



T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

**SİNİR İYİLEŞMESİNDE LEZYON PROKSİMAL VE
DİSTALİNDEN YAPILAN SİNİR SUPERCHARGE'ININ SİNİR
İYİLEŞMESİNE ETKİSİ**

Dr. Samed GÜRSES

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Bahattin Kerem AYDIN

Konya-2024

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**SİNİR İYİLEŞMESİNDE LEZYON PROKSİMAL VE
DİSTALİNDEN YAPILAN SİNİR SUPERCHARGE'ININ SİNİR
İYİLEŞMESİNE ETKİSİ**

Dr. Samed GÜRSES

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Bahattin Kerem AYDIN

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 23122006 proje numarası ile desteklenmiştir.

Konya-2024

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

SİMGELER VE KISALTMALAR

ŞEKİLLER ve TABLOLAR LİSTESİ

1.GİRİŞ	1
1.1.Periferik sinir sistemi anatomisi.....	1
1.1.1.Schwann hücresi ve miyelinizasyon.....	2
1.1.2.Periferik sinirin kılıfları.....	2
1.1.2.1.Epinöryum.....	2
1.1.2.2.Perinöryum.....	3
1.1.2.3.Endonöryum.....	3
1.1.3.Periferik sinirin dolaşımı.....	3
1.2. Sinir yaralanmalarının sunumu ve patofizyolojisi.....	4
1.2.1. Periferik Sinir Yaralanmalarının Sınıflandırılması.....	5
1.2.1.1. Nöropraksi(Sunderland tip 1).....	5
1.2.1.2. Aksonotomezis(Sunderland tip2-4).....	5
1.2.1.3. Nörotomezis (Sunderland tip5).....	5
1.2.2. Sinir Onarımı Zamanlaması.....	6
1.2.3.Sinir Onarım Tekniği.....	6
1.2.4. Cerrahi Onarım Sonrası Rejenerasyon.....	7
1.2.5. Sinir Onarımı İçin Kullanılan Diğer Teknikler.....	7
1.2.5.1. Sinir Grefti.....	7
1.2.5.2. Otolog Sinir Greftlerinin Geliştirilmesi.....	8
1.2.5.3. Otolog Sinir Greftlerinin Değiştirilmesi.....	8
1.2.5.4. Sinir Transferi.....	9

1.2.5.5. Gen Tedavisi.....	13
2.GEREÇ VE YÖNTEM.....	15
2.1. Çalışma Grupları.....	15
2.2. Yapılan Cerrahi.....	16
2.3. Değerlendirmede Kullanılan Yöntemler.....	20
2.3.1. Fonksiyonel inceleme.....	20
2.3.1.1 Extensor Postural Thrust(itme kuvveti oranı).....	20
2.3.1.2 Pinprick testi.....	21
2.3.1.3 Sıcak zemin testi.....	22
2.3.1.4. Gastrokinemius ağırlık oranı.....	23
2.3.2. Histopatolojik İnceleme.....	24
2.3.3. İmmunfloresan ve İmmunohistokimyasal İnceleme.....	25
2.4. İstatistik.....	25
3. BULGULAR.....	26
3.1. Makroskobik bulgular.....	26
3.2. Fonksiyonel Test Bulgular.....	27
3.2.1.İtme kuvveti bulgular.....	27
3.2.2 Pin Prick Testi Bulguları.....	28
3.2.3. Sıcak Zemin Testi Bulguları.....	29
3.2.4 Gastroknemius Ağırlık Bulguları.....	30
3.3.Histopatolojik Bulgular.....	31
4.TARTIŞMA.....	49

5.SONUÇ ve ÖNERİLER.....	55
KAYNAKLAR	56
ÖZET	61
SUMMARY.....	62
EK-1(ETİK KURUL KARARI).....	63



ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Periferik sinir yaralanmalarında çeşitli yöntemler ile onarım işlemleri yapılmaktadır. onarım tekniklerinden sinir transferleri kategorisinde bulunan işlemlerden bir de süpercharge yöntemidir. Bu deneysel tez çalışmasında periferik sinir hasarında son zamanlarda popülerlik kazanan süpercharge yönteminin lezyon seviyesine göre konumunun fonksiyonel ve histolojik sonuçlara etkisini araştırdık. Kliniğimizce el cerrahisi ve mikrocerrahi işlemleri sıkça uygulanmaktadır. Kliniğimiz tarafından bir çok süpercharge yöntemiyle sinir transferi de yapılmıştır. Literatüre bakıldığında süpercharge sinir transferleri ile ilgili çalışma sayısı kısıtlı olduğu için literatüre katkı sağlamak amaçlı bu konu seçilmiştir.

Uzmanlık eğitimim süresince usta çırak ilişkisiyle hekimlik sanatını öğrenmemde her türlü maddi ve manevi desteği sağlayan başta tez danışmanım Prof. Dr. Bahattin Kerem Aydın olmak üzere, Prof. Dr. Hakan Şenaran, Prof. Dr. Mehmet Ali Acar, Prof. Dr. Ömer Faruk Erkoçak, Doç. Dr. Ali Güleç, Dr. Öğr. Üyesi Fatih Durgut, Dr. Öğr. Üyesi Selim Safalı, Dr. Öğr. Üyesi Ali Özdemir, Dr. Öğr. Üyesi Sadettin Çiftci hocalarıma, sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Histolojik incelemelerde sayısız yardımcı dokunan Necmettin Erbakan Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Veterinerlik Patoloji Anabilim dalından Dr. Öğr. Üyesi Özgür Kanat hocama teşekkürlerimi sunarım. Hem klinikte hem de tez çalışmamda yardımlarını esirgemeyen, her aşama da fikir veren, her zaman destek olan, kliniğimizden el cerrahisi yan dal uzmanlığını olan değerli abim Uzman Dr. Erkan Sabri Ertaş'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca sayısız mesaimiz, güzel anımız olan, tez çalışmamda da fedakarca yardımları olan asistan arkadaşlarıma; çalışma imkanı bulduğum ameliyathane, poliklinik hemşire ve personeline, hastane personeline teşekkürlerimi sunarım.

Bugünlere gelmemde çok emekleri olan başta ilkokul öğretmenim Ömer Erdal'a ve eğitim hayatım boyunca bana en ufak katkısı olan tüm öğretmenlerime, hocalarıma, arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim

Eğitim hayatım boyunca hem maddi hem manevi desteklerini esirgemeyen sayısız fedakarlık gösteren aileme; desteğini her zaman hissettiğim, ona ayırmam gereken zamanın çoğunu eğitim sürecime harcadığım buna rağmen sonsuz sabır ve sevgi gösteren hayat arkadaşım eşim Nisa Gülpınar Gürses'e sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Dr. Samed Gürses

KONYA-2023

SİMGELER VE KISALTMALAR

PSS: Periferik Sinir Sistemi

EMG: Elektromiyografi

AIN: Anterior interosseöz sinir

NGF: Nörotrofik Growth Faktör

SETS: Supercharge end-to-side

RETS: reverse end to side

ETE: End to end

NIC: nerve a in continuity

IHC: İmmünohistokimya

ASDI: Akson sayısı değişim indeksi

SÜDAM: Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp ve Araştırma Merkezi

ŞEKİLLER VE TABLOLAR LİSTESİ

Şekil 1 Periferik sinir anatomisi [4].....	2
Şekil 2 Periferik sinir mikrosirkülasyonu [13].....	4
Şekil 3 Periferik sinir yaralanmaları [18]	6
Şekil 4 Standart uç yan sinir transferi ve reverse uç yan(süpercharge) sinir transferi [53] ...	10
Şekil 5 Klasik uç yan sinir transfer modeli [54]	11
Şekil 6 Ters uç yan(süpercharge) sinir transfer modeli [54].....	12
Şekil 7 Sinir transfer modelleri [55]	13
Şekil 8. Cerrahi öncesi çizimler ve intraop disseksiyon.	17
Şekil 9 Grupların yapılan sinir transfer ve onarımları	18
Şekil 10. Sakrifikasyon sonrası sinirlerin diseke edilmesi ve histopatolojik incelemeler için sinir onarım ve supercharge bölgelerinden örneklerin alınması	20
Şekil 11 Extensor postural thrust testi.....	21
Şekil 12 Pin Prick testi.....	22
Şekil 13 Sıcak zemin testi	23
Şekil 14 Bilateral gastrokinemius kas disseksiyonu ve ağırlıklarının ölçülmesi.....	24
Şekil 15. Ratların deney başlangıcında ağırlıkları	26
Şekil 16 Ratların sakrifikasyon öncesi ağırlıkları.....	26
Şekil 17 Ratların sol taraf itme kuvvetlerinin deney öncesi ve sakrifikasyon öncesi oranları	28
Şekil 18 Sol taraf pin prick testleri gruplar arası karşılaştırılması	29
Şekil 19 Sol sıcak zemin değerleri gruplar arası karşılaştırılması	30
Şekil 20 Sol gastrokinemius ağırlıkları Gruplar arası karşılaştırılması	31
Şekil 21 Ratların proksimal ve distal akson sayıları gruplararası karşılaştırılması.....	32
Şekil 22 Ratların skar dokuları karşılaştırılması.....	33
Şekil 23 Ratların skar bölgesi akson yoğunluğu karşılaştırılması	33
Şekil 24 Ratların proksimal akson yoğunlukları karşılaştırılması.....	34
Şekil 25 Ratların distal akson yoğunlukları karşılaştırılması.....	34
Şekil 26. A grubu hematoksilin eozin boyama preparatı.	35
Şekil 27. A grubu Hematoksilin Eozin boyama preparatı.....	36
Şekil 28. A grubu toluidine blue boyama preparatı.	36
Şekil 29. B grubu HE	37
Şekil 30 B grubu toluidine blue boyama preparatı.	37
Şekil 31. C grubu Hematoksilin eozin boyama preparatı.....	38
Şekil 32. C grubu Hematoksilin Eozin boyama preparatı	38
Şekil 33. C grubu toluidine blue boyama preoparatı.....	39
Şekil 34 A grubu neurofilament immünfloresan boyama materyali, akson tomurcukları pozitif ekskresyonlar.....	40
Şekil 35. A grubu neurofilament Immünfloresan boyama. Siyatik sinirler arası akson filizleri	41
Şekil 36. A grubu laminin Immünfloresan boyama	42
Şekil 37. A grubu neurofilament immünhistokimya boyama	42
Şekil 38. A grubu laminin	43
Şekil 39. B grubu neurofilament Immünfloresan boyama.	43
Şekil 40. B grubu laminin Immünfloresan boyama	44
Şekil 41 B grubu neurofilament immünhistokimya boyama	44

Şekil 42. B grubu laminin immünhistokimya boyama.....	45
Şekil 43. C grubu neurofilament Immünfloresan boyama	45
Şekil 44. C grubu laminin Immünfloresan boyama	46
Şekil 45. C grubu neurofilament immünhistokimya	46
Şekil 46. C grubu laminin immünhistokimya boyama.....	47
Şekil 47. A grubu Hematoksilen-eozin ile boyalı Gastrokinemius kas kesitlerinin histopatolojik incelemeleri.....	48
Şekil 48. B grubu Hematoksilen-eozin ile boyalı Gastrokinemius kas kesitlerinin histopatolojik incelemeleri.....	48
Şekil 49. C grubu Hematoksilen-eozin ile boyalı Gastrokinemius kas kesitlerinin histopatolojik incelemeleri.....	49
Tablo 1 Yapılan süpercharge seviyeleri.....	16
Tablo 2 Ratların sol taraf çalışma öncesi ve sakrifikasyon öncesi itme kuvvetleri	27
Tablo 3 Ratların sol ve sağ taraf pin prick testi sonuçları.....	28
Tablo 4 ratların sol ve sağ taraf sıcak zemin testi sonuçları	30
Tablo 5 Ratların sakrifikasyon işlemi sonrası çıkarılan gastrokinemius kas ağırlıkları	31
Tablo 6 Skar oluşumu ve akson yoğunluğu şiddetine göre sıçan sayıları.....	49

SİNİR İYİLEŞMESİNDE LEZYON PROKSİMAL VE DİSTALİNDEN YAPILAN SİNİR SUPERCHARGE'İNİN SİNİR İYİLEŞMESİNE ETKİSİ

1.GİRİŞ

Dünyada Periferik sinir yaralanmaları insidansı 100.000'de 13-23 olarak bulunmuştur. Parsiyel ya da tam olarak duyu, motor ve otonomik fonksiyon kayıplarına neden olan hasarlanmalar altında kalan sinirler; aksonlar aracılığıyla devamlılık oluşturulması durumunda iyileşme göstermektedir.[1, 2]

Periferik sinir yaralanmaları, birçok ekstremitte travmasında oldukça yaygındır. Periferik sinir yaralanmaları, hasta için mesleki ve boş zaman aktivitelerini yerine getirememesine neden olan aşırı işlev bozukluğuna neden olabilir. Bu sebeple, hem hasta hem de sağlık ekonomisi için kalıcı mali kaybı önlemek amacıyla periferik sinirleri onarmak için yeterli tedavinin mevcut olması hayati önem taşır. Galen, sinir kavramını ilk tanımlayan kişiydi, ancak 7. yüzyılda askeri bir cerrah olarak ilk sinir onarımını ve yara kapanmasını belgeleyen Paulus Aegineta idi. Bu zamandan beri sinir patolojisini ve fizyolojisini anlamak için çok büyük araştırmalar yapılmıştır. Şu anda cerrahi onarım, doğrudan uçtan uca anastomozla, uç yan anastomoz veya sinir greftlerinin yerleştirilmesiyle rekonstrüksiyon, sinir transferlerini içerir. Uzun geçmişe ve büyük mikrocerrahi araştırma ve gelişmelere rağmen, periferik sinir onarımı cerrahlar için bir zorluk olmaya devam ediyor ve hala yetersiz sonuçlara sahip.

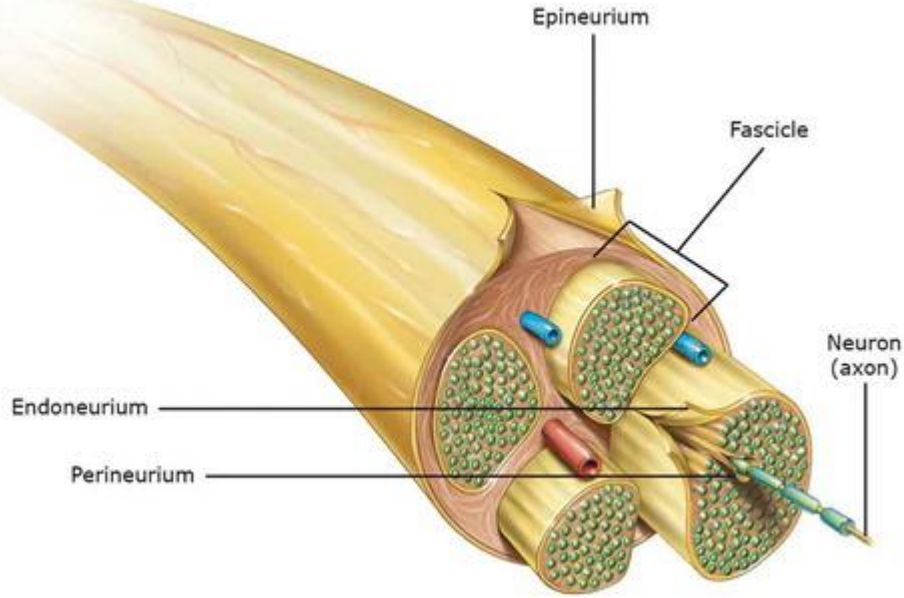
Yaralanma sahasında defekt olması, yaralanmanın kronik olması vs durumlarda uç uca onarıma engel olabilmektedir. Böyle durumlarda sinirin devamlılığını sağlamak için bir başka sinirden uç yan onarım tekniğiyle(supercharge) reinnervasyon sağlanmaya çalışılmaktadır. Supercharge işlemi defektin distalinden uygulanmaktadır. Ancak bazı uç yan onarımlarda donör sinir alıcı sinir distaline uzanamamaktadır. Çalışmanın birinci amacı rat modellerinde siyatik sinir kesisi sonrası diğer siyatik sinirden supercharge yöntemiyle bir grupta lezyon proksimali diğer grupta lezyon distali koaptasyon yapılarak sonuçları karşılaştırmak. Çalışmanın ikinci amacı ise benzer boyutlardaki insan sinirlerine yapılan supercharge uygulamaları adına fikir sahibi olmaktır. Böylece hem ideal supercharge yöntemi hakkında fikir sahibi olunacak hem de literatüre katkıda bulunulacaktır

1.1.Periferik sinir sistemi anatomisi

Medulla spinalis ve beyinden çıkan sinirler periferik sinir sistemini oluşturur. Periferik sinir sistemi aracılığıyla merkezi sinir sistemi ile vücut bölümleri arasında sinir ağı oluşturulmuş olur. PSS'nin otonom ve somatik olarak iki tipi bulunur. Otonom sinir sistemi, merkezi sinir sistemi ile iç organlar arasındaki sinir iletimini sağlar. Somatik sinir sistemi bilinçli faaliyetleri oluşturan deri ve kas vb dokulara giden sinirlerden oluşur.

