parmak uçlarına kadar uzanır ve sinir sisteminin iki temel bileşeninden birisini oluşturur.

2.1.3 Periferik Sinir Liflerinin Sınıflandırılması

Periferik sinirlerin çapları 0,2 ile 20 μ arasında, sinir liflerinin ileti hızları 0,5 ile 120 m/sn arasında değişmektedir. Sinir çapı büyüdükçe ileti hızında artış görülmektedir.

Periferik sinirler temel olarak bir kaç farklı sınıflandırma yöntemi ile sınıflandırılmıştır ve bu sınıflandırma yöntemleri hâlihazırda kullanılmaktadır.

Periferik sinirler;

1. Yapısal özelliklerine göre,
2. İletim hızlarına ve kalınlıklarına göre,
3. Fonksiyonlarına göre sınıflandırılmışlardır.

1. Fasiküler Yapılarına Göre Sınıflandırma: Sinirler fasikül yapıları göz önünde bulundurularak 5 tipe ayrılır:

- | | |
|-------------------------|---|
| Tip – 1: Monofasiküler | : Bir büyük fasikül içerir. |
| Tip – 2: Oligofasiküler | : Beşten az büyük fasikül içerir. |
| Tip – 3: Oligofasiküler | : Beşten fazla fasikül içerir. |
| Tip – 4: Polifasiküler | : Grup düzeni içinde değişik boyutlarda fasiküller içerir. |
| Tip – 5: Polifasiküler | : Grup düzeni içinde olmadan değişik boyutlarda fasikül içerir. |

2. Çaplarına ve İletim Hızlarına Göre Sınıflandırma: Grundfest, Erlanger ve Gasser tarafından yapılan sınıflandırma ile periferik sinirler çaplarına ve iletim hızlarına göre sınıflara ayrılmıştır (19, 20). Bu sınıflandırma sisteminde myelinli lifler “Grup A ve B” olarak, myelinsiz lifler ise “Grup C” olarak sınıflandırılmıştır (Tablo 2. 1).

Grup A lifler : Myelinli afferent ve efferent somatik sinirleri içerir; çapları küçüldükçe α , β , γ , δ olarak adlandırılır. Myelinli somatik afferent ve efferent liflerde bulunur. Çapları 2,5 – 22 μ arasında, iletim hızları 15-100 m/sn arasında değişir.

Tablo 2. 1. Periferik sinirlerin çaplarına ve hızlarına göre sınıflandırılması

Sinir Lifi Tipi	Myelin Varlığı	ap (μm)	İletim Hızı (m/sn)	Konum	Görev
Aα	+	6–22	30-120	Kaslara efferent uyarı	Motor
Aβ	+	6-22	30-120	Deri ve eklemlerden afferent uyarı	Taktil, proprioception
Aγ	+	3-8	15-35	Kas içciklerine efferent uyarı	Kas tonu
Aδ	+	1-4	5-30	Afferent duyu sinirleri	Ağrı, soğuk, sıcaklık, dokunma
B	+	1-3	3-15	Preganglionik sempatik sinirler	Çeşitli otonomik fonksiyonlar
sC	-	0.3-1.3	0.7-1.3	Postganglionik sempatik sinirler	Çeşitli otonomik fonksiyonlar
dC	-	0.4-1.2	0.1-2.0	Afferent duyu sinirleri	Çeşitli otonomik fonksiyonlar, Ağrı, ısı, sıcaklık ve dokunma

Grup B lifler : Sadece myelinli visseral sinirleri içerir. Myelinli preganglionik otonomik visseral sinirlerde bulunur. Çapları 3 μ'dur, ileti hızları 3-15 m/sn arasında değişir.

Grup C lifler : Myelinsiz sinirlerdir. Hem somatik hem de otonom sinirleri içerir. Myelinsiz somatik afferent ve otonomik postganglionik efferent (ağrı,

pilomotor, vazomotor) iletimde görev alır. Çapları 0,2 – 1,5 μ arasında, ileti hızları 0,3 – 1,6 m/sn arasında değişir.

3. Fonksiyonlarına Göre Sınıflandırma: Lloyd myelinli sinirleri Grup I, II ve III olarak; miyelinsizleri de Grup IV olarak sınıflandırmıştır

Grup IA (12 - 22 μ m) : Kasların primer duyu liflerinde bulunur ve myelinlidir.

Grup IB (12 - 22 μ m) : Tendon uçlarında bulunur ve miyelindir.

Grup II (6 - 12 μ m) : Kasların sekonder duyu liflerinde bulunur ve myelinlidir.

Grup III (1 - 6 μ m) : Bağ dokusu içindeki kılıflarda ve deride bulunur ve myelinlidir.

Grup IV (1 - 5 μ m) : Kaslarda serbest uçlu olarak bulunur ve miyelinsizdir.

2.1.4 Periferik Sinirlerin Fizyolojisi

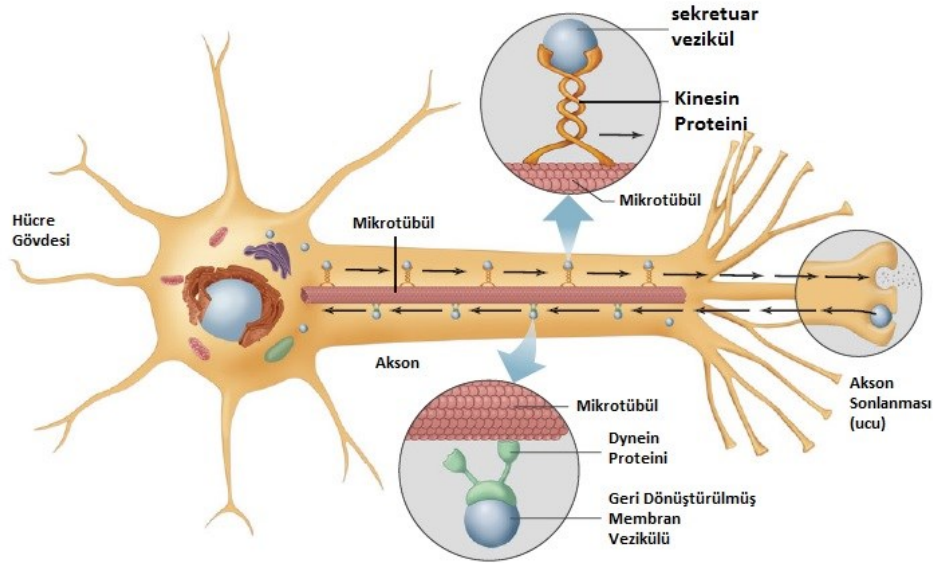
Periferik sinirler temelinde sekretuar hücrelerdir (21). Ancak sekresyonel veziküller aksonun sinir gövdesine uzak olan ucunda bulunmaktadır. Bu şekliyle, diğer sekretuar hücrelerden ayrılmaktadır.

Bilindiği gibi sekretuar veziküller içinde bulunan protein yapıdaki maddelerin üretimi için bir takım hücre içi olay gerçekleşmelidir. Bir hücre içinde üretilecek her hangi bir proteinin yapısı hücre çekirdeği içinde yerleşmiş olan deoksiribo nükleik asitte (DNA) kodlanmış olarak bulunmaktadır. Gerekli uyarın geldiğinde ilgili proteinin kodlandığı gen bölgesindeki mesaj içeriği ile uyumlu bir ribo nükleik asit (RNA) oluşturulur. Bu işleme transkripsiyon adı verilir. Oluşturulmuş olan RNA, artık, üretilmek istenen proteinin kodunu içermektedir. Sonrasında RNA'daki koda dayanarak ilgili protein, endoplazmik retikulum içinde yapıtaşları olan aminoasitlerin bir araya getirilmesi yoluyla 3 boyutlu olarak oluşturulur. Bu işleme de translasyon adı verilir. Burada DNA referans kaynak kitaba, transkripsiyon işlemi ilgili sayfanın fotokopisinin çekilmesine, RNA kopya edilmiş sayfaya (örneğin bir makinanın parçasının şematik görünümünü içeren sayfanın fotokopisi gibi), translasyon üretim

aşamasına, proteinin sentezlenmiş hali de bu parçanın üretilmiş son haline benzetilebilir.

Sinir gövdesinde üretilen ve sekretuar vezikül içine konan bu proteinler nörotransmitter olarak kullanılmak üzere akson boyunca yol almalı ve aksonun sonunda bulunan sinir sonlanmasına ulaşmalıdır. Bunu sağlayabilmek için hücrenin aksonu boyunca uzamakta olan mikrotübüler yapıda bir hücre iskeleti üyesi yer almaktadır. “*Kinesin*” adı verilen ve bu mikrotübül üzerinde hareket etme yeteneğine sahip bir aracı protein vasıtasıyla gövdede sentezlenen sekretuar vezikül akson boyunca yol alarak aksonun sonuna kadar ulaşır. Gerekli uyarı geldiğinde sinir hücresi membranıyla füzyon gerçekleşir ve vezikül içinde bulunan nörotransmitter akson ucundan dışarı atılır (Şekil 2. 2).

İçeriği boşalan vezikül ise, yeniden içine nörotransmitter konulabilmesi amacıyla “*dynein*” proteini aracılığıyla hücre gövdesine geri döner. “*Dynein*”, akson içerisinde boylu boyunca uzanan mikrotübüller üzerinde hücre gövdesine doğru geri yönde hareket edebilen bir proteindir. Bu esnada bazı maddeler akson ucundan endositoz yoluyla bu veziküllerin içine alınır ve hücre gövdesine taşınır. Sinir Büyüme Faktörü’nün (Nerve Growth Factor, NGF) taşınımı da bu şekilde gerçekleştirilmektedir.



Şekil 2. 2. Aksonal transportun şematik gösterimi.

Tüm bu işleme aksonal akış ya da aksonal transport adı verilmektedir. Gövdeden akson ucuna doğru giden transporta ortograt transport adı verilir. Ortograt transport hızlı aksonal transport ve yavaş aksonal transport olarak ikiye ayrılır. Akson ucundan hücre gövdesine doğru olan taşınım ise retrograt transport adı verilmektedir (Tablo 2. 2).

Tablo 2. 2. Aksonal transport çeşitleri

Aksonal Transport Çeşidi	Aksonal Transport Alt Tipi	Transport Hızı
Ortograt Transport	Hızlı	400 mm / gün
	Yavaş	0.5 – 10 mm/gün
Retrograt Transport	Alt tip yoktur	200 mm / gün

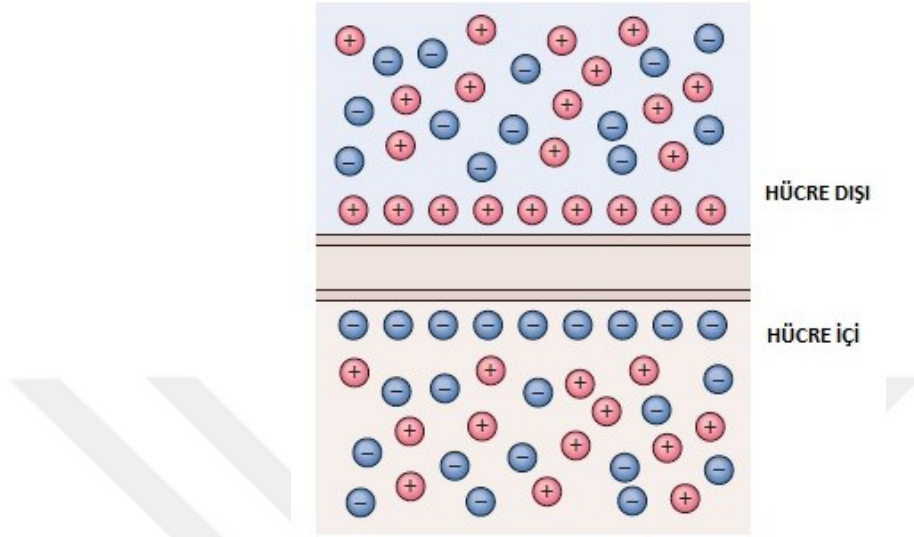
2.1.5 Sinir Uyarımı ve Uyarı İletimi

Periferik sinirler merkezi sinir sistemi ile vücut arasında bağlantı kurma görevi üstlenmiştir. Bu aktarım akson boyunca elektriksel bir ileti yoluyla sağlanmaktadır. Sinirlerdeki akım hızı oldukça yüksektir ve milisaniye (ms) olarak ifade edilmektedir; potansiyel değişiklikleri ise oldukça düşük miktarlarda olur ve milivolt (mV) olarak ifade edilmektedir (21).

Şu iyice ayırt edilmelidir ki, elektriksel uyarı denildiğinde, ucunda bir lamba olan ve düğmeye basıldığında kablo üzerinden elektriksel akımın pasif olarak akıp lambayı yakmasından daha farklı bir durum zihinde canlanmalıdır. Sinirlerde elektriksel uyarı olarak ifade edilen uyarı, pasif değil aktif bir uyarı iletim sistemidir. Uyarı akson membranı üzerinde yer alan iyon kanallarının aktif olarak çalışması sonucunda iletilir. Bir aksonu alıp bir ucuna elektriksel bir etki uygulandığında, diğer ucundan bu elektriksel uyarıyı ölçmek mümkün olmayacaktır.

Bir sinir aksonunun membranında – 70 mV miktarında potansiyel fark bulunmaktadır. Aksonun iç yüzeyi negatif iyonlardan zengin iken, dış yüzeyi pozitif

iyonlardan zengindir (Şekil 2. 3). Bir sinir iletiminin sağlanması için bu potansiyel farkta değişiklik olması ve bunun ileri doğru iletiliyor olması gerekmektedir.



Şekil 2. 3. Akson membranındaki iyonik dağılımın şematik gösterimi.

Bir aksonda potansiyel fark değişikliği oluşması için iki faktör gereklidir: 1) Membranın iç ve dış tarafında farklı iyonların yüksek oranda bulunması (gradiyent oluşması) ve 2) Bu iyonlara spesifik ve gerekli zamanlarda açılan kanalların mevcut olması gerekmektedir. Periferik sinirlerin aksonunda bu iki faktör mevcuttur ve gerekli uyarının ileri doğru iletimi sağlanmak istendiğinde iyon kanalları ileri doğru sırayla açılarak bir dinamit fitilindeki alevin ilerlemesine benzetilebilecek şekilde uyarıyı iletir.

İyon kanallarının sayısı ve dağılımı da aksonal iletimin hızını ve şeklini belirlemede önem kazanmaktadır. Myelinli sinirlerde akımın daha hızlı olmasının sebebi iyon kanallarının sayılarının fazla oluşudur. Myelinli sinirlerde iki Schwann hücresi arasındaki boşluk olan Ranvier boğumları arasında atlayarak oluşturulan ve bu sayede normalden daha hızlı aktarılan bir sinir iletim çeşidi mevcuttur ve saltatorik akım olarak adlandırılmaktadır. Tablo 2. 3’de periferik sinirlerin üzerlerinde bulunan iyon kanallarının mikrometre karelik alandaki sayıları gösterilmiştir. Myelinli nöronlarda Ranvier boğumlarında bulunan iyon kanal sayılarındaki yüksek miktara dikkat edilmelidir.

Sinir uyarımı akson sonlanmasına ulaştığında bu bölümün başında da bahsedilmiş olan sekretuar veziküller membran ile füzyon oluşturur ve içinde bulunan nörotransmitter adı verilen protein diğer sinir ile birleşme noktası olan sinaptik boşluğa salınır. Nörotransmitterin reseptörüne bağlanması ile bir sonraki hücrede gerekli düzenlemeler başlar. Örneğin bir sonraki hücre sinir hücresi ise, o sinir hücresinde de yeni bir uyarı oluşur ve ilerlemeye başlar, ya da bir kas hücresi ise kas kasılması meydana gelir.

Tablo 2. 3. Periferik sinirlerde mikrometre karelik alanda bulunan sodyum kanalı sayıları

Periferik Sinir Tipi	Hücre Gövdesi	İlk Segment	M. Y.	R. V.	A. S.	A. B.
Myelinli	50-75	350-500	25'den az	2000-12000	20-75	--
Myelinsiz	---	---	---	---	---	110

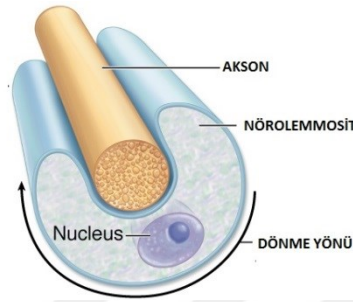
(M. Y.: Myelin Yüzeyi, R. V.: Ranvier Boğumları, A. S.: Akson Sonlanması, A. B.: Akson Boyunca)

2.1.6 Periferik Sinir Sistemi Histolojisi

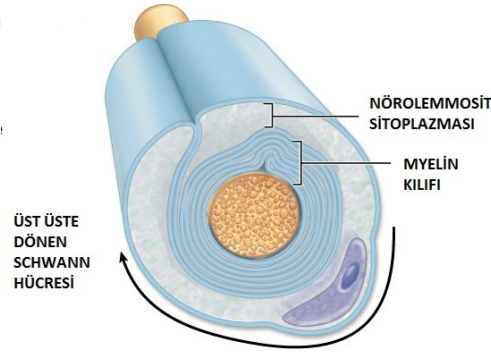
Periferik sinir sistemi üç temel bileşenden oluşmaktadır: sinirler, ganglionlar ve sinir sonlanmaları (22).

Sinir Lifleri: Sinir lifleri özel bir kılıf tarafından sarılmış olan aksonlardan oluşmaktadır. Aksonları saran bu kılıf embriyonik nöral krest hücrelerinden köken almaktadır. Aksonlar nörolemmosit adı verilen Schwann hücreleri tarafından sarılmaktadır ve aksonun çapı ile ilintili olarak kılıfta myelin olabilir yahut olmayabilir. Küçük çaplı aksonlar sıklıkla myelinsiz iken, daha geniş aksonlar myelinli olma eğilimindedir.

Schwann hücresi sinirin etrafını öncelikle bir tur atarak sarar (Şekil 2. 4); devamında bu sarma işlemi devam ettikçe bir kaç sıra membran oluşur ve Schwann hücresinin sitoplazması ile hücre içeriği bir kenara itilmiş hale gelir (Şekil 2. 5). Aksonun etrafındaki bu üst üste binmiş bir kaç sıra Schwann hücresi membranı tek birim olarak birleşir ve bir katman oluşturur. İşte bu tabakaya myelin kılıfı adı verilmektedir.



Şekil 2. 4. Schwann hücresinin aksonun etrafını sarması



Şekil 2. 5. Schwann hücresinin aksonun etrafında bir kaç sıra dönmesi sonucunda oluşan myelin kılıfı

Schwann hücrelerinin membranlarının diğer hücre membranlarına oranla daha fazla lipit içermesi ve myelin kılıfının bir kaç sıra Schwann hücresi membranından oluşması nedeniyle, myelin kılıfı aksonların etrafında lipitten zengin bir mikroçevre oluşturur. Fiziksel olarak aksonları korumasının dışında, aksonların etrafında iyonik olarak sabit bir mikroçevre oluşturması sebebiyle sinir iletimi üzerinde myelin kılıfının olumlu etkisi mevcuttur.

Akson boyunca uzunlamasına sıra ile dizilmiş olan Schwann hücrelerinin birbirlerine temas ettiği noktalarda myelin kılıfı inceler, ki bu alanlara Ranvier Boğumları adı verilmektedir.

Myelinsiz aksonların etrafında da yine koruyucu Schwann hücreleri bulunmakta, ancak aksonun etrafını yalnızca tek sıra olarak kapladığı için belirgin bir myelin tabakası oluşumu gözlenmemektedir.

Ganglionlar: Ganglionlar sinirlerin gövdelerini içeren oval görünümdeki yapılardır. Bir ganglionun içinde periferik sinirlerin gövdeleri ve etrafında destek ve koruma sağlayan glial hücreler bulunmaktadır.

Periferik sinir sisteminin yapılanmasında, sinir hücreleri ganglionlarda bulunmakta, sinirlerin devamı olan aksonlar ise hedef organa kadar gruplar halinde devam etmektedir.

Duysal Ganglionlar: Medulla spinalisin dorsalde bulunan kökünde yerleşirler. Burada bulunan periferik sinirler pseudounipolar yapıdadır. Duysal organlardaki sinir sonlanmalarından gelen uyarıları medulla spinaliste bulunan ve sinaps yaptıkları sinirlere aktarırlar.

Motor Ganglionlar: Medulla spinalisin ventralde bulunan kökünde yerleşirler. Merkezi sinir sisteminden gelen motor uyarıları hedef (effektör) organa iletirler.

2.1.7 Bir Periferik Sinirin Yapısı

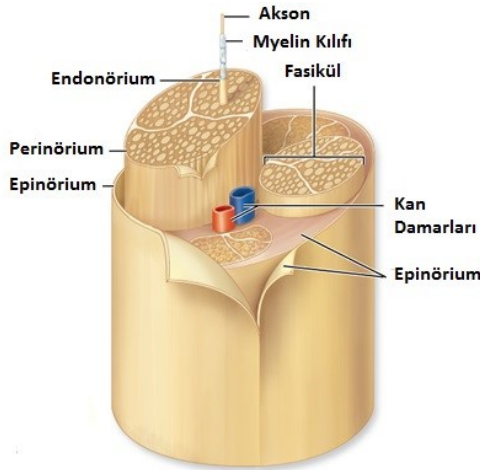
Bir periferik sinir, kabaca, aksonlardan oluşmaktadır. Medulla spinalis dorsal ve ventral ganglionlarında bulunan farklı sinir gövdelerinden çıkan aksonlar gruplar halinde periferiye doğru uzanım gösterir. Histolojik olarak her bir myelinli aksonun etrafında endonörium adı verilen gevşek bağ dokusundan oluşan bir tabaka bulunmaktadır. Seyrek yapılı zayıf bağ dokusundan oluşan endonörium Schwann hücreleri tarafından üretilen tip IV kollajen, laminin ve diğer proteinleri içerir.

Birbirlerine yakın hedef organa gidecek olan, ganglion içinde ve yakın komşulukta bulunan sinir gövdelerinden çıkan aksonlar gruplar oluşturarak distale

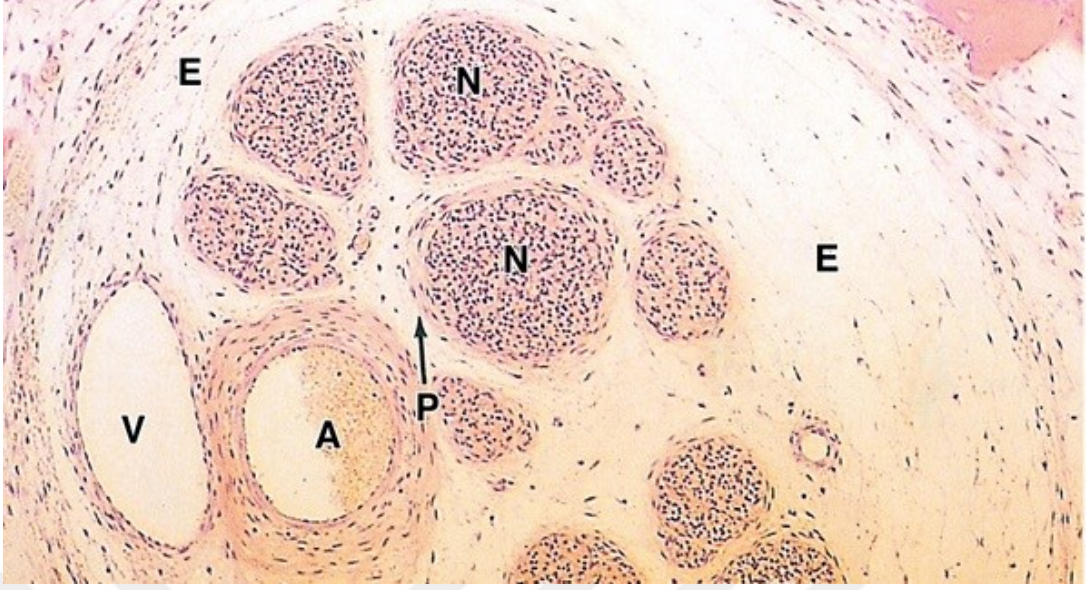
doğru gider. Aksonlardan oluşan bu birlikteliğe sinir fasikülü adı verilmektedir. Her bir sinir fasikülü perinörrium adı verilen bir katman ile sarılmış durumdadır. Perinörrium histolojik olarak düzleşmiş epitelyal-benzeri hücrelerden oluşur. Her hücrenin birbiri ile temas ettiği noktada “*tight junctions*” bulunmaktadır ki, makromoleküllerin geçişi ile mekanik etkilere karşı sinir fasikülünü korur.

Bir kaç adet sinir fasikülü de birleşerek bir periferik siniri oluşturur. Sinir fasikülleri arasında kan damarları bulunmaktadır. En dışta da tüm periferik siniri bir arada tutan epinörrium bulunmaktadır (Şekil 2. 6 ve Şekil 2. 7).

Epinörrium yoğun ve düzensiz yapıda fibröz bir tabakadır. Periferik siniri en dıştan sarmanın dışında, içeride sinir fasiküllerini birbirlerinden ayıran uzantılar da vermektedir. Epinörrium tabakası içinde sinirin beslenmesini sağlayan kan damarları, lenfositler ve fibroblastlar bulunur (23). Epinöral tabakada bulunan fibroblastlar kollajen üreterek yapısal sağlamlık oluşturur; buna ek olarak lenfositlerle birlikte epinöral tabakanın onarım ve idamesinde önemli bir rol oynar.



Şekil 2. 6. Periferik sinirin şematik gösterimi.



Şekil 2. 7. Periferik sinir kesitinin histolojik görünümü. A-V: arter ve ven, N: sinir fasikülleri, P: perinörrium, E: epinörrium. (H & E, X140)

2.1.8 Periferik Sinir Hasarı

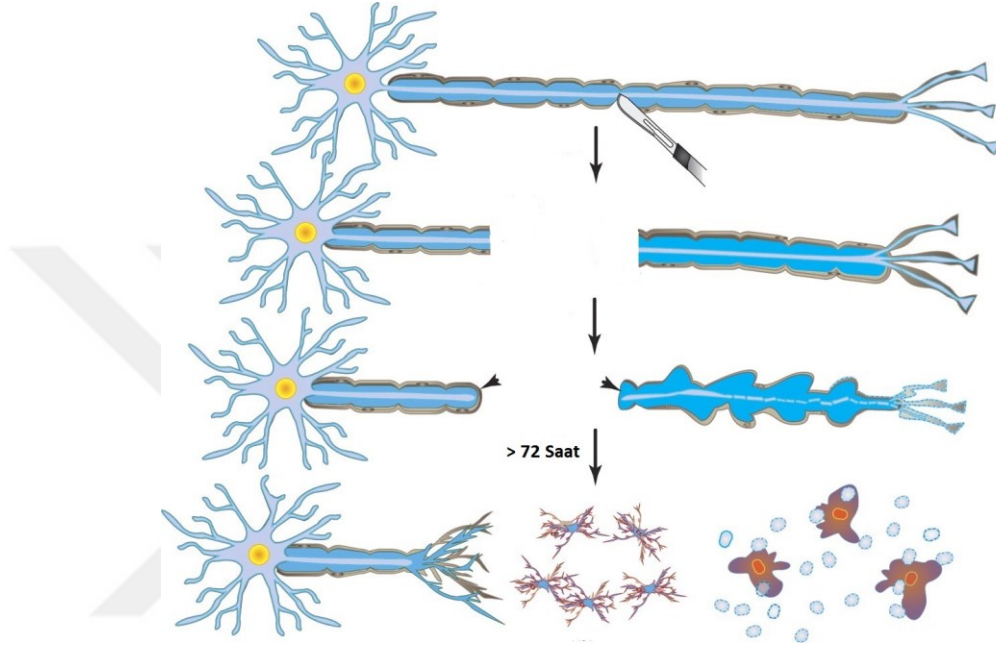
2.1.8.1 Genel Bilgiler

Periferik sinirlerin yapısı bölümünde de bahsedilmiş olduğu gibi, bir periferik sinirin içerisinde farklı kılıflar tarafından sarılmış ve fasiküller halinde organize olmuş aksonlar bulunmaktadır. Medulla spinalisin yakınında bulunan dorsal ve ventral kök ganglionlarında bulunan sinir hücrelerinin uzantıları olan aksonlarda yaralanma olduğu zaman, sinir gövdesinin harabiyeti yerine sinirin aksonal uzantısının bir segmentinin ana aksonal yapıdan ayrıldığı anlaşılmalıdır. Bu noktada bir periferik sinirden “gross” olarak bahsetmekten daha çok tek bir sinir hücresinin aksonunda kopma meydana geldiğinde histolojik boyutta oluşan değişikliklerden bahsedilmekte olduğu akılda tutulmalıdır.

Yaralanma sonrasında, aksonun bir segmentinin ana aksonal yapıdan ayrılması sonucunda aksonun distal segmenti ile proksimal segmenti arasındaki ilişki yok olmaktadır. Sinir hücresinin ayrılan distal aksonal kısmının hücreden tamamen kopması durumunda distal aksonal segmentte histolojik boyutta bir takım

değişiklikler meydana gelmektedir. Bu değişikliklere Wallerian dejenerasyon adı verilir.

Kısaca, bir aksonda kopma meydana geldiğinde, gövde ile bağlantısı kesilen distal segmentte Wallerian dejenerasyon oluşur (Şekil 2. 8).



Şekil 2. 8. Periferik sinirin transeksiyonu sonrasında distal segmentte görülen wallerian dejenerasyon

Wallerian dejenerasyonda, derinlemesine yapısal (“*ultra-structural*”) tekniklerle izah edilebilecek bir çok değişiklik tanımlanmış olmasına rağmen, daha makro boyutta düşünüldüğünde, ilk 30 dakika içerisinde akut aksonal dejenerasyon adı verilen bir süreç başlar (24). Sonrasında akson membranında şişme meydana gelir ve tespih boncukları benzeri bir görünüm oluşur. Bu süreç periferik sinirlerde ortalama 24 saat sürmektedir. Sonrasında aksonun hücresel iskelet bütünlüğü bozulur. Yaralanma sonrasındaki ilk 24-36 saat içinde olduğu bilinen dejenerasyon öncesinde distal segment hala elektriksel olarak uyarılabilir durumdadır. Ancak dejenerasyon sonrasında bu özelliği ortadan kalkar. Bu sebeple sinir yaralanmalarında ilk 24 saatte yapılan onarımlarda başarı şansının daha yüksek olacağı düşünülmektedir. İlerleyen süreçlerde myelin kılıfının da parçalanması

sonrasında makrofajlar bu boşluğu doldurur ve Schwann hücreleri ile birlikte debris temizler. Schwann hücrelerinde bozulma olmaması sebebiyle dejenerasyon sonrasında distal segment içi boş bir tüp görünümünü alır. Sonrasında Schwann hücreleri çoğalır ve bazal membran üzerinde uzunlamasına topluluklar oluşturarak Büngner Bantlarını oluşturur. Büngner bantları sayesinde rejenere olan aksonal yapılar kontakt ektilişim ile distale doğru ilerler (25).

Yaralanmadan sonraki dört gün içerisinde proksimal segmentin ucunda yeni filizler oluşur ve Schwann hücrelerinden salınan nörotrofik faktörlere doğru ilerlemeye başlar. Distal segmentte bulunan Schwann hücreleri kemoattraktan maddeler olan nörotrofik faktörleri salgılar. Buna ek olarak içi boş bir tüp halinde fiziksel olarak gelişen tomurcukların hedef organa doğru ilerlemesinde önemli bir rol oynar.

Eğer bir sinir yaralanmasında proksimal ve distal segmentler, boşluk ya da skar oluşumu gibi sebeplerden dolayı birbirleriyle buluşamazsa, sinir iyileşmesi gerçekleşemez. Bu gibi durumlarda çeşitli cerrahi yöntemler ile onarımların uygulanması söz konusu olmaktadır. Sinirlerin kesik alanda mikrocerrahi yöntemle dikilmesi, ya da ucuca dikilmeye olanak sağlamayacak boşluk varlığı durumunda araya sinir grefti ya da ven grefti gibi birleştirici konulması gibi teknikler klinik pratikte sıklıkla uygulanagelmektedir.

2.1.8.2 Sinir Yaralanması Sınıflandırmaları

Periferik sinirler organizmadaki diğer tüm yapılar gibi zedelenmeye ve yaralanmaya maruz kalmaktadır. Periferik sinirlerin yaralanmaları ve bu yaralanmaların prognozları hakkında tarihsel olarak önemli sınıflandırma yöntemleri yapılmıştır. Zaman içerisinde sinir yaralanmaları alanında sözü geçen otörler tarafından bu sınıflandırmalar üzerinde modifikasyonlar yapılmıştır.

Kabul görmüş ilk sınıflandırma 1943 senesinde Seddon tarafından yapılmıştır (26). Seddon sınıflandırması sinir yaralanmasının mekanizmasından daha çok histolojik ve anatomik değişiklikler üzerine açıklamalar getirmektedir. Seddon sınıflandırmasında sinir yaralanması 3 gruba ayrılır: “Nöropraksi”, “aksonotmezis” ve “nörotmezis”.

Nöroprakside sinir bütünlüğü sağlamdır. Makroskopik olarak sinirde herhangi bir değişim gözlenmez ancak fizyolojik olarak sinir iletimi durmuş durumdadır. Geçici olan bu durumda, yaralanma distalinde wallerian dejenerasyon oluşmaz. Sadece bir iletim durmasıdır ve geri dönüşlüdür. Ameliyatlar esnasında sinir etrafında çalışırken, sinir yaralanması olmadığı halde yalnızca traksiyonlar sebebiyle oluşan ve zaman içerisinde spontan geri dönüş gözlenen postoperatif hipoesteziler bu sınıf altına girer.

Aksonotmeziste makroskopik olarak sinir sağlam görünümündedir ve tek bir parçadan oluşmaya devam etmektedir. Ancak histolojik boyutta sinir içerisindeki bazı aksonlarda kopma meydana gelmiştir ve kopan aksonların distal segmentlerinde wallerian dejenerasyon meydana gelir. Sinir içerisinde yaralanmanın şiddetine bağlı olarak skar formasyonu mevcut olabilir ya da olmayabilir. Genel manasıyla, wallerian dejenerasyon mevcut olsa bile, spontan geri dönüşler görülebilmektedir.

Nörotmezis periferik sinirde total olarak devamlılık kaybı anlamına gelir. Makroskopik olarak sinirde tam kat kesilme görülmekte ve yaralanma distalindeki tüm aksonal yapılarda wallerian dejenerasyon gözlenmektedir. Ne yazık ki, bu tarz yaralanmalarda spontan bir iyileşmeden söz edilemez. Bu durumlarda cerrahi onarımlar devreye girmektedir. Çeşitli yaralanma paternlerinde kullanılan farklı ameliyat yöntemleri mevcut olmakla birlikte tüm cerrahilerde tek bir amaç bulunmaktadır: Kesinin proksimal ve distal güdüklerinin ucuca getirilmesi. Metnin önceki kısımlarında da belirtildiği gibi, periferik sinir iyileşmesi için yaralanma sonrasında aksonun proksimal ucundan çıkan filizlerin distal segmentte oluşan wallerian dejenerasyon sonrasında Schwann hücreleri tarafından oluşan boş tüp içerisinde, salınan sinir gelişim faktörleri (NGF) aracılığıyla distale doğru uzayarak hedef organa ulaşması gerekmektedir. Bu sebeple tam kesilerde proksimalden çıkan filizlerin doğru yön bulabilmesi için ameliyat ile, daha spesifik olarak mikrocerrahi teknikler ile, proksimal ve distal uç birbirleri ile ağızlaştırılır. Buna “koaptasyon” adı verilmektedir. Farklı koaptasyon ve sinir onarım tekniklerine metnin devamında ayrıntılı olarak değinilecektir.

Seddon tarafından yapılan sınıflandırmanın geçerliliği olmakla birlikte, özellikle nörotmezis olarak adlandırılan yaralanma çeşidinin daha ayrıntılı olarak

incelenme ihtiyacı gelişmesi sonrasında daha yeni ve kabul gören ikinci bir sınıflandırma sistemi Sunderland tarafından geliştirilmiştir (27). Örneğin, Seddon sınıflandırmasında aksonotmezis olarak sınıflandırılan bazı yaralanmaların beklenenin aksine spontan iyileşme göstermemesi ve olumsuz sonuçların görülmesi ile yeni bir sınıflandırma ihtiyacı oluşmuştur.

Sunderland periferik sinir yaralanmalarını 5 gruba bölmüştür: 1. Derece Seddon sınıflandırmasındaki ilk derece olan aksonotmezis ile, 5. Derece Seddon sınıflandırmasındaki 3. ve son derece olan Nörotmezis ile aynıdır. Ancak Seddon sistemindeki 2. Derece olan nörotmezis, Sunderland tarafından üç alt gruba ayrılmıştır. Kısaca, Sunderland 2., 3. ve 4. derece yaralanmalar Seddon sınıf 2'nin alt grupları gibi anlaşılabilir. Bu iki farklı sınıflandırma sistemi Tablo 2. 4'de açıklanmış durumadır.

Sunderland 2. derecede aksonal yaralanma vardır, ancak bazal laminalar sağlamdır. Tam spontan iyileşme vardır ancak iyileşme yavaş olur. 3. derecede, bazal laminalar da yaralanmıştır, spontan iyileşme yavaştır ancak tam bir iyileşme oluşamaz. 4. derecede ise sinir içinde komplet bir skar formasyonu mevcuttur ve iyileşme oluşmaz.

Zaman içerisinde, kimi durumlarda sinir yaralanmalarının kitabi olarak bu beş gruptan birisine tam uygunlukla konulamadığının fark edilmesiyle birlikte, sinir onarımları konusunda tüm dünyada kabul görmüş bir otorite olan Susan Mackinnon tarafından Sunderland sınıflandırmasına 6. Derece eklenmiştir: 1 ve 4. Derece yaralanmalar ile sağlam aksonlar yapıların kombinasyonu (28, 29).

Bu iki histolojik sınıflandırmanın dışında yaralanmaya sebep olan travmaların çeşitleri ile ilgili farklı bir sınıflandırma da mevcuttur ve cerrahi girişim varlığı, prognoz vb. konularda öngörü sahibi olabilmemize olanak tanır. Bir sinir yaralanması şu üç sınıftan birinde incelenmektedir: 1. Penetran yaralanmalar, 2. Ezilme ve kompresyon yaralanmaları, 3. Gerilme ve avülsiyon yaralanmaları.

Tablo 2. 4. Sinir zedelenmelerinde kabul görmüş uluslararası sınıflandırma sistemleri ve birbirleri ile olan karşılaştırılmaları

Seddon	Sunderland	Zedelenme	İyileşme
Nöropraksi	1. Derece	Spontan iyileşen iletim bloğu	Hızlı ve mükemmel
Aksonotmezis	2. Derece	Aksonal rüptür + sağlam bazal laminalar	Yavaş ve mükemmel
	3. Derece	Akson ve bazal laminaların rüptürü ve bir miktar skar varlığı	Yavaş ve inkomplet
	4. Derece	Komplet skar bloğu	Hiç
Nörotmezis	5. Derece	Sinir devamlılığında total kayıp	Hiç
	6. derece	1-4 derece yaralanmaların çeşitli kombinasyonları ± Sağlam fasiküller	Karışık

Bu üç sınıftan herhangi birisinde yapılması gerekenler, acil cerrahi eksplorasyon ihtiyacı varlığı/yokluğu, görüntüleme yöntemlerinin etkinliği, kısa-uzun dönem prognozları gibi bilgiler kaynak kitaplarda ve literatürde mevcut olmakla birlikte bu tezin içeriği dışında olduğu için bu konulara değinilmeyecektir. Ancak yine de ileri bilgi sahibi olmak isteyen okuyucular “*Mackinnon SE et al. Repair and Grafting of Peripheral nerve. In: Neligan PC, Gurtner GC (eds). Plastic Surgery. Elsevier and Saunders. China. 3rd edition. Volume 1. Chapter 22, 2013:464-478.e2*” adlı kaynağa başvurabilir.

2.1.8.3 Periferik Sinir Yaralanması Sonrasında İyileşme Süreci

Bu bölümün başında da yazılmış olduğu gibi, bir periferik sinir hücresinin çapraz kesiti alındığında aksonun dışında bir Schwann hücresinin kendi üzerinde defalarca dönerek oluşturduğu myelin kılıfı adı verilen bir dış katman görülecektir. Bir akson, bütün halinde uzunlamasına düşünüldüğünde bir elektrik kablосunu andırmaktadır: İçteki metal iletken kısım aksone uyarken, dıştaki plastik yalıtkan kısım myelin kılıfına uymaktadır.

Bir periferik sinir hücresinin akson bütünlüğü bozulduğunda distal segmentteki akson neredeyse yok olur ancak myelin kılıf bozulmaz. Yani içi boş bir kablo haline gelir. Eğer proksimal segmentin ucu distal segmentteki bu içi boş kabloya girebilecek olursa aksonlar istenen yönde ilerlemeye başlar ve boş myelin kılıfını doldurarak hedef organa kadar uzanır.

İçeriğinin çoğu sinir hücresi aksonlarından oluşan bir periferik sinir tamamen kesildiğinde (Sunderland sınıflaması, 5. Derece), kesik uçların ucuca getirilmemesi durumunda düzgün ilerleyen bir iyileşmenin varlığından bahsetmek olanaksızdır. Bu gibi durumlarda farklı teknikler ile sinir onarımı yapılmaktadır.

Sinir onarımı için pratik klinik uygulamada kullanılagelen bir çok teknik mevcuttur. Bu tekniklerden kısaca bahsetmek gerekirse;

1. Epinöral onarım
2. Fasiküler onarım/perinöral onarım
3. Grup fasiküler onarım

Yaralanma sonrasında proksimal ucun rejenere olarak ilerlemesi ve hedef organa ulaşması için gerekli olan ve yürütülen iyileşme mekanizmalarının temelinde şu olaylar yatmaktadır:

Öncelikle Schwann hücrelerinden ve makrofajlardan büyüme faktörleri olan “*growth-promoting factors*” salınımı gerçekleşir. Schwann hücrelerinden salınan nörotrofik faktörler: *Nerve Growth Factor (NGF)*, *Ciliary Neurotrophic Factor (CNTF)*, *Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1)* ve *Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF)* (30, 31) iken, makrofajlardan salınan nörotrofik faktörler

İnterleukin-1 (IL-1) ve *Platelet Derived Growth Factor (PDGF)*'dir (32). Bu nörotrofik faktörler sayesinde gelişen aksonlar distal güdüğe doğru yönelir. Devamında ise immunoglobulin süperaillesine ait (örn. NgCAM / L1 gibi) adezyon molekülleri aracılığıyla akson büyümesi hücre membranı ve ekstraselüler matriks boyunca ilerler. Büyüme trasesinin doğru yönde olması ise perinöryumdan salınan inhibitör proteinlerce sağlanır. Distal akson güdüğünde denervasyon sebebiyle nörotrofinlerin üretimi up-regüle olur ve salınan nörotrofinler ile aksonal rejenerasyon sağlanmış olur. Aksonal rejenerasyonun sağlıklı bir şekilde gerçekleşmesi için akson tomurcuklarının distal segmentteki Schwann hücrelerinin bazal laminalarıyla uygun bir temas sağlaması gerekmektedir (33).

Bir periferik sinir yaralanması sonrasında sinirin tamamen kopması söz konusu ise, proksimal ve distal güdüklerin ucuca getirilerek onarılması durumunda “teorik olarak” proksimal güdükte başlayan aksonal rejenerasyon distal güdük içerisinde ilerleyerek hedef organa ulaşacaktır.

Devamlılığı kaybolmuş sinirlerin onarılması durumunda dikkat edilmesi gereken bazı şartlar mevcuttur. Öncelikle onarım için gereken cerrahi tekniğin seçimi söz konusudur. Sinir kesilmesi durumunda proksimal ve distal güdük ucuca getirilebiliyorsa sinire primer onarım uygulanır. Ucuca dikilme esnasında iki tekniğin varlığı söz konusudur. Bunlar: 1) Epinörium tabakasının sütüre edildiği epinöral onarım ve 2) Fasiküllerin perinörium tabakalarının sütüre edildiği fasiküler onarım. Fasiküler onarımda sinirin dışındaki ve fasiküllerin arasına uzanım gösteren epinörium çıkartılır ve fasiküller serbestleştirildikten sonra perinöral tabaka karşılıklı olarak sütüre edilir. Teorik olarak kesik fasiküllerin ucuca getirilerek onarıldığı fasiküler onarımın daha başarılı sonuçlar vereceği ön görülse de, literatürde yapılmış olan çalışmalar göstermiştir ki (34), fasiküler onarımın epinöral onarıma herhangi bir üstünlüğü yoktur. Dvali ve Mackinnon (35) tarafından da belirtildiği gibi eğer sinir içi skarlaşma, ezilme, ödem gibi sebepler yüzünden uygun fasiküller bulunamazsa, epinöral onarımda olduğu gibi doğru fasiküllerin birbirini bulup aksonların ilerleme şansı kalmayacaktır. Bu sebeple kesilen sinirlerin ucuca getirilerek yalnızca epinöriumuna konan sütürler ile onarılması klinik pratikte en sık kullanılan yöntemdir. Metnin devamında bu teknik epinöral onarım olarak adlandırılacaktır. Ek olarak her

iki tekniğin kombine edildiği grup fasiküler onarım olarak adlandırılan bir onarım şekli de mevcuttur. Grup fasiküler onarımda fasiküller arasında bulunan epinörium korunur. Bu yolla iç anatomisi bilinen sinirlerde daha yüksek başarı oranları elde edilebilir. Örneğin önkolda bulunan median ve ulnar sinirin iç anatomisi bilindiği için grup fasiküler onarım ile daha iyi sonuçlar bildirilmiştir (36). Ayrıca ek olarak koaptasyon hattında sütür ile onarım yerine “fibrin-glue” kullanılarak yapıştırma da alternatif olarak bildirilmiş teknikler arasındadır (37).

Bir periferik sinir onarımının başarılı olabilmesi için onarım esnasında bazı kriterlerin sağlanmış olması gerekmektedir:

1. Kesilen segmentler anatomik pozisyonuna uygun olarak ucuca getirilmiş olmalıdır. Bunun sağlanabilmesi için makroskopik olarak sinirin seyri ve oblik kesiler gibi durumlarda kesinin yönü, sinirlerin yüzeyindeki damarlar olan vaso nervorumların devamlılığın sağlanmaya çalışılması yol gösterici olarak kullanılabilir.
2. Koaptasyon hattında gerim olması durumunda skarlaşmada artış ve mikrovasküler kan akımında azalma olur ve bu durumda onarım başarısı azalır. İki optimal koaptasyon hattının bir adet suboptimal koaptasyon hattından daha başarılı sonuçlar vereceği bildirilmiştir (38). Bu sebeple sinirlerin koaptasyonu esnasında tamamen gerimden uzak onarım yapılmalı, bu durum sağlanamıyorsa da farklı bir teknik uygulanmalıdır. Bu durum özellikle el bileği gibi hareketli bölgelerde bulunan sinir yaralanmaları durumunda önem kazanmaktadır. Örneğin el bileği fleksör yüzünde bulunan bir sinir kesisinde, onarımın el bileği ekstansiyonuna olanak sağlayacak şekilde gerimden uzak bir şekilde yapılmasına dikkat edilmelidir.

Sinir yaralanması durumunda bir segment kaybı varsa ya da sinirin ucuca koaptasyonu gerimden uzak bir şekilde yapılamıyorsa, proksimal ve distal segmentler arasına iletim sağlayan bir madde koymak gerekir. Bu tarz durumlarda sıklıkla kullanılan maddeler:

1. Otojen sinir greftleri
2. Organik/biyolojik sinir iletkenleri
3. Sentetik sinir iletkenleri
4. Aselüler sinir allogreftleri ve xenogreftler olarak 4 grup altında incelenebilir.

1. Otojen sinir greftleri: Otojen sinir greftleri periferik sinir onarımlarında halen altın standart teknik olarak kullanılmaktadır. Periferik sinirlerin boylarının %10'dan fazlası oranında bir gerim sinirlerde iyileşme problemleri yaratmaktadır (39). Buna ek olarak, %4-6 arası gerimin iyileşme üzerinde negatif etkilerinin başladığı bildirilmiştir (40). Rakamsal olarak ise, 4 mm üzeri defektlerin bir çok hekim tarafından primer ucuca onarılmadığı bildirilmiştir (41). Otojen sinir greftlerinin bilinen faydalı etkinliklerinin dışında donör sahada duyu kaybı ya da donör saha morbiditesi gibi bazı dezavantajları da mevcuttur. Donör saha olarak sıklıkla alt ekstremitede bulunan sural sinir, üst ekstremitede ise lateral antebrakial kutanöz sinir ya da medial antebrakial kutanöz sinir kullanılmaktadır (42). Motor sinir onarımlarında kullanılabilecek sinir grefti donörleri ise pronotor quadratus'a giden distal anterior interosseöz sinir, grasilis kasına giden obturator sinir dalı ve latissimus dorsi kasına giden torakodorsal sinir dalları olarak sayılabilir (42).

2. Biyolojik sinir iletkenleri: Bu amaç için sinir dokusu yerine ven ya da yalancı kılıf ("pseudosheath") kullanılabılır (43, 44).

3. Sentetik sinir iletkenleri: 30 mm altındaki periferik sinir segmenti kayıplarında otolog sinir greftleri yerine sinir iletkenlerinin kullanılabileceği bildirilmiştir (45, 46). Eskiden kullanılmış olan çözünür-olmayan iletkenler artık kullanılmıyor olsa da *poliglikolik asit* (31) ve saflaştırılmış tip I sığır kollajeninden üretilen iletkenler halen kullanılmaktadır (47). *Amerikan Yiyecek ve İlaç Kurumu (U.S. Food and Drug Administration-FDA)* ve *Conformit Europe* tarafından kullanımı onaylanan ürünler şunlardır (48): *Poliglikolik asit* içeren *NeuroTube* (Synovis Micro Companies, Inc.), Tip I kollajen içeren *Neuragen* (Integra Life Sciences Corp.), *NeuroMatrix and Neuroflex* (Collagen Matrix, Inc.) ve *Cova Ortho-Nerve* (Biom'Up SAS); *poly-DL-lactide-caprolactone* içeren *Neurolac* (Polyganics

BV), domuz ince bağırsak submukozasından elde edilen *Axoguard Nerve Connector* (Cook Biotech Products) ve *Salubria* (PVA hydrogel) içeren *SaluTunnel Nerve Protector* (SaluMedica, LLC).

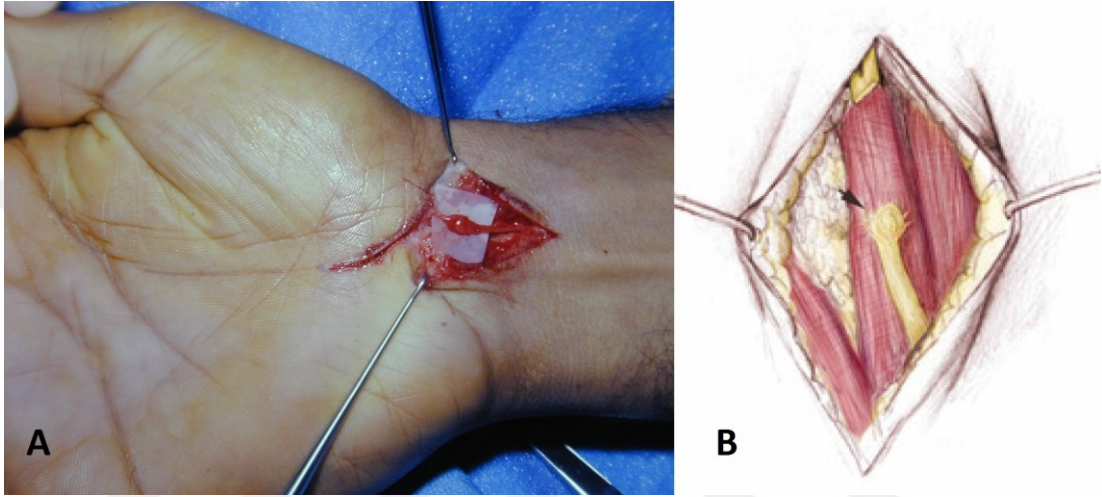
Weber ve arkadaşları (31) tarafından yapılmış olan bir prospektif randomize kontrollü çalışmada dijital sinirlerde sinir grefti yerine iletken kullanımı durumunda iki nokta diskriminasyon testinde daha iyi sonuçlar bildirilmiştir.

4. Aselüler sinir allogreftleri ve xenogreftler: Kadavralardan alınan sinir allogreftleri iyi bir seçenek gibi görünse de yaklaşık olarak 6 ay süren immünsüpresyon ihtiyacı, ameliyat sonrası dönemde damar içi yoldan steroid kullanımı ve *Pneumocystis carinii* gibi fırsatçı enfeksiyon riskleri (42) kullanımlarını kısıtlamaktadır. Sinir allogreftleri ile onarımlarda kullanılan en sık immunsupresif ajan takrolimus (FK-506) olarak karşımıza çıkmaktadır. FK-506'nın sinir rejenerasyonu üzerine olumlu etkileri bildirilmiş olsa da uzun dönem kullanımlarındaki yan etkileri düşündürücüdür (49). Xenogreft kullanımında da mutlak suretle immünsüpresyon gerekmektedir (50, 51).

2.2 Nöroma

2.2.1 Genel Bilgiler

Nöroma ilk olarak 1811 senesinde kesilmiş bir sinirin ileri düzeyde ağırlı genişlemiş ucu olarak tanımlanmıştır (52) (Şekil 2. 9). Genel anlamıyla sinir sonlanmasında yer alan ağırlı bir kitle olarak ifade edilebilir.

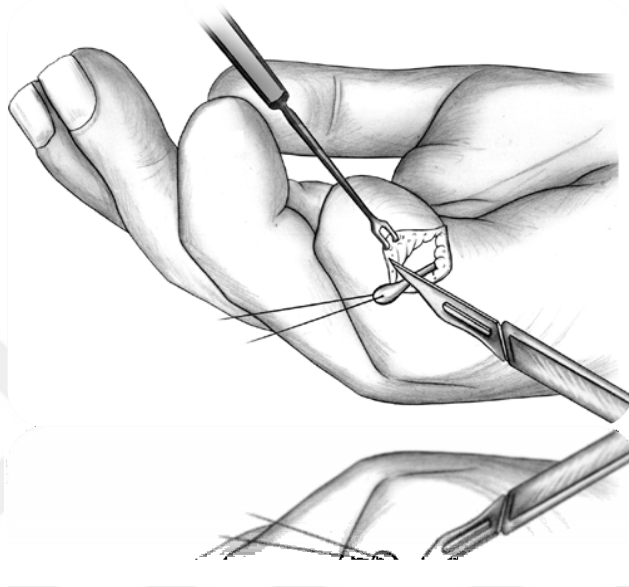


Şekil 2. 9. Nöroma. A: Radial sinirde görülen nöroma, B: Nöroma temsili çizimi

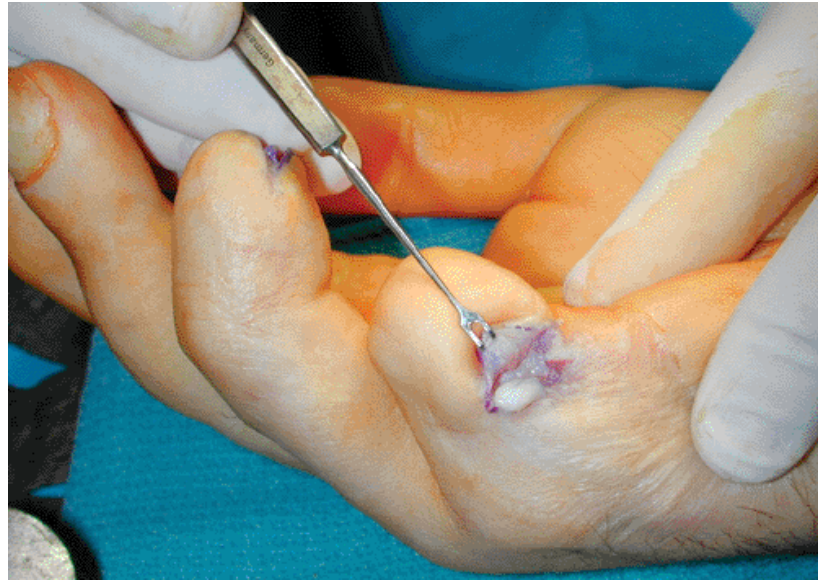
Nöroma bir sinirin yaralanması sonrasında düzensiz ve uygun olmayan şekilde rejenere olan aksonal yapılardan oluşan bir kitledir. Ağırlı olması nöromayı önemli bir klinik antite haline getirmektedir (1). Ayrıca, ekstremit amputasyonları sonrasında gelişen nöromalar güdük ağrısının sık görülen sebeplerinden birisidir (2) (Şekil 2. 10 ve 2. 11).