Periferik sinirler, paralel sinir lifleri, schwann hücreleri, çevreleyen bağ dokusu, miyelinden oluşur. Sinir lifleri, fasikül olarak adlandırılan farklı boyutlarda birçok sinir gruplarından oluşur. Farklı sinirlerde ve sinir boyunca farklı bölgelerde sinir

fasküllerinin sayısı,boyutu,düzeni değişiklik göstermektedir[3].**Şekil1**



Şekil 1 Periferik sinir anatomisi [4]

1.1.1.Schwann hücresi ve miyelinizasyon

Nöroektodermal kökenli olan Schwann hücreleri morfolojik olarak liflerin tipine göre farklılık göstermekle birlikte, miyelinli lif olan hücrelerde çekirdek trapezoid şekildedir. Sitoplazmalarında mikrotübül,mitokondri,mikroflament açısından zengindir. Sadece schwann hücrelerinin varlığında sinir hücrelerinin embriyolojik büyümesi ve akson rejenerasyonu meydana gelir. Miyelin kılıflı sinir hücresinin büyüme süreçlerinin devam ettirilmesinde schwann hücreleri lokal besleyici ve enerji sağlayıcı bir rol üstlenir. Schwann hücreleri hücreysel artıkları fagosite eder, sinir liflerine mekanik destek sağlar. Schwann hücrelerince oluşturulan bir bazal lamina miyelinli pss (periferik sinir sistemi) lifinin tüm uzunluğu boyunca siniri çevreler. Schwann hücresi ve akson arasında yeterli iletişim sağlanması ve sürdürülmesi, miyelin kılıfın sentezi ve bakımı için gereklidir[5, 6].

Sinir yaralanması geliştikten sonra, kopmuş sinirde proksimal guduğun distal ucu ve distal guduğun proksimal ucu bir farklılaşma sürecine girer, farklılaşma süreci sonrası çoğalır ve çoğalan schwann hücreleri sinir boşluğuna doğru göç eder. Kesilen sinir uçları arasında köprü oluşması amacıyla Schwann hucre kordonlarını oluşturur. Kordonun oluşumu başarılı bir rejenerasyon için gereklidir[7].

1.1.2.Periferik sinirin kılıfları

Periferik sinirlerin etrafını çevreleyen membranöz kılıflar mevcuttur. Bu kılıfların oluşturduğu bağ dokusu aracılığıyla sinir lifleri ve hücreyel bileşenler bağlantı oluşturur. Bu bağ dokusu epinöryum,endonöryum ve perinöryumdan oluşur.

1.1.2.1.Epinöryum

Periferik sinir sisteminde sinir fasküllerini en dıştan saran yapı epinöryumdur. Bu yapının görevi sinir dokusunu korumak ve beslenmesini sağlamaktır. Epinöryum, tip

1 ve 3 kollajen içerir ve sinir kesitinin %30-70 ini oluşturur. Epinöryum kalınlığı fasikül sayısının artmasıyla artış göstermektedir. Eklem bölgelerindeki sinir dokularında epinöryum daha kalındır. Epinöral areolada iki tabaka bulunur. Dışta bulunan tabaka bağ dokusu ve vasküler bileşenlerden oluşur. İç tabaka kollajen lif ve fibrillerden meydana gelir. Ayrıca epinöral areola, değişen oranlarda yağ, hiyaluronik asit ve fibroblast içerir[8, 9].

1.1.2.2.Perinöryum

Perinöryum, sinir fasiküllerini çevreleyen yoğun bir bağ dokusu kılıfıdır. Düzleşmiş fibroblast laminalardan oluşan, çeşitli yönlere uzanan ince kollajen tabakaları içeren düzenli bir yapıya sahiptir. Perinöryumdaki hücreler modifiye makrofaj ve fibroblastlardır. Fibroblastlar proteoglikanlara gömülmüş olup, kollajen lifleri tarafından çevrelenmiştir. Bu sayede birbirleriyle birleşme kompleksleri oluşturur. Bu kompleksler, kılıf boyunca büyük moleküllerin difüzyonunu sınırlar. Perinöral hücreler yapısal olarak incedir, fakat geniş bir yüzey alanına sahiptir. Perinöryum rijit bir yapıda oluşu nedeniyle doku sıvısında artma olduğunda birikime direnç gösterir. Fasiküldeki hidrostatik basınçta artışa neden olur. Eğer bu basınç artışı kılcal damar hidrostatik basıncını geçerse doku sıvısı üretimi durur, bu da hipoksi ve iskemiye neden olur. Ayrıca intrafasiküler basınç artışı fasikül çevresindeki mikrovasküler kan akışını durdurabilir[10]

1.1.2.3.Endonöryum

Sinir lifleri perinöryumun iç kısmında endonöryum adı verilen gevşek yapıda bir bağ dokusu ile çevrelenmiştir. Endonöryumdaki kollajen lifler longitudinal olma eğilimindedirler ve bazen bu yapılar miyelin bulunmayan sinir liflerindeki Schwann hücrelerine invajine olma eğilimindedirler. Endonöryum, **sinir kılıfının** epinöryum ve perinöryumundan farklılık göstermektedir. Periferik sinir sistemindeki glial ve nöral hücreler, endonöryum ile çevrelenmiştir. Bu nedenle bu bölgede bulunan ekstrasellüler sıvı ve matris periferik sinir sisteminde mikroçevreyi oluşturmaktadır. Doku sıvısında hareketli iyonları ve makromolekülleri içeren bir bağ dokusudur.bu sıvı kandan gerekli maddeleri alır. Atık maddeler ise kılcal damarlar aracılığıyla uzaklaştırılır. Endonöryuma glial hücreler, sinir lifleri ve bağ dokusundan üretilen ürünler salınır. Sinir yaralanması sonrası schwann hücrelerinden büyüme faktörlerinin salınması örnek olarak verilebilir[11].

1.1.3.Periferik sinirin dolaşımı

Ekstremitelerdeki periferik sinirleri lokal arterlerden gelen dallar besler.zengin mikrovasküler ağ ve anastomolara sahip kılcal damar pleksusları aracılığıyla sinirler beslenir.Periferik sinir mikrosirkülasyonu aşağıdakilerle karakterize edilir: (1) Çift yönlü kan temini. Distal segmentin kan akımı proksimal segmente göre önemli ölçüde daha fazladır. (2) İntranöral anastomoz dallarının yoğunluğu lokasyona bağlı olarak değişir. Orta bölgedeki anastomoz dalları proksimal ve distal uçlara göre daha azdır. (3) Kan akışındaki değişiklikler, sinir rejenerasyonu sırasında damar yoğunluğu ve sayısındaki değişikliklerle doğrudan ilişkili değildir. (4) Çeşitli basınçlarda ve sürelerde periferik sinir sıkışması, değişen derecelerde sinir hasarına neden olur. Periferik sinir sıkışmasına bağlı hastalıkların semptomları farklı bölgelerde farklılık gösterse de, sinir sıkışmasını takip eden patogeneze her zaman mikrosirkülasyondaki

ucunun bazal membranları arasındaki aksonal filizlere rehberlik eder [14]. Sinir yenilenmesi daha sonra Bunge bantları adı verilen Schwann hücrelerinin sütunlarında başlar. Proksimal bozulmamış akson daha sonra bir büyüme konisi oluşturur. Lamelipodia ve filopodia sitoplazmik uzantıları, aksonun yeni ortamı keşfetmesine izin verir ve onarımı yönlendirmeye yardımcı olur. Aksonda bulunan aktin, tüp içinde uzamaya izin verir. Büyüme, 1-3 mm/gün gibi kısıtlı bir oranda devam eder, ancak aynı anda skar dokusu büyüme engelleyici [14].

1.2.1. Periferik Sinir Yaralanmalarının Sınıflandırılması

Sinir yaralanmaları, 2. Dünya Savaşı'nda yaralı askerlerin yaşadığı sinir yaralanmalarından sonra *Seddon ve arkadaşları* tarafından nöropraksi, aksonotmezis ve nörotmezis olarak sınıflandırılmıştır [16]. Sunderland, histolojik tanıya göre bu sınıflandırmayı genişletti [17]. **Şekil 3**

1.2.1.1. Nöropraksi(Sunderland tip 1)

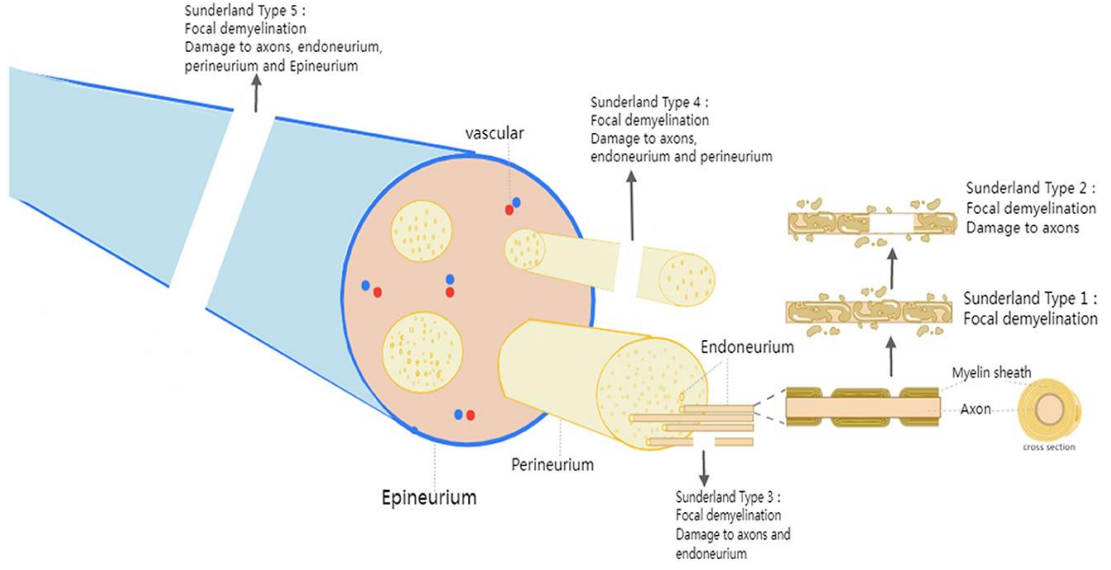
Bu sadece miyelin kılıfın yaralanmasıdır [16]. Aksonal kılıf korunur ve sonuç olarak en hafif sinir yaralanması olarak sınıflandırılır [16]. Bu yaralanma genellikle kompresyon veya esnemenin bir sonucudur. Wallerian dejenerasyonu olmaz ve günler veya haftalar içinde iyileşme beklenir [16].

1.2.1.2. Aksonotmezis(Sunderland tip2-4)

Bu tip yaralanmada akson etkilenir ve yaralanma bölgesinin distalinde Wallerian dejenerasyon meydana gelir [16]. Tip 2 yaralanmalar sadece aksonu içerir; Tip 3 ve 4 sırasıyla endonöryum ve perinöryumu bozar [16]. Tip 2 yaralanmalar genellikle tam iyileşme gösterir ancak Tip 3 ve 4'ün başarısız olması beklenir. Tip 4 yaralanmalar genellikle cerrahi müdahale gerektirir ve çoğu cerrah, kendiliğinden düzelmediklerinden emin olmak için 8-10 haftalık bir beklemeyi savunur [16].

1.2.1.3. Nörotmezis (Sunderland tip5)

Bu, sinirin tamamen bozulmasıyla sonuçlanan en şiddetli yaralanma türüdür; epinöryum kesildiğinde cerrahi müdahale gereklidir [16].



Şekil 3 Periferik sinir yaralanmaları [18]

1.2.2. Sinir Onarımı Zamanlaması

Primer onarım, ilk birkaç gün içinde meydana gelen periferik sinir yaralanmaları için en uygun yaklaşımdır [19]. İkincil onarım, yaralanmadan bir hafta veya daha sonra gerçekleşir [19]. Gerilme veya kontüzyonların bir sonucu olarak kısmi yaralanmalar ([yaralanmaların](#) %15'i) genellikle ikincil onarımla tedavi edilir [20-22]. Tam yaralanmalar için onarım yöntemi eksplorasyon sırasında bulunanlara bağlıdır. Epinöryumun düzgün bir şekilde bölünmüş olduğu bulunursa, genellikle gerilimsiz birincil onarım yapılır, ancak uçlar düzensizse, bir greft gerekebilir [12]???

1.2.3. Sinir Onarım Tekniği

En sık kullanılan sinir onarım tekniği olan primer uçtan uca onarımın dört ana adımı vardır.

Hazırlık – Sinir uçları, normal görünümlü iki uç bırakan bıçaklarla nekrotik doku çıkarılarak görünür uçlar elde etmek için hazırlanır. sinir yaralanmasının üzerinde eklemi esneterek ve kemik kısalması yapılarak gerekirse daha fazla uzunluk sağlanabilir[23].

Yaklaştırma – Sinir uçları mobilize edilir ve uygun gerilim uygulanarak minimum boşluk bırakılarak bir araya getirilir. Gerilimsiz onarımların daha iyi sonuçlara sahip olduğu görülmüştür. Yaklaştırma sırasında sinir uçları mobilize edilebilir ancak kapsamlı intrafasiküler diseksiyondan kaçınılmalıdır[23].

Hizalama(Alignment) – Kan damarları hizalanmalı ve uygun rotasyonel hizalama yapılmalıdır[23].

Onarım – Sinir onarımı, genellikle 9-0 veya 10-0 emilemeyen dikişlerle epinöryuma dikilerek sağlanır. Bu nedenle, onarımı bir arada tutan epinöral onarımdır. Dikişlerin sinir uçlarının malrotasyonunun önlenerek yerleştirilmesi gerekir. Bazen ayrı ayrı fasiküler gruplar bağlanma için tanımlanır (grup fasiküler sinir onarımı). Bu tür onarımlar genellikle duyu ve motor liflerin ayrı ayrı onarılacağı daha büyük sinirler için tercih edilir[24].

Ameliyat sonrası sinir onarımları 10-14 gün immobilizasyon ile korunmalıdır ve bazen cerrahlar sinir hasarının şiddetine ve nedenine bağlı olarak altı haftaya kadar immobilizasyon uygulamak gerektiğini savunmaktadırlar[23]. Bu süreden sonra rehabilitasyon için tam pasif ve aktif hareket açıklığına geçilir[23]. Ameliyat sonrası aksonların, özellikle duyu sinirlerini takiben yeni bilgileri nasıl işleyeceklerini öğrenmesi zaman alabilir[25, 26]. Yaş, sinir onarımının sonucunu belirleyen en hayati faktördür ve başarıdaki varyansın %50'sini açıklayabilir[27].

Sinirleri onarmak için kullanılabilecek başka bir teknik, bir veya iki distal yaralı sinir ucunun yaralanmamış sinir uçlarının yan tarafına bağlanmasını içeren uçtan-yana sinir onarımıdır. Bu, uçların akson kaynağı olarak bulunmadığı durumlarda yararlı bir tekniktir [28].