Sağlık verileri güvenilir bir ülke olarak kabul edilen Amerika Birleşik Devletleri (ABD) kayıtlarına göre halen ABD’de 1,7 milyon ekstremit amputasyonlu birey bulunmaktadır ve 2050 senesinde bu sayının ikiye katlanacağı ön görülmektedir (3). Tüm majör amputasyonlu bireylerin yaklaşık %25’inin amputasyon güdüğünde gelişen semptomatik nöroma oluşumuna bağlı olarak kronik ağrı yaşayacağı düşünülmektedir (4, 5). Sayılar ve oranlar göz önünde tutulduğunda nöroma oluşumunun önemli bir klinik problem olduğu anlaşılmaktadır. 2001 ile 2010 seneleri arasında Irak ve Afganistan’da gerçekleşen savaşlarda 1000’e yakın

personelin majör ekstremite amputasyonuyla sonuçlanan yaralanma olayının yaşanması ABD’de nöroma konusunda yapılan araştırmalara ve klinik çalışmalara olan ilgide artışa sebep olmuştur (53) .



Şekil 2. 10. Parmak amputasyonu sonrasında güdükte oluşan nöromanın temsili çizimi



Şekil 2. 11. Parmak amputasyon güdüğünde gelişen nöroma

ABD öncülüğünde artan nöroma araştırmaları diğer ülkelerde de yüksek bir ilgiyle karşılanır hale gelmiştir. Nöroma konusunda Literatürde tanımlanmış 150’den fazla cerrahi tedavi olduğu düşünüldüğünde (6), tedavi konusunda ortak bir konsensus olmadığı anlaşılmaktadır. Bu nedenle nöroma oluşumunun önlenmesi konusunda da çeşitli çalışmalar yürütülmüş ve yayınlanmıştır.

2.2.2 Nöromanın Tanımı

Bir periferik sinirin yaralanması sonrasında distal segment içinde bulunan akson dejenere olur (Wallerian dejenerasyon) ve aksonu saran Schwann hücreleri ile myelin kılıfı içi boş bir tüp halini alır. Proksimal segmentten rejenere olan aksonlar distal segmentte bulunan bu tüp içerisinde ilerleyerek hedef organa kadar ulaşır. Yapılan son çalışmalar proksimal güdükten rejenere olan aksonların her yöne doğru ilerlediğini fakat doğru nörotrofik faktörlerin yokluğunda yok olduklarını göstermiştir. Bu sebeple rejenere olan aksonlar distal segmentte bulunan Schwann hücrelerinden sekrete edilen nörotrofik faktörler varlığında doğru yöne doğru ilerleyebilmektedir.

Ekstremité amputasyonu gibi periferik sinirin kesilip proksimal segmentin karşılıksız kaldığı durumlarda hedef oluşturacak ve yön gösterecek bir distal segment mevcut olmamaktadır. Rejenere olan aksonlar “başıboş” bir şekilde uzayıp oldukça ağrılı bir “sinir yumağı” oluşturabilir (54). Bu duruma “terminal nöroma” adı verilmektedir. Literatürde yapılmış olan hayvan çalışmalarından yola çıkarak nöroma oluşumunun güdük uçlarında oldukça fazla görüldüğü ve normal iyileşmenin bir parçası olarak kabul edilmesi gerektiği vurgulanmıştır (52). Bir periferik sinir kesilip ucu açıkta bırakıldığında histolojik boyuttaki asemptomatik bir nöroma ile semptomatik nöroma arasındaki yelpazede nöroma oluşacağı öngörülmektedir. Hangi ameliyattan sonra nöromanın hayat kalitesini bozabilecek düzeye ulaşacağı bilinemeyeceği için bu tarz ameliyatlarda periferik sinirin proksimal güdüğüne yapılacak bir müdahale sonrasında nöroma oluşumunun azaltılması ya da önlenmesine yönelik bazı teknikler tanımlanmıştır. Yapmış olduğumuz tez çalışmasında bu alandaki 3 farklı teknik birbirleri arasında ve kontrol grupları ile karşılaştırılmıştır.

2.2.3 Nöromanın Tanısı

Semptomatik nöroma ön tanısı anamnez, fizik muayene ve görüntüleme yöntemleri ile konulur. Periferik sinirlere olan herhangi bir travma ya da cerrahi işlem sonrasında ortaya çıkan ağrılı bir kitle ilk olarak nöromayı düşündürmelidir. Fizik muayenesinde, bir periferik sinir ile bağlantılı, hareketli ya da etrafındaki skarlaşmaya ve yapışıklıklara bağı olarak hareketsiz, palpasyonda hassasiyet yaratan, çoğu zaman tinnel bulgusu¹ mevcut olan bir nodül olarak karşımıza çıkar.

2.2.3.1 Klinik Bulguları

Nöroma benign yapıda bir yumuşak doku tümörü olarak karşımıza çıkar ve çoğu zaman ağrılıdır. Nöroma oluşum hızı etraf dokuların yoğunluğu ile ilgilidir (55), yoğunluğu cerrahi sonrasında 1-12 ay içerisinde oluşmaktadır (56) ve 2-3 sene içerisinde tedricen büyüme gösterebilir (54).

Nöromada oluşan ağrı nöropatik karakterdedir. Ağrının sebebi literatürde bir çok sebebe bağlanmış olarak karşımıza çıkmaktadır. Mekanik ya da kimyasal irritasyon, lokal skar dokusu gelişmesi, traksiyon nöriti, dizestetik duysal semptomlar (57), hatta periferik sinir hipoksisine bağı olarak nöromanın azalmış kanlanması (58) gibi faktörlerin ağrıya sebep olduğu düşünülmüştür.

Nöropatik ağrı sinir yaralanmasının hemen ardından ortaya çıkar ve haftalarca, hatta yıllarca kalıcı olabilir. Oldukça rahatsız edici bir ağrı olarak kabul edilir ve birçok terapötik işleme karşı dirençlidir. Bu sebeplerden dolayı açıkça hayat kalitesini düşürmektedir (59). Literatürde dil alt yüzünde gelişen bir kitlenin eksizyonu sonrasında *recurrent lingual sinirde* gelişen ağrılı nöromaya bağı, oral narkotik analjezik kullanımına rağmen nöromanın yol açtığı ağrı sebebiyle yeme-içmesi bozulan ve vücut ağırlığının %25'ini kaybeden bir hasta bildirilmiştir (60). Bu olgu sunumu nöroma ağrısının hayat kalitesini ne düzeyde bozduğu konusunda fikir vermektedir. Buna ek olarak her ne kadar non-steroid anti inflamatuvar ilaçlar ya da asetaminofen kullanımının nöropatik ağrı üzerinde etkinliği olduğu kanıtlanmamış

¹ Tinnel Bulgusu: Periferik sinir lezyonlarında palpasyon ile birlikte oluşan rahatsız edici his. Çoğu zaman elektrik çarpması şeklinde semptom yaratmaktadır.

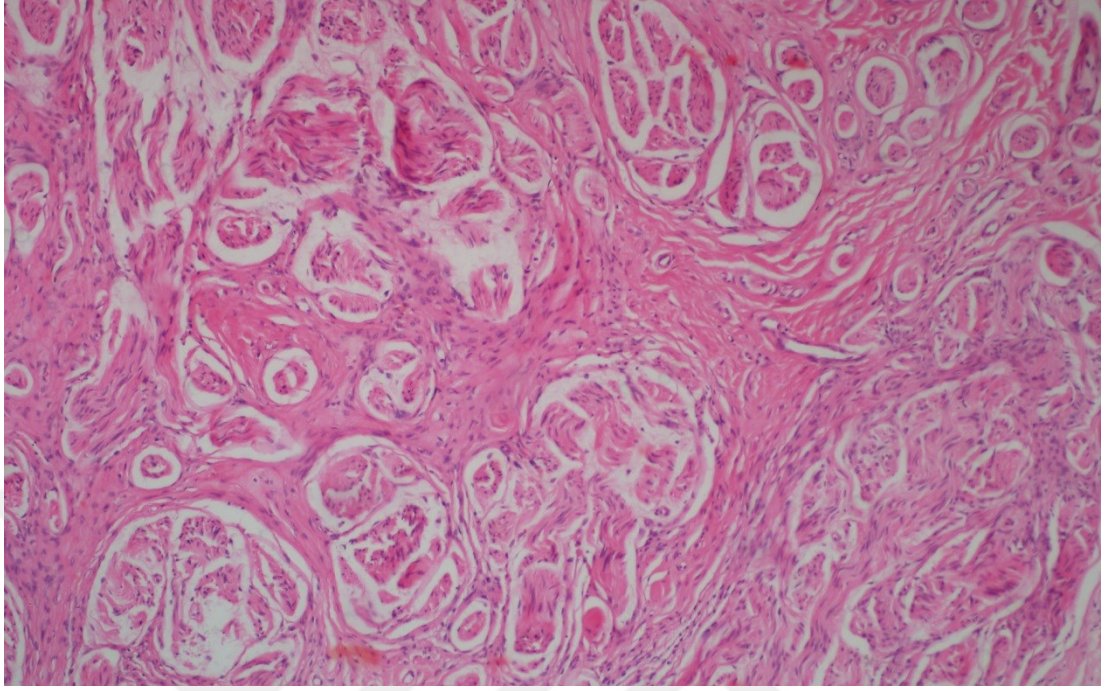
olsa da, nöropatik ağrının semptomatik tedavisi için sıklıkla reçete edildikleri bildirilmiştir (61). Bir başka deneysel çalışmada ise opioidlerin indometasin ile ya da asetaminofen ile kombine edilmesinin nöroma ağrısı karşısında sinerjistik etkisi olduğu gösterilmiştir (62). İlk sırada reçete edilen ve belki de uzun süre hastalarca kullanılan ancak klinik etkinliği olmayan non-steroid anti inflamatuvar ilaçların maliyeti ve opioidlere karşı gelişen tolerans sayesinde artan opioid kullanımının maliyeti göz önünde bulundurulduğunda, nöropatik ağrının maliyet konusunda genel sağlık hizmetleri giderlerinde gereksiz maliyet artışına yol açacağı ön görülebilir.

Kimi otörler iyileşmenin akut döneminde salınan histamin ve serotonin'in nöroma ağrısı etyolojisinde yeri olduğunu düşünmüştür (63). Fakat inflamatuvar yanıt geçicidir, oysa ki nöropatik ağrı kronik bir ağrıdır (64). Olası sebepler arasında sensitize C liflerinin ektopik aktivitesi, noziseptörlerin aşırı iyileşmesi ve rejenere olan sinir filizlerinin anormal spontan aktiviteleri sayılabilir (59, 65-68). Bunlara ek olarak bu konumda oluşan skarlaşmanın yarattığı mekanik stimulasyon ile ağrı daha da şiddetli hale gelebilir (65, 66).

2.2.3.2 Histolojik Yapısı

Nöroma, makroskopik olarak sıklıkla 5 cm'nin altında, düzgün sınırlı, beyaz-gri nodüller olarak karşımıza çıkmaktadır. Mikroskopik olarak ise aksonların, Schwann hücrelerinin, miyelinin ve fibroblastların mevcut olduğu rastgele proliferen olan sinir fasikülleri olarak görünmektedir. Fasiküller genellikle köken alınan sinire göre daha az myelinlidir ve bir kollajen yatak içerisinde yer almaktadır (69). Kitle içerisinde düzensiz yapıda aksonların oluşturduğu "kaotik" görünümde alanlar mevcuttur (Şekil 2. 12).

Bilinen histolojik özelliklere ek olarak terminal nöromanın geliştiği periferik sinir sonlanmasındaki mikroçevrede de bazı değişikliklerin mevcut olduğu gösterilmiştir: örneğin nöromaların ekstrensek vasküler pleksuslarının progresif olarak bozulduğu, nöromanın merkezi kısmında lokal olarak iskemik alanların mevcut olabileceği, bazı alanlarda mikrodamarların ve aksonların distal uçlarında kayıpların mevcut olabileceği gibi histolojik bulgular ve bu bulgular ile ilişkilendirilen kan akımı azalması bildirilmiştir (70). Aynı yayında rejenere olan



Şekil 2. 12. Terminal nöromanın mikroskopik görüntüsü (H & E).

aksonların gelişmesinde mikro çevrenin de rolü olduğu ve lokal mikro damarlar ile rejenere olan aksonların mikro kompartmanları arasında ilişki mevcut olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Sinir ucunu çevreleyen mikro ortamın nöroma oluşumuna etkisi iki farklı deneysel çalışma ile gösterilmiştir: Sakai ve arkadaşları (71) tarafından yapılmış olan deneysel çalışmada sinir sonlanmasında var olan nöroma eksize edilmiş ve deney gruplarında *atelokollajen* ve silikon tüpler ile kaplanarak mikroçevreden izole edilmiştir. Bu yöntemle aksonların daha düzenli bir yolla rejenerasyonunun sağlanması dışında fibroblastların, Schwann hücreleri ile kan damarlarının proliferasyonunu önlediği ve sinir ucunun iritasyonunu azalttığı vurgulanmıştır. Diğer bir çalışmada ise sinir sonlanmasına *anti-Brain Derived Nörotrofik Faktör (BDNF)* antikorunun uygulanması ile rejenere olan aksonların süprese edilmeden kollajen içeren bağ dokusu proliferasyonunun baskılandığı ve bu sayede nöroma oluşumunun azalmış olduğu gösterilmiştir (72).

2.2.3.3 Tipleri

1. Terminal nöroma :Kesintiye uğramış bir periferik sinirin proksimal güdük ucunda ortaya çıkmaktadır.
2. Devamlılık içindeki nöroma :İngilizce kaynaklarda “*Neuroma in-continuity*” olarak adlandırılan nöroma çeşididir. Periferik sinir kesilerine bağlı yapılan onarım sonrasında koaptasyon hattında ortaya çıkan nöroma çeşididir. Sinir içerisinde koaptasyon hattının distaline geçip normal bir şekilde rejenere olan aksonlar ile nöroma formasyonu oluşturan aksonlar bir arada bulunmaktadır. Bu sebeple cerrahi tedavi esnasında normal bir şekilde rejenere olan aksonal yapıların korunması gerekmektedir.
3. “*Spindle*” nöroma : Kesilmemiş ancak travmaya uğramış bir periferik sinirde, yani bir periferik sinirin orta segmentinde ağırlı bir genişleme olarak tanımlanabilir (56).
4. Morton Nöroması : Tüm bunlara ek olarak Morton nöroması olarak adlandırılan bir nöroma çeşidi de mevcuttur. Klasik olarak metatarsal kemiklerin arasında yerleşim gösterdiği bilinmektedir (73).
5. Joplin Nöroması : Nadir görülen bir nöroma alt tipidir. Alt ekstremitelerde medial plantar dijital proper sinirin perinöral fibrozisidir. Etyolojisinde farklılıklar görülse de en sık bunion cerrahisi sonrasında görülmektedir (74).

2.2.3.4 Görüntüleme Yöntemleri

Nöromanın 1 cm’den daha küçük olması durumunda görüntüleme yöntemleri ile tespit edilmesinin sıklıkla zor olduğu ve radyolojik olarak tanı konan nöromaların genel olarak 1 – 3.5 cm arasında olduğu bildirilmiştir (52, 75-78).

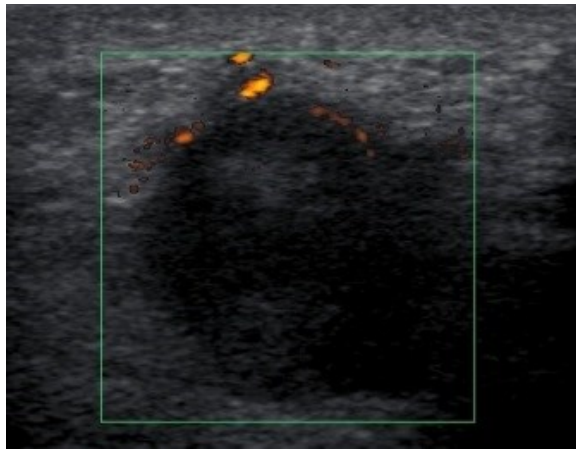
1. Ultrasonografi (USG): Nöromadan şüphelenildiğinde yapılması gereken ilk görüntüleme yöntemi USG olmalıdır. Bilgisayarlı tomografi (BT) taraması ya da manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ile karşılaştırıldığında maliyeti yüksek

olmayan, radyasyon riski bulunmayan ve ulaşılması daha kolay bir yöntem olması sebebiyle görüntüleme yöntemlerinde ilk sıra tercih USG'dir.

Bunların dışında nöroma konusunda USG'nin diğer bazı avantajları da mevcuttur. Örneğin BT'den üstün olarak, nöromadan şüphelenilen kitle ile orijin aldığı periferik sinir arasındaki bağlantı USG ile etkin olarak gösterilebilmektedir, oysaki BT ile bu yapılamamaktadır (52). Buna ek olarak ince iğne aspirasyon biyopsisine de olanak sağladığı için USG nöroma tanısında oldukça önemli bir yer tutar.

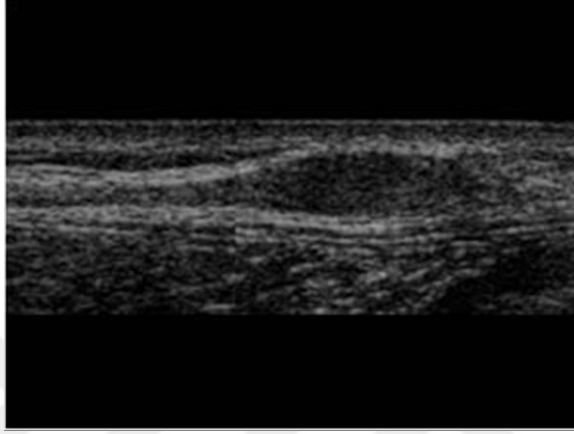
Nöroma eksizyonu esnasında oluşan doku skarlanmasının, nöroma oluşumunu ya da tekrarlama ihtimalini arttırdığı düşünülmektedir. Bunu önlemek için ameliyat esnasında USG yardımıyla bir kılavuz tel kullanımı ile daha az diseksiyon ve daha az skarlaşma bildirilmiştir (79). Benzer şekilde USG rehberliğinde gönderilen kılavuz tel sayesinde "*pulse-radyofrekans*" uygulaması ile nöromanın ablaze edilebileceği de literatürde bildirilen teknikler arasında yer almaktadır (80).

Nöromalar USG'de diğer sinir kökenli tümörler gibi hipoekoik (52) bir kitle olarak görülür (Şekil 2. 13). Bunun dışında psödokistik, sınırları düzensiz ya da belirgin olmayan bir kitle olarak da görüldüğü yönünde bilgiler mevcuttur (52, 78, 81).



Şekil 2. 13. Nöromanın USG görüntüsü

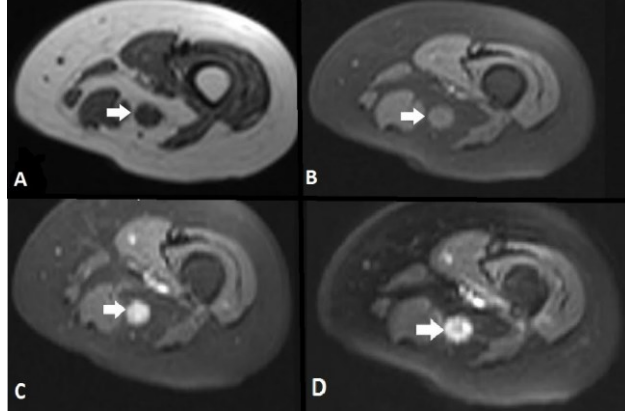
Periferik sinirler USG’de belirgin düzeyde ekojenik, uzunlamasına taramada internal çizgisel yankılar (ekolar) veren kord-benzeri yapılar olarak, enine (transvers) taramalarda oval-yuvarlak yankılar veren yapılar olarak görülür (82). Bir periferik sinir ile nöroma arasındaki bağlantının USG ile ortaya konması tanı açısından anlamlı hale gelir (52) (Şekil 2. 14).



Şekil 2. 14. Terminal nöroma ile köken aldığı periferik sinir bağlantısını gösteren USG görüntüsü

2. MRG: MRG nöroma tanısında en başarılı yöntem olarak karşımıza çıkar, T1 ağırlıklı görüntülerde düşük sinyal yoğunluğu, T2 ağırlıklı görüntülerde orta-yüksek sinyal yoğunluğu ve *gadopentetat dimeglumin* uygulaması sonrasında değişik düzeyde tutulum bildirilmiştir (56) (Şekil 2. 15). T1 ve T2 ağırlıklı görüntülerde düşük sinyal yoğunluklu halka varlığı da bildirilmiş olan MRG bulguları arasında yer alır (76-78, 81).

MRG ile ilgili iki önemli sınırlayıcı faktör bulunmaktadır. Bunlardan ilki amputasyon güdüğünde bulunan cerrahi klipler ya da şarapnel parçaları gibi metalik yabancı cisimler artefakt yaratabilmektedir (56). İkincisi ise 24 hastada yapılmış olan bir klinik çalışmada, diz üstü amputasyonlarda MRG’nin nöroma tanısı koymada oldukça etkin olduğu ancak diz altı amputasyonlarda kasların yoğun yapısının ve yağ atrofilerinin varlığı sebebiyle MRG’nin nöroma tanısı koymada yetersiz kalabildiği gösterilmiştir (77).



Şekil 2. 15. Nöromanın MRI görüntüleri. A: T1 Sekansı, B: T1 *flair* sekansı, C: T1 *flair* sekansı, kontrast madde sonrası, D: T2 *flair* sekansı.

2.2.3.5 Ayırıcı Tanıları

Nöromanın ayırıcı tanıları arasında ampute ekstremitenin fantom ağrısı, yumuşak doku inflamasyonları, enfeksiyonlar, kutanöz lezyonlar, apse, bursit, stres fraktürü, kemik zedelenmeleri, heterotopik ossifikasyon, vasküler yetmezlik, yumuşak dokunun diğer benign ve malign lezyonları (56, 79) yer almaktadır.

Bunların dışında sinir ile bağlantılı bir yumuşak doku neoplazmı ile karşılaşıldığında, nöromanın ayırıcı tanısında sinir kökenli oluşumlar karşımıza çıkmaktadır. Bunlar, Lokalize interdiijital nörit (*Morton nöroması*), mukozal nöromatozis, “*soliter circumscribed*” (palizat enkapsüle) nöroma, nörofibroma ve schwannoma’dır. MRG’de perinöral fibrozis varlığı, kontrast tutulum yokluğu ve T2 ağırlıklı görüntülerde hipointens görünüm ile sinir kılıfı (“*nerve sheath*”) tümörlerinden ayrılmaktadır (83). Nöroma ayırıcı tanısında yer alan lezyonlardan kısaca bahsetmek gerekirse (84):

1. Lokalize interdiijital nörit : Plantar ve palmar diijital sinirlerde oluşur, travma ya da cerrahi öyküsü yoktur, sinir sağlamdır ve aksonların sayısı artmıştır.
2. Mukozal nöromatozis : Travmatik nöromanın aksine soliter değil multipl olarak karşımıza çıkar.
3. Soliter sınırlı (“*circumscribed*”) nöroma : Genellikle travma ya da cerrahi öyküsü olmayan bireylerde, dermis içi yerleşimli ve %90 olguda yüz bölgesini

etkileyen bir lezyondur. Sınırlı / “*Circumscribed*” olan kitle içerisinde Schwann hücreleri ve aksonlar rastgele büyümüştür. Travmatik nöromadaki gibi tüm sinir dallanmalarını saran epitelyal membran antijeni (EMA) (+) perinörium yerine kitlenin dışında EMA (+) bir perinörium mevcuttur.

4. Nörofibroma : Travma ya da cerrahi ile ilişkili olmadan Schwann hücrelerinin ve aksonların rastgele proliferasyonu ile karakterize, yaygın yumuşak doku infiltrasyonu yapabilen ve seyrek sayıda karmaşık aksonları içeren bir kitledir.

5. Schwannoma : Travma ya da cerrahi öyküsü olmayan bireylerde Schwann hücrelerinin ve aksonların rastgele proliferasyonu sonucunda oluşan sınırlı ya da kapsüllü olabilen, *Antoni A* ve *Antoni B* alanları ile *Verocay* cisimcikleri içeren bir benign tümördür.

2.2.4 Nöroma Tedavisi

2.2.4.1 Nöroma Tedavisinde Kullanılan Medikal Yöntemler

Neumann ve arkadaşları (85) güdük ağrısı olan hastalarda krioprob kullanarak nöroliz uygulamış ve olumlu sonuçlar almıştır. Lokal anestezi altında elektrofizyoloji rehberliğinde konan perkütan kriyoprob ile 60 saniyelik sikluslar halinde dondurma krioterapisi verilmesi ile nöroma ağrısının azaltılması sağlanmıştır. Trigeminal nevralji gibi nöropatik ağrıların tedavisinde kullanılabilen kriyoprob tedavisi epinörium ve perinörium yapısını bozmadan aksonal dejenerasyona yol açabilmektedir (86). Perinörium ve epinöriumun yapısı bozulmadığı için kimi zamanlarda aksonların yeniden rejenere olup nöropatik ağrının geri dönmesi söz konusu olabilmektedir. USG rehberliğinde girişime olanak sağlaması ve diğer medikal tedavilere oranla daha az doku nekrozuna yol açması avantajları arasında sayılmaktadır.

Sinir etrafına alkol enjeksiyonu ile sinir ablasyonu sağlanabilmekte ve bu çeşit kimyasal nörolize alkol skleroterapisi adı verilmektedir. Alkol (etanol) enjeksiyonu sonrasında dehidratasyon, nekroz ve protoplazma presipitasyonu yoluyla kimyasal nöroliz oluşmaktadır (87) ve bunların dışında alkol, reseptör proteini üzerinde bulunan küçük bir hidrofobik cep ile etkileşime girerek adenoizit trifosfat

(ATP)-bağımlı iyon kanalını ve nörotransmitter reseptör fonksiyonunu bloke eder (88-90). USG eşliğinde nöromanın içine alkol enjeksiyonu yapılması yoluyla etraf dokularda oluşabilecek komplikasyonlar da önlenabilmektedir (87). Aynı yayında iki seans halinde %100 alkol enjeksiyonu ile başarılı sonuç alınabileceği bildirilmiştir. Bununla birlikte, in vitro çalışmalarda sinir sinyal iletimini inhibe eden minimum alkol konsantrasyonu %20 olarak bildirilmiştir (91). %4 (57) ya da %30 (88) konsantrasyonda alkol enjeksiyonlarının başarılı kullanımı da aktarılan bilgiler arasındadır. Alkol enjeksiyonunun kaç seansta yapıldığı hususu ise makaleler arasında farklılık göstermektedir.

Travma sonrası periferik nöropatik ağrı tedavisinde transkutanöz manyetik stimülasyon (TMS) kullanımı da bildirilmiş teknikler arasında yer almaktadır. TMS kullanımı ile nöropatik ağrıda azalma bildirilmiştir (92).

Steroid enjeksiyonları da nöroma tedavisinde kullanılan teknikler arasındadır. Kesikburun ve arkadaşları (93) tarafından betametazon enjeksiyonu, Thomson ve arkadaşları (94) tarafından Morton nöromasında metilprednizolon kullanımı, Smith ve arkadaşları (95) tarafından triamsinolon asetonid kullanımı bildirilmiştir. Ancak steroid tedavisinin uzun dönemde işlevsiz kaldığı da ifade edilen bilgiler arasındadır (87). Erken dönemde başarı ihtimali %76 oranında olsa da (96), aylar ya da yıllar gibi uzun dönem sonuçların %30-66 arasında olduğu bildirilmiştir (97-99). Tekrarlayan steroid enjeksiyonlarının cilt atrofisi, subkutan yağ dokusu atrofisi, hiperpigmentasyon gibi yan etkilerinin olabileceği (55, 88, 90, 100) bildirilmiştir. Fiziksel yaklaşımlar ya da steroid enjeksiyonu gibi yöntemler ile başarı alınamayan Morton nöromalı 17 hasta üzerinde onabotulinumtoksin A (Botox, Allergan, Irvine, CA, USA) tatbiki ile başarılı sonuçlar yayınlanmıştır (73).