1.2.4. Cerrahi Onarım Sonrası Rejenerasyon

Son araştırmalar, periferik sinir onarımı için cerrahi uygulamanın sınırlamalarının anlaşılmasına yardımcı olmuştur. Yukarıda vurgulandığı gibi, ameliyat kararı genellikle yaralanmadan birkaç ay sonra iyileşmenin gerçekleşmediği zamandır. Bu süre zarfında aksotomi, motonöronların atrofisini indükler ve bu sadece kısmen geri dönüşümlüdür [29]. Ayrıca büyüme hızı sadece 1-3 mm/gün'dür ve bu nedenle sinirin distal segmentlerinde nörotrofik faktör üretiminin düşmesi için zaman vardır ve hızlı rejenerasyonu önler [30, 31]. Onarımı etkileyen önemli bir faktör, aksotomize sinirin rastgele bir şekilde meydana gelen koaptasyon bölgesinin karşısına geçmesi gerektirir, aksi takdirde akson distal güdüğe tamamen ulaşamayabilir[32]. Yeterli onarımın sağlanmasını etkileyen bir diğer zorluk da motor ve duyu aksonlarının yanlış hizalanmasıdır. Motor aksonlar yanlışlıkla duyu uç organlara girerse, tercihlili motor yeniden sinirlendirme adı verilen bir süreçte kesintiye uğrar[33]. Alternatif olarak kasa doğru olan kas aksonları, uygunsuz kasların rastgele innervasyonu ile sonuçlanabilir [34]. Ayrıca, uzun bir süre hareketsiz kaldıktan sonra, sinirlerin yeniden innerve etmeye çalıştığı hedef kaslar, denervasyona bağlı atrofiye uğrayarak olumsuz klinik sonuçlara neden olur [30].

1.2.5. Sinir Onarımı İçin Kullanılan Diğer Teknikler

1.2.5.1. Sinir Grefti

Ciddi sinir yaralanmalarında, iki sinir ucu arasındaki defekt çok büyük olabilir veya uçtan uca onarım için uygun olmayan gerginliğe neden olabilir; bu nedenle bir sinir grefti kullanılarak köprü oluşturulur[35, 36]. Tipik olarak donör greftler, medial veya lateral antebrachial kütanöz sinirler, ulnar sinirin dorsal kütanöz duyu dalı, lateral femoral kütanöz sinir ve radyalin yüzeysel duyusal dalı vb. olmak üzere otolog duyusal sinirlerdir[35, 36]. Cerrah, kullanılacak en uygun siniri düşünürken onarılacak sinir boşluğunun uzunluğunu, donör saha morbiditesini ve diseksiyon zorluğunu dikkate almalıdır[35, 36]. Tam iyileşme için sinirler altı ay içinde greftlenmelidir. Çoğu cerrah, kasılmaya izin vermek için ölçülen defektten %10-20 daha uzun greft almayı tercih eder[35, 36]. Postoperatif splintleme, yeterli klinik sonuç elde etmek için genellikle 1-14 hafta süre arasında değişir. Son yıllarda, boşluğu kapatmak için 'altın standart' [37] olan otolog sinir greftleri için alternatifler aranmaktadır. Sinir greftlemesinin sınırlamaları, donör bölgedeki morbiditeyi ve hastaların sadece %40-50'sinin dikkate değer fonksiyonel iyileşme sağlamasını içerir [38]. Proksimal ve distal sinir güdüklerindeki fasiküllerin boyutu ve sayısı veya nörotrofik faktörlerin ekspresyonları genellikle rejenerasyon için ideal olmadığından greftler her zaman başarılı değildir.

1.2.5.2. Otolog Sinir Greftlerinin Geliştirilmesi

Araştırılan bir fikir, aksonların rejeneratif yolunu sürdürmek için büyüme faktörlerinin periferik sinir lezyon bölgelerine uygulanmasıdır, bu da sinir büyüme faktörü ekspresyonunun down regülasyonu ile sonuçlanır[39]. Periferik sinirlere elektriksel stimülasyon uygulamasının, periferik sinir lezyonları boşluklarını iyileştirdiği, ancak sinir yaralanması bölgesinden geçen liflerin gecikmesini kısalttığı ve lif büyümesinin hızını azaltmadığı gösterilmiştir. Elektrik stimülasyonunun etkilerinin yalnızca kısa süreli olduğu ve üç ay sonra etkide hiçbir fark olmadığı gösterilmiştir [40, 41]. Fototerapi, düşük güçlü lazer tedavisi kullanan yeni ve heyecan verici bir yöntemdir[42]. Akson rejenerasyonu ve miyelinizasyondaki gelişmelere rağmen, lazer tedavisinin avantajlarını destekleyen raporlar sınırlıdır[42].

1.2.5.3. Otolog Sinir Greftlerinin Değiştirilmesi

Otolog biyolojik dokular (sinir olmayan greftler), immünolojik olarak uyumlu ve toksik olmayacakları için alternatif olarak değerlendirilmiştir. Ancak uygun boyut ve boyutlarda numunelerin toplanması zordur. Bir dereceye kadar akson rejenerasyonunu sağlamada faydalı olduğu kanıtlanmış dokular arasında kan damarları ve donma-çözülme ile öldürülmüş iskelet kasları bulunur [43, 44]. Farklı bir yaklaşım ise sinir lezyonları arasındaki boşluğu kapatmak için otolog olmayan kaynakların kullanılmasıdır. Bu dokular sınırsız tedarik sunar ancak hastalığın bulaşması ve aşuya karşı konakçı hastalığı reaksiyonları dahil olmak üzere ilişkili bir immünojenik riske sahiptir. Allojenik sinirlerin dondurma/çözdürme yöntemi uygulanmasıyla klinik çalışmalarda greftlenebilir sinir örnekleri sağladığı gösterilmiştir[45]. Birçok hayvan deneyi 'İleri İşlenmiş Kadavra Sinir Grefti' (AxoGen, Inc, Alachua, Florida) ve 'Neurogen Bovine Collagen Conduit' (Interga) gibi örneklerde olduğu gibi cesaret verici sonuçlar göstermiştir [46].

1.2.5.4. Sinir Transferi

Sinir transferleri son zamanlarda primer onarım veya greftlemeye alternatif olarak popüler hale gelmiştir. Son zamanlarda sinir transferleri daha sık yapılmaktadır. Bu prosedür, bir donör sinirden daha az ihtiyaç duyulan sinir fasiküllerinin kesilmesi, disseke edilmesi ve daha sonra daha önemli bir distal sinir segmentine bağlanması anlamına gelir(standart uç yan ve ya uc uca). Bu transfer yöntemi, proksimal sinir hasarını kısa rejenerasyonlu distal sinir hasarına dönüştürür [47]. Bu teknik, brakial pleksus yaralanmalarında sinir gövdelerinin transferinde faydalıdır. Örnekler, aksiller sinir lezyonları için torakodorsal sinirden deltoid kasa; Guyon kanalında ulnar sinirin motor dalına anterior interosseöz sinirin pronator quadratus motor dalının transferi (AIN) vb. olarak sıralanabilir[47].

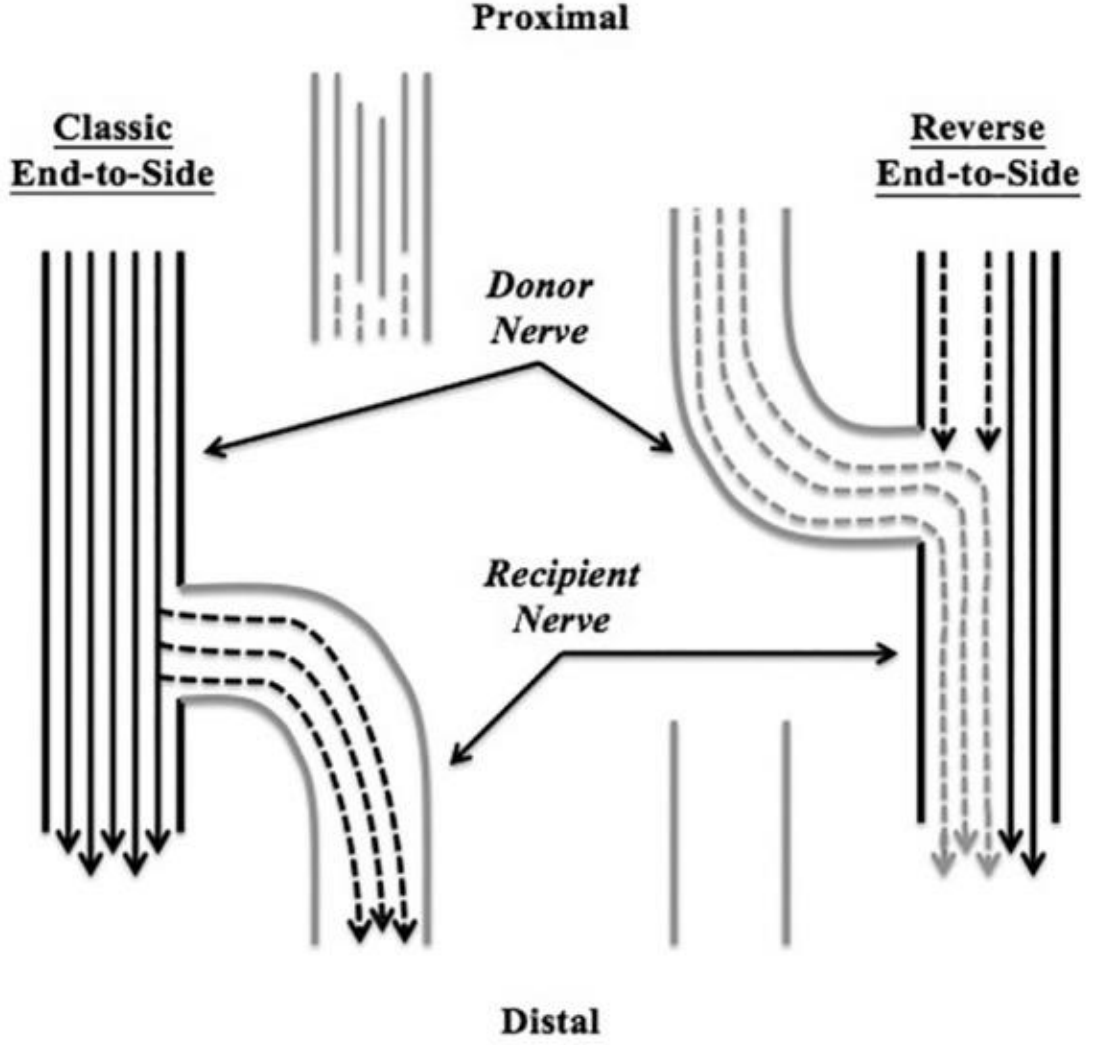
Sinir transferi yapılırken başarıyı etkileyen faktörler, donör motor sinirin kalitesi bununla ilişkili olarak rejenere olacak motor sinir akson sayısı, donör sinirin kas sinir kavşağına olan yakınlığı olarak sıralanabilir. Donör sinirler, komplikasyonlara karşı feda edilebilir sinirler olmalıdır[48]. Hedef kas fonksiyonu ile donör sinirin fonksiyonu postoperatif rehabilitasyon açısından sinerjik olmalıdır, sinejik olmayan hatta antaonist donör sinirlerde kullanılabilir ancak bunlar rehabilitasyon ve fonksiyon açısından dezavantaj oluşturabilir[49].

Yeniden innervasyon süresini azalttığı için sinir transferleri, lezyon sonrası 8-10 aylık dönemde de tercih edilebilir. Sinir transferleri ile duyu kazanımı da sağlanmaktadır. Sinir transferleriyle ilgili deneyim arttıkça tendon tansferleri ya da sinir greftlemesi yerine sinir transferi uygulamaları artmaktadır[50].

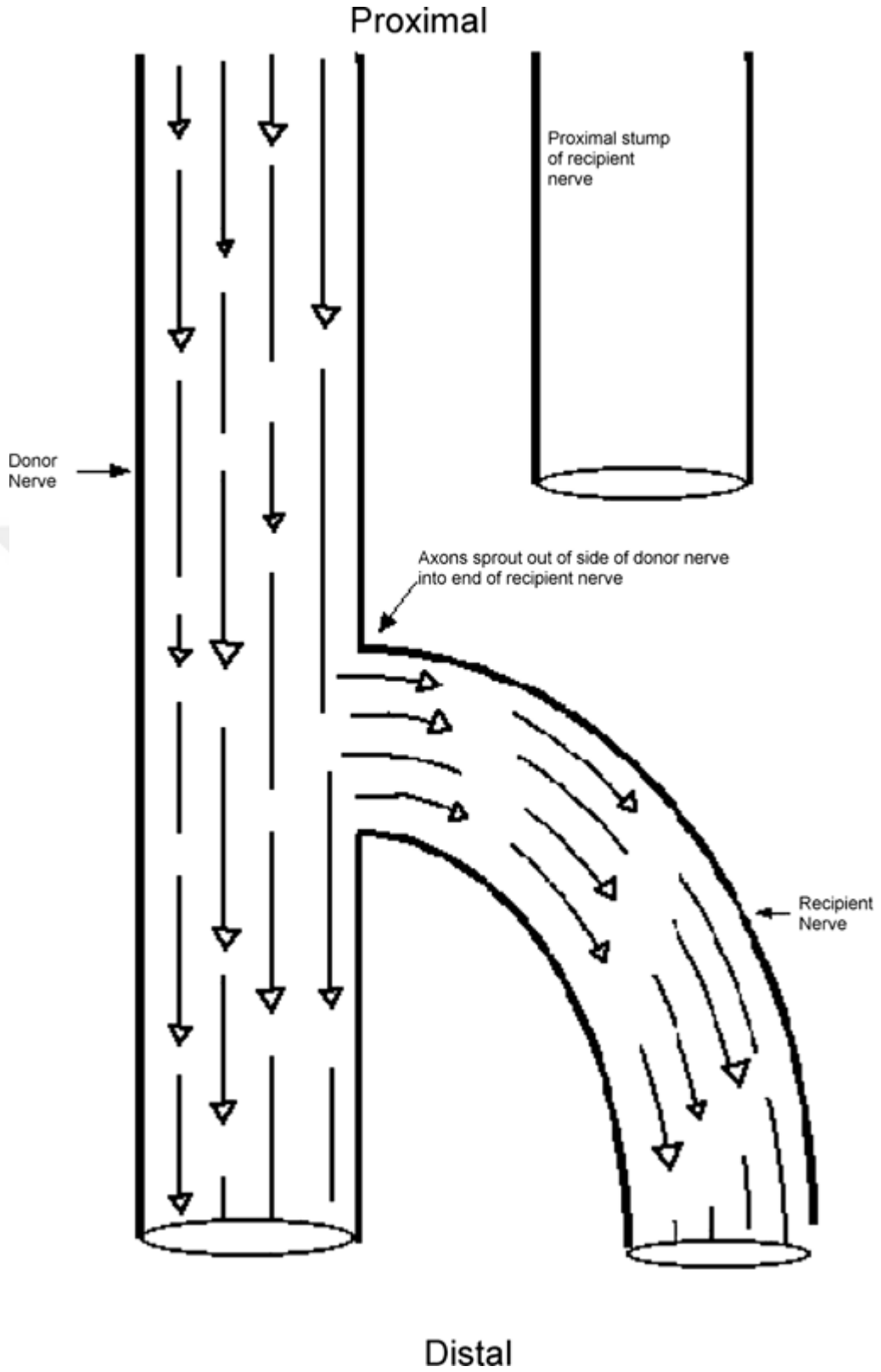
Sinir transferleri ağırlıklı olarak sinirlerin uc uca koaptasyonu(ETE) ile yapılmaktadır. Standart uc uca onarımda motor fonksiyondan ziyade duyu iyileşmesi daha ön planda olmaktadır. Donör bölgesinde koruyucu hissin kalması ve ya donör sinirin kısıtlı olduğu durumlarda kritik olmayan duyu sinir transferleri için uç yan teknikle sinir koaptasyon tekniğiyle sinir transferi yapılabilir[51].

Yakın zamanda ters uç yan nörorafi modeli tanımlandı[2]. Bazı durumlarda, alıcı sinirin devamlılığı zedelenebilir ve kalan aksonların tamamen feda edilmesi istenmeyebilir. Böyle bir durumda teorik çözüm, standart uç yan onarım tekniğinde kullanılan alıcı ve donör sinirlerini değiştirdiği için ters uç-yan(supercharge) nörorafi uygulamak olacaktır. Donör siniri kesilir ve proksimal uç, sağlam alıcı sinirin epinöral penceresine dikilir. Isaacs ve arkadaşları, donör aksonlarının hasarlı alıcı sinirin epinöral penceresine girebileceğini ve alıcı sinirin yaralanması ve alıcı kasın denerve olması durumunda başarılı bir şekilde kasın yeniden sinirlenmesini sağlayabileceğini öne sürdü. Yenilenen aksonların erken innervasyonunun , yaralanan sinirin işlevsel iyileşmesini destekleyebileceği varsayılır. Erken innervasyon ve aksonal güçlendirmenin etkisini araştıran süpercharge tekniği kullanılan bir sıçan modelinde çeşitli testler kullanılarak denerve hedeflerin fonksiyonel iyileşmesini süpercharge yapılmayan sıçanlarla karşılaştırıldığında periferik sinir onarımında süpercharge

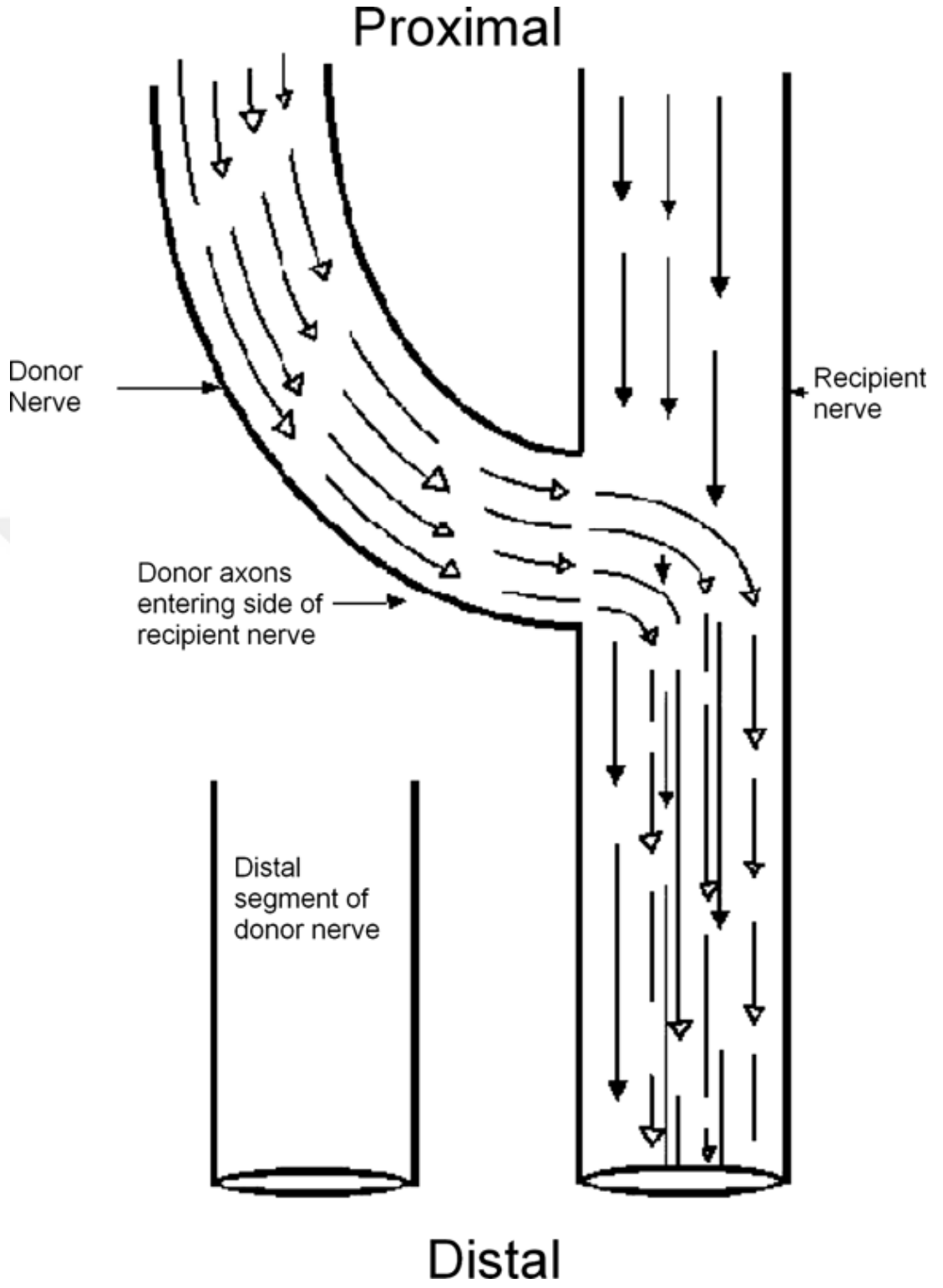
tekniki kullanıldığında denerve hedef organların fonksiyonel iyileşmesinin daha iyi olduğu görülmüştür[52].(Şekil4-7)



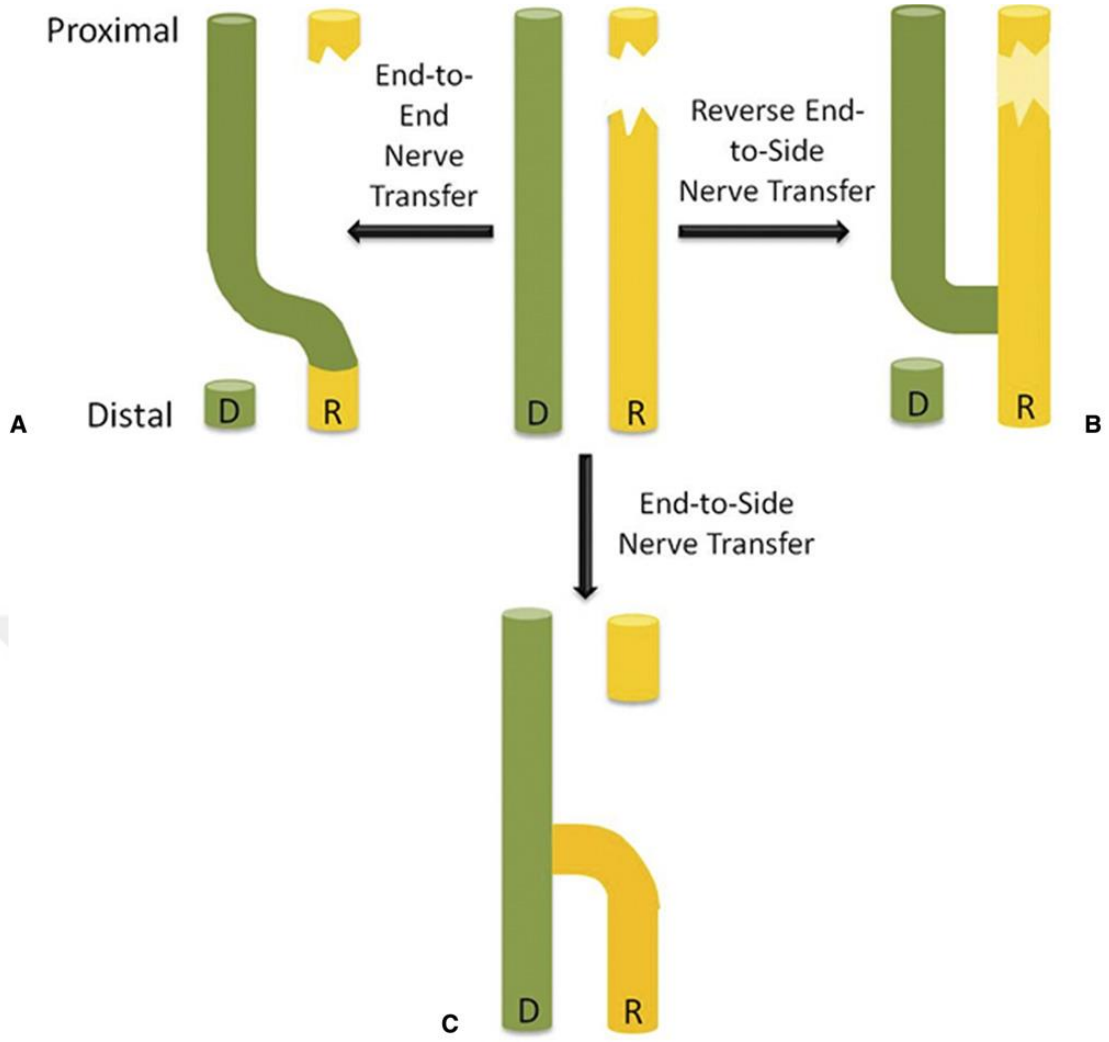
Şekil 4 Standart uç yan sinir transferi ve reverse uç yan(süpercharge) sinir transferi [53]



Şekil 5 Klasik uç yan sinir transfer modeli [54]



Şekil 6 Ters uç yan(süpercharge) sinir transfer modeli [54]



Şekil 7 Sinir transfer modelleri a. Uc-uca sinir transferi b. Ters uç-yan(supercharge)sinir transfer modeli c. Standart uç yan sinir transfer modeli [55]

1.2.5.5. Gen Tedavisi

Gen terapisi, periferik sinir onarımını geliştirmek için otolog sinir greftlerine başka bir heyecan verici alternatif sunuyor. Başlıca avantajları, dönüştürülen hücrelerin geni uzun bir süre boyunca eksprese etmesidir; bu da eklenen nörotrofik faktörlerin genellikle kısa bir yarı ömre sahip olması nedeniyle faydalıdır [56] Ayrıca seçilen hücrelerdeki ifade, viral vektörün enjeksiyon bölgesindeki hücreyle sınırlıdır; bu da tedavinin seçici, lokalize ve spesifik olduğu anlamına gelir. Çeşitli vektörler farklı nörotrofik faktörlerle deniyor ve test ediliyor ancak gen terapisinin ana üç hücre hedefi Schwann hücreleri, yaralı nöronlar ve kas lifleridir. Şimdiye kadar gen terapisi, ventral kök avulsiyonunu takiben spinal motor nöronların atrofisini önlemek için kemirgen modellerinde başarılı bir şekilde uygulanmıştır[30]. Ayrıca, duyuşal safenöz dalda NGF'nin seçici viral aşırı ekspresyonu, yaralanmadan sonra doğru duyuşal reinnervasyonun artmasına neden oldu; bu, yenilenen duyuşal aksonların yanlış

yönlendirilme sorununa yardımcı olabilir [57]. Son olarak çalışmalar, hasar görmüş sinirdeki Schwann hücresi tarafından nörotrofik faktörlerin uzun süreli ekspresyonunun gen terapisi ile mümkün olduğunu göstermiştir [58, 59]. Ne yazık ki, başarılı hayvan sonuçlarının insanlara aktarılmasının önünde, doğru faktör ve hedef hücrenin seçilmesi, vektörlere ilişkin biyogüvenlik ve mutajenez dahil uzun vadeli riskler de dahil olmak üzere çeşitli engeller bulunmaktadır.



2.GEREÇ VE YÖNTEM

Deneysel hayvan çalışması 30.12.2022 tarih ve 2022-47 karar sayılı Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından etik onayı alındıktan sonra başlatılmıştır.(bknz ek-1) Yapılan çalışmada cerrahi işlemler ve fonksiyonel testler Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp uygulama ve araştırma merkezinde(SÜDAM), histopatolojik incelemeleri Necmettin Erbakan Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Veterinerlik Patolojisi Anabilim Dalında yapılmıştır. Bu deneysel hayvan çalışması Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 23122006 proje numarasıyla destek görmüştür.

Çalışmaya Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp uygulama ve Araştırma merkezinde üretilen 250-350 gram ağırlığında 30 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan dahil edildi. Ratların bakımları ,beslenmeleri,takipleri aynı laboratuvarda standart şekilde SÜDAM tarafından gerçekleştirildi. Ratlara cerrahi işlemler öncesi ve sonrası ad-libitum(sınırsız) su ve besin sağlandı. Sıçanlar cerrahi işlem sonrasında ayrı kafeslerde takipleri yapıldı.

2.1. Çalışma Grupları

Toplam 30 adet Wistar Albino rat üç adet cerrahi grubu oluşturacak şekilde 3 gruba randomize olarak ayrıldı. Gruplardan ilk grupta(A) ratların bilateral siyatik sinirleri disseke edildikten sonra bilateral siyatik sinirleri kesildi. Ardından sol taraf siyatik sinirleri mikrocerrahi tekniklere uygun olarak primer onarım yapıldıktan sonra sağ taraf siyatik sinir trifurkasyon seviyesi kesi proksimalinden alınarak cilt altından sol tarafa aktarılıp sol taraf siyatik sinire lezyon proksimaline(prelezyoner) olacak şekilde alıcı sinirde epinöral pencere oluşturulduktan sonra uç yan koaptasyon ile transfer edildi. İkinci grupta (B) ratların bilateral siyatik sinirlerinin disseke edilmesini takiben bilateral siyatik sinirleri kesildi. Ardından sol taraf siyatik sinir kesi seviyesinden mikrocerrahi tekniklere uygun olarak primer onarımı gerçekleştirildi. Ardından sağ taraf siyatik sinir trifurkasyon seviyesi kesi proksimalinden alınarak cilt altından sol tarafa aktarılıp sol taraf siyatik sinire lezyon distaline(postlezyoner) olacak şekilde alıcı sinirde epinöral pencere oluşturulduktan sonra uç yan koaptasyon ile transfer edildi. Üçüncü grupta sıçanların bilateral siyatik sinirleri disseke edildikten sonra bilateral siyatik sinirleri kesildi. Sağ taraf siyatik sinirleri iyileşmeye olanak tanınamaması için 10 mm defekt oluşturuldu. Sol taraf siyatik sinirler mikrocerrahi tekniklere uygun olarak onarıldı.