Tüm bunlara ek olarak ekstrakorporeal şok dalgası tedavisinin (EŞDT-ESWT) nöroma tedavisinde kullanımı literatürde bildirilmiştir (2). Jung ve arkadaşları tarafından yürütülmüş olan bu prospektif klinik çalışmada ESWT ile nöroma boyunun değişmediği ancak nöroma ağrısının azaldığı bildirilmiştir.

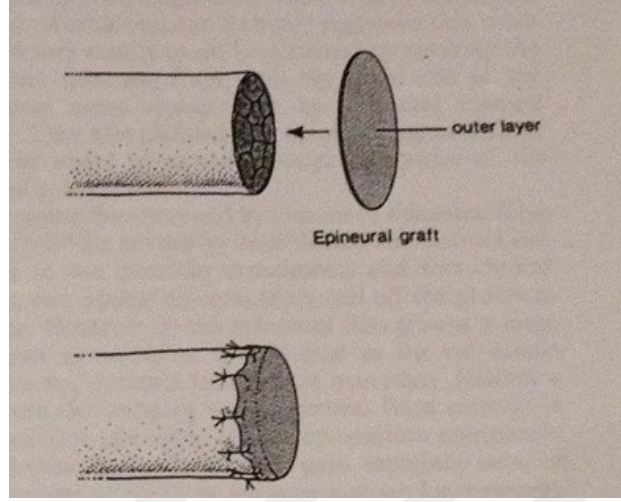
2.2.4.2 Nöroma Tedavisinde Kullanılan Cerrahi Yöntemler:

1. Eksizyon-primer sütürasyon: Terminal nöromalardan farklı olarak nöroma “*in-continuity*” ya da “*spindle*” nöroma gibi alt tiplerde nöroma eksizyonu sonrasında proksimal ve distal sinir güdükleri birbirlerine sütüre edilmektedir. Bu işlem esnasında düzgün rejenere olan aksonal yapılar korunmalıdır.
2. Eksizyon-greftleme: Nöroma “*in-continuity*” ve “*spindle*” nöroma eksizyonu sonrasında defekt miktarı genişse ya da gerimsiz onarıma olanak yoksa, onarımın optimal sonuçlanması için defekte greft konulması gerekmektedir. Greft ile onarım gerektiren sinir segment kayıplarındaki miktar her periferik sinir için farklılık göstermektedir.
3. Eksizyon-sinir ekspansiyonu: Sinir greftleri kullanımı ile ilgili genel olarak yapılabilecek en önemli eleştiri donör saha morbiditesidir. Bunu aşmak için sinir ekspansiyonu tekniği tanımlanmış ve kullanılmıştır. Plastik cerrahi pratiğinde sık kullanılan doku genişleticilerin ameliyatla periferik sinir altına konup zaman içinde ekspande edilmesi sonucunda periferik sinirin ekspande olabileceği gösterilmiştir (101). Bu sayede nöroma eksizyonu sonrasında araya greft koymak yerine tek bir koaptasyon hattı ile primer onarım şansı doğmaktadır. Otolog sinir greftleri ve sinir ekspansiyonu kullanımı üzerinde yapılan çalışmalar fonksiyonel geri dönüş ve sinir iletimi konularında iki tekniğin sonuçlarının yakın olduğunu göstermiştir (102-104).
4. Kas re-inervasyonu: Terminal nöroma tedavisinde sinir sonlanmasında bulunan nöromanın eksizyonu sonrasında proksimal sinir ucunun açıkta kalma, distal segmentin rehberliğinden uzak olma, en az iki sefer operasyon geçirmiş bir sahanın skarlı yatağında olma gibi sebeplerden dolayı nüks ihtimali söz konusu olmaktadır. Bu sebeple nöroma eksizyonu sonrasında sinir proksimal ucunu komşulukta bulunan bir kas segmenti içine implante ederek o kasın reinerve edilmeye çalışılması uygulanabilecek yöntemler arasındadır.

2.2.5 Nöroma Oluşumun Önlenmesindeki Deneysel Yöntemler

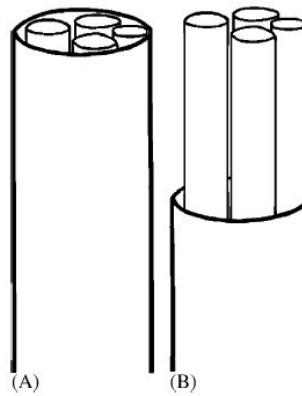
1. Epinöral Kaplama: Eksize edilen epinörium tabakasının greft olarak kullanılıp açıkta kalan sinir ucunun bu greft ile kaplanması tekniğidir (7, 10) (Şekil 2. 16). Yüksel ve arkadaşları tarafından yapılmış olan klinik çalışmada epinöral kaplama

teknığının epinöral bağlama ve epinöral flep tekniklerine oranla ağrı azaltımı konusunda daha etkili olduğu gösterilmiştir.



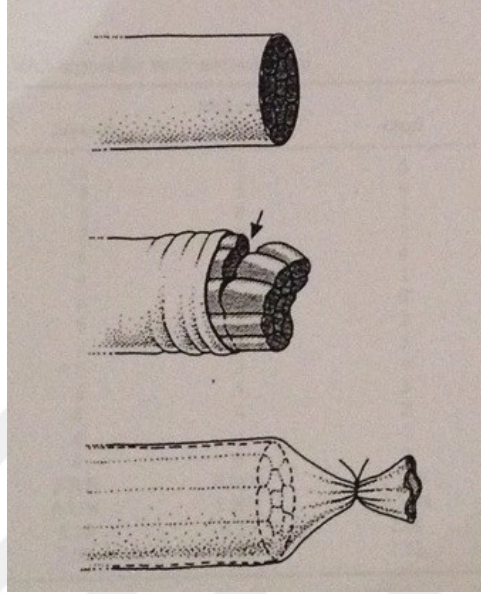
Şekil 2. 16. Epinöral kaplama tekniği. Yüksel ve diğ. (10)'den alınmıştır.

2. Epinöral Soyma: Epinörium tabakasının soyularak aksonal yapıların açıkta bırakılması tekniğidir (Şekil 2. 17). Yıldırım ve arkadaşları (9) tarafından yapılan deneysel çalışmada epinöral soyma grubu kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Sinirin kesilip bırakıldığı grupta 20 sıçanın 15 tanesinde nöroma oluşmuş iken, epinöral soyma grubunda 20 sıçanın 2 tanesinde nöroma gelişmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.



Şekil 2. 17. Epinöral soyma tekniği. Yıldırım ve diğ. (9) 'den alınmıştır.

3. Epinöral Bağlama: Epinöriumun bağlanarak distale giden aksonal yapıların engellenmesi yoluyla nöroma oluşumunun azaltılması tekniğidir (Şekil 2. 18). Yüksel ve arkadaşları (10) tarafından yapılan klinik çalışmada kullanılmış olup başarı oranı epinöral kaplama yapılan hastalara oranla daha düşük bulunmuştur.



Şekil 2. 18. Epinöral Bağlama Tekniği. Yüksel ve diğ. (10) 'den alınmıştır.

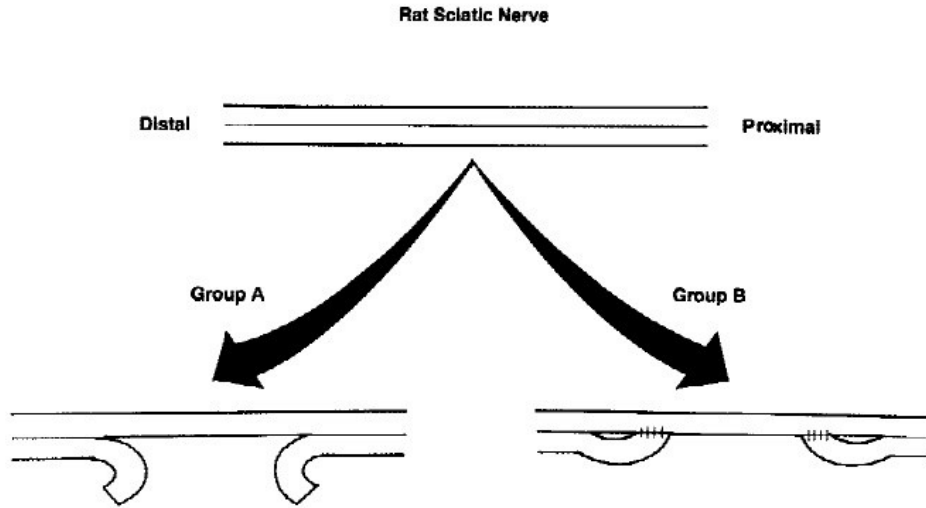
4. Ven grefti başlığı ile kaplama: Total kesi sonrasında periferik sinirin proksimal ucunun ven grefti ile kaplanarak sinir ucunun lokal mikroçevreden izole edilmesi tekniğidir (Şekil 2. 19).



Şekil 2. 19. Ven grefti başlığı ile kaplama tekniği. Galeano ve diğ. (105)'den alınmıştır.

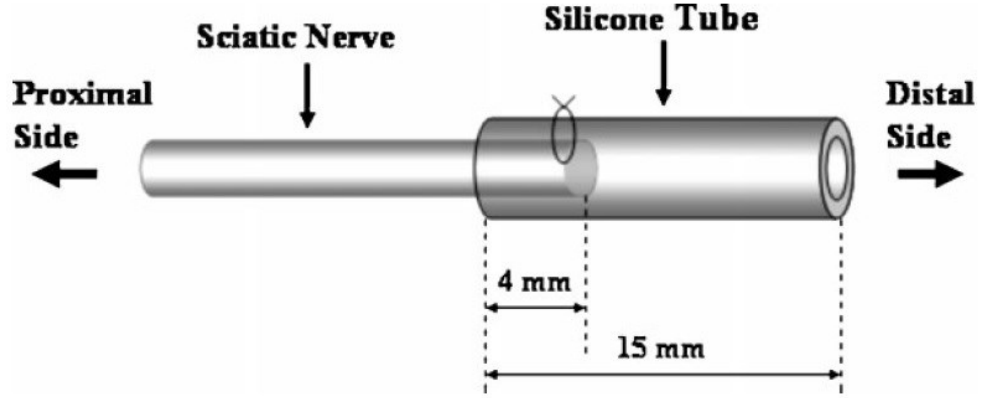
Galeano ve arkadaşları (105) tarafından yapılan bir deneysel çalışmada sıçanların femoral sinirleri kesilerek 2 cm uzunluğunda sinir defekti oluşturulmuş ve deney grubunda proksimal sinir ucu 1.5 cm uzunluğunda serbest ven grefti içine sokularak ven greftinin ucu bağlanmıştır. Ven greftiyle sinir ucunun kaplanması tekniğinde nöroma oluşumunun istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşürülebileceği gösterilmiştir.

5. Uç-yan nörorafi: Transekte edilen sinir uçlarının komşulukta bulunan sağlam bir sinirin epinörium tabakasında açılan pencereye uç-yan epinöral suture edilmesi tekniğidir (Şekil 2. 20). Bu tekniğin nöroma oluşumunu önlediğini ve donör sinirde işlev kaybına yol açmadığını bildirmiştir (106-113).



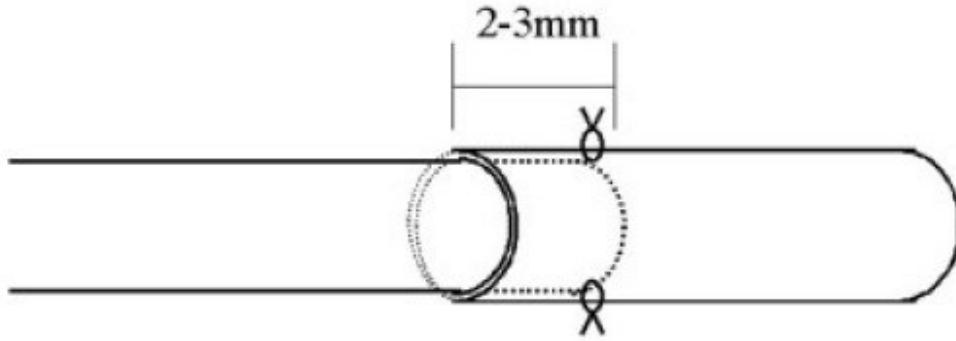
Şekil 2. 20. Uç-yan nörorafi tekniği. Al-Qattan (114)'dan alınmıştır.

6. Sinir ucunun silikon tüp ile kaplanması: Okuda ve arkadaşlarının (115) yapmış oldukları deneysel çalışmada proksimal sinir uçlarının silikon tüp ile kaplanması sonucunda hayvanlarda görülen ototomi reaksiyonunda azalma bildirmiştir (Şekil 2.21).



Şekil 2. 21. Sinir ucunun silikon tüp ile kaplanması tekniği. Okuda ve diğ. (115)'den alınmıştır.

7. Sinir ucunun atelokollajen ile kaplanması: Sinir ucunu mikro çevreden izole edebilmek için sinir ucunun atelokollajen ile kaplanması tekniğidir (Şekil 2. 22). Sakai ve arkadaşları (71) tarafından yapılan bir deneysel çalışmada nöroma eksizyonu sonrasında proksimal sinir güdüğünün atelokollajen ile kaplanması ile nöroma rekürrensini azaldığı bildirilmiştir.



Şekil 2. 22. Sinir ucunun atelokollajen ile kaplanması tekniği. Sakai ve diğ. (71)'den alınmıştır.

8. Sinir defektinin kollajen rehber ile onarılması: Tyner ve arkadaşları (116) sinirin proksimal ucunu biosentetik bir kollajen tüp içine sokarak aksonların ve çoğalan Schwann hücrelerinin daha lineer bir gelişme sergilediğini ve nöropatik ağrı azalma olduğunu bildirmişlerdir.

9. Kas içi implantasyon: Periferik sinir transeksiyonu sonrasında proksimal sinir güdüğünün komşulukta bulunan bir kasın içine implante edilmesi tekniğidir. Sinis ve arkadaşları (8) tarafından yapılmış olan bir deneysel çalışmada bu tekniğin kullanımının nöroma oluşumunda azalmaya yol açtığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada sinir defektindeki artış ile nöroma oluşumu arasındaki ters ilişkiden de bahsedilmiştir.

10. Proksimal sinir ucunun farklı teknikler ile kesilmesi: Sinir kesisi gerçekleştirme esnasında kullanılabilecek farklı yöntemlerin nöroma oluşumu üzerindeki rolü üzerinde deneysel çalışmalar yayınlanmıştır. Zeltser ve arkadaşları (117) tarafından yürütülmüş olan deneysel bir çalışmada sinir transeksiyonu sırasında lazer nörektomi, elektrokesim, kriocerrahi ve iridektomi makası kullanılmış olup kriocerrahi ve elektrokesim kullanımının insanlardaki kronik ağrı oluşumunda artışa yol açacağı sonucuna ulaşılmıştır.

11. BDNF antikoru uygulaması: Guevara ve arkadaşları tarafından (72) inferior alveolar sinir üzerinde yapılan deneysel nöroma önleme çalışmasında anti-BDNF antikorlarının uygulanması sonrasında nöroma oluşumunun azaltıldığı gösterilmiştir. Anılan yayında anti-BDNF kullanımı sonucunda kollajen liflerini içeren bağ dokusu oluşumunda azalma olduğu ve bu sayede nöroma oluşumunun azaltıldığı, anti-BDNF antikorlarının rejenere olan aksonlar üzerinde baskılayıcı etkisi olmadığı vurgulanmıştır.

12. Nöronlar üzerinde toksik olan maddelerin kullanımı: Sinirler tarafından selektif olarak alınıp retrograd aksonal transport yoluyla geri yönde giden ve sinir gövdesinin zarar görmesini amaçlayan deneysel tekniğe “moleküler sinir cerrahisi” adı verilmektedir (118-124). *Doksorubisin* (125-130), *ricin*, *abrin*, *volkensin* ve *modesin* (123, 131-135) bu amaçla kullanılmış olan maddeler arasında sayılabilir.

OX7-Saporin (OX7-SAP) uygun yüzey antijenine sahip sinirlere selektif affinitesi olan anti-nöral monoklonal antikolar sayesinde sinirler üzerinde harabiyet yaratmaktadır (118-121, 123, 124). Mavrogenis ve arkadaşları (136) tarafından yapılmış olan bir çalışmada OX7-SAP’nin intranöral kullanımı ile oluşmuş olan nöroma boyutunun küçüldüğü ve nöroma lehine kabul edilen genişlemiş sinir sonlanmasının incelendiği gözlemlenmiştir.

13. *Chitosan* kullanımı: *Chitosan, crustaceans kitinden* elde edilen bir polisakkarit olup vücutta çeşitli terapötik amaçlarla biyomateryal olarak kullanılabilir (137). *Chitosan*'ın mikrokristalik formu jel yapısında olduğu için sinir uçlarına uygulanabilme yeteneğine sahiptir ve Marcol ve arkadaşları (137) tarafından yapılan bir deneysel çalışmada sinir uçlarına uygulandığında oluşan nöromanın boyutunda ve sıklığında azalmaya yol açtığı gösterilmiştir.

14. *Neodymium: yttrium aluminum garnet (Nd: YAG)* lazer kullanımı: Periferik sinirlerin transeksiyonunda bistüri ile kesilme yerine *Nd: YAG laser* ile kesilme durumunda proksimal sinir sonlanmasında nöroma oluşumun önlendiği gösterilmiştir (138).

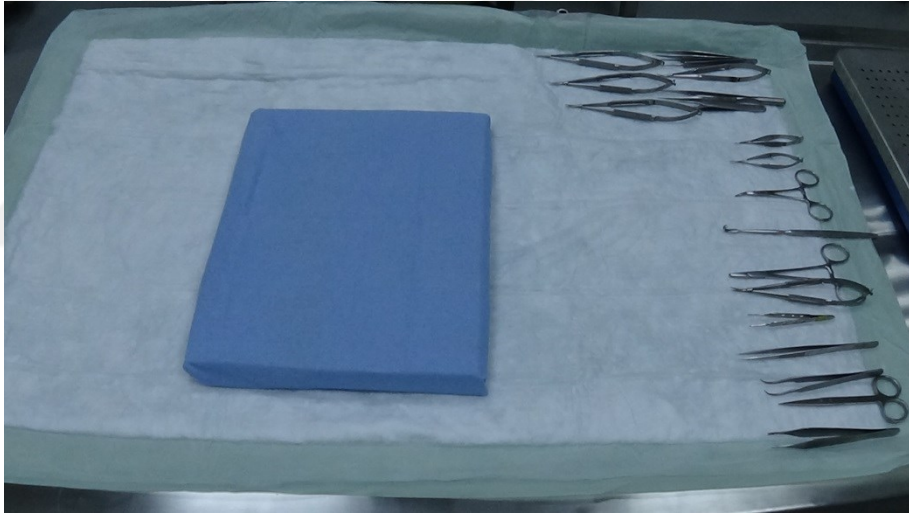


3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Giriş

Çalışma, GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi (HEH) Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan onay alınarak (24.07.2014 tarih ve 2014-17 proje numaralı), GATA HEH Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nde 1978 Paris Hayvan Hakları Evrensel Bildirisi'ne uygun şekilde yapıldı.

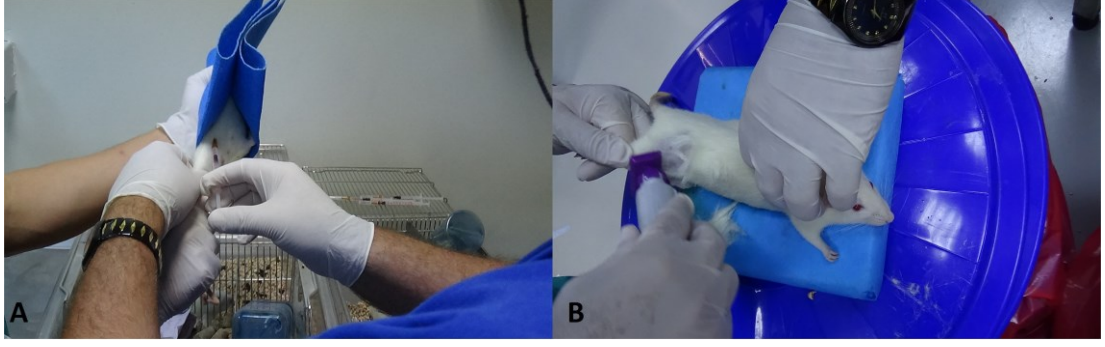
Her biri 250 ile 300 gr ağırlığında 55 adet Sprague-Dawley cinsi 12 haftalık erişkin sıçan kullanıldı.



Şekil 3. 1. Operasyon sahası

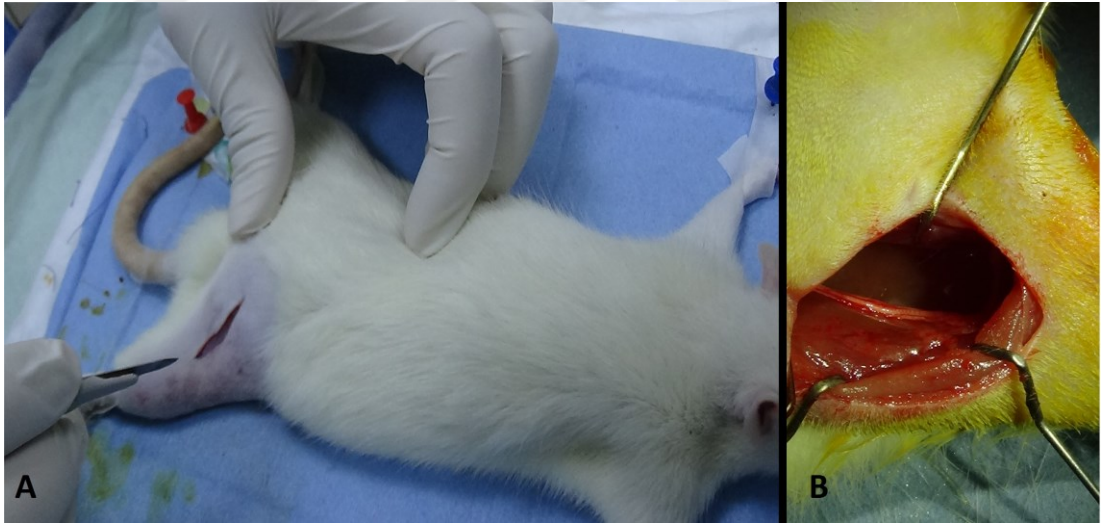
3.2 Cerrahi Prosedür

Tüm cerrahi girişimler öncesinde; sıçanlara intraperitoneal yoldan 100 mg/kg ketamin (Ketalar® Flakon, Pfizer) ve 15 mg/kg xylazine (Rompun® %2 Flakon, Bayer) uygulanarak genel anestezi sağlandı. Deney hayvanlarının sağ gluteal ve tibial bölge posterior yüzü tıraş edildi (Şekil 3. 2); operasyon tahtası üzerinde yüz üstü pozisyonda tüm ekstremiteleri ve başı ekstansiyonda sabitlendi.



Şekil 3. 2. Deney hayvanının operasyon öncesi hazırlanması. A: İntraperitoneal yoldan anestezi uygulaması, B: Operasyon bölgesinin tıraş edilmesi.

Sterilite ve asepsi kurallarına uyarak hayvanların sağ uyluk posterior yüzlerinde uzunlamasına açılan cilt insizyonu ile femur ve biceps femoris kası bileşkesi üzerine düşüldü. Biceps femoris kasının eleve edilmesi ile siyatik sinir ortaya kondu (Şekil 3. 3).



Şekil 3. 3. Cilt insizyonu ve siyatik sinirin ortaya konması. A: Cilt insizyonu, B: Siyatik sinirin ortaya konması.

Ameliyatın devamına ameliyat mikroskobu (OPMI 7, Zeiss, Germany) büyütmesi altında devam edildi. Siyatik sinirin femoral alandaki kısmı etrafındaki bağ dokusundan serbestleştirildi. 55 adet sıçan her birinde 11 adet sıçan olacak

şekilde rastgele 5 gruba ayrıldı. Tüm gruplarda siyatik sinirin trifurkasyon proksimalinde kalan kısmından popliteal damar paketi korunarak 2 cm uzunluğunda sinir segmenti çıkartıldı (Şekil 3. 4) ve gruba uygun cerrahi işlem uygulandı.

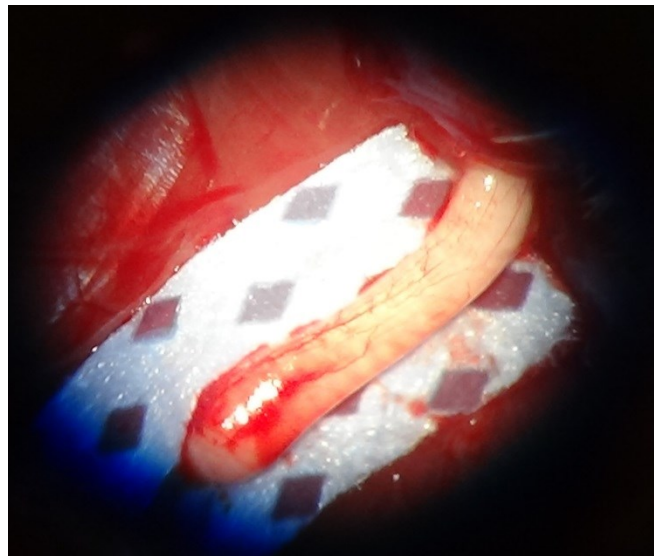


Şekil 3. 4. Tüm gruplarda çıkartılan 2 cm uzunluğundaki sinir segmenti.

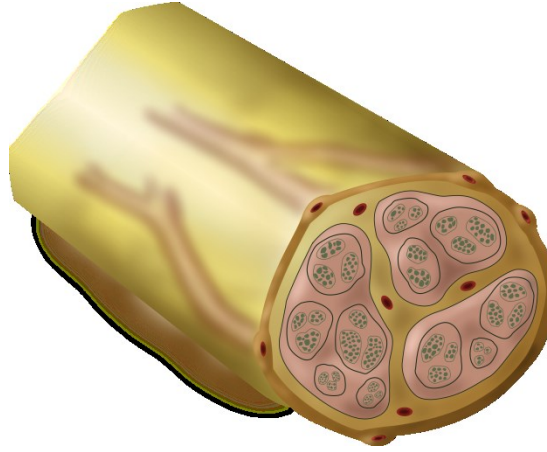
Deney Grupları

1. Grup (Serbest Sinir Ucu Grubu) :

Sinir segmenti çıkartılması sonrasında proksimal sinir ucuna hiçbir işlem uygulanmadı (Şekil 3. 5 ve 3. 6).



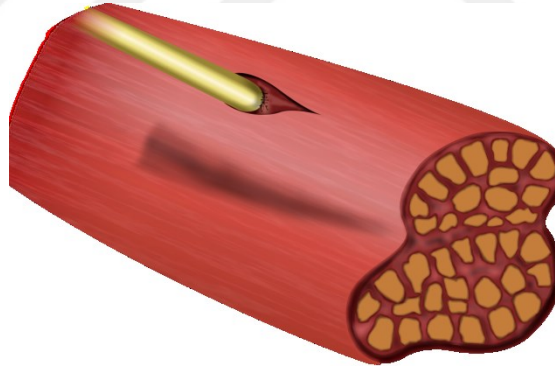
Şekil 3. 5. Serbest sinir ucu grubu.



Şekil 3. 6. Serbest sinir ucu grubunun temsili resmi.

2. Grup (Kas İçi İmplantasyon Grubu) :

Siyatik sinirin proksimal ucu komşulukta bulunan kas dokusunda açılan bir cebe sokularak 8/0 naylon suture ile suture edilmek yoluyla tespit edildi (Şekil 3. 7).

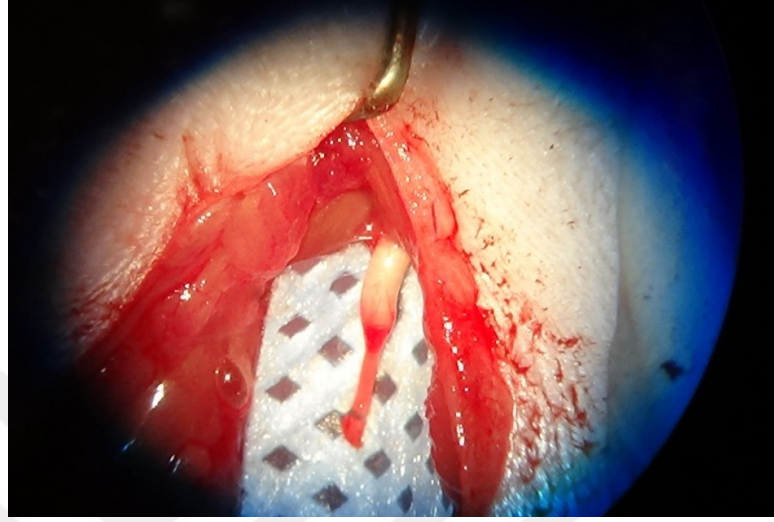


Şekil 3. 7. Kas içi implantasyon grubunun temsili resmi.

3. Grup (Epinöral Bağlama Grubu):

Proksimal segmentin epinöriumu 5 mm uzunluğunda proksimal yönde ters düz edildi ve bu sayede epinörium tabakası bulunmayan aksonal yapılar açığa çıkartıldı. Açığa çıkan tüm aksonal yapılar epinöriuma zarar vermeyecek şekilde kesilerek uzaklaştırıldı. Proksimal yönde ters düz edilmiş olan epinörium distal yönde ilerletilerek eski konumuna getirildi ve içinde aksonal yapıların olmadığı bir

epinorium elde edilmiş oldu. Epinoriumun ucu 9/0 naylon suture ile bağlanarak sinir ucu kapatıldı (Şekil 3. 8 ve 3. 9).



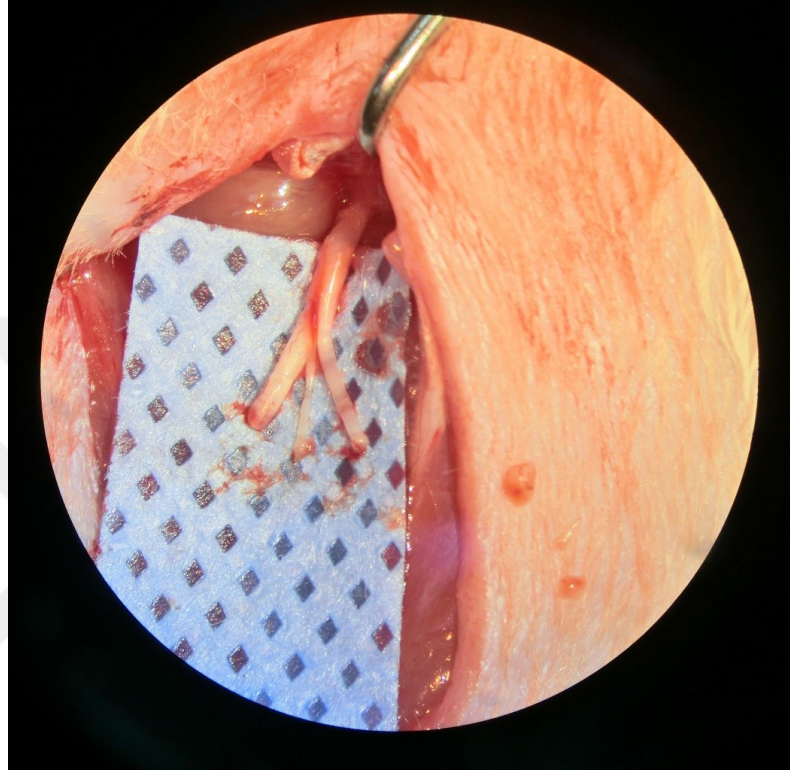
Şekil 3. 8. Epinöral bağlama grubu



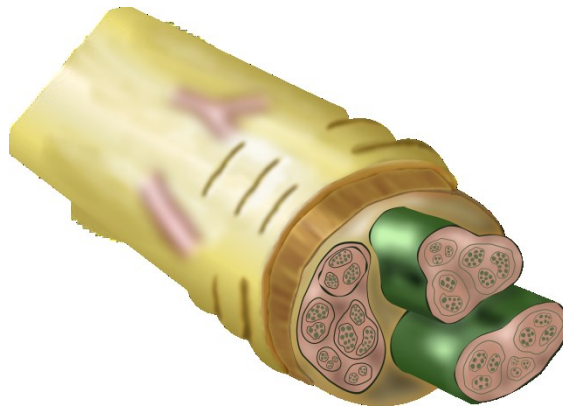
Şekil 3. 9. Epinöral bağlama grubunun temsili resmi

4. Grup (Epinöral Soyma Grubu) :

Siyatik sinirin proksimal ucunda bulunan epinörium 5 mm uzunluğunda soyularak atıldı ve proksimal uçta 5 mm uzunluğunda epinöriumu olmayan sinir fasikülleri açıkta bırakıldı (Şekil 3. 10 ve 3. 11).



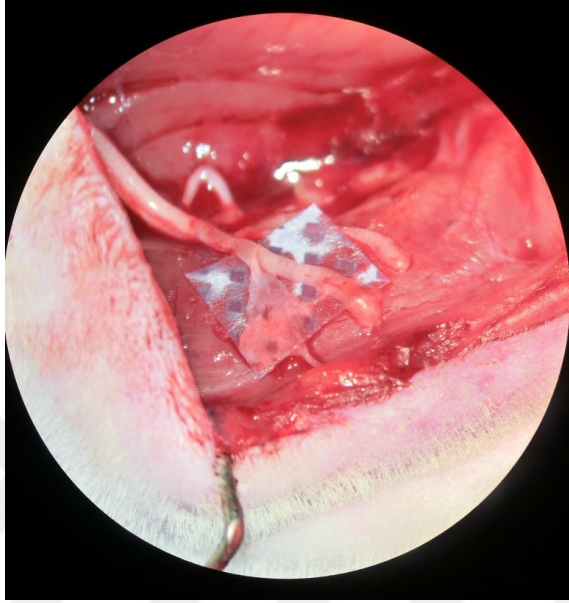
Şekil 3. 10. Epinöral soyma grubu



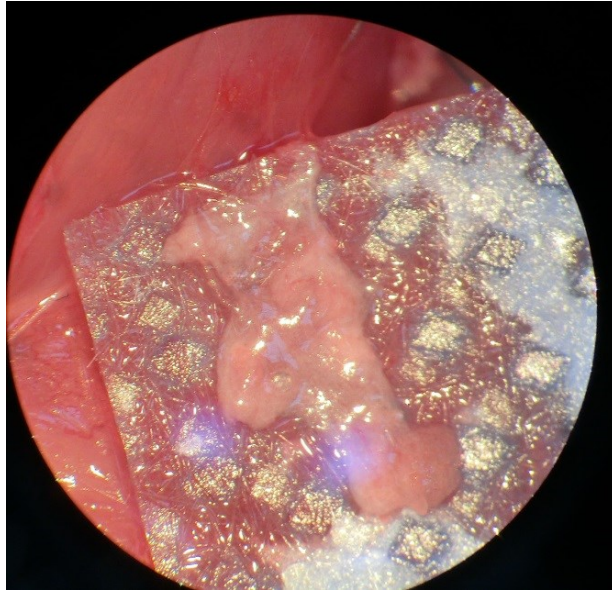
Şekil 3. 11. Epinöral soyma grubunun temsili resmi

5. Grup (Epinöral Kaplama Grubu) :

Eksize edilmiş olan 2 cm uzunluğundaki sinir segmentinin epinöriumu çıkartıldı ve greft olarak kullanılmak üzere korundu (Şekil 3. 12 ve 3. 13).

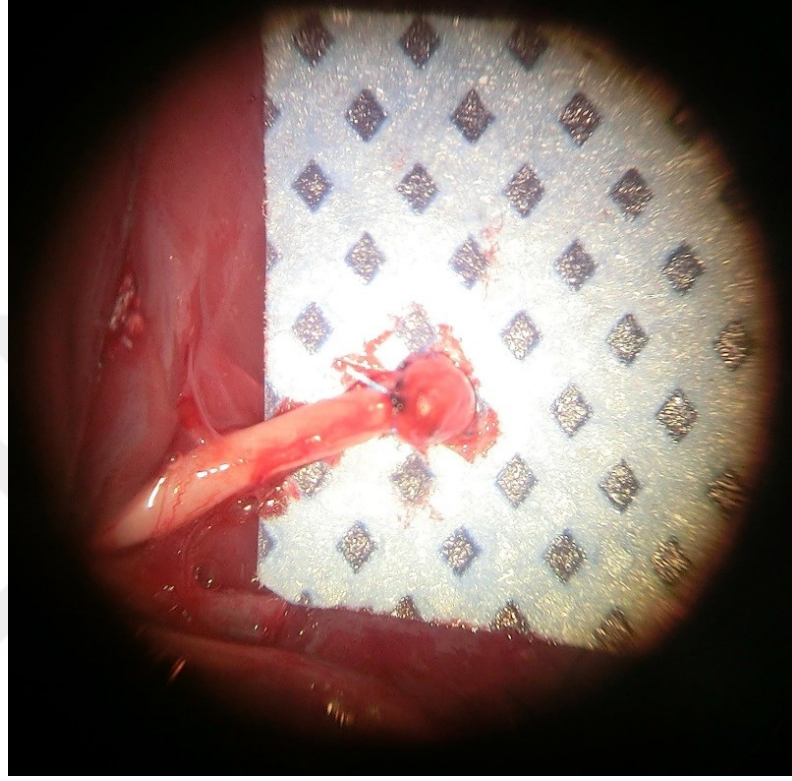


Şekil 3. 12. Epinörium grefti elde etmek için vücut dışına çıkartılacak sinir segmentinin epinörium tabakasının ayrılması

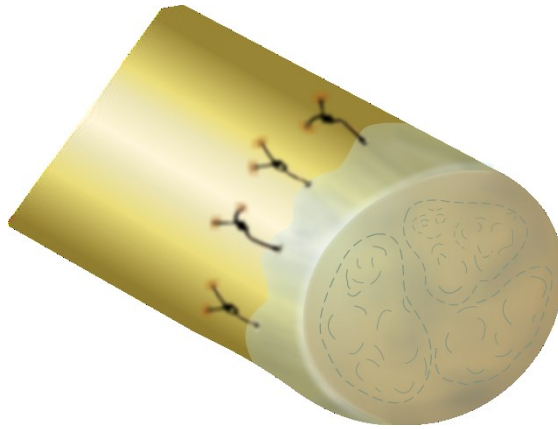


Şekil 3. 13. Epinörium grefti olarak kullanılacak epinörium dokusu.

Greft olarak kullanılacak epinörium tüm sinir fasiküllerini kapatacak şekilde 9/0 naylon suture kullanılarak siyatik sinirin defekt proksimalindeki ucuna epinöral suture edildi ve kaplama işlemi gerçekleştirildi (Şekil 3. 14 ve 3. 15).



Şekil 3. 14. Epinöral kaplama grubu.



Şekil 3. 15. Epinöral kaplama grubunun temsili resmi.

Cerrahi işlemlerin uygulanması sonrasında disseke edilmiş olan kaslara 4/0 emilebilen poliflaman suture materyali ile 3 adet aralıklı primer suture kondu ve cilt insizyonu hatları 5/0 emilebilen poliflaman suture materyali ile sugeçirmez şekilde aralıklı primer suture edildi. Tüm hayvanlara 5 cc serum fizyolojik cilt altına enjekte edilerek ameliyat esnasında gerçekleşen sıvı kaybı karşılandı.

Ameliyat sonrası dönemde denek hayvanlar yan yatırılmış pozisyonda deney hayvanları araştırma merkezinin reanimasyon bölümünde anesteziden tamamen çıkana kadar bekletildikten sonra kafeslerine alındı. Hayvanlara kafeslerinde serbest olarak ulaşabilecekleri kuru yem ve içme suyu sağlandı. 19-22 °C oda sıcaklığında, %40-50 nemli ortamda sirkadien ritmlerine uygun şekilde 12 saat aydınlık – 12 saat karanlık ışık siklusu sağlandı.

Sıçanlar 6 ay boyunca takip edildi ve takip süresi içerisinde epinöral soyma grubundan 2 sıçan öldü. Ölen 2 sıçan çalışmadan çıkartıldı. Takip süresinin sonunda siyatik sinir proksimal ucundan değerlendirme için 1 cm uzunluğunda örnekler alınarak hayvanlar sakrifiye edildi. Sakrifiye edilmiş hayvanların bedenleri hayvan çalışması etik kurul yönergesine uygun olarak kırmızı renkli çöp torbası içine konup uygun yollar ile imha edildi.

Her gruptan 7 hayvanın sinir örnekleri morfolojik ve immünohistokimyasal değerlendirme yapmak üzere, 4 hayvanın sinir örnekleri ise gerçek zamanlı PCR ile inceleme yapmak üzere kullanıldı. Takip süresi esnasında epinöral soyma grubundan 2 hayvan öldüğü için bu grupta gerçek zamanlı PCR ile 2 hayvanın sinir örneği değerlendirildi.

Morfolojik değerlendirme için *hematoksilen & eozin*, *toluidin mavisi*, *masson trikrom* boyaları ile boyanarak histopatolojik değerlendirme yapıldı; *S-100* ve *Calcitonin Gene Related Peptide (CGRP)* antikorları ile boyama yoluyla immünohistokimyasal değerlendirme yapıldı. *CNTF* ve *CGRP-Receptor Component Protein (CRCP)* gen ekspresyonları gerçek zamanlı PCR ile değerlendirildi.

3.3 Değerlendirme

3.3.1 Morfolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Takip süresinin bitiminde tüm hayvanlardaki siyatik sinir defektinin proksimal ucu 1 santimetrelik segment halinde eksize edildi. Tespit solüsyonuna konmadan önce, immünohistokimyasal incelemeler için eksize edilen sinir dokusunun yarısında kriyotom cihazı ile (Leica ASP300S, Germany) 8 µm kalınlığında frozen kesitler alındı. Pozitif şarjlı lamalar üzerine alınan kesitler %4'lük nötral tamponlanmış formalin solüsyonu içerisinde 10 dakika fikse edildi. Daha sonra otomatik immünohistokimya boyama cihazı (Benchmark XT, Ventana Medical Systems, AZ, USA) kullanılarak, cihazın prosedürüne uygun şekilde S-100 antikoru [Rabbit Anti-S-100 polyclonal Antibody kit, katalog numarası: AB941, LOT numarası: NG1827400, Millipore™ (EMD Millipore Corp, CA, USA)] ve CGRP antikoru [Rabbit Anti-Calcitonin Gene Related Peptide Polyclonal Antibody kiti, katalog numarası: AB15360, LOT numarası: 2392305, Millipore™ (EMD Millipore Corp, CA, USA)] ile boyama yapıldı. S-100 kiti 1:250 – 1:500 dilüsyonda, CGRP kiti 1:2000 – 1:4000 dilüsyonda kullanıldı.

Eksize edilen sinir dokusunun diğer yarısı morfolojik değerlendirmeler için %10'luk nötral tamponlanmış formalin solüsyonu içinde 12 saat tespit edildi. Tespit sonrasında takip cihazında (Shandon Excelsior, ThermoScientific, UK) 13 saatlik takip sonrasında dokular parafine dik olarak gömüldü. Parafin bloklardan ultramikrotom cihazı (Leica Ultracut R, Germany) ile 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler, boyama cihazı (Tissue-Tek DRS, Sakura, NL) kullanarak hematoksilin & eozin (H&E), toluidin mavisi ve masson trikrom boyaları ile boyandı.

H&E, toluidin mavisi, masson trikrom ve immünohistokimyasal boyalarla boyanmış örnekler konuda uzman tek patolog tarafından ışık mikroskopunda (BX53, Olympus, Japan) değerlendirildi ve bilgisayarlı görüntüleme sistemi kullanılarak görüntüleme işlemleri gerçekleştirildi.

H & E ve toluidin mavisi kesitler ile nöroma oluşumu ve sinir kesiti içindeki kaotik alanların miktarı, masson trikrom ile sinir içi bağ dokusu miktarı değerlendirildi. H & E ile X200'lük büyütmede 5 farklı alan içerisindeki nöroma oranı tespit edildi ve ortalamaları alındı. Nöroma oluşumu tespiti esnasında, normal

sinir dokusuna benzeyen örnekler bir pozitif (+), nöroma oluşumunun yer yer izlendiği örnekler iki pozitif (++) ve nöroma oluşumunun aşikar olduğu gözlenen örnekler üç pozitif (+++) kabul edildi.

Toluidin mavisi ve masson trikrom ile boyanan doku örneklerinde X200'lük büyütmede 5 farklı alan içerisindeki kaotik alanların ve sinir içi bağ dokusunun tüm kesit alanı içerisindeki oranı yüzde miktar cinsinden tespit edildi ve ortalamaları alındı.

S-100 antikoru ile boyanan doku örneklerinde sitoplazmik boyanmalar değerlendirmeye alındı. Tüm örnek değerlendirilip, boyanma yüzde miktarı ve boyanma yoğunluğu belirlendi. Zayıf sitoplazmik boyanma bir pozitif (+), orta kuvvette sitoplazmik boyanma iki pozitif (++) , kuvvetli sitoplazmik boyanma üç pozitif (+++) olarak kabul edildi.

CGRP'nin aynı zamanda nörotransmitter olarak da işlevi olduğu için, CGRP antikoru ile boyanmış doku örneklerinde akson merkezindeki boyanmalar göz ardı edildi; sitoplazmik ve sinir membranındaki boyanmalar değerlendirmeye alındı. X400 büyütme alanında 2 farklı odaktaki boyanma oranları saptandı. Boyanan alanların yüzde miktarı ve boyanma yoğunluğu belirlendi. Zayıf sitoplazmik ve membranöz boyanma bir pozitif (+), orta kuvvette sitoplazmik ve membranöz boyanma iki pozitif (++) , kuvvetli sitoplazmik ve membranöz boyanma üç pozitif (+++) olarak kabul edildi.

3.3.2 Gerçek Zamanlı PCR ile Değerlendirme

RNA İzolasyonu

Alınan sinir dokuları bistüri ile mekanik parçalamaya tabi tutuldu ve parçalanmış dokulara “RNeasy Plus Mini Kit” (Qiagen, Manchester, UK) ile RNA izolasyon işlemi uygulandı (Şekil 3. 16). Daha sonra, izole edilen RNA'ların konsantrasyonu ve saflığı mikrodrop spektrofotometre ile ölçüldü (Thermo Scientific, MultiScan GO) (Şekil 3. 17).



Şekil 3. 16. RNA izolasyon kiti (RNeasy Plus Mini Kit, Qiagen, Manchester, UK)



Şekil 3. 17. Mikrodrop spektrofotometre cihazı (Thermo Scientific, MultiScan GO)

cDNA Sentezi

cDNA (tamamlayıcı DNA) sentezi için her bir örnekten alınan 250 ng RNA örneğiyle “RT² First Strand Kit” (Qiagen, Manchester, UK) kullanarak cDNA reaksiyonu kuruldu (Şekil 3. 18). Reaksiyon sonucu ürünler 91µL steril distile su ile sulandırıldı ve konsantrasyon/saflık ölçümleri yapıldı (Thermo Scientific, MultiScan GO).



Şekil 3. 18. cDNA oluşturma kiti (RT² First Strand Kit, Qiagen, Manchester, UK).

CNTF ve CRCP Gen Ekspresyon Analizi

Sinir dokularındaki CNTF ve CRCP gen ekspresyonları için Rotor-Gene Q cihazı (Şekil 3. 19) ile gerçek zamanlı PCR analizi yapıldı. PCR koşulları ve sonuçlarının yorumlanma kriterleri üretici firmanın protokollerine göre uygulandı (Qiagen, Manchester, United Kingdom). Örneklerin ekspresyon profillemesi sıçan GAPDH kontrol genine göre değerlendirilerek, oransal ekspresyon analizi $2^{-\Delta\Delta CT}$ metodu kullanılarak yapıldı.



Şekil 3. 19. Rotor-Gene Q cihazı (Qiagen, Manchester, United Kingdom)

3.3.3 İstatistiksel Analiz

Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotlar (frekans, yüzde, ortalama, standart sapma, medyan, “range”, minimum, maksimum) kullanıldı.

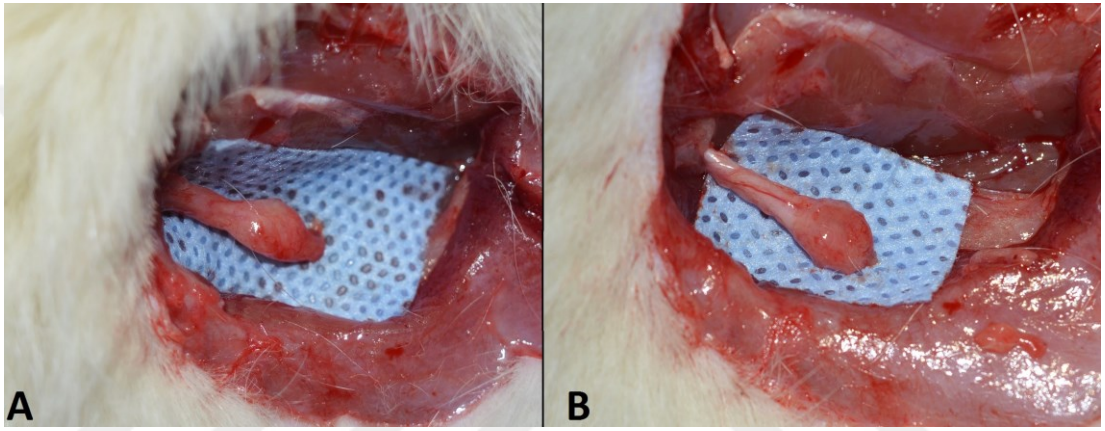
Çalışmada *ki kare*, *Fisher's exact test*, *Kruskal Wallis analizi*, *Mann Whitney U test* kullanıldı. Elde edilen bulgular %95 güven aralığında ve %5 anlamlılık düzeyinde değerlendirildi ve *SPSS 22.0* (Trial Version, IBM Corporation, USA), *GraphPad Prism* (GraphPad Software, USA) ve *Excel* (Office Professional Plus 2010, Microsoft Corporation, USA) yardımı ile analiz edildi. *p* değeri 0.05'in altında olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

4.1 Makroskopik Bulgular

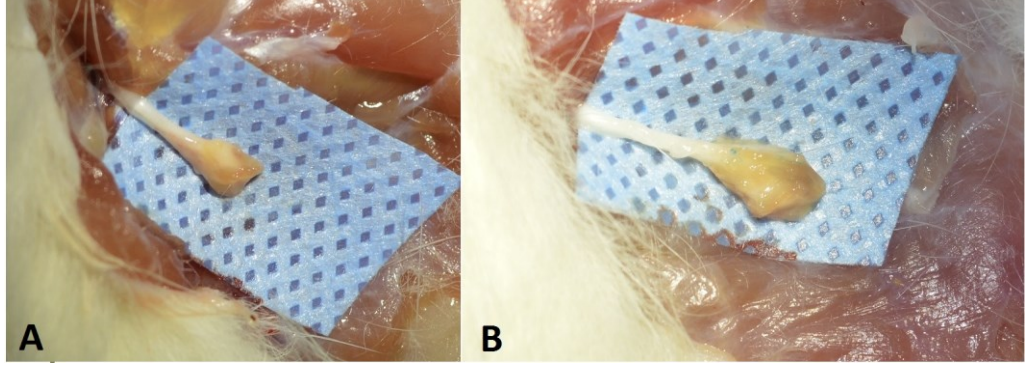
Tüm gruplarda makroskopik olarak nöroma oluşumu izlendi (Şekil 4. 1 – 4. 6). Makroskopik olarak en az nöroma oluşumu epinöral bağlama grubunda gözlenirken (Şekil 4. 4) en belirgin nöroma oluşumu epinöral kaplama grubunda gözlemlendi (Şekil 4. 6).



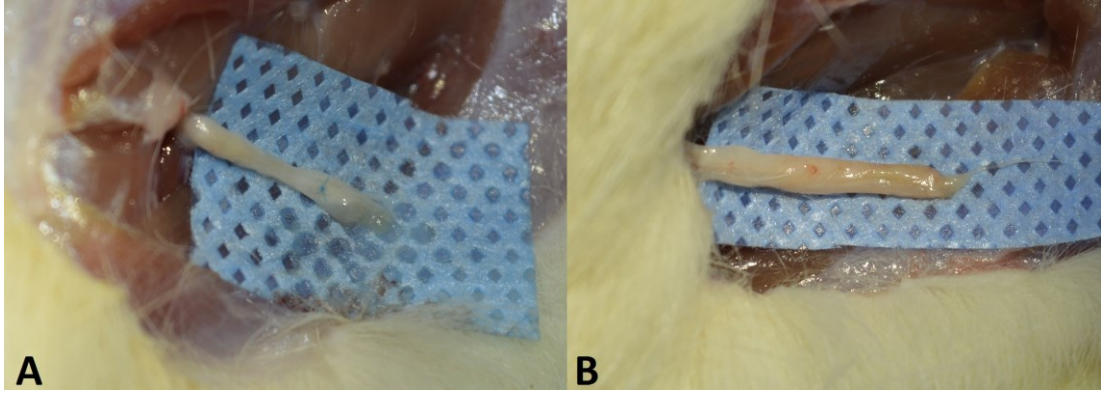
Şekil 4. 1. Makroskopi görüntüsü, serbest sinir ucu grubu. A, B: Farklı deney hayvanlarından alınan görüntüler.



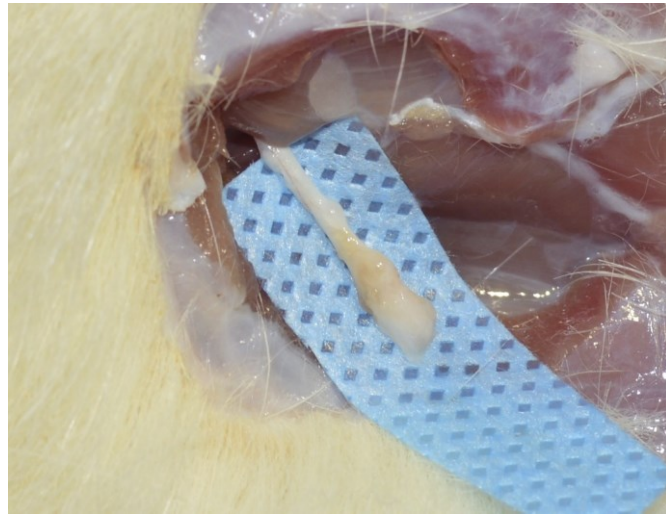
Şekil 4. 2. Makroskopi görüntüsü, kas içi implantasyon grubu. Örnek alım aşaması öncesinde kas içine implante edilmiş sinir ucunda oluşan nöromanın gösterimi.



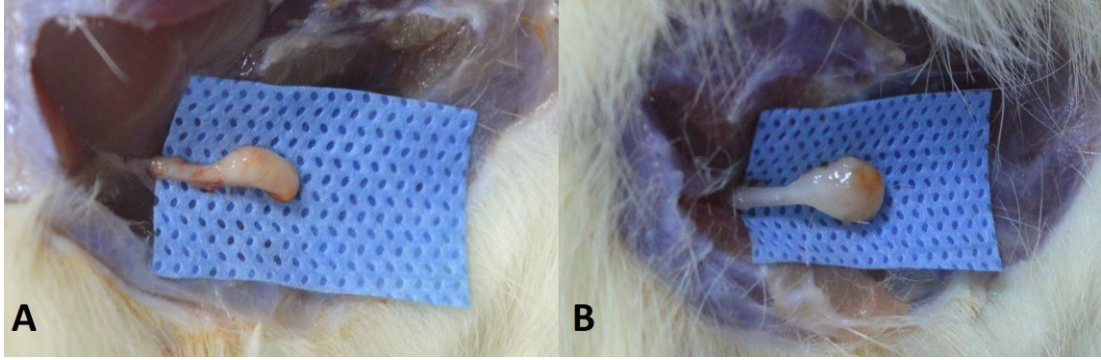
Şekil 4. 3. Makroskopi görüntüsü, kas içi implantasyon grubu. A, B: Farklı deney hayvanlarından alınan görüntüler.