Tablo 1 Yapılan süpercharge seviyeleri

Grup	Supercharge seviyesi	Rat sayısı
A	Proksimal	10
B	Distal	10
C	Yok	10

2.2. Yapılan Cerrahi

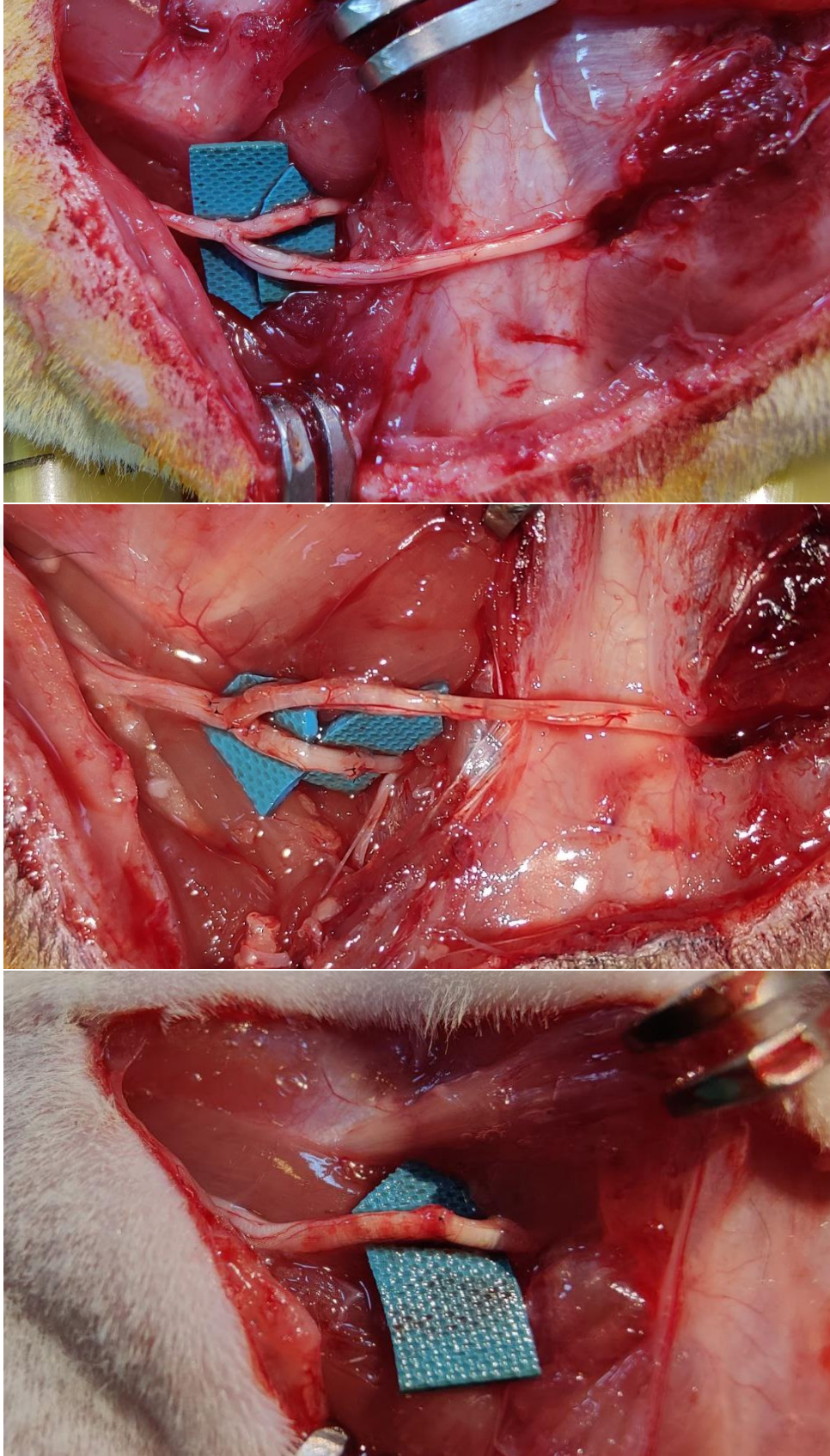
Cerrahi işlemlerde anestezi uygulanmadan önce çalışmada kullanılacak sıçanların ağırlık ölçümleri yapılarak not edildi. Anestezi işlemlerinde 10 mg/kg ksilazin (Xylazin Bio %2, Bioveta; Çek Cumhuriyeti) ve 50 mg/kg ketamin (Ketasol, Richterfarma AG; Wels, Avusturya) yapılarak anestezi sağlandı. Anestezi işlemi yapılmasının ardından sıçanların her iki alt ekstremiteleri, kalça ve sırt bölgeleri traşlandıktan sonra cerrahi işlem masasına prone pozisyonda olacak şekilde alındı. Ratlar her iki kalçalarının altına 10 cc enjektör konularak ekstremiteleri yükselttilip, flaster yardımıyla cerrahi işlem masasına sabitlendi. her iki diz ve iskial tüberküller belirlendikten sonra sağ ve sol taraflar birleşecek şekilde cerrahi kalemle kesi hattı işaretlendi.(**şekil 8**). Cerrahi işlem yapılacak alan ilk olarak %10 luk povidon iyot ile boyanıp,steril örtünme yapıldı. Bilateral gluteus ve biceps femoris kaslarının bulunmasının ardından iki kas planı arasından girildi. Bilateral siyatik sinirlere ulaşıldı. Sinirler eksplere edildi. İlk grupta sağ siyatik sinirler transfer için yeterli uzunluk sağlanması amacıyla trifurkasyon seviyesinden kesilmesi planlandı.. Sol siyatik sinirler A grubunda trifurkasyon seviyesinin 10 mm proksimalinden, B grubunda 20 mm proksimalinden, C grubunda 10 mm proksimalden kesilmesi planlandı. Ardından sol siyatik sinir trifurkasyon seviyesinin A grubunda 20 mm proksimali, B grubunda 10 mm proksimali epinöral pencere oluşturarak uç yan koaptasyon için planlandı. Mikroskop altında(World Precision Instruments; Sarasota, Florida, ABD) mikrocerrahi tekniklere uygun olarak sinirler mikromakas ile sinirlere zarar vermeden kesildi. Sinir onarım hatlarına steril edilmiş mavi renk fon yerleştirilerek sol siyatik sinir epinöral uç uca onarımı 10-0 monofilament naylon suture ile (Ethilon, Ethicon; Somerville, New jersey,ABD) yapıldı. Epinöral onarım yapılırken fasiküllerin karşılıklı gelmesi sağlandı. Ardından trifurkasyon seviyesinden kesilen sağ siyatik sinirler A grubunda sol siyatik sinir kesi seviyesinin 10 mm proksimaline B grubunda 10 mm distaline epinöral pencere oluşturulup uç yan koaptasyon ile transferi sağlandı.(**şekil 9**) C grubunda sağ siyatik sinirin transferi yapılmadı. Tüm işlemler sırasında sinir dokusunda hasar oluşturacak manipülasyonlardan kaçınıldı. Koaptasyon tamamlandıktan sonra cerrahi alan izotonik mayi ile yıkandı. Cilt altı 2-0 emilebilen poliflament suture ile kapatıldı.

Cerrahi işlemi takiben sıçanlar, anestezinin etkisi ortadan kaybolana kadar hipotermiden kaçınmak amacıyla ısıtma platformuna alındı. Anestezinin etkisi kaybolduktan sonra sıçanlar ayrı kafeslere konuldu ve takipleri yapıldı.

Ratlar için 12 haftalık takip süresi planlandı. Ratların takipleri yapıldı. Takip süreleri dolan ratların fonksiyonel testlerinin yapılmasını takiben yüksek doz anestezi altında servikal dislokasyon işlemi uygulanarak sakrifiye edildi. Gerekli cilt sahasının traşlanmasının ardından eski insizyon yerlerinden cilt kesisi yapıldı. Gerekli diseksiyonların ardından sol taraf siyatik sinirlere ve A ve B grubunda sol siyatik sinire koaptasyon yapılan sağ siyatik sinir segmentine ulaşıldı. A grubunda sol siyatik sinir ile koaptasyon alanının 10 mm proksimalinden, sağ siyatik sinirin koaptasyon alanının 10 mm proksimalinden ve sol siyatik sinir uç uca onarım yapılan alanın 10 mm distalinden kesiler yapıp sinir segmenti çıkarıldı.(**şekil 10**) B grubunda sol siyatik sinirin ucu uca koaptasyon ile onarılan bölgesinin 10 mm proksimali,



Şekil 8. Cerrahiye başlamadan önce rat prone pozisyonda platform üzerinde hazırlandı. Gerekli işaretlemeler yapıldı. Steril boyama ve örtünme sağlandı. Bilateral siyatik sinirler disseke edildi. sağ taraf siyatik sinir sol taraf siyatik sinire lezyon proksimalinden(prelezyoner) epinöral pencere oluşturularak uç yan koaptasyonları (supercharge) sağlandı.



Şekil 9 a.b.B grubu Sağ taraf siyatik sinirin trifurkasyon seviyesinden kesilip cilt altından karşı tarafa geçirilip sol siyatik sinir lezyon seviyesinin distaline (postlezyoner) epinöral pencere oluşturulup uç yan koaptasyonu (supercharge) yapıldı.

c. C gubu supercharge olmaksızın sol siyatik sinir lezyonunun uç uca koaptasyonu yapıldı.



sağ siyatik sinirin sol siyatik sinire koaptasyon yapılan alanının 10 mm proksimali ve sol siyatik sinirin sağ siyatik sinire uc yan koaptasyon alanının 10 mm distalinden kesiler yapıldı. Sinir segmenti çıkarıldı. C grubunda ise sol siyatik sinirin uc uca anatomoz yapılan segmenti 10 mm distalden ve 10 mm proksiamlden kesilerek sinir segmenti çıkarıldı.sağ ve sol siyatik sinirlerin proksimal kısımlarına karışıklık olmaması için ayırıcı mikrosütürler atıldı.



Şekil 10. Sakrifikasyon sonrası sinirlerin disseke edilmesi ve histopatolojik incelemeler için sinir onarım ve supercharge bölgelerinden örneklerin alınması

2.3. Değerlendirmede Kullanılan Yöntemler

2.3.1. Fonksiyonel inceleme

Ratların cerrahi işlemleri yapılmadan önce fonksiyonel testlerden pin prick testi ve itme kuvveti ölçümleri yapıldı. Sıcak zemin testi ratların ayaklarında hasar oluşturabileceği için cerrahi işlem öncesi yapılmadı. 12 haftalık takip süresi sonrası sıçanların fonksiyonel testleri yapıldı. Sakrifikasyon işlemi öncesi sıçanlara sıcak zemin testi, itme kuvveti testi, pinprick testi yapıldı. Sıçanların sakrifikasyon işlemi yapıldıktan sonra sinirler belirtilen teknikle alındıktan sonra sıçanların bilateral gastrokinemiusları disseke edilip ağırlık ölçümü için çıkarıldı. Ağırlık ölçümleri yapıldı.

2.3.1.1 Extensor Postural Thrust(itme kuvveti oranı)

Ratların sadece test edilecek ekstremiteleri açıkta kalacak geri kalan vücut bölümleri kapalı olacak şekilde havlu ile sarıldı. Ardından test edilecek tarafta ratların ayağını hassas digital teraziye(Kern&Sohn GmbH; Balingen, Almanya) basması sağlandı. Ardından ratın teraziye itme kuvveti uygulaması beklendi. (şekil) işlem 5 kez tekrarlandı en yüksek değer not edildi. Aynı işlem karşı ekstremitte için de

uygulandı.itme kuvveti ölçümleri hem cerrahi öncesi hem de sakrifikasyon işlemi öncesi uygulandı. (şekil 11)[60]



Şekil 11 Extensor postural thrust testi

2.3.1.2 Pinprick testi

Ağrı duyusunun değerlendirilmesi için pinprick testi hem cerrahi öncesi hem de sakrifikasyon öncesi kullanıldı. Aynı dişli forseps ağırlı uyarın vermek için tüm ratlarda kullanıldı. Ratların ciltlerine parmaklarından dizlerine kadar ağırlı uyarın verilerek ayak çekme refleksi yanıtı incelendi. Ayak çekme refleksi metatars seviyesinden yanıt alınmasına 3 puan, ayak bileği distali ve topuktan yanıt alınmasına 2 puan, ayak bileği proksimalinden yanıt alınıp distalinden alınmamasına 1 puan, yanıt alınmamasına 0 puan verildi [61].

Ayak tabanı duyu innervasyonu incelendiğinde medial taraf femoral sinir dalından uyarı aldığı için bu bölgeye ağırlı uyarın verilerek refleks yanıt bakılmasından

kaçınıldı ve ağırlı uyarıların lateral tarafa verilmesine özen gösterildi[62].(şekil 12)



Şekil 12 Pin Prick testi

2.3.1.3 Sıcak zemin testi

Sıcak zemin fonksiyonel testinde ratların 56 derece santigrad sıcaklığa ayarlanan bir ısıtıcı zemin üzerine önce sağ ayak lateralleri temas ettirildi. Ratların ayaklarını refleks ile çektikleri süre kronometre ile ölçülerek kaydedildi. Bu işlem aralıklı olarak 5 kez uygulandı. Ölçülen değerlerin ortalaması alındı. Ratların ciltlerinde hasar olması için test tek seferde en fazla 12 saniye sürdürüldü. Ayaklarını çekmeyen ratlar için bu süre



Şekil 13 Sıcak zemin testi

2.3.1.4. Gastrokinemius ağırlık oranı

Gastrokinemius kası innervasyonu ratlarda siyatik sinirin posterior tibial dalı tarafından olmaktadır. Siyatik sinirde oluşacak kesi, hasar sonucunda kullanmamaya sekonder olarak atrofi gelişecektir. Atrofiye uğrayan kas kitlesinde optimal sinir iyileşmesi gelişmesi halinde kas kitlesinde yeniden kazanım olabilmekte bu da rejenerasyon oluştuğunu göstermektedir[64]. Ratların sakrifikasyon işlemi sağlandıktan sonra gruplar için belirtilen şekillerde sol siyatik sinirleri hem sinirin uc uca hem de sağ siyatik sinirler oluşturulan uç yan koaptasyon alanları dahil olacak şekilde (c gubunda sadece sinir ucuca onarım alanı) histopatolojik incelemeler için çıkarıldı. Siyatik sinirlerin çıkarılma işleminden sonra her iki taraf gastrokinemius kasları proksimalde ve distalde yapışma yerlerinden kaldırılarak hassas ölçüm yapan terazi(Ohaus Explorer; ABD) ile ağırlık ölçümleri yapıldı ve kayıt altına alındı. (şekil)

sinir transferi ve onarımı yapılan taraftaki gastrokinemius ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldı. (Şekil 14)



Şekil 14 Bilateral gastrokinemius kas diseksiyonu ve ağırlıklarının ölçülmesi

2. 3. 2. Histopatolojik İnceleme

Sinir iyileşmesini tespit etmek için sinir onarım hatları ve süpercharge alanları ve bu alanların proksimal ve distal alanlarını içeren örneklerin alınmasını takiben nekropsileri yapılan sıçanların siyatik sinirleri ve gastrokinemius kasları %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Tespiti gerçekleştirilen dokulardan alınan kesitler rutin yıkama işleminden sonra otomatik doku takip cihazında (Leica ASP300S, Leica Microsystems, Germany) dereceli alkoller ve ksilol serilerinden geçirilen dokular, parafinizasyona tabi tutuldu ve parafin bloklar elde edildi. Parafin bloklardan mikrotomda 5 µm kalınlığında alınan siyatik sinir ve gastrokinemius kas kesitleri hematoksilin-eozin (HE) ve alınan sinir dokuları ayrıca toluidine blue ile boyandı (Luna, 1968). Boyanmış kesitler binoküler başlıklı ışık mikroskopunda (Olympus BX43F, Tokyo, Japan) incelendi ve mikroskopik fotoğraflar çekilerek dijital ortama aktarıldı (Olympus Soft Imaging Solutions GmbH, Olympus EP50, Münster, Germany). Toluidine blue kullanılarak boyamaları yapılan sinirlerin A grubunda proksimalde süpercharge proksimalindeki, distalde ise onarım alanı distalindeki; B grubunda distalde süpercharge distalindeki, proksimalde onarım hattı proksimalindeki, C grubunda onarım hattı distal ve proksimalindeki (immünfloresan, IHC kesitlerini etkilemeyecek şekilde) enine kesitlerde total aksonların sayımları NIS-Elements yazılımı kullanılarak sinir örnekleri için ayrı ayrı hesaplandı.

Ardından “her bir gruptaki sinir örnekleri için” distaldeki total akson sayısı, proksimaldeki total akson sayısına bölünerek oranlama yapıldı. Bu oranlama “akson sayısı değişim indeksi (ASDI)” olarak adlandırıldı.

Hematoksilen-eozin (HE) ile boyalı kesitlerin histopatolojik incelemelerinde siyatik sinir hasarı modelinin iyileşmesinde skar oluşumu ve inflamatuvar reaksiyon oranı

belirlendi. Gastrocnemius kaslarda ise dejenerasyon, nekroz ve yangısal reaksiyonlar değerlendirildi. Histopatolojik değişikliklerin derecelendirilmesinde skar oluşumu şiddetine göre; hafif şiddette/az sayıda lezyon 1, orta şiddette/orta sayıda lezyon 2, şiddetli/çok sayıda lezyon 3 olarak skorlandı. Histopatolojik incelemeler çalışmaya kör bir patolog tarafından gerçekleştirildi.

2.3.3. İmmunfloresan ve İmmunohistokimyasal İnceleme

İmmunfloresan incelemede, sinir doku örnekleri 10 µm kalınlığındaki uzunlamasına seri dondurulmuş kesitleri bir kriyostat ile kesildi ve polilizinli lamlara alınarak 1 saat kurutuldu. Kesitler aseton ile 10 dk fikse edildi. Kesitler %0,1 Triton-X (Sigma-Aldrich) ve %1'lik bovine serum albumin (BSA) içeren phosphate buffered saline (PBS) içinde oda sıcaklığında 30 dk inkübe edildi. Nemli ortamda ve oda sıcaklığında her iki primer antikor, anti-68kDa Neurofilament/NF-L (ab223343, Abcam) 1:500 oranında sulandırılarak ve anti-laminin (ab11575, Abcam) 1:100 oranında sulandırılarak kullanıldı. Kesitler 3 kez 5 dakika boyunca PBS ile yıkandı. Daha sonraki boyama aşamaları karanlık ortamda gerçekleştirildi. Doku kesitlerine karanlık ortamda goat anti-rabbit IgG H&L (Alexa Fluor 488, Abcam, ab150077), 1:500 oranında sulandırılarak uygulandı. PBS ile yine 3 kez 5 dakika boyunca kesitler yıkandı. Zıt boyama işlemi 0,1-1 µg/ml DAPI (D1306, Invitrogen) ile kesitler 1 dakika inkübe edildi. PBS ile yıkama işlemi gerçekleştirildi. Kesitler durulandı ve su bazlı yapıştırıcı (Aqua-mount, Eprexia, TA-125-AM) ile lameller kapatıldı. Ayrıca, mikroskop altında kurumayı ve hareketi önlemek için lamellerin kenarlarına oje sürüldü. İmmunofloresan boyama konfokal mikroskop (Nikon A1R1, Nikon) kullanılarak figürler elde edildi.

İmmunohistokimyasal incelemede, sinir doku örnekleri %10'luk formaldehit içinde fikse edildi, alkolde dehidrate edildi, parafine gömüldü ve polilizinli lamlara 5 µm'lik seri kesitler alındı. Alınan kesitler deparafinize ve rehidre edildi. Parafin bloklardan elde edilen kesitler, DAKO Omnis autostainer (Agilent, Santa Clara, CA 95051, ABD) kullanılarak standart prosedüre göre neurofilament ve laminin için immunohistokimyasal olarak boyandı. Rehidrasyonu sonrasında antijen retrieval, Tris/EDTA buffer (pH= 9) ile gerçekleştirildi. Sinir dokusu kesitler phosphate buffered saline (PBS) ile yıkandı. Kesitlerin %3'lük hidrojen peroksit solüsyonu ile 20 dakika endojen peroksidaz aktivitesi giderildikten sonra PBS ile yıkandı. Spesifik olmayan bağlanmayı engellemek için 10 dakika boyunca bloke edici serum uygulandı ve daha sonra kesitler PBS'de yıkandı. Kesitler oda sıcaklığında 45 dakika primer antikorlar ile inkübe edildi. 1:500 oranında neurofilamente karşı antikor (Anti-68kDa Neurofilament/NF-L antibody, Abcam, ab223343) ve 1:200 oranında laminine karşı antikor (Anti-laminin antibody, Abcam, ab11575) kullanıldı. Negatif kontroller de primer antikor yerine PBS kullanıldı. Kesitler 3 dakika süreyle DAB kromojen ile inkübe edildi. Daha sonra distile suyla yıkandı. Harris's hematoksilen ile zıt boyama yapıldıktan sonra alkol ve ksilolden geçirildi ve entellan ile lamel kapatıldı. Doku örnekleri ışık mikroskobu ile incelendi.

2.4. İstatistik

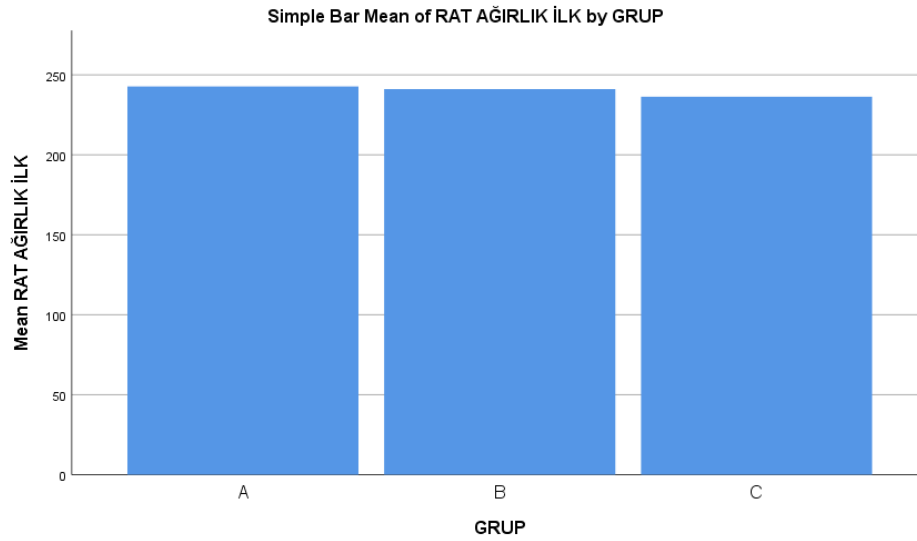
Tüm çalışma sonucunda elde edilen veriler kör bir çalışmacı tarafından değerlendirilerek gruplar arasında taraf tutmanın önüne geçildi. Elde edilen veriler normal dağılım ve varyansın homojenliği açısından Kolmogorov-Smirnov ve Levene testleriyle kontrol edildi. Bu testleri tek yönlü varyans analizi takip etti (One-way

ANOVA); analiz istatistiksel olarak anlamlı çıktığı durumlarda LSD post-hoc analizi ikili karşılaştırmalar için kullanıldı. Normalite şartlarının sağlanmadığı durumlarda parametrik olmayan testlerden Kruskal-Wallis testi uygulandı ve sonrasında ikili karşılaştırmalar için ise Mann-Whitney U testi kullanılarak değerlendirme yapıldı.

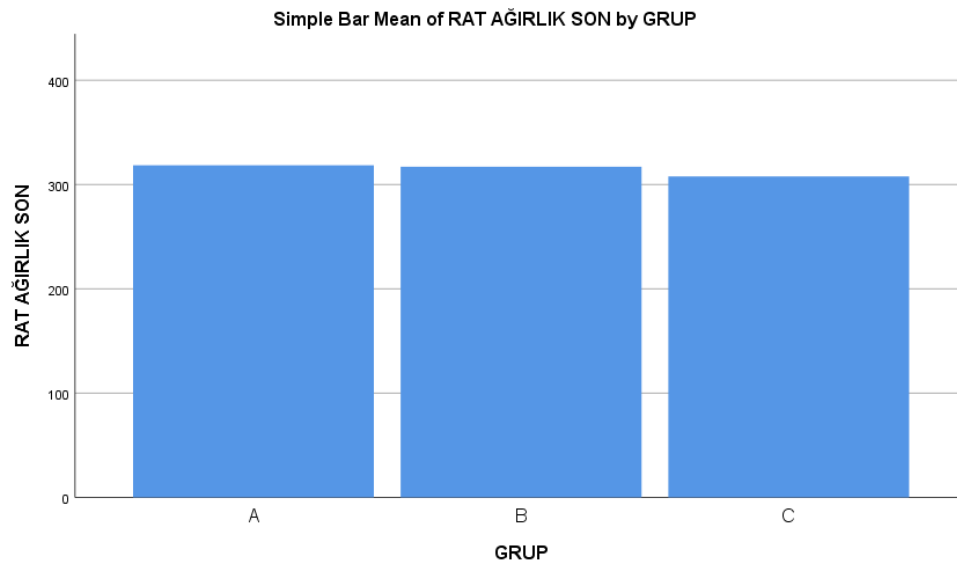
3. BULGULAR

3.1. Makroskobik bulgular

Ratların çalışmaya başlamadan önceki ortalama ağırlıkları grup A için $242,70 \pm 21,229$; grup B için $241,10 \pm 10,418$; grup C için $236,30 \pm 19,259$ gramdır.(**şekil 15**) Ratların sakrifikasyon işleminden önceki ortalama ağırlıkları A grubu için $318,5 \pm 16,588$; B grubu için $317,00 \pm 11,719$; C grubu için $307,8 \pm 14,958$ gramdır.(**şekil 16**) Ratların hem başlangıç hem sakrifikasyon öncesi ağırlıkları gruplararası karşılaştırıldığında gruplar arası anlamlı fark bulunmadı.($p > 0.05$)



Şekil 15. Ratların deney başlangıcında ağırlıkları



Şekil 16 Ratların sakrifikasyon öncesi ağırlıkları

Ratların sakrifiye edilmesini takiben disseke edilip çıkarılan sinirlerin hiçbirisinde rüptür izlenmedi. Sinir onarım ve supercharge bölgelerinde nöroma formasyonu izlenmedi. Çıkarılan gastrokinemius kasları incelendiğinde makroskobik olarak onarım ve supercharge işlemi yapılan sol taraf gastrokinemiusların kesi yapılan ya da siyatik sinirin süpercharge ile sol tarafa aktarıldığı sağ gastrokinemiuslara göre bariz şekilde kas kütlelerinin fazla olduğu ve daha az atrofiye uğradığı tespit edildi. Makroskobik olarak sinirlerin hiçbirisinde anormallik tespit edilmedi.

3.2. Fonksiyonel Test Bulgular

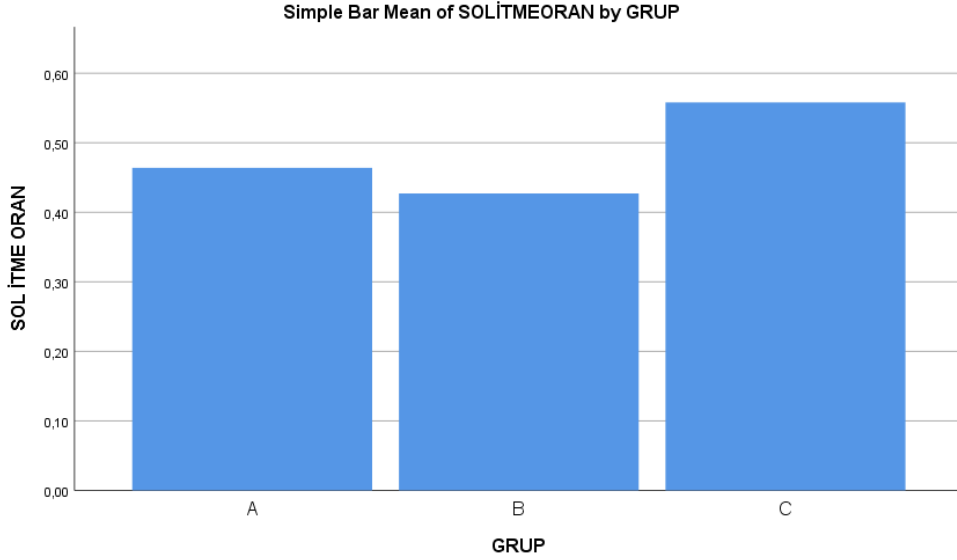
3.2.1. İtme kuvveti bulgular

Bütün ratlarda itme kuvvetleri sol taraf için deney başlangıç öncesi ve sakrifikasyon öncesi ölçülerek kayıt altına alındı. İtme kuvvetleri hesaplandı. (Tablo 2.2.) Tüm gruplarda sağ siyatik sinir kesileri yapıldığı için sağ ve sol taraflar birbiriyle karşılaştırılmak yerine gruplar arası deney başlangıç öncesi ve sakrifikasyon öncesi değerleri sol taraf itme kuvvetleri oranı olarak karşılaştırıldı. Bu formülasyona göre itme kuvveti oranı ne kadar düşük saptanırsa fonksiyonel iyileşme daha iyi olduğu kabul edilmektedir.

Ratlar itme kuvveti oranı açısından istatistiksel olarak değerlendirildiklerinde B grubu itme kuvveti oranı A ve C gruplarına kıyasla anlamlı olarak daha iyi olduğu saptandı ($p<0,05$). A ve C grupları karşılaştırıldığında A grubu itme kuvveti oranının C grubuna kıyasla anlamlı olarak daha iyi olduğu saptandı. ($p<0,05$) (şekil 17)

Tablo 2 Ratların sol taraf çalışma öncesi ve sakrifikasyon öncesi itme kuvvetleri

rat no	grup A		grup B		grup C	
	Sol ilk	Sol son	Sol ilk	Sol son	Sol ilk	Sol son
1	135,30	75,4	147,90	83,7	140,70	69,4
2	132,40	72,4	164,30	103,8	124,80	48,3
3	145,80	84,3	160,20	98,4	133,60	62,7
4	129,70	67,8	155,70	93,2	122,70	53,3
5	125,30	59,7	122,30	65,3	128,20	62,4
6	151,20	87,3	121,80	67,2	132,30	48,3
7	142,30	78,3	110,10	62,7	124,10	51,4
8	121,30	59,9	132,70	69,7	138,90	67,2
9	157,60	85,2	136,40	75,2	122,70	51,7
10	115,80	56,3	134,90	72,9	129,30	57,2



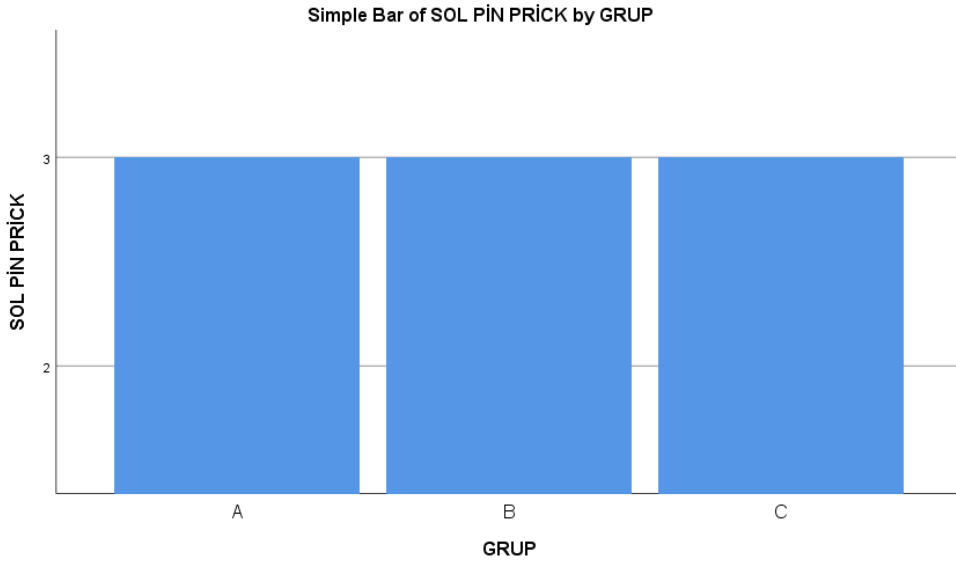
Şekil 17 Ratların sol taraf itme kuvvetlerinin deney öncesi ve sakrifikasyon öncesi oranları

3.2.2 Pin Prick Testi Bulguları

Tüm ratlar için pin prick skorları bilateral değerlendirilip tablo ile kaydedildi. (tablo 2.3.) Tüm gruplarda sağ siyatik sinir kesileri yapıldığı için sağ ve sol taraflar birbiriyle karşılaştırılmak yerine gruplar arası sakrifikasyon öncesi sol taraf pin prick testleri karşılaştırıldı. Gruplar arası yapılan karşılaştırmada gruplar arası anlamlı fark saptanmadı. ($p>0,05$) (Şekil 18)

Tablo 3 Ratların sol ve sağ taraf pin prick testi sonuçları

rat no	grup A		grup B		grup C	
	sağ	sol	sağ	sol	sağ	sol
1	0	3	1	3	3	2
2	1	3	1	3	2	2
3	1	3	1	3	0	2
4	0	2	0	3	1	3
5	1	3	1	3	3	3
6	1	3	1	2	2	3
7	1	3	0	3	1	3
8	0	2	3	3	2	3
9	1	3	0	3	1	2
10	0	2	1	3	1	3



Şekil 18 Sol taraf pin prick testleri gruplar arası karşılaştırılması

3.2.3. Sıcak Zemin Testi Bulguları

Ratların her iki alt ekstremitelerine sıcak zemin testi platform üzerinde uygulandı. Tablo üzerine kayıt altına alındı. Tüm gruplarda sağ siyatik sinir kesileri yapıldığı için sağ ve sol taraflar birbiriyle karşılaştırılmak yerine gruplar arası sakrifikasyon öncesi sol taraf sıcak zemin testi değerleri karşılaştırıldı.(**Tablo2.4.**) Sıcak zemin testi değerleri gruplar arası karşılaştırıldığında gruplararası anlamlı fark saptanmadı. ($p>0,05$) (**Şekil 19**)