Şekil 4. 4. Makroskopi görüntüsü, epinöral bağlama grubu. A, B: Farklı deney hayvanlarından alınan görüntüler.



Şekil 4. 5. Makroskopi görüntüsü, epinöral soyma grubu.



Şekil 4. 6. Makroskopi görüntüsü, epinöral kaplama grubu. A, B: Farklı deney hayvanlarından alınan görüntüler.

4.2 Morfolojik Bulgular

Morfolojik değerlendirme için 3 farklı parametre kullanıldı: nöroma oluşumu, sinir kesitindeki histopatolojik olarak kaotik alanların sinir kesitine olan oranı ve sinir içi bağ dokusunun sinirin kesitine olan oranı (Tablo 4. 1). Deney grupları her iki kontrol grubu ile ayrı ayrı karşılaştırıldı ve buna ek olarak her iki kontrol grubu kendi içinde karşılaştırıldı.

Her iki kontrol grubu da dahil olmak üzere tüm gruplarda histolojik boyutta nöroma oluşumu gözlemlendi. Ancak gruplar arasında nöroma oluşum düzeyleri farklılık göstermekteydi (Tablo 4. 2 ve Şekil 4. 7).

Negatif ve pozitif kontrol grupları olan serbest sinir ucu ve kas içi implantasyon grubu dışındaki üç deney grubu, serbest sinir ucu ve kas içi implantasyon grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulgular elde edildi ($p<0.05$). Nöroma oluşumu istatistiksel olarak en az oranda epinöral bağlama grubunda gözlenirken ($p<0.05$), epinöral kaplama grubunda serbest sinir ucu grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı bir nöroma oluşumu artışı gözlemlendi ($p<0.05$) (Şekil 4. 8).

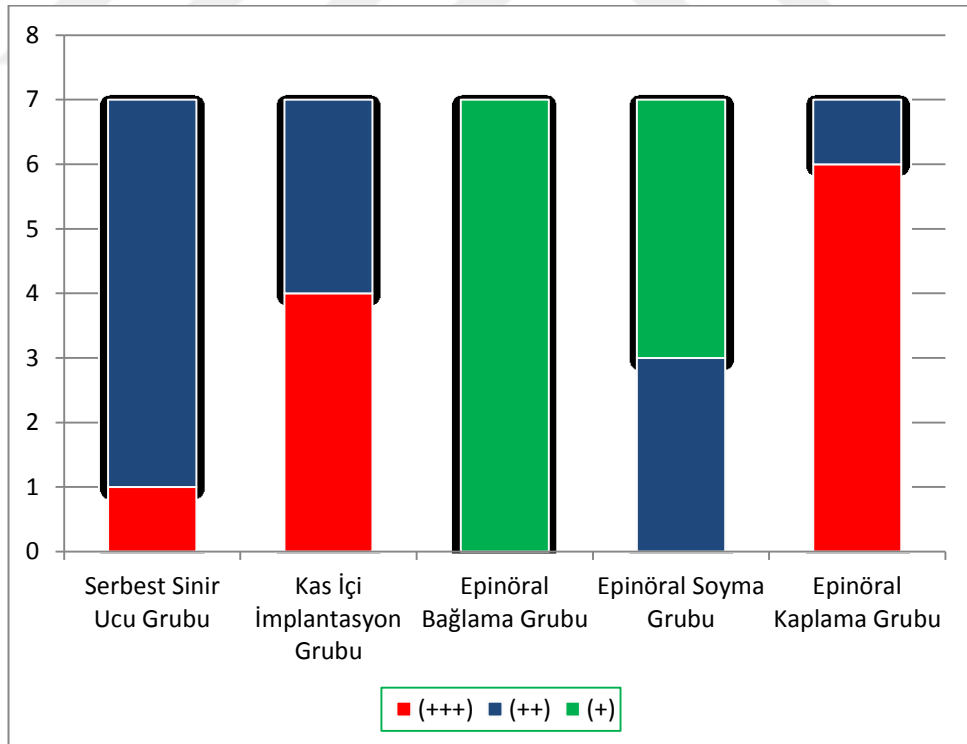
Nöroma oluşumu konusunda serbest sinir ucu ile kas içi implantasyon grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$).

Tablo 4. 1. Deney gruplarının ve kontrol gruplarının morfolojik bulguları

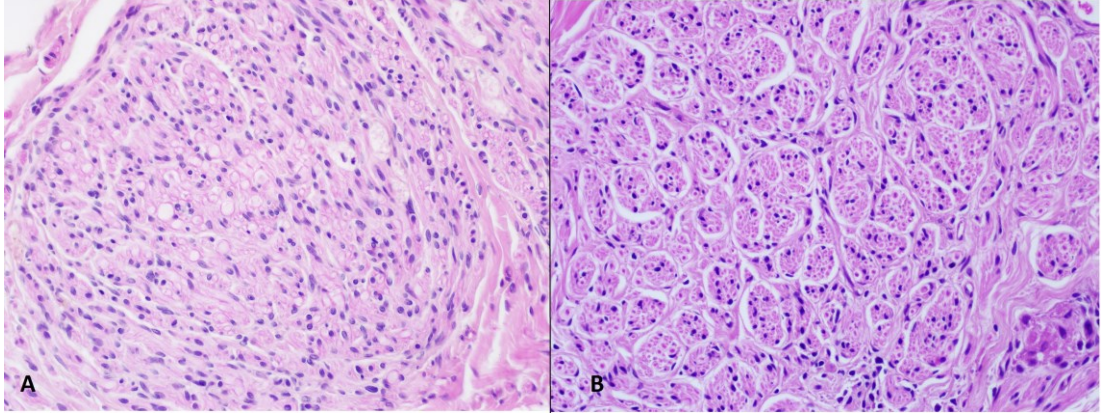
Hayvan Numarası	Nöroma Formasyonu	Kaotik Alanların Oranı	İntranöral Bağ Dokusu Oranı
Serbest Sinir Ucu Grubu			
1. Hayvan	++	% 5	%5
2. Hayvan	++	% 5 - 10	%5
3. Hayvan	++	%5	%5
4. Hayvan	++	%1-2	%1-2
5. Hayvan	++	%10-15	%10
6. Hayvan	++	%1-2	%1-2
7. Hayvan	+++	%20	%10-15
Kas İçi İmplantasyon Grubu			
1. Hayvan	++	%10-15	%5-10
2. Hayvan	++	%5-10	%5
3. Hayvan	+++	%20	%5
4. Hayvan	+++	%20	%20
5. Hayvan	+++	%10	%5
6. Hayvan	++	%5	%1-2
7. Hayvan	+++	%10-15	%5-10
Epinöral Bağlama Grubu			
1. Hayvan	+	%0	%0
2. Hayvan	+	%1-2	%1-2
3. Hayvan	+	%5	%10
4. Hayvan	+	%0	%0
5. Hayvan	+	%1-2	%1
6. Hayvan	+	%0	%1
7. Hayvan	+	%5	%5
Epinöral Soyma Grubu			
1. Hayvan	++	%5-10	%1-2
2. Hayvan	+	%1-2	%1-2
3. Hayvan	+	%1-2	%1-2
4. Hayvan	+	%1-2	%1-2
5. Hayvan	++	%5-10	%5-10
6. Hayvan	++	%10	%5-10
7. Hayvan	+	%5	%3-5
Epinöral Kaplama Grubu			
1. Hayvan	++	%10	%10
2. Hayvan	+++	%25-30	%10-15
3. Hayvan	+++	%40	%25-30
4. Hayvan	+++	%20	%5-10
5. Hayvan	+++	%40	%10
6. Hayvan	+++	%30-40	%10
7. Hayvan	+++	%40	%25-30

Tablo 4. 2. Nöroma oluşum seviyeleri

	NÖROMA VARLIĞI			Toplam
	+	++	+++	
Serbest Sinir Ucu Grubu	0	6	1	7
Kas İçi İmplantasyon Grubu	0	3	4	7
Epinöral Bağlama Grubu	7	0	0	7
Epinöral Soyma Grubu	4	3	0	7
Epinöral Kaplama Grubu	0	1	6	7
Toplam	11	13	11	35



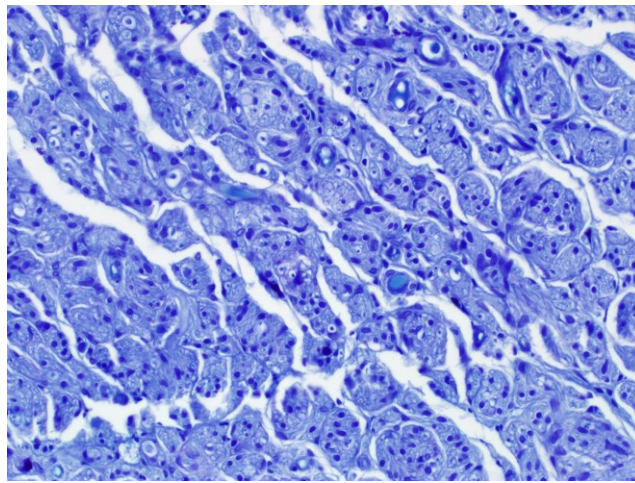
Şekil 4. 7. Nöroma oluşum seviyeleri.



Şekil 4. 8. Nöroma oluşumunun histopatolojik görüntüsü. A: Epinöral bağlama grubu, B: Epinöral kaplama grubu (H & E, X400).

Sinir içerisindeki kaotik alanların oranına bakıldığında deney grupları ile kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu gözlemlendi ($p<0.05$) (Tablo 4. 3; Şekil 4. 9 ve 4. 10).

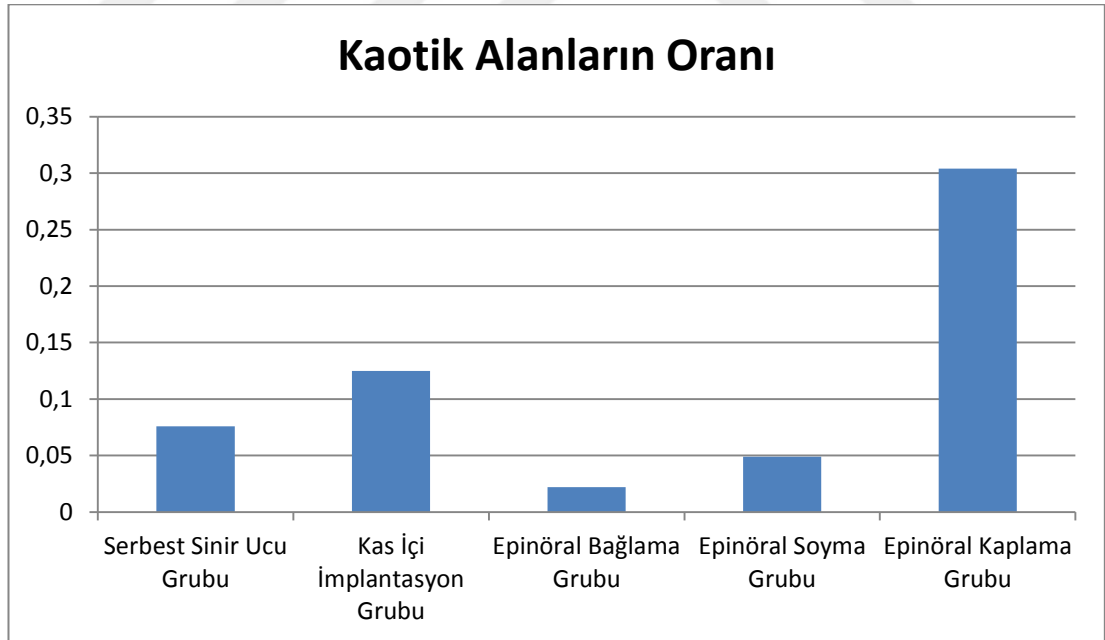
Epinöral bağlama grubundaki kaotik alanların serbest sinir ucu ve kas içine implante edilme gruplarına oranla anlamlı bir şekilde daha az olduğu gözlemlendi ($p<0.05$). Epinöral soyma grubunda kas içi implantasyon grubuna oranla anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p<0.05$). Bunlara zıt olarak epinöral kaplama grubundaki kaotik alanların oranı serbest sinir ucu grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede fazlaydı ($p<0.05$).



Şekil 4. 9. Sinir içi kaotik alanların gösterimi, epinöral soyma grubu (Toluidin Mavisi, X400).

Tablo 4. 3. Kaotik alanların oranları

KAOTİK ALANLARIN ORANI		
	Deney Hayvanı Sayısı	Ortalama $\pm$ Standart Sapma
Serbest Sinir Ucu Grubu	7	0,076 $\pm$ 0,067
Kas İçi İmplantasyon Grubu	7	0,125 $\pm$ 0,058
Epinöral Bağlama Grubu	7	0,022 $\pm$ 0,029
Epinöral Soyma Grubu	7	0,049 $\pm$ 0,035
Epinöral Kaplama Grubu	7	0,304 $\pm$ 0,118



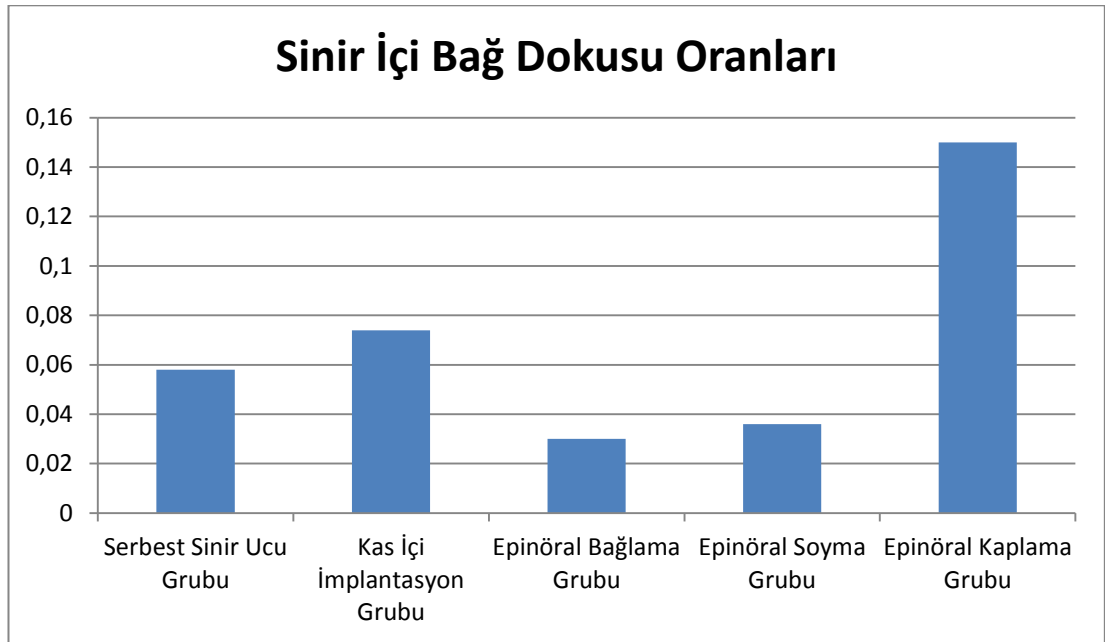
Şekil 4. 10. Kaotik alanların oranları

Serbest sinir ucu ve kas içi implantasyon grupları arasında kaotik alanların oranı yönünden anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$).

Sinir içi bağ dokusu oranlarına bakıldığında deney grupları ile kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu görüldü ($p<0.05$) (Tablo 4. 4 ve Şekil 4. 11).

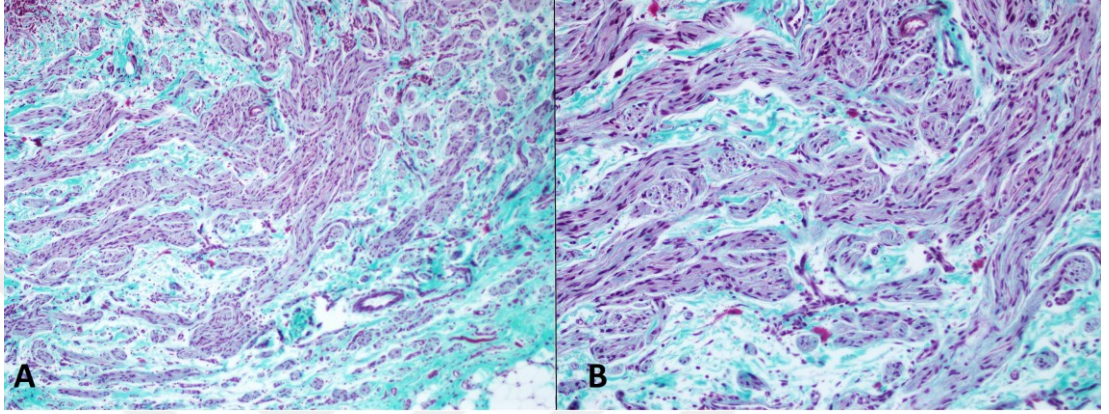
Tablo 4. 4. Sinir içi bağ dokusu oranları

SİNİR İÇİ BAĞ DOKUSU ORANLARI		
	Deney Hayvanı Sayısı	Ortalama $\pm$ Standart Sapma
Serbest Sinir Ucu Grubu	7	0,058 $\pm$ 0,041
Kas içi İmplantasyon Grubu	7	0,074 $\pm$ 0,059
Epinöral Bağlama Grubu	7	0,030 $\pm$ 0,040
Epinöral Soyma Grubu	7	0,036 $\pm$ 0,028
Epinöral Kaplama Grubu	7	0,150 $\pm$ 0,087



Şekil 4. 11. Sinir içi bağ dokusu oranları

Epinöral kaplama grubunda serbest sinir ucu ve kas içi implantasyon gruplarına oranla anlamlı bir sinir içi bağ dokusu artışı olduğu gözlemlendi ($p<0.05$) (Şekil 4. 12).



Şekil 4. 12. Sinir içi bağ dokusu oluşumu. Epinöral kaplama grubu. A: Masson Trikrom, X100, B: Masson Trikrom, X200.

4.3 İmmünohistokimyasal Bulgular

İmmünohistokimyasal inceleme ile 2 farklı parametre değerlendirildi. *S-100* antikoru ile boyanma ve *CGRP* antikoru ile boyanma oranları tespit edildi (Tablo 4. 5). Deney grupları kontrol grupları ile ayrı ayrı karşılaştırıldı ve bunlara ek olarak her iki kontrol grubu birbirleri ile karşılaştırıldı.

Deney grupları ile kontrol grupları arasındaki *S-100* antikoru ile boyanma oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu gözlemlendi ($p<0.05$) (Tablo 4. 6, 4. 7 ve Şekil 4. 13).

Epinöral soyma grubunda serbest sinir ucu grubuna oranla anlamlı bir azalma mevcut olduğu gözlemlendi ($p<0.05$).

Deney grupları ile kontrol grupları arasındaki *CGRP* antikoru ile boyanma oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu gözlemlendi ($p<0.05$) (Tablo 4. 8 ve 4. 9; Şekil 4. 14).

Tablo 4. 5. Deney gruplarının ve kontrol gruplarının immünohistokimyasal bulguları

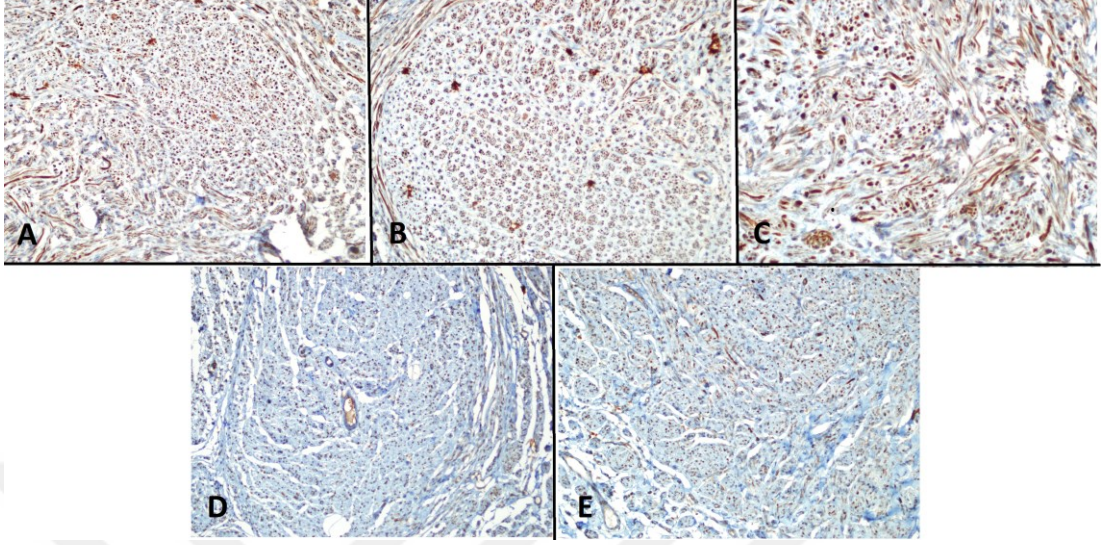
Deney Hayvanları	S-100 ile Boyanma Yüzdesi ve Kuvveti	CGRP ile boyanma Yüzdesi ve Kuvveti
Serbest Sinir Ucu Grubu		
1. Hayvan	%90 ++	%5 +
2. Hayvan	%90 +	%40 ++
3. Hayvan	%20 ++	%40 ++
4. Hayvan	%90 +	%20 +
5. Hayvan	%80 ++	%25 +
6. Hayvan	%80 +	--
7. Hayvan	%80 +	--
Kas içi İmplantasyon Grubu		
1. Hayvan	%80 +	%30 +
2. Hayvan	%80 ++	%5 +
3. Hayvan	%50 ++	%5 +
4. Hayvan	%30 +	%5 +
5. Hayvan	%50 +	%30 +
6. Hayvan	%80 +	--
7. Hayvan	%50 +	--
Epinöral Bağlama Grubu		
1. Hayvan	%90 ++	%40 +
2. Hayvan	%80 ++	%10 +
3. Hayvan	%80 ++	%5 +
4. Hayvan	%70 +	%5 +
5. Hayvan	%80 ++	%50 +
6. Hayvan	%80 ++	--
7. Hayvan	%70 ++	--
Epinöral Soyma Grubu		
1. Hayvan	%60 +	%50 +
2. Hayvan	%30 +	%3 +
3. Hayvan	%35 +	%40 +
4. Hayvan	%75 +	%5 +
5. Hayvan	%25 +	%3 +
6. Hayvan	%60 +	--
7. Hayvan	%50 +	--
Epinöral Kaplama Grubu		
1. Hayvan	%70 +	%80 +
2. Hayvan	%80 +	%65 +
3. Hayvan	%60 +	%60 +
4. Hayvan	%70 +	%65 +
5. Hayvan	%50 +	%35 +
6. Hayvan	%60 +	--
7. Hayvan	%80 +	--

Tablo 4. 6. S-100 antikoru ile boyanma oranları

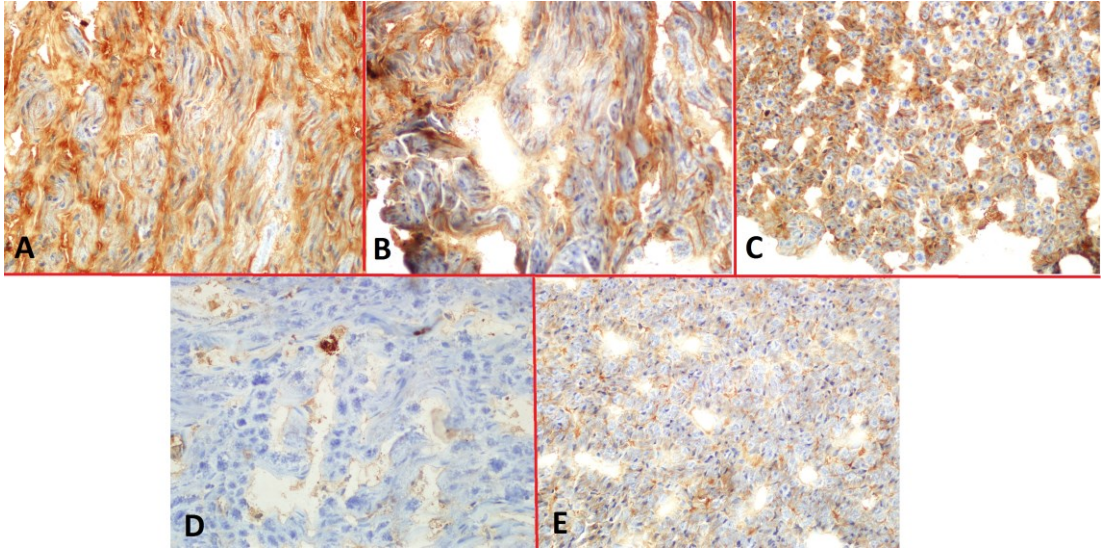
S-100 ANTİKORU İLE BOYANMA ORANLARI						
S-100 Antikoru ile Boyanmanın Yüzde Miktarı ve Kuvveti	Serbest Sinir Ucu Grubu	Kas İçi İmplantasyon Grubu	Epinöral Bağlama Grubu	Epinöral Soyma Grubu	Epinöral Kaplama Grubu	Toplam
%20 ++	1	0	0	0	0	1
%25 +	0	0	0	1	0	1
%30 +	0	1	0	1	0	2
%35 +	0	0	0	1	0	1
%50 +	0	2	0	1	1	4
%50 ++	0	1	0	0	0	1
%60 +	0	0	0	2	2	4
%70 +	0	0	1	0	2	3
%70 ++	0	0	1	0	0	1
%75 +	0	0	0	1	0	1
%80 +	2	2	0	0	2	6
%80 ++	1	1	4	0	0	6
%90 +	2	0	0	0	0	2
%90 ++	1	0	1	0	0	2
Toplam	7	7	7	7	7	35

Tablo 4. 7. S-100 antikoru ile boyanma oranlarının istatistiksel verileri

S-100 ANTİKORU İLE BOYANMA ORANLARI				
	Deney Hayvanı Sayısı	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	Median	Range
Serbest Sinir Ucu Grubu	7	6,14 $\pm$ 0,69	6,00	2,00
Kas İçi İmplantasyon Grubu	7	5,71 $\pm$ 1,11	6,00	3,00
Epinöral Bağlama Grubu	7	6,86 $\pm$ 0,38	7,00	1,00
Epinöral Soyma Grubu	7	4,86 $\pm$ 0,69	5,00	2,00
Epinöral Kaplama Grubu	7	5,57 $\pm$ 0,53	6,00	1,00



Şekil 4. 13. S-100 antikoruna boyama, histolojik kesitlerin görüntüleri. A: Serbest sinir ucu grubu, B: Kas içi implantasyon grubu, C: Epinöral bağlama grubu, D: Epinöral soyma grubu, E: Epinöral kaplama grubu



Şekil 4. 14. CGRP antikoruna boyama, histolojik kesitlerin görüntüleri. A: Serbest sinir ucu grubu, B: Kas içi implantasyon grubu, C: Epinöral bağlama grubu, D: Epinöral soyma grubu, E: Epinöral kaplama grubu

Tablo 4. 8. CGRP antikoru ile boyanma oranları

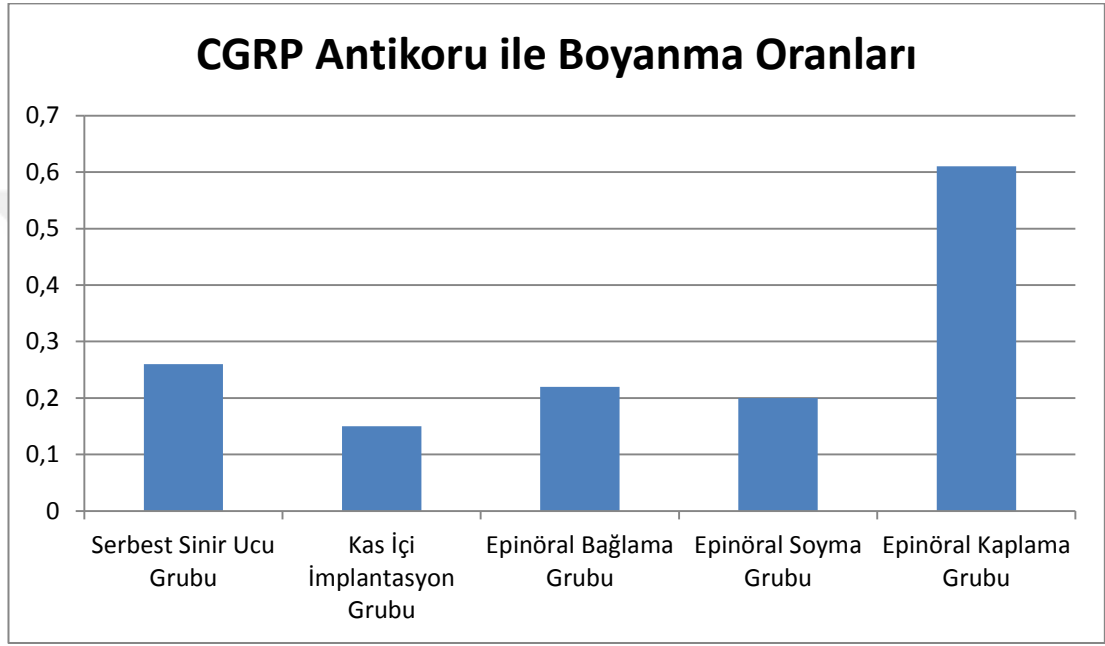
CGRP ANTİKORU İLE BOYANMA ORANLARI						
CGRP Antikoru ile Boyanmanın Yüzde Miktarı ve Kuvveti	Serbest Sinir Ucu Grubu	Kas içi İmplantasyon Grubu	Epinöral Bağlama Grubu	Epinöral Soyma Grubu	Epinöral Kaplama Grubu	Toplam
-	2	2	2	2	2	10
%10 +	0	0	1	0	0	1
%20 +	1	0	0	0	0	1
%25 +	1	0	0	0	0	1
%3 +	0	0	0	2	0	2
%30 +	0	2	0	0	0	2
%35 +	0	0	0	0	1	1
%40 +	0	0	1	1	0	2
%40 ++	2	0	0	0	0	2
%5 +	1	3	2	1	0	7
%50 +	0	0	1	1	0	2
%60 +	0	0	0	0	1	1
%65 +	0	0	0	0	2	2
%80 +	0	0	0	0	1	1
Toplam	7	7	7	7	7	35

Tablo 4. 9. CGRP antikoru ile boyanma oranlarının istatistiksel verileri

CGRP ANTİKORU İLE BOYANMA ORANLARI				
	Deney Hayvanı Sayısı	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	Median	Range
Serbest Sinir Ucu Grubu	5	0,26 $\pm$ 0,15	0,25	0,35
Kas içi İmplantasyon Grubu	5	0,15 $\pm$ 0,14	0,05	0,25
Epinöral Bağlama Grubu	5	0,22 $\pm$ 0,21	0,10	0,45
Epinöral Soyma Grubu	5	0,20 $\pm$ 0,23	0,05	0,47
Epinöral Kaplama Grubu	5	0,61 $\pm$ 0,16	0,65	0,45

CGRP antikorü ile boyanma oranlarına bakıldığında epinöral kaplama grubunda serbest sinir ucu ve kas içi implantasyon gruplarına oranla istatistiksel olarak anlamlı bir artmış boyanma olduğu gözlemlendi ($p<0.05$) (Şekil 4. 15).

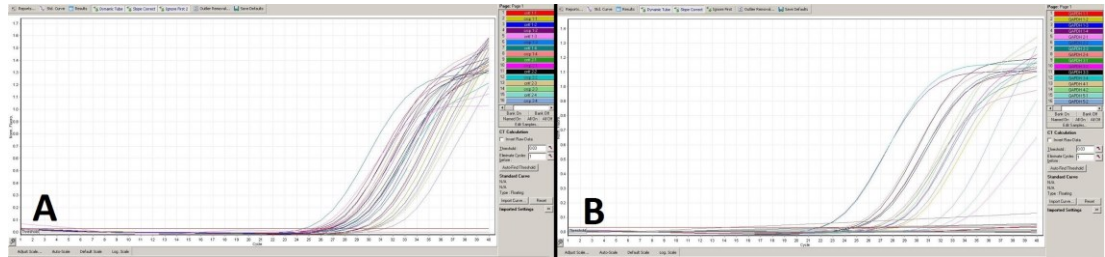
CGRP antikorü ile boyanma oranlarında sinir ucunun boşta bırakılması ve kas içine implante edilmesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı izlendi ($p>0.05$).



Şekil 4. 15. CGRP antikorü ile boyanma oranları.

4.4 Gerçek Zamanlı PCR Bulguları

CNTF ve CRCP genlerinin ekspresyonu serbest sinir ucu grubuna oranla kat artışı cinsinden değerlendirildi (Tablo 4. 10 ve Şekil 4. 16).

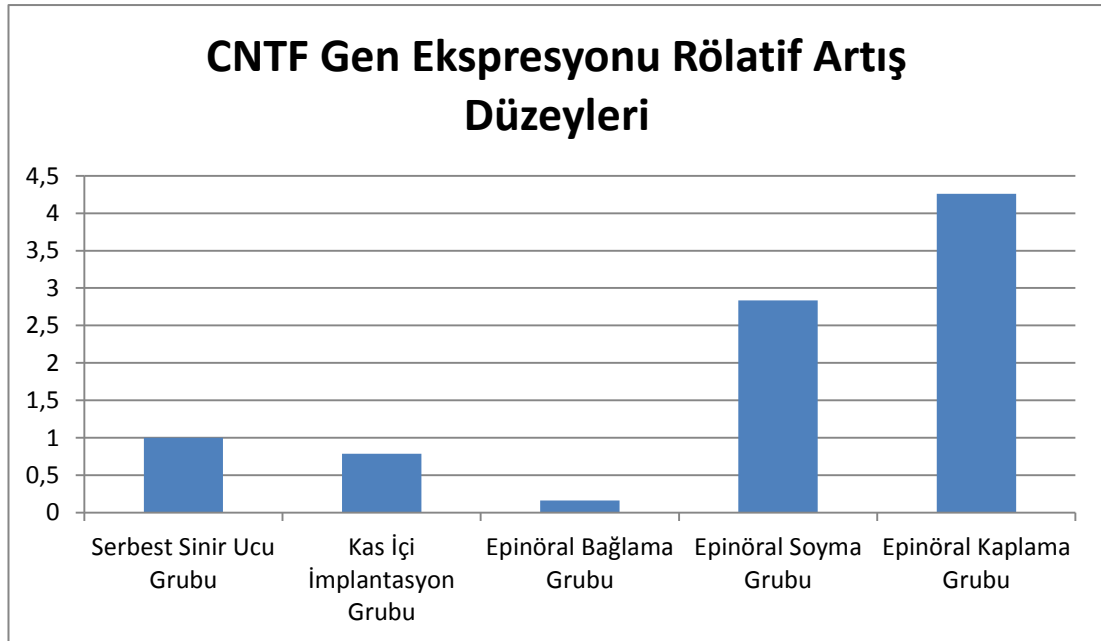


Şekil 4. 16. Gerçek zamanlı PCR bulgularının bilgisayar yazılımı ile incelenmesi. A: CNTF ve CRCP gen ekspresyonları, B: GAPDH gen ekspresyonu.

Tablo 4. 10. CNTF ve CRCP gen ekspresyon düzeylerinin gerçek zamanlı PCR bulguları

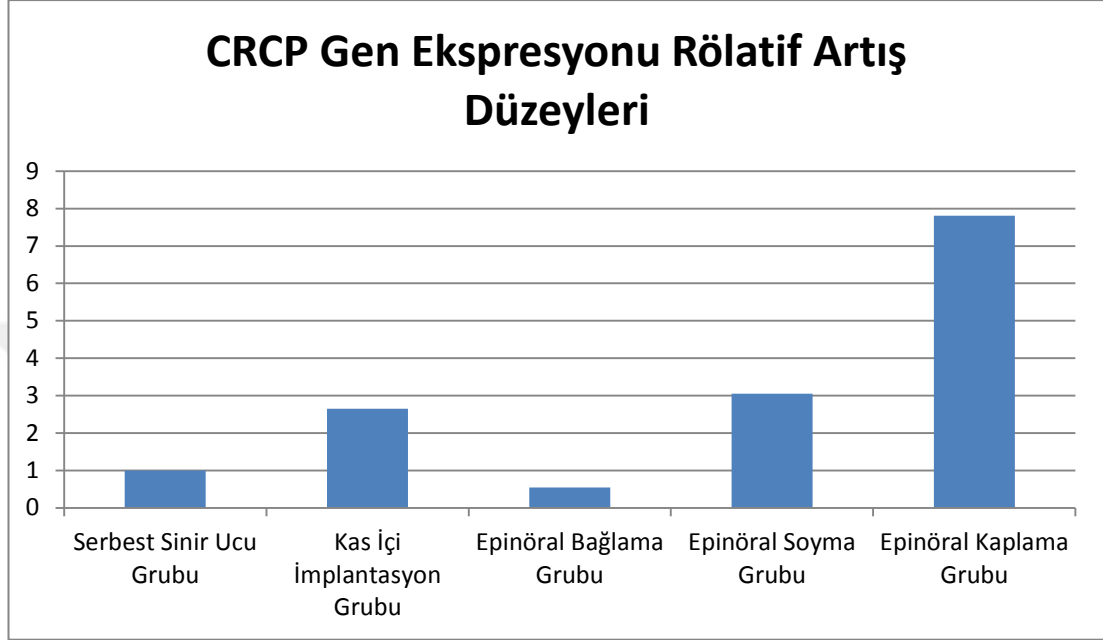
Grup Adı	CNTF Geni Rölatif	CRCP Geni Rölatif
	Ekspresyonu $\pm$ Standart Sapma	Ekspresyonu $\pm$ Standart Sapma
Serbest Sinir Ucu Grubu	1	1
Kas İçi İmplantasyon Grubu	0,78 $\pm$ 0,31	2,64 $\pm$ 1,14
Epinöral Bağlama Grubu	0,16 $\pm$ 0,26	0,54 $\pm$ 1,64
Epinöral Soyma Grubu	2,83 $\pm$ 1,08	3,05 $\pm$ 1,09
Epinöral Kaplama Grubu	4,25 $\pm$ 0,61	7,80 $\pm$ 0,56

Epinöral soyma ve epinöral kaplama gruplarındaki CNTF geninin ekspresyonunda serbest sinir ucu grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi ($p<0.05$). Bu iki gruba zıt olarak epinöral bağlama grubundaki CNTF gen ekspresyonunun serbest sinir ucu grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu gözlemlendi ($p<0.05$) (Şekil 4. 17).



Şekil 4. 17. CNTF gen ekspresyon düzeylerinin gerçek zamanlı PCR bulguları

Epinöral bağlama grubundaki CRCP gen ekspresyonunun serbest sinir ucu grubuna oranla anlamlı bir şekilde azaldığı gözlemlendi ($p<0.05$). Buna zıt olarak epinöral kaplama grubundaki CRCP gen ekspresyonu serbest sinir ucu grubuna oranla anlamlı bir şekilde arttığı izlendi (Şekil 4. 18).



Şekil 4. 18. CRCP gen ekspresyon düzeylerinin gerçek zamanlı PCR bulguları

5. TARTIŞMA

Nöroma oluşumunun önlenmesi için birçok yöntem denenmiştir. Bu çalışmada literatürde kullanılıp etkinliği gösterilmiş olan yöntemler ilk defa bir arada kullanılmış olup birbirlerine olan üstünlükleri anlaşılmaya çalışılmıştır. Çalışmanın esas amacı epinörium tabakasının nöroma oluşumu üzerindeki rolünün anlaşılması olduğu için deney gruplarında epinörium ile ilgili yöntemler seçilmiş ve kontrol grupları ile karşılaştırılmıştır.

Bir periferik sinir transeksiyonu sonrasında proksimal güdüğün serbest bırakılması durumunda düzensiz ve kaotik bir biçimde rejenere olan aksonal yapıların histolojik boyutta bir nöroma oluşturacağı ön görülmekte (54) ve bu durum normal sinir iyileşmesinin bir parçası olarak kabul edilmektedir (52). Bu sebeple çalışmamızın ilk kontrol grubunda siyatik sinir kesilip serbest bırakıldı ve negatif kontrol grubu olarak tasarlanmış olan bu gruba “serbest sinir ucu grubu” adı verildi.

Nöroma oluşumunun önlenmesi için klinik pratikte en sık uygulama transekte edilmiş periferik sinirin proksimal ucunun komşulukta bulunan bir kas dokusu içine implante edilmesidir. Bu sebeple çalışmanın ikinci kontrol grubunda kesilmiş sinir ucu komşulukta bulunan bir kas dokusu içine implante edilmiş ve bu gruba “kas içi implantasyon grubu” adı verilmiştir. Bu grup pozitif kontrol grubu olarak tasarlanmıştır.

Çalışmamızda 2 kontrol grubu ve 3 deney grubu olmak üzere 5 grup hayvan kullanılmıştır ve her grupta 11 hayvan bulunmaktadır. Gruplardaki hayvan sayısı temel olarak değerlendirme yöntemlerindeki farklılıklar sebebiyle 11 olarak tasarlanmıştır. İstatistiksel olarak tip alfa ve tip beta hataların düşük tutulması amacıyla %95 güven aralığı ve %80 güç analizi için 5 grupta istatistiksel “bias”a yol açmadan elde edilebilecek veriler için örneklem büyüklüğü her grupta 6 hayvan olarak bulunmuştur. Teknik olarak, histopatolojik inceleme yapılan doku örneklerinde gerçek zamanlı PCR ile gen ekspresyonu tayini mümkün olamamaktadır. Bu sebeple gerçek zamanlı PCR ile değerlendirme yapabilmek için tüm gruplara 4 hayvan daha eklenmiştir. 6 aylık takip süresinin deneysel bir çalışma için oldukça uzun olduğu öngörüsüyle, olası sıçan ölümlerinin istatistiksel sonuçları

etkilememesi için her grupta %10 oranında hayvan fazladan kullanılmıştır. Bu sebeplerden dolayı gruplardaki hayvan sayısı 11 olarak hesaplanmıştır.

Sinir yatağındaki skar doku seviyesi nöroma oluşumu üzerinde etkili olabileceği için ameliyatlarda esnasında kas dokusu ve sinir yatağında yapılan diseksiyonlarda dokuların tahrip edilmemesine özen gösterildi. Buna ek olarak koter kullanarak yapılan periferik sinir kesilerinin nöroma oluşumu üzerinde etkili olduğu bildirildiği için (117) sinir defekti oluştururken kesiler bistüri ile yapıldı.

Sıçanlarda kısa sinir defektlerinin spontan rejenerasyonu bildirildiğinden dolayı (8), siyatik sinirin trifurkasyonu proksimalinde mümkün olan en uzun defekt oluşturuldu (2 santimetre).

Değerlendirme yöntemlerinde histopatolojik, immünohistokimyasal ve gerçek zamanlı PCR ile değerlendirme yapılmıştır. Yapısal olarak nöroma varlığı ve nöromanın şiddeti hematoksilen & eozin ile, sinir kesiti içerisinde bulunan histopatolojik olarak kaotik alanlar ise toluidin mavisi ile değerlendirilmiştir. Nöroma içerisinde rejenere olan aksonal yapılara ek olarak bağ dokusu mevcudiyeti söz konusudur. Bu sebeple bağ dokusu ile aksonal yapıların ayırt edilmesine olanak sağlayan masson trikrom boyası ile boyama yapılmıştır.

CNTF, aksonların fonksiyonlarını devam ettirmesinde rol alan bir nörotrofik faktördür ve sinir rejenerasyonu durumlarında arttığı bildirilmiştir (139, 140). CNTF IL-6 reseptörüne bağlanmakta (141) ve IL-6 reseptörünün uyarılması sonucunda *Janus kinase-Signal Transducer and Activator of Transcription (JAK-STAT)* ve *Mitojen-activated protein kinase (MAP-Kinaz)* yollarının aktivasyonu üzerinden hücre büyümesi ve farklılaşma yollarını indüklemektedir. CNTF aksonal rejenerasyonun arttığı durumlarda artan bir proteindir ve deneysel çalışmalarda CNTF miktarının tayini aksonal rejenerasyonun değerlendirme yöntemleri arasında yerini almış bir yöntemdir. Bu sebeple gerçek zamanlı PCR ile CNTF gen ekspresyonunun tayini çalışmamıza eklenmiştir.

Deney hayvanlarında ağırlı süreçleri değerlendirmek için indirekt yöntemler kullanılmaktadır. Çalışmamızdaki hayvanların deney bölgelerinde oluşan nöromaların ağrı düzeylerini değerlendirebilmek amacıyla CGRP düzeyleri ve CRCP

üzerinden CGRP reseptör düzeyleri tespit edilmiştir. CGRP, ağrılı süreçlerde sentezi artan bir protein olup (142-144) sentezlenmesinin ve varlığının gösterilmesi ağrı varlığı olarak yorumlanmaktadır. Buna ek olarak, CGRP reseptörü seviyesini gösteren CRCP'nin de CGRP ile birlikte ağrı yolları üzerinde anlamlı olduğu bildirilmiştir (145, 146). Çalışmamızdaki sıçanlarda oluşan nöromaların ağrı seviyelerini anlayabilmek amacıyla CGRP düzeyleri immünohistokimyasal boyama ile, CRCP düzeyleri ise gen ekspresyonu düzeyinde gerçek zamanlı PCR ile değerlendirilmiştir. Bu iki değerlendirme sayesinde hem ağrı yollarında artan CGRP'nin varlığı, hem de CGRP'nin reseptör düzeyleri tespit edilmiştir.

Çalışmamızın sonunda ulaşılan veriler doğrultusunda epinöral bağlama ve epinöral soyma gruplarında serbest sinir ucu ve kas içi implantasyon gruplarına oranla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha az nöroma oluşumu gözlenmiştir. Bu bulgu Yıldırım ve arkadaşlarının (9) çalışmasının sonuçları ile benzerlik göstermekte iken Yüksel ve arkadaşlarının (10) çalışma sonuçlarına zıt düşmektedir. Ayrıca, epinöral bağlama ve epinöral soyma gruplarında sinir içi bağ dokusu oranları ve sinir içi kaotik alanların oranlarının kas içi implantasyon grubuna oranla anlamlı olarak azalmış olduğu görülmüştür. Başka bir deyişle, sinir ucunun kas içi implante edilmesinin epinöriumun bağlanması veya soyulmasına oranla daha yüksek oranda sinir içi kaotik alanlar barındırdığı, sinir içi bağ dokusunda artışa neden olduğu ve nöroma oluşumunu engellemediği gözlenmiştir.

Epinöral kaplama grubu serbest sinir ucu grubu ile karşılaştırıldığında ise, nöroma formasyonu, sinir içi kaotik alanların oranı ve sinir içi bağ dokusu oranı gibi parametrelerinin tamamında istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde daha yüksek sonuçlara ulaşılmıştır. Buradan yola çıkarak epinöral kaplama grubunun nöroma oluşumunu artırıcı etkisinin olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Gerçek zamanlı PCR ile CNTF gen ekspresyon düzeylerine bakıldığında epinöral bağlama grubunda anlamlı bir ekspresyon azalması olması epinöral bağlama grubunda nöroma oluşumunun azalması ile koreledir. Epinöral kaplama grubunda ise CNTF geninde anlamlı bir ekspresyon artışı olmuştur ki bu bulgu epinöral kaplama grubundaki artmış nöroma formasyonu ile koreledir.

Ağrı parametrelerine bakıldığında, epinöral bağlama ve epinöral soyma gruplarındaki CGRP antikoruyla boyanma ile her iki kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. CGRP'nin reseptörel düzeyde karşılaştırılmasında ise epinöral bağlama grubunda her iki kontrol grubundan daha az reseptör ekspresyonu mevcut olduğu görülmüştür. Bu durumda reseptörel düzeydeki farktan yola çıkarak epinöral bağlama grubunun daha az ağrılı olduğu sonucu çıkartılmıştır. Epinöral kaplama grubunun ise her iki kontrol grubuna oranla CGRP antikoru ile anlamlı bir şekilde daha fazla boyanma gösterdiği izlenmiştir. Aynı zamanda, epinöral kaplama grubunda tüm gruplara oranla belirgin bir CRCP gen ekspresyon düzeyi artışının mevcut olduğu gözlenmiştir. Bu parametreler bütün olarak değerlendirildiğinde, epinöral bağlama grubunun sinir ucunun serbest bırakılmasına ya da kas içine implante edilmesine oranla daha az ağrılı olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Epinöral kaplama grubundaki CGRP sentezi ve CRCP gen ekspresyon düzeyindeki artıştan yola çıkarak her iki kontrol grubundan daha fazla ağrılı olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu bulgu Yüksel ve arkadaşları tarafından yapılmış olan klinik çalışma bulguları ile ters düşmektedir (10).

Tüm değerlendirme parametrelerine ortak bir şekilde yaklaşıldığında epinöral kaplama tekniğinin histopatolojik düzeyde ve makroskopik düzeyde ağrılı nöroma oluşumunu arttırdığı sonucuna ulaşılmıştır. Buna zıt olarak epinöral bağlama tekniğinin histopatolojik ve makroskopik düzeyde ağrılı nöroma oluşumu azalttığı anlaşılmıştır. Epinöral soyma grubunun ise histopatolojik düzeyde kontrollere oranla nöroma oluşumunu azalttığı ancak ağrı düzeyi göz önünde tutulduğunda sinir ucunun serbest bırakılmasına oranla daha ağrılı olabileceği anlaşılmıştır.

Tüm değerlendirme parametrelerinde sinir ucunun serbest bırakılması ile kas içine implante edilmesi arasında anlamlı bir fark olmadığı izlenmiştir. Buradan yola çıkarak klinik pratikte sinir ucunun kas içine implante edilmesinin sinir ucuna hiçbir işlem yapılmaması üzerine herhangi bir üstünlüğünün olmadığı sonucuna varılmıştır. Bu bulgu Sinis ve arkadaşlarının (8) çalışmasında ulaştıkları sonuç ile ters düşmektedir. Ancak her ne kadar sinir ucunu kas içine implante etmenin serbest bırakmak üzerinde anlamlı bir farkı olmasa da, kas içi implantasyon durumunda kas

dokusunun dışardan gelen travmalara karşı koruyucu bir yastık gibi görev görmesi sebebiyle kullanımının kısıtlanmaması gerektiği ön görülebilir.

Çalışmamızın sonunda aksonları içermeyen epinörium tabakasının bağlanmasıyla ilgili nöroma oluşumunu azaltıcı rolü olduğu anlaşılmıştır. Epinöral kaplama yapmanın ise ilgili nöroma oluşumunu artırıcı etkisi olduğu anlaşılmıştır.

Çalışmamızın temel sorusu olan epinöriumun nöroma oluşumu üzerindeki rolü değerlendirildiğinde ise, öncelikle epinöriumun var olduğu her iki kontrol grubu ile epinöriumun olmadığı epinöral soyma grupları karşılaştırılmıştır. Sinir ucunun serbest bırakılması ya da kas içine implante edilmesinde epinöriumun soyulduğu gruba oranla daha fazla nöroma olması epinöriumun varlığı durumunda nöroma oluşumunun arttığını göstermiştir. Buna ek olarak epinöral bağlama ile epinöral soyma gruplarında histopatolojik olarak benzer sonuçların olması epinöral bağlama grubunda epinöriumun vasküler perfüzyonunun bozulmasına bağlanmıştır. Tüm bulgulara ek olarak epinöral kaplama grubunda histopatolojik ve makroskopik olarak ilgili nöroma oluşumundaki belirgin artış epinörium tabakasının nöroma oluşumu üzerinde rolü olduğu kanısını kuvvetlendirmektedir. Epinöriumun greft olarak kullanılmasının ise sinirin kendi epinöriumuna oranla daha yüksek düzeyde nöroma oluşumuna yol açtığı anlaşılmıştır.

Çalışmanın zayıf yönlerine bakıldığında karşımıza çıkan en önemli kısım nöromanın değerlendirme aşamasındadır. Ne yazık ki nöromanın histopatolojik değerlendirilmesi sıklıkla sübjektif değerlendirme ile yapılmaktadır. Özellikle kontrol gruplarında bile nöroma oluşumu gerçekleşeceği bilindiği için, hangi gruplarda “daha az” nöroma, hangi gruplarda “daha çok” nöroma oluştuğu sübjektif kriterler ile konulabilmektedir. Bu durumun zayıflığını azaltabilmek için değerlendirme sinir patolojisi üzerinde tecrübeli bir patoloji öğretim üyesi ile yapılmıştır. Buna ek olarak tüm örnekler aynı patolog tarafından gruplara kör olarak incelenmiş ve nöromanın düzeyi skoreleme sistemi kullanılarak ortaya konmuştur. Nöroma varlığının tayinine ek olarak sinir içinde bulunan kaotik alanların, sinir içi bağ dokusu oranlarının ve aksonal rejenerasyon parametrelerinin de hesaba katılması yolu ile değerlendirme işlemi kuvvetlendirilmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızın verileri değerlendirildiğinde epinöriumun ağrılı nöroma oluşumu üzerinde arttırıcı etkisi olduğu; epinöriumun greft olarak kullanılmasının ise periferik sinirin kendi epinöriumuna oranla nöroma oluşumunu daha çok arttırdığı sonucuna ulaşıldı.

Buna ek olarak epinöriumun bağlanması nöroma oluşumunu azaltacağı sonucuna ulaşıldı.

Klinik pratikte sıkça kullanılan sinir ucunu kas içine implante etmenin ise nöroma oluşumu üzerinde önleyici bir etkisinin olmadığı sonucuna ulaşıldı. Sinir ucunun kas içine implante edilmesinin sinir ucu etrafında ek bir fiziksel koruyucu ortam oluşturması sebebiyle nöroma oluşumunun önlenmesi için en uygun yöntemin epinöriumun bağlanması ve sonrasında komşulukta bulunan bir kas dokusu içine implante edilmesi olduğu sonucuna ulaşıldı.

Gelecekte yapılacak deneysel ve klinik çalışmalar ile epinöriumun nöroma oluşumu üzerindeki rolünün daha ayrıntılı olarak ortaya konmasına ihtiyaç bulunmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Herndorn JH. Neuromas. In: Green DP HR, editor. Operative Hand Surgery. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1993. p. 1387-400.
2. Jung YJ, Park WY, Jeon JH, Mun JH, Cho YS, Jun AY, et al. Outcomes of ultrasound-guided extracorporeal shock wave therapy for painful stump neuroma. *Annals of rehabilitation medicine*. 2014;38(4):523-33.
3. Ziegler-Graham K, MacKenzie EJ, Ephraim PL, Travison TG, Brookmeyer R. Estimating the prevalence of limb loss in the United States: 2005 to 2050. *Archives of physical medicine and rehabilitation*. 2008;89(3):422-9.
4. Pierce RO, Jr., Kernek CB, Ambrose TA, 2nd. The plight of the traumatic amputee. *Orthopedics*. 1993;16(7):793-7.
5. Ducic I, Mesbahi AN, Attinger CE, Graw K. The role of peripheral nerve surgery in the treatment of chronic pain associated with amputation stumps. *Plastic and reconstructive surgery*. 2008;121(3):908-14; discussion 15-7.
6. Wood VE, Mudge MK. Treatment of neuromas about a major amputation stump. *The Journal of hand surgery*. 1987;12(2):302-6.
7. Kumar N, Stevenson JH. Intractable digital neuroma pain; the ultimate solution? *British journal of plastic surgery*. 1990;43(1):122-3.
8. Sinis N, Haerle M, Becker ST, Schulte-Eversum C, Vonthein R, Rosner H, et al. Neuroma formation in a rat median nerve model: influence of distal stump and muscular coating. *Plastic and reconstructive surgery*. 2007;119(3):960-6.
9. Yildirim AM, Okur MI, Ozveren F, Ozercan R. Reduction of the incidence of neuroma formation by proximal epineural stripping: an experimental study in rats. *Journal of hand surgery*. 2006;31(4):450-2.