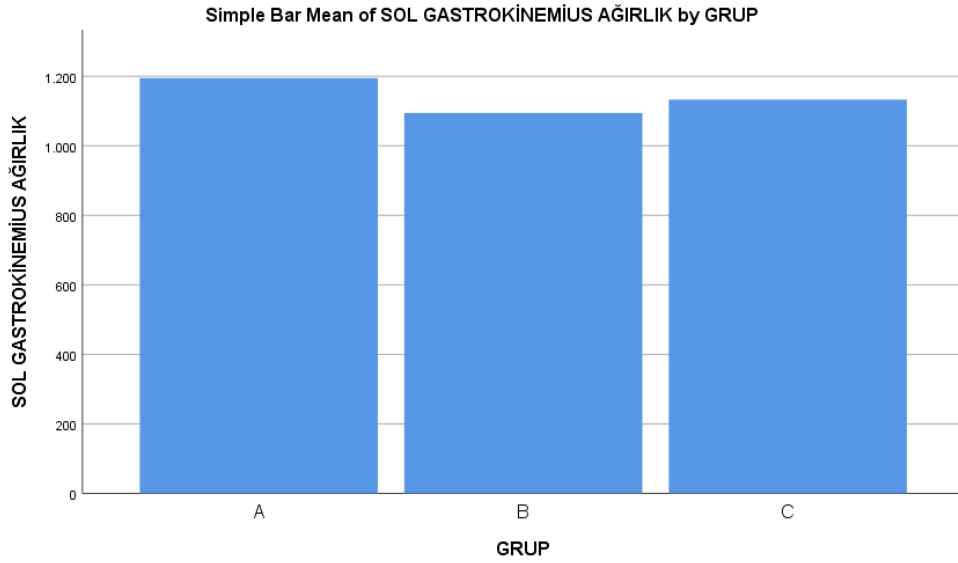
Şekil 19 Sol sıcak zemin değerleri gruplar arası karşılaştırması

Tablo 4 ratların sol ve sağ taraf sıcak zemin testi sonuçları

rat no	grup A		grup B		grup C	
	sağ	sol	sağ	sol	sağ	sol
1	3,28	1,09	12	12,00	2,55	1,33
2	11,97	1,60	1,61	0,90	12	1,69
3	12,00	1,52	8,56	0,94	7,32	1,16
4	12,00	3,55	5,46	2,07	12	1,07
5	4,86	2,33	6,27	2,81	1,88	0,84
6	8,50	0,75	12	1,44	6,3	1,15
7	9,93	0,86	7,75	0,62	12	2,12
8	3,76	0,95	2,63	0,77	2,21	1,18
9	7,90	0,62	2,56	1,15	3,04	1,33
10	8,01	0,96	3,63	1,01	2,13	1,14

3.2.4 Gastroknemius Ağırlık Bulguları

Ratların sakrifikasyonu takiben siyatik sinirleri belirtilen teknikle çıkarıldıktan sonra her iki alt ekstremitte gastrokinemius kasları proksimal ve distal yapışma yerlerinde uygun diseksiyonla ayrıştırıldıktan sonra hassas elektronik terazi ile ağırlıkları ölçüldü ve tabloya aktarıldı. (tablo 2.5) . Tüm gruplarda sağ siyatik sinir kesileri yapıldığı için sağ ve sol taraflar birbiriyle karşılaştırılmak yerine gruplar arası sakrifikasyon sonrası çıkarılan sol gastrokinemius kas ağırlıkları karşılaştırıldı Sol gastrokinemius kaslarının oranları karşılaştırıldığında gruplararası anlamlı fark saptanmadı. ($p>0,05$) (şekil 20)



Şekil 20 Sol gastrokinemius ağırlıkları Gruplar arası karşılaştırılması

Tablo 5 Ratların sakrifikasyon işlemi sonrası çıkarılan gastrokinemius kas ağırlıkları

rat no	grup A		grup B		grup C	
	sağ	sol	sağ	sol	sağ	sol
1	319	1029	145	633	317	1114
2	329	1479	318	1215	281	1354
3	170	1304	239	986	237	1242
4	233	1010	198	1107	308	1145
5	145	1060	213	1324	156	1011
6	221	1138	302	1443	197	1112
7	198	1260	218	1049	214	1196
8	356	1278	188	1110	267	865
9	348	1241	235	1114	294	1362
10	336	1149	340	964	245	925

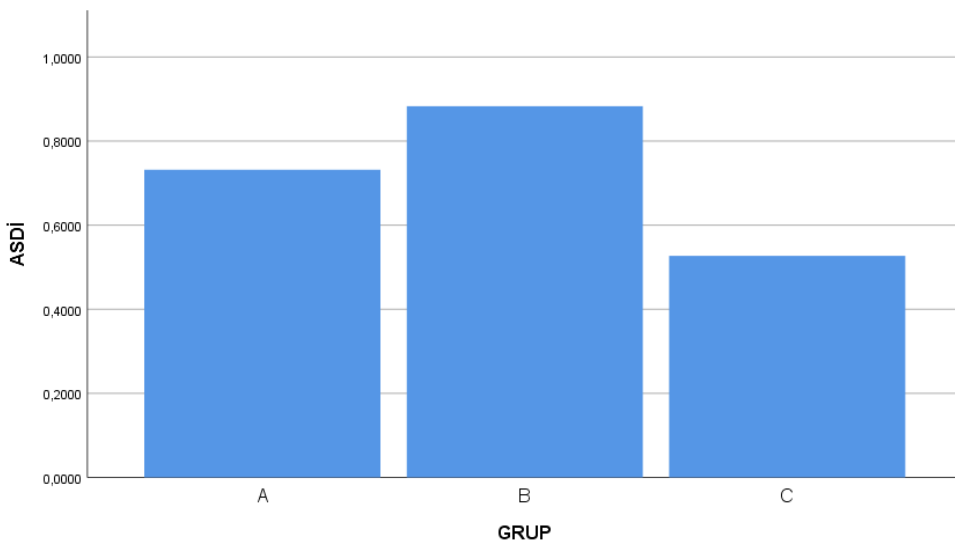
3.3.Histopatolojik Bulgular

Histopatolojik olarak sol siyatik sinir onarım alanında tüm gruplarda iyileşme alanında hiperemi, ödem, myelin kılıfında şişme ve basit lipidler, aksonun periferde doğru uzanabilmesi için iki sinir ucu arasında Schwann hücreleri ve zedelenen alanın proksimalinde ve distalinde akson tomurcuklarının olduğu gözlemlendi (şekil 26,27,29,31). İyileşme alanında oluşan kanal içinde Schwann hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar ve akson tomurcukları görüldü (şekil 26,27,29,31). Ayrıca bazı sinir uçları arasında ve çevresinde kollagen demetleri ve içlerinde de akson parçacıkları

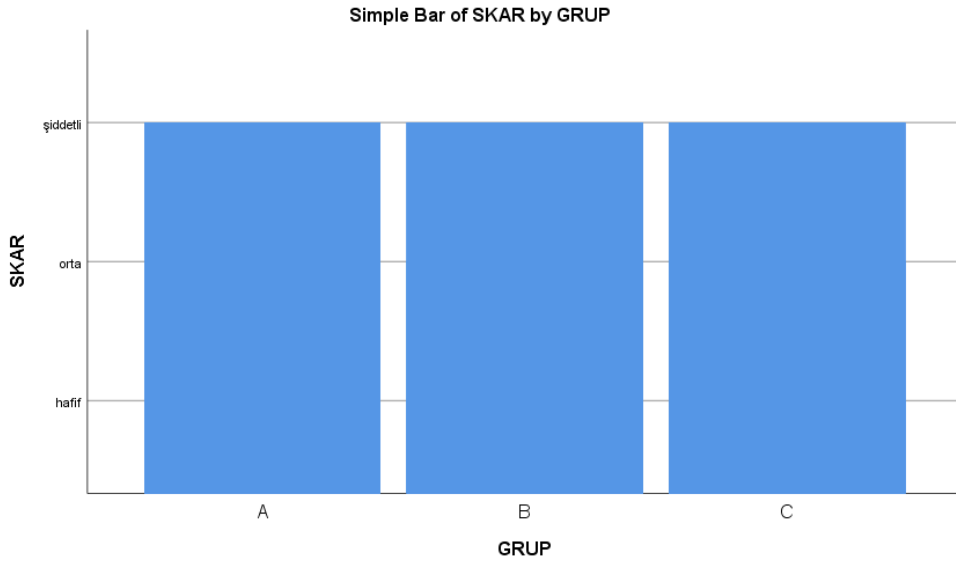
görüldü. Dikiş iplikleri çevresinde mononükleer hücre infiltrasyonları, makrofaj ve yabancı cisim dev hücreleri gözlemlendi (Şekil 28,29,32). Sinir dokularında özellikle iyileşme bölgesinde hipereminin daha belirgin olduğu görüldü. Akson yoğunluğu iyileşme bölgesinde yok ise 0, iyileşme alanının %0-30'inde var ise hafif (1), %30-60'ında varsa orta (2), %60-100'ünde varsa şiddetli olarak değerlendirildi. Gruplara göre sinir dokusu iyileşmesinde skar oluşumunun ve skar dokusundaki akson yoğunluğu şiddetinin sıçan sayıları **Tablo2.6'da** verilmiştir.

Histolojik inceleme toluidin blue boyama ile akson sayılarının her örnekte ölçümleri yapıldı. Ölçümlerdeki ortalama ve standart sapmalarıyla istatistiği yapıldı. Toluidine blue boyama ile yapılan incelemede sol siyatik sinirin en proksimal ve en distal bölgesinde alınan enine kesitlerden akson sayımı yapıldı. ardından distaldeki akson sayısı proksimaldeki akson sayısına oranlanarak akson sayısı değişim indeksi hesaplandı. Hesaplanan veriler kaydedildi.(şekil 28,30,33). Akson sayı değişimleri istatistiksel olarak gruplar arası karşılaştırıldığında anlamlı farklılık bulundu.($p<0,05$) ASDİ en yüksek B grubunda bulunurken, A grubunun ASDİ C grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu.($p<0,05$) (Şekil 21)

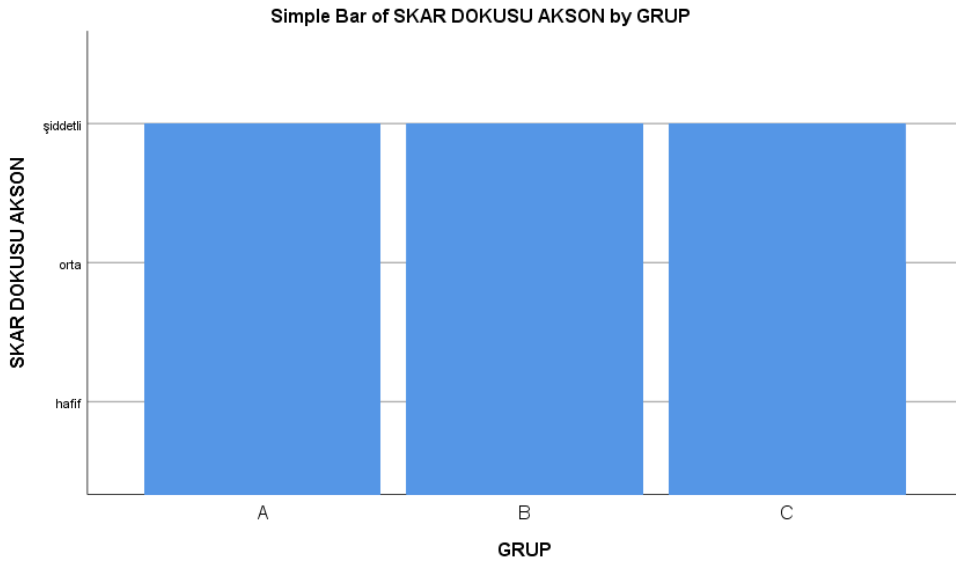
A gruplarında sinir dokusun distal kesitlerdeki iyileşme bölgesinde skar oluşumu altı sıçanın sinir dokusunda şiddetli, üç sıçanda orta şiddette, bir sıçanda ise hafif skar oluşumu gözlemlendi. B grubunda iyileşme bölgesinde skar oluşumu yedi sıçanda şiddetli, ikisinde orta şiddette, birinde hafif şiddette görüldü. C grubunda ise beş sıçanda şiddetli, üç sıçanda orta ve iki adet sıçanda ise hafif skar oluşumu belirlendi. A, B ve C gruplarında görülen hafif ve orta şiddetteki skar oluşumlarında iki sinir uçları arasındaki açıklığın biraz daha uzun olduğu dikkati çekti. Histopatolojik olarak B grubunda iyileşme daha iyi iken, A grubundaki iyileşmenin C grubuna göre daha iyi olduğu görüldü. Bununla birlikte, %1'lik toluidin ile boyanan kesitlerde de artan lif sayıları ve genişlikleri ile sinir yoğunluğunu içeren rejenerasyon kapasitesi en yüksek B grubunda görülürken, rejenerasyon kapasitesinin A grubunda C grubuna göre daha iyi olduğu gözlemlendi. Yapılan istatistiksel incelemede ise skar doku ve skar doku akson yoğunluğunda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.($p>0,05$) (Şekil 22,23,24,25)



Şekil 21 Ratların proksimal ve distal akson sayıları gruplararası karşılaştırılması



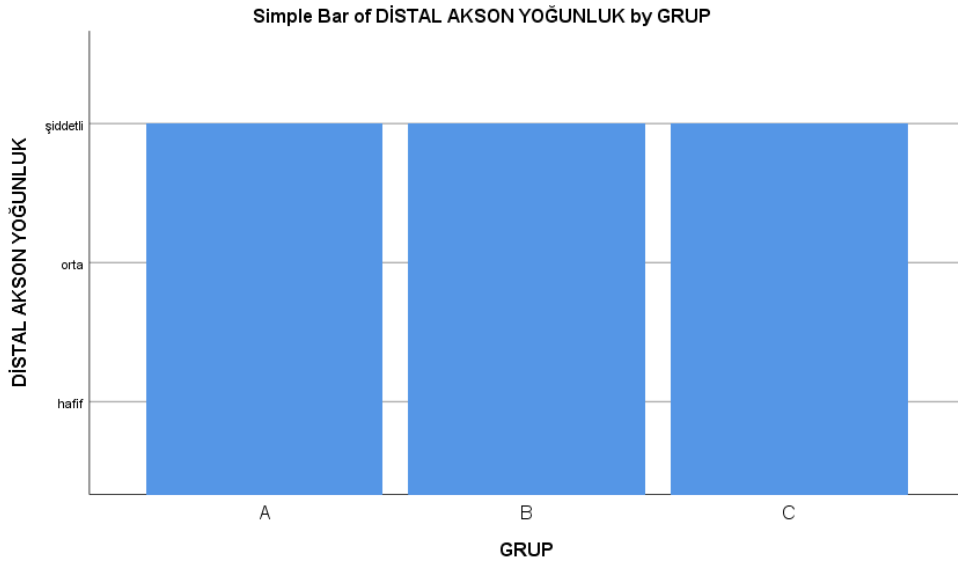
Şekil 22 Ratların skar dokuları karşılaştırılması



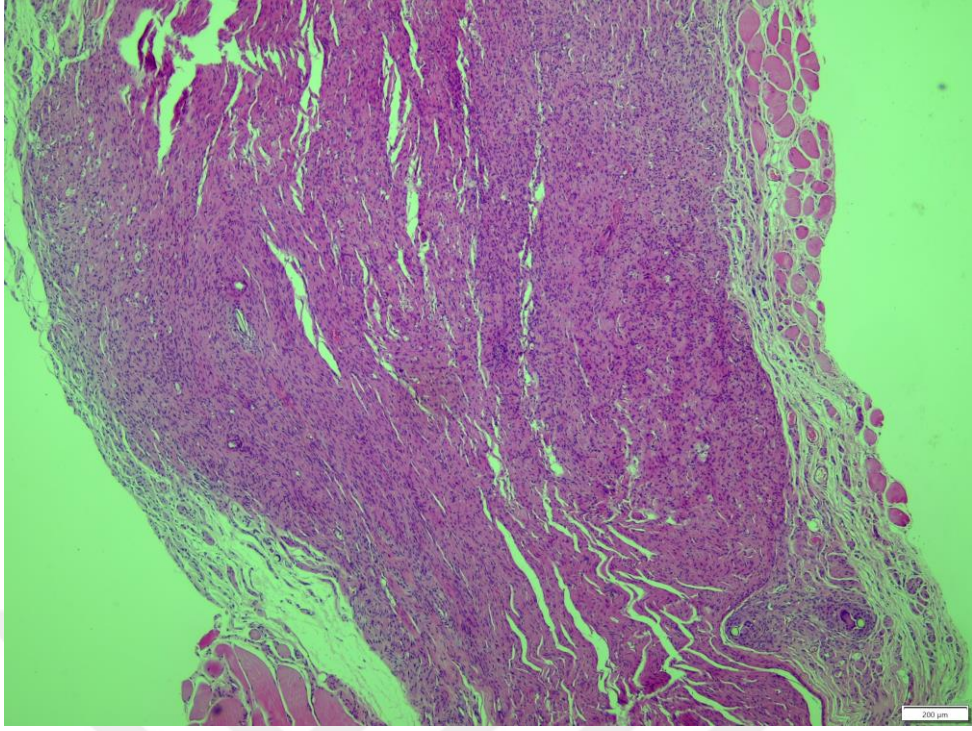
Şekil 23 Ratların skar bölgesi akson yoğunluğu karşılaştırılması