10. Yuksel F, Kislaoğlu E, Durak N, Ucar C, Karacaoglu E. Prevention of painful neuromas by epineural ligatures, flaps and grafts. British journal of plastic surgery. 1997;50(3):182-5.
11. Hippocrates. Hippocratic Writings(Translated by Adams F.). In: RM H, editor. Great Books of the Western World. 10. Chicago, London, Toronto, : Encyclopedia Britannica Inc.; 1952. p. 91-121, 31-44.
12. Goodrich JT. History of spine surgery in the ancient and medieval worlds. Neurosurgical focus. 2004;16(1):E2.
13. Yıldırım N. Alaim-i Cerrahin Uzerine Bazi Yeni Bilgiler. I International Congress on the History of Turkish-Islamic Science and Technology. 2. Istanbul: Istanbul Technical University: Printing Office of Faculty of Architecture; 1981. p. 168-81.
14. Yıldırım N. Alaim-i Cerrahin'in Bilinmeyen Bir Özeti: fi nebzeti'n min el-cerrahin. Tip Tarihi Arastirmalari1986. p. 100-4.
15. Yıldırım N. Ibrahim bin Abdullah, Alaim-i Cerrahin Adlı Türkce Eseriyle Taninan Osmanli Cerrahi. Turkiye Diyanet Vakfi Islam Ansiklopedisi[Encyclopedia of Islam]. 21. Istanbul: Turkiye Diyanet Vakfi; 2000. p. 284-5.
16. Dellon ES, Dellon AL. Functional assessment of neurologic impairment: track analysis in diabetic and compression neuropathies. Plastic and reconstructive surgery. 1991;88(4):686-94.
17. Dellon AL. Polyglycolic acid conduits for digital nerve reconstruction. Plastic and reconstructive surgery. 2001;107(7):1924-5.
18. Doi K, Kuwata N, Kawakami F, Tamaru K, Kawai S. The free vascularized sural nerve graft. Microsurgery. 1984;5(4):175-84.
19. Berde CB SG. Local anesthetics. In: Miller R EI, Fleisher LA, editor. Miller's anesthesia. 7th edition ed. Philadelphia: Elsevier; 2009.

20. Miner JR PP, Yealy DM. Pain management. In: Marx JA HR, Walls RM, editor. Rosen's Emergency Medicine Concepts and Clinical Practice. Vol 2. 7th edition ed. Philadelphia: Saunders; 2010.
21. Barret KE BH, Boitano S, Barman SM. Excitable Tissue: Nerve. In: Barret KE BH, Boitano S, Barman SM., editor. Ganong's Review of Medical Physiology. Twenty Third Edition. ed: McGraw-Hill Companies, Inc.; 2010. p. 79-92.
22. Mescher A. Nerve Tissue & The Nervous System. In: Mescher A, editor. Janqueira's Basic Histology 12th Edition ed. Singapore: The McGraw-Hill Companies; 2010. p. 140-66.
23. Kulkarni GS. Textbook of Orthopaedics and Trauma. India: Jaypee Brothers Medical Publication; 2009. p. 895-8.
24. Wallerian degeneration: USA; 2015 [cited 2015]. Available from: http://en.wikipedia.org/wiki/Wallerian_degeneration.
25. Avcı GA, M.; Yıldırım, S.; Aköz, T. Sinir Onarımı ve Greftleme. T Klin Tıp Bilimleri Dergisi. 2002(22):428-37.
26. Seddon HJ. Three Types of Nerve Injury. Brain : a journal of neurology. 1943;66:237-88.
27. Sunderland S. Nerves and Nerve Injuries. 2nd edition ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1978.
28. Mackinnon SE. New directions in peripheral nerve surgery. . Ann Plast Surg. 1989(22):257-73.
29. Mackinnon SE. Double and multiple "crush" syndromes. Double and multiple entrapment neuropathies. Hand clinics. 1992(8):369.
30. Hudson TW, Evans GR, Schmidt CE. Engineering strategies for peripheral nerve repair. The Orthopedic clinics of North America. 2000;31(3):485-98.

31. Weber RA, Breidenbach WC, Brown RE, Jabaley ME, Mass DP. A randomized prospective study of polyglycolic acid conduits for digital nerve reconstruction in humans. *Plastic and reconstructive surgery*. 2000;106(5):1036-45; discussion 46-8.
32. Siemionow M, Bozkurt M, Zor F. Regeneration and repair of peripheral nerves with different biomaterials: review. *Microsurgery*. 2010;30(7):574-88.
33. Muir D. The potentiation of peripheral nerve sheaths in regeneration and repair. *Experimental neurology*. 2010;223(1):102-11.
34. Young L, Wray RC, Weeks PM. A randomized prospective comparison of fascicular and epineural digital nerve repairs. *Plastic and reconstructive surgery*. 1981;68(1):89-93.
35. Dvali L, Mackinnon S. The role of microsurgery in nerve repair and nerve grafting. *Hand clinics*. 2007;23(1):73-81.
36. Chow JA, Van Beek AL, Bilos ZJ, Meyer DL, Johnson MC. Anatomical basis for repair of ulnar and median nerves in the distal part of the forearm by group fascicular suture and nerve-grafting. *The Journal of bone and joint surgery American volume*. 1986;68(2):273-80.
37. Silva DN, Coelho J, Frazilio Fde O, Odashiro AN, Carvalho Pde T, Pontes ER, et al. End-to-side nerve repair using fibrin glue in rats. *Acta cirurgica brasileira / Sociedade Brasileira para Desenvolvimento Pesquisa em Cirurgia*. 2010;25(2):158-62.
38. Berger AM, H. . Nerve grafting. *Clin Orthop Relat Res*. 1978 Jun(133):49-55.
39. Gerth DJ, Tashiro J, Thaller SR. Clinical outcomes for Conduits and Scaffolds in peripheral nerve repair. *World journal of clinical cases*. 2015;3(2):141-7.
40. Liu CT, Benda CE, Lewey FH. Tensile strength of human nerves; an experimental physical and histologic study. *Archives of neurology and psychiatry*. 1948;59(3):322-36.

41. Smith KG, Robinson PP. An experimental study of three methods of lingual nerve defect repair. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. 1995;53(9):1052-62.
42. Myckatyn TMM, S. E. *Microsurgical Repair of Peripheral Nerves and Nerve Grafts*. In: Thorne C, editor. *Grabb & Smith's Plastic Surgery*. 6th Edition ed. USA: LIPPINCOTT WILLIAMS&WILKINS; 2007. p. 73-83.
43. Greenberg MM, Leitao C, Trogadis J, Stevens JK. Irregular geometries in normal unmyelinated axons: a 3D serial EM analysis. *Journal of neurocytology*. 1990;19(6):978-88.
44. Lee GW, Mackinnon SE, Brandt K, Bell RS. A technique for nerve reconstruction following resection of soft-tissue sarcoma. *Journal of reconstructive microsurgery*. 1993;9(2):139-44.
45. Deal DN, Griffin JW, Hogan MV. Nerve conduits for nerve repair or reconstruction. *The Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*. 2012;20(2):63-8.
46. Schlosshauer B, Dreesmann L, Schaller HE, Sinis N. Synthetic nerve guide implants in humans: a comprehensive survey. *Neurosurgery*. 2006;59(4):740-7; discussion 7-8.
47. Taras JS, Jacoby SM, Lincoski CJ. Reconstruction of digital nerves with collagen conduits. *The Journal of hand surgery*. 2011;36(9):1441-6.
48. Pabari A, Lloyd-Hughes H, Seifalian AM, Mosahebi A. Nerve conduits for peripheral nerve surgery. *Plastic and reconstructive surgery*. 2014;133(6):1420-30.
49. Yan Y, Sun HH, Hunter DA, Mackinnon SE, Johnson PJ. Efficacy of short-term FK506 administration on accelerating nerve regeneration. *Neurorehabilitation and neural repair*. 2012;26(6):570-80.
50. Arai T, Lundborg G, Dahlin LB. Bioartificial nerve graft for bridging extended nerve defects in rat sciatic nerve based on resorbable guiding filaments.

Scandinavian journal of plastic and reconstructive surgery and hand surgery / Nordisk plastikkirurgisk forening [and] Nordisk klubb for handkirurgi. 2000;34(2):101-8.

51. Trumble TE, Shon FG. The physiology of nerve transplantation. Hand clinics. 2000;16(1):105-22.

52. Provost N, Bonaldi VM, Sarazin L, Cho KH, Chhem RK. Amputation stump neuroma: ultrasound features. Journal of clinical ultrasound : JCU. 1997;25(2):85-9.

53. Stansbury LG, Lalliss SJ, Branstetter JG, Bagg MR, Holcomb JB. Amputations in U.S. military personnel in the current conflicts in Afghanistan and Iraq. Journal of orthopaedic trauma. 2008;22(1):43-6.

54. Fisher GT, Boswick JA, Jr. Neuroma formation following digital amputations. The Journal of trauma. 1983;23(2):136-42.

55. Ernberg LA, Adler RS, Lane J. Ultrasound in the detection and treatment of a painful stump neuroma. Skeletal radiology. 2003;32(5):306-9.

56. Henrot P, Stines J, Walter F, Martinet N, Paysant J, Blum A. Imaging of the painful lower limb stump. Radiographics : a review publication of the Radiological Society of North America, Inc. 2000;20 Spec No:S219-35.

57. Dockery GL. The treatment of intermetatarsal neuromas with 4% alcohol sclerosing injections. The Journal of foot and ankle surgery : official publication of the American College of Foot and Ankle Surgeons. 1999;38(6):403-8.

58. Mathews GJ, Osterholm JL. Painful traumatic neuromas. The Surgical clinics of North America. 1972;52(5):1313-24.

59. Zimmermann M. Pathobiology of neuropathic pain. European journal of pharmacology. 2001;429(1-3):23-37.

60. Bellamy JL, Steinbacher DM, Debrux JC, Magarakis M, Rosson GD. Treatment of recurrent lingual nerve end-neuroma: A case report. *Microsurgery*. 2013.
61. Haanpaa ML, Backonja MM, Bennett MI, Bouhassira D, Cruccu G, Hansson PT, et al. Assessment of neuropathic pain in primary care. *The American journal of medicine*. 2009;122(10 Suppl):S13-21.
62. Shinozaki T, Yamada T, Nonaka T, Yamamoto T. Acetaminophen and non-steroidal anti-inflammatory drugs interact with morphine and tramadol analgesia for the treatment of neuropathic pain in rats. *Journal of anesthesia*. 2014.
63. Theodosiou M, Rush RA, Zhou XF, Hu D, Walker JS, Tracey DJ. Hyperalgesia due to nerve damage: role of nerve growth factor. *Pain*. 1999;81(3):245-55.
64. Lewin-Kowalik J, Marcol W, Kotulska K, Mander M, Klimczak A. Prevention and management of painful neuroma. *Neurologia medico-chirurgica*. 2006;46(2):62-7; discussion 7-8.
65. Scadding JW. Development of ongoing activity, mechanosensitivity, and adrenaline sensitivity in severed peripheral nerve axons. *Experimental neurology*. 1981;73(2):345-64.
66. Nordin M, Nystrom B, Wallin U, Hagbarth KE. Ectopic sensory discharges and paresthesiae in patients with disorders of peripheral nerves, dorsal roots and dorsal columns. *Pain*. 1984;20(3):231-45.
67. Seltzer Z, Paran Y, Eisen A, Ginzburg R. Neuropathic pain behavior in rats depends on the afferent input from nerve-end neuroma including histamine-sensitive C-fibers. *Neuroscience letters*. 1991;128(2):203-6.
68. DeLeo JA, Coombs DW, Willenbring S, Colburn RW, Fromm C, Wagner R, et al. Characterization of a neuropathic pain model: sciatic cryoneurolysis in the rat. *Pain*. 1994;56(1):9-16.

69. Bening Tumors of Peripheral Nerves. In: Sharon W. Weiss JRG, editor. *Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors*. Fifth Edition ed. China: Mosby, Inc. Elsevier.; 2008. p. 825-902.
70. Xu QG, Zochodne DW. Ischemia and failed regeneration in chronic experimental neuromas. *Brain research*. 2002;946(1):24-30.
71. Sakai Y, Ochi M, Uchio Y, Ryoke K, Yamamoto S. Prevention and treatment of amputation neuroma by an atelocollagen tube in rat sciatic nerves. *Journal of biomedical materials research Part B, Applied biomaterials*. 2005;73(2):355-60.
72. Valverde Guevara YM, Yoshikawa H, Saito I, Maeda T, Seo K. Effect of local application of an antibody against brain-derived neurotrophic factor on neuroma formation after transection of the inferior alveolar nerve in the rat. *Neuroreport*. 2014;25(13):1069-74.
73. Climent JM, Mondejar-Gomez F, Rodriguez-Ruiz C, Diaz-Llopis I, Gomez-Gallego D, Martin-Medina P. Treatment of Morton neuroma with botulinum toxin A: a pilot study. *Clinical drug investigation*. 2013;33(7):497-503.
74. Melendez MM, Patel A, Dellon AL. The Diagnosis and Treatment of Joplin's Neuroma. *The Journal of foot and ankle surgery : official publication of the American College of Foot and Ankle Surgeons*. 2014.
75. Singson RD, Feldman F, Slipman CW, Gonzalez E, Rosenberg ZS, Kiernan H. Postamputation neuromas and other symptomatic stump abnormalities: detection with CT. *Radiology*. 1987;162(3):743-5.
76. Donnal JF, Blinder RA, Coblenz CL, Moylan JA, Fitzpatrick KP. MR imaging of stump neuroma. *Journal of computer assisted tomography*. 1990;14(4):656-7.
77. Singson RD, Feldman F, Staron R, Fechtner D, Gonzalez E, Stein J. MRI of postamputation neuromas. *Skeletal radiology*. 1990;19(4):259-62.

78. Beggs I. Pictorial review: imaging of peripheral nerve tumours. *Clinical radiology*. 1997;52(1):8-17.
79. Thomas AJ, Bull MJ, Howard AC, Saleh M. Peri operative ultrasound guided needle localisation of amputation stump neuroma. *Injury*. 1999;30(10):689-91.
80. Kim YK, Jung I, Lee CH, Kim SH, Kim JS, Yoo BW. Pulsed radiofrequency ablation under ultrasound guidance for huge neuroma. *The Korean journal of pain*. 2014;27(3):290-3.
81. Murphey MD, Smith WS, Smith SE, Kransdorf MJ, Temple HT. From the archives of the AFIP. Imaging of musculoskeletal neurogenic tumors: radiologic-pathologic correlation. *Radiographics : a review publication of the Radiological Society of North America, Inc.* 1999;19(5):1253-80.
82. Fornage BD. Peripheral nerves of the extremities: imaging with US. *Radiology*. 1988;167(1):179-82.
83. Narayanan S, Sarawagi R. Teaching neuroimages: posttraumatic neuroma-incontinuity of the right tibial nerve. *Neurology*. 2014;82(22):e198-9.
84. 2015. Available from: <http://surgpathcriteria.stanford.edu/peripheral-nerve/solitary-circumscribed-palisaded-encapsulated-neuroma/differential-diagnosis.html>.
85. Neumann V, O'Connor RJ, Bush D. Cryoprobe treatment: an alternative to phenol injections for painful neuromas after amputation. *AJR American journal of roentgenology*. 2008;191(6):W313; author reply W4.
86. Ramachandran VS, Rogers-Ramachandran D. Phantom limbs and neural plasticity. *Archives of neurology*. 2000;57(3):317-20.
87. Lim KB, Kim YS, Kim JA. Sonographically guided alcohol injection in painful stump neuroma. *Annals of rehabilitation medicine*. 2012;36(3):404-8.

88. Fanucci E, Masala S, Fabiano S, Perugia D, Squillaci E, Varruciu V, et al. Treatment of intermetatarsal Morton's neuroma with alcohol injection under US guide: 10-month follow-up. *European radiology*. 2004;14(3):514-8.
89. Hyer CF, Mehl LR, Block AJ, Vancourt RB. Treatment of recalcitrant intermetatarsal neuroma with 4% sclerosing alcohol injection: a pilot study. *The Journal of foot and ankle surgery : official publication of the American College of Foot and Ankle Surgeons*. 2005;44(4):287-91.
90. Hughes RJ, Ali K, Jones H, Kendall S, Connell DA. Treatment of Morton's neuroma with alcohol injection under sonographic guidance: follow-up of 101 cases. *AJR American journal of roentgenology*. 2007;188(6):1535-9.
91. Rengachary SS, Watanabe IS, Singer P, Bopp WJ. Effect of glycerol on peripheral nerve: an experimental study. *Neurosurgery*. 1983;13(6):681-8.
92. Leung A, Fallah A, Shukla S. Transcutaneous magnetic stimulation (TMS) in alleviating post-traumatic peripheral neuropathic pain States: a case series. *Pain medicine*. 2014;15(7):1196-9.
93. Kesikburun S, Koroglu Omac O, Yasar E, Yilmaz B, Kenan Tan A. Ultrasound guided block of the saphenous neuroma following use of an AFO in a patient with paraplegia. A case report. *European journal of physical and rehabilitation medicine*. 2014;50(2):197-8.
94. Thomson CE, Beggs I, Martin DJ, McMillan D, Edwards RT, Russell D, et al. Methylprednisolone injections for the treatment of Morton neuroma: a patient-blinded randomized trial. *The Journal of bone and joint surgery American volume*. 2013;95(9):790-8, S1.
95. Smith JR, Gomez NH. Local injection therapy of neuromata of the hand with triamcinolone acetonide. A preliminary study of twenty-two patients. *The Journal of bone and joint surgery American volume*. 1970;52(1):71-83.
96. Sofka CM, Adler RS, Ciavarra GA, Pavlov H. Ultrasound-guided interdigital neuroma injections: short-term clinical outcomes after a single percutaneous

injection--preliminary results. *HSS journal : the musculoskeletal journal of Hospital for Special Surgery*. 2007;3(1):44-9.

97. Bennett GL, Graham CE, Mauldin DM. Morton's interdigital neuroma: a comprehensive treatment protocol. *Foot & ankle international*. 1995;16(12):760-3.

98. Hassouna H, Singh D, Taylor H, Johnson S. Ultrasound guided steroid injection in the treatment of interdigital neuralgia. *Acta orthopaedica Belgica*. 2007;73(2):224-9.

99. Markovic M, Crichton K, Read JW, Lam P, Slater HK. Effectiveness of ultrasound-guided corticosteroid injection in the treatment of Morton's neuroma. *Foot & ankle international*. 2008;29(5):483-7.

100. Gruber H, Kovacs P, Peer S, Frischhut B, Bodner G. Sonographically guided phenol injection in painful stump neuroma. *AJR American journal of roentgenology*. 2004;182(4):952-4.

101. Jeudy J, Raimbeau G, Rabarin F, Fouque PA, Saint-Cast Y, Cesari B, et al. Neuroma-in-continuity of the median nerve managed by nerve expansion and direct suture with vein conduit. *Orthopaedics & traumatology, surgery & research : OTSR*. 2014;100(4 Suppl):S267-70.

102. Wood RJ, Adson MH, VanBeek AL, Peltier GL, Zubkoff MM, Bubrick MP. Controlled expansion of peripheral nerves: comparison of nerve grafting and nerve expansion/repair for canine sciatic nerve defects. *The Journal of trauma*. 1991;31(5):686-90.

103. Hall GD, van Way CW, 3rd. A comparison of nerve grafting and tissue expansion techniques in the rat. *Microsurgery*. 1994;15(6):439-42.

104. Baoguo J, Shibata M, Matsuzaki H, Takahashi HE. Proximal nerve elongation vs nerve grafting in repairing segmental nerve defects in rabbits. *Microsurgery*. 2004;24(3):213-7.

105. Galeano M, Manasseri B, Risitano G, Geuna S, Di Scipio F, La Rosa P, et al. A free vein graft cap influences neuroma formation after nerve transection. *Microsurgery*. 2009;29(7):568-72.
106. 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? *Journal of hand surgery*. 1994;19(3):277-82.
107. Bertelli JA, dos Santos AR, Calixto JB. Is axonal sprouting able to traverse the conjunctival layers of the peripheral nerve? A behavioral, motor, and sensory study of end-to-side nerve anastomosis. *Journal of reconstructive microsurgery*. 1996;12(8):559-63.
108. Tarasidis G, Watanabe O, Mackinnon SE, Strasberg SR, Haughey BH, Hunter DA. End-to-side neurorrhaphy resulting in limited sensory axonal regeneration in a rat model. *The Annals of otology, rhinology, and laryngology*. 1997;106(6):506-12.
109. Tham SK, Morrison WA. Motor collateral sprouting through an end-to-side nerve repair. *The Journal of hand surgery*. 1998;23(5):844-51.
110. Caplan J, Tiangco DA, Terzis JK. Effects of IGF-II in a new end-to-side model. *Journal of reconstructive microsurgery*. 1999;15(5):351-8.
111. Fortes WM, Noah EM, Liuzzi FJ, Terzis JK. End-to-side neurorrhaphy: evaluation of axonal response and upregulation of IGF-I and IGF-II in a non-injury model. *Journal of reconstructive microsurgery*. 1999;15(6):449-57.
112. Liu K, Chen LE, Seaber AV, Goldner RV, Urbaniak JR. Motor functional and morphological findings following end-to-side neurorrhaphy in the rat model. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*. 1999;17(2):293-300.
113. Ayan I, Bora A, Karakaplan M, Inan M, Bostan B, Germen B, et al. Effect of end-to-side repair of proximal nerve stumps of transected peripheral nerves on the development of neuroma (experimental study). *Hand*. 2007;2(4):199-205.

114. AL-Qattan MM. PREVENTION AND TREATMENT OF PAINFUL NEUROMAS OF THE SUPERFICIAL RADIAL NERVE BY THE END-TO-SIDE NERVE REPAIR CONCEPT: AN EXPERIMENTAL STUDY AND PRELIMINARY CLINICAL EXPERIENCE. *Microsurgery*. 2000(20):99-104.
115. Okuda T, Ishida O, Fujimoto Y, Tanaka N, Inoue A, Nakata Y, et al. The autotomy relief effect of a silicone tube covering the proximal nerve stump. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*. 2006;24(7):1427-37.
116. Tyner TR, Parks N, Faria S, Simons M, Stapp B, Curtis B, et al. Effects of collagen nerve guide on neuroma formation and neuropathic pain in a rat model. *American journal of surgery*. 2007;193(1):e1-6.
117. Zeltser R, Beilin B, Zaslansky R, Seltzer Z. Comparison of autotomy behavior induced in rats by various clinically-used neurectomy methods. *Pain*. 2000;89(1):19-24.
118. Mason DW, Williams AF. The kinetics of antibody binding to membrane antigens in solution and at the cell surface. *The Biochemical journal*. 1980;187(1):1-20.
119. Uhr JW. Immunotoxins: harnessing nature's poisons. *Journal of immunology*. 1984;133(6):i-x.
120. DiStefano PS, Schweitzer JB, Taniuchi M, Johnson EM, Jr. Selective destruction of nerve growth factor receptor-bearing cells in vitro using a hybrid toxin composed of ricin A chain and a monoclonal antibody against the nerve growth factor receptor. *The Journal of cell biology*. 1985;101(3):1107-14.
121. Crawford JM, Barton RW. Thy-1 glycoprotein: structure, distribution, and ontogeny. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 1986;54(2):122-35.
122. Wiley RG. Neural lesioning with ribosome-inactivating proteins: suicide transport and immunolesioning. *Trends in neurosciences*. 1992;15(8):285-90.

123. Wiley RG, Kline IR. Neuronal lesioning with axonally transported toxins. *Journal of neuroscience methods*. 2000;103(1):73-82.
124. Salo PT, Hogervorst T, Seerattan RA, Rucker D, Bray RC. Selective joint denervation promotes knee osteoarthritis in the aging rat. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*. 2002;20(6):1256-64.
125. Bigotte L, Olsson Y. Cytotoxic effects of adriamycin on mouse hypoglossal neurons following retrograde axonal transport from the tongue. *Acta neuropathologica*. 1983;61(3-4):161-8.
126. Koda LY, Van der Kooy D. Doxorubicin: a fluorescent neurotoxin retrogradely transported in the central nervous system. *Neuroscience letters*. 1983;36(1):1-8.
127. van der Kooy D, Zito KA, Roberts DC. Evidence on the retrograde neurotoxicity of doxorubicin. *Neuroscience letters*. 1985;53(2):215-9.
128. Kondo A, Ohnishi A, Nagara H, Tateishi J. Neurotoxicity in primary sensory neurons of adriamycin administered through retrograde axoplasmic transport in rats. *Neuropathology and applied neurobiology*. 1987;13(3):177-92.
129. Cummings JF, Fubini SL, Todhunter RJ. Attempts to prevent equine post neurectomy neuroma formation through retrograde transport of two neurotoxins, doxorubicin and ricin. *Equine veterinary journal*. 1988;20(6):451-6.
130. England JD, Asbury AK, Rhee EK, Sumner AJ. Lethal retrograde axoplasmic transport of doxorubicin (adriamycin) to motor neurons. A toxic motor neuronopathy. *Brain : a journal of neurology*. 1988;111 (Pt 4):915-26.
131. Eiklid K, Olsnes S, Pihl A. Entry of lethal doses of abrin, ricin and modeccin into the cytosol of HeLa cells. *Experimental cell research*. 1980;126(2):321-6.
132. Helke CJ, Charlton CG, Wiley RG. Studies on the cellular localization of spinal cord substance P receptors. *Neuroscience*. 1986;19(2):523-33.

133. Pubols LM, Foglesong ME. Acute and chronic effects of the neurolytic agent ricin on dorsal root ganglia, spinal cord, and nerves. *The Journal of comparative neurology*. 1988;275(2):271-81.
134. Brandner MD, Buncke HJ, Campagna-Pinto D. Experimental treatment of neuromas in the rat by retrograde axoplasmic transport of ricin with selective destruction of ganglion cells. *The Journal of hand surgery*. 1989;14(4):710-4.
135. Shapiro S, Voelker J. Reduction of experimental neuroma formation with ricin. *The Journal of surgical research*. 1991;51(5):405-8.
136. Mavrogenis AF, Pavlakis K, Stamatoukou A, Papagelopoulos PJ, Theoharis S, Zetahang Z, et al. Intraneural OX7-saporin for neuroma-in-continuity in a rat model. *European journal of orthopaedic surgery & traumatology : orthopedie traumatologie*. 2013;23(3):263-72.
137. Marcol W, Larysz-Brysz M, Kucharska M, Niekraszewicz A, Slusarczyk W, Kotulska K, et al. Reduction of post-traumatic neuroma and epineural scar formation in rat sciatic nerve by application of microcrystalline chitosan. *Microsurgery*. 2011;31(8):642-9.
138. Elwakil TF, Elkharbotly A. Role of Nd:YAG laser for prevention of neuroma formation: an in vivo experimental study. *Lasers in medical science*. 2008;23(2):163-8.
139. Leibinger M, Muller A, Andreadaki A, Hauk TG, Kirsch M, Fischer D. Neuroprotective and axon growth-promoting effects following inflammatory stimulation on mature retinal ganglion cells in mice depend on ciliary neurotrophic factor and leukemia inhibitory factor. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2009;29(45):14334-41.
140. Dubovy P, Raska O, Klusakova I, Stejskal L, Celakovsky P, Haninec P. Ciliary neurotrophic factor promotes motor reinnervation of the musculocutaneous nerve in an experimental model of end-to-side neurorrhaphy. *BMC neuroscience*. 2011;12:58.

141. Schuster B, Kovaleva M, Sun Y, Regenhard P, Matthews V, Grotzinger J, et al. Signaling of human ciliary neurotrophic factor (CNTF) revisited. The interleukin-6 receptor can serve as an alpha-receptor for CTNF. *The Journal of biological chemistry*. 2003;278(11):9528-35.
142. Salmon AM, Damaj MI, Marubio LM, Epping-Jordan MP, Merlo-Pich E, Changeux JP. Altered neuroadaptation in opiate dependence and neurogenic inflammatory nociception in alpha CGRP-deficient mice. *Nature neuroscience*. 2001;4(4):357-8.
143. Mogil JS, Miermeister F, Seifert F, Strasburg K, Zimmermann K, Reinold H, et al. Variable sensitivity to noxious heat is mediated by differential expression of the CGRP gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005;102(36):12938-43.
144. Han JS, Adwanikar H, Li Z, Ji G, Neugebauer V. Facilitation of synaptic transmission and pain responses by CGRP in the amygdala of normal rats. *Molecular pain*. 2010;6:10.
145. Pokabla MJ, Dickerson IM, Papka RE. Calcitonin gene-related peptide-receptor component protein expression in the uterine cervix, lumbosacral spinal cord, and dorsal root ganglia. *Peptides*. 2002;23(3):507-14.
146. Ma W, Chabot JG, Powell KJ, Jhamandas K, Dickerson IM, Quirion R. Localization and modulation of calcitonin gene-related peptide-receptor component protein-immunoreactive cells in the rat central and peripheral nervous systems. *Neuroscience*. 2003;120(3):677-94.