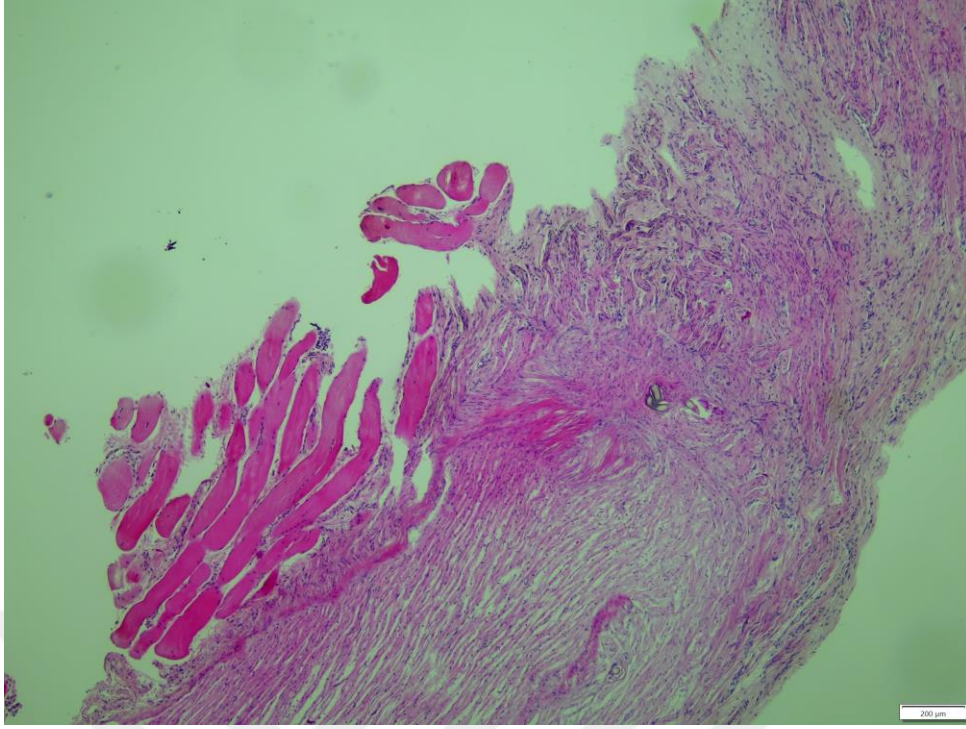
Şekil 24 Ratların proksimal akson yoğunlukları karşılaştırılması



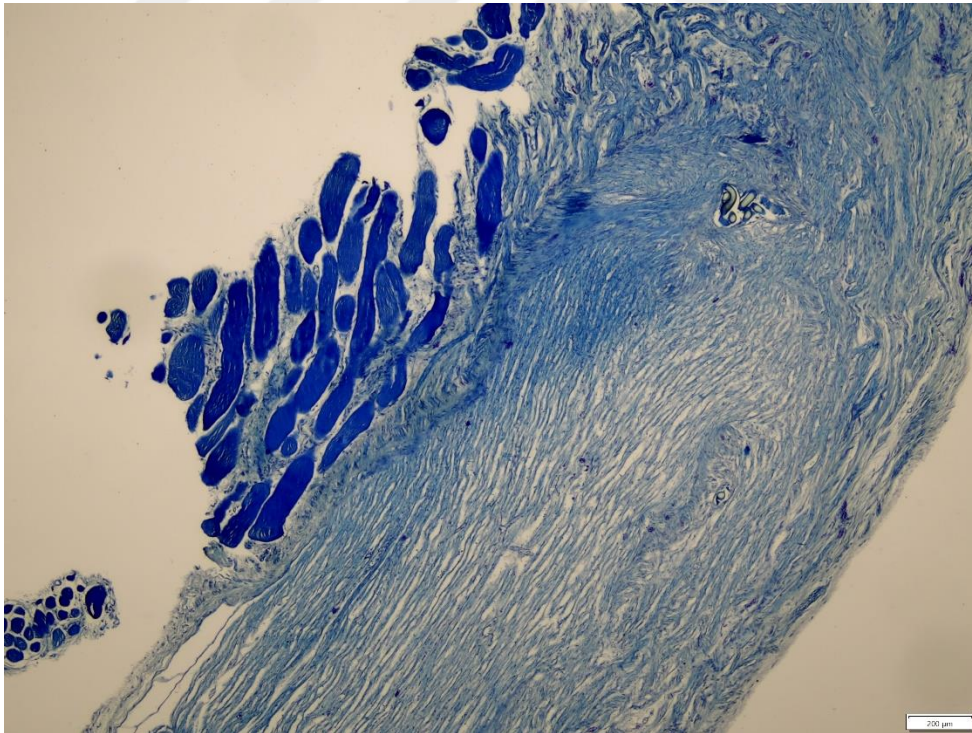
Şekil 25 Ratların distal akson yoğunlukları karşılaştırılması



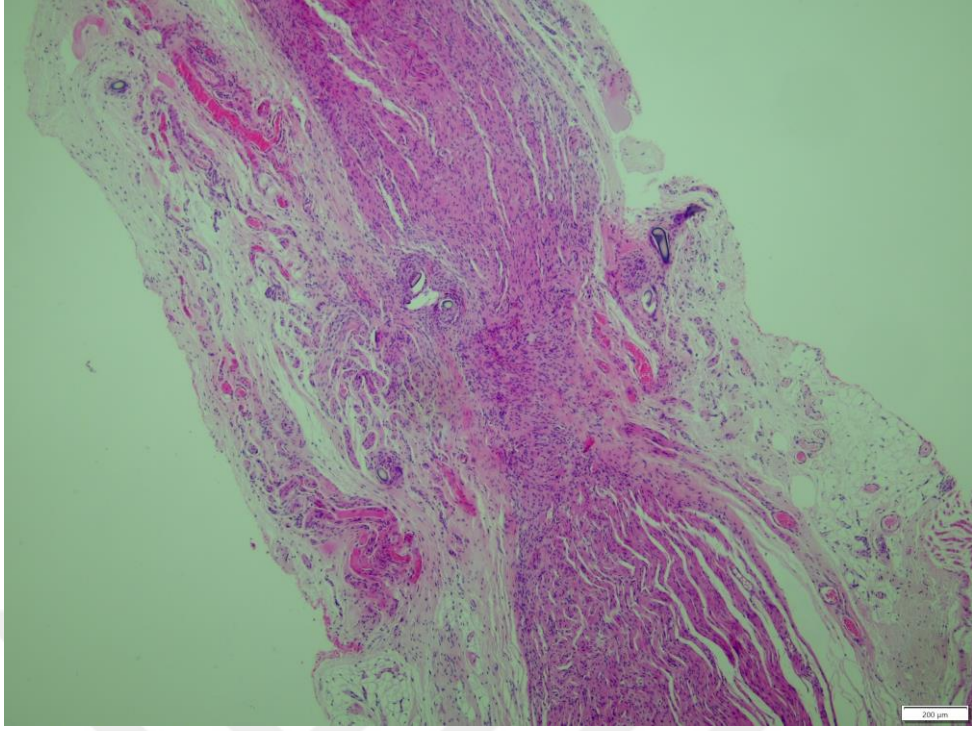
Şekil 26. A grubu hematoksilen eozin boyama preparatı. İyileşme alanında hiperemi, ödem, myelin kılıfında şişme ve basit lipidler, aksonun perifere doğru uzanabilmesi için iki sinir ucu arasında Schwann hücreleri ve zedelenen alanın proksimalinde ve distalinde akson tomurcuklarının oluştuğu gözlemlendi



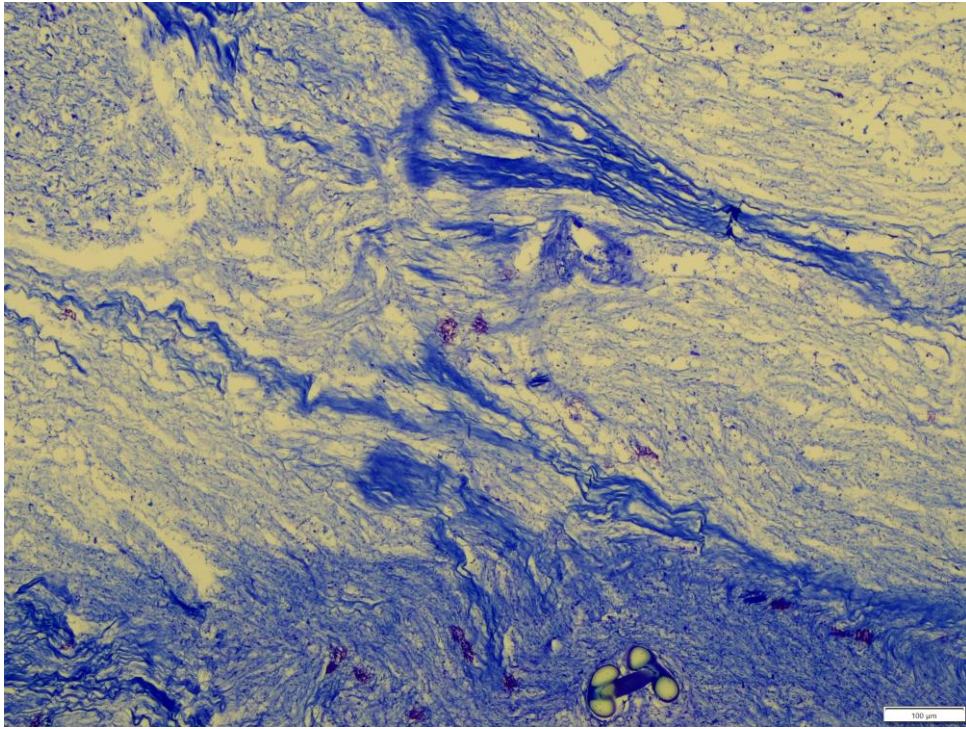
Şekil 27. A grubu Hematoksilen Eozin boyama preparatı. İyileşme alanında oluşan kanal içinde Schwann hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar ve akson tomurcukları görüldü



Şekil 28. A grubu toluidine blue boyama preparatı. Sinir uçları arasında ve çevresinde kollagen demetleri ve içlerinde de akson parçacıkları görüldü. Dikiş iplikleri çevresinde mononükleer hücre infiltrasyonları, makrofaj ve yabancı cisim dev hücreleri gözlendi

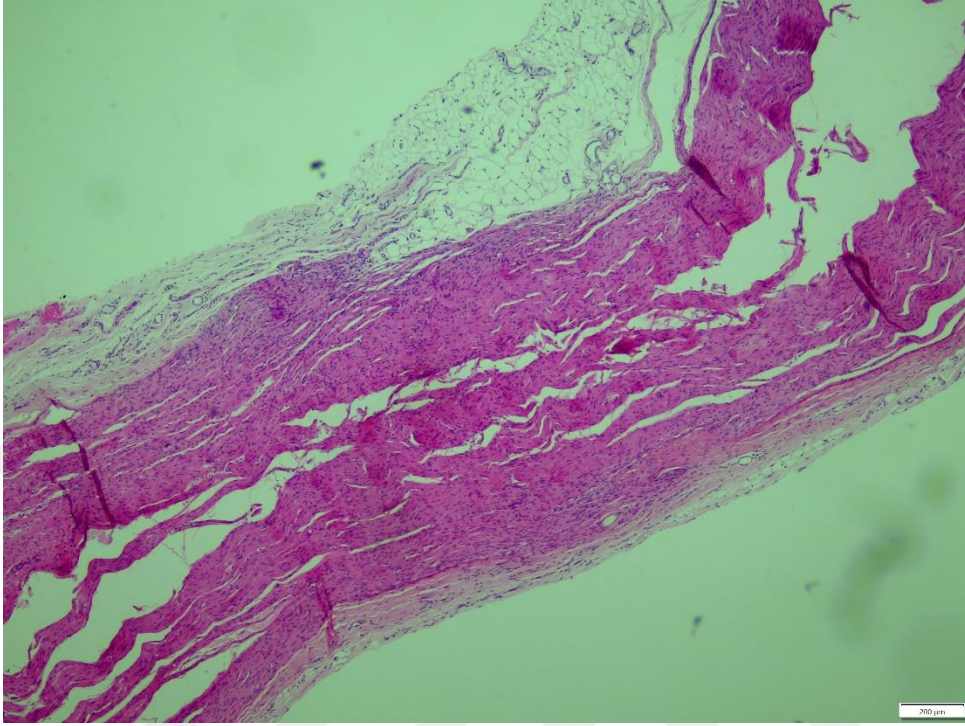


Şekil 29. B grubu HE . İyileşme alanında hiperemi, ödem, myelin kılıfında şişme ve basit lipidler, aksonun perifere doğru uzanabilmesi için iki sinir ucu arasında Schwann hücreleri ve zedelenen alanın proksimalinde ve distalinde akson tomurcuklarının oluştuğu gözlemlendi

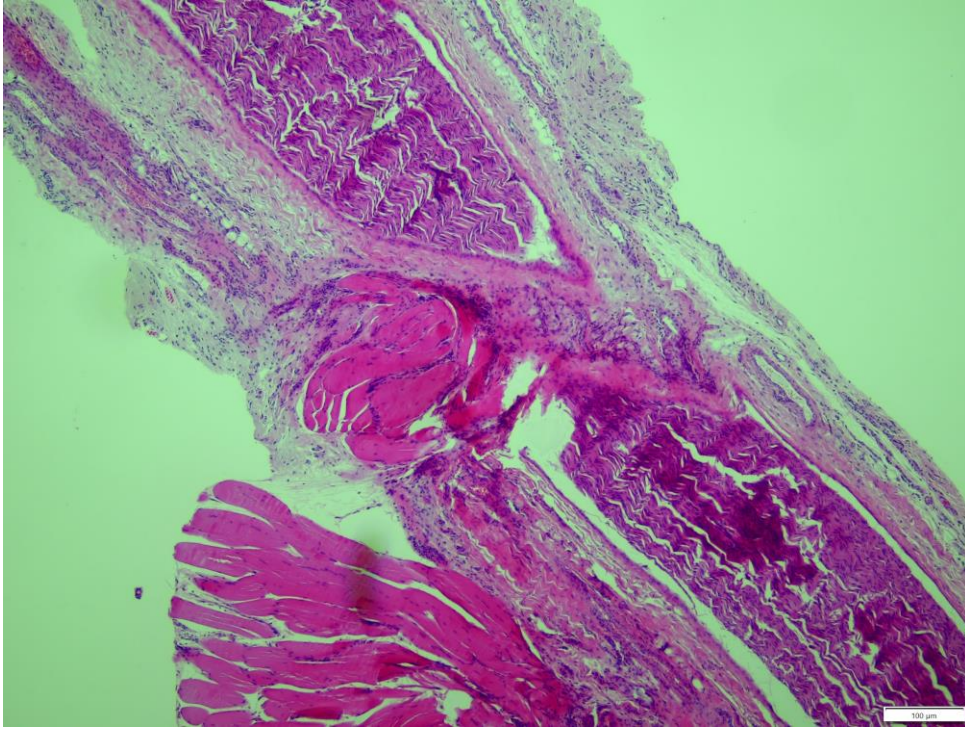


Şekil 30 B grubu toluidine blue boyama preparatı. Sinir uçları arasında ve çevresinde kollagen demetleri ve içlerinde de akson parçacıkları görüldü. Dikiş iplikleri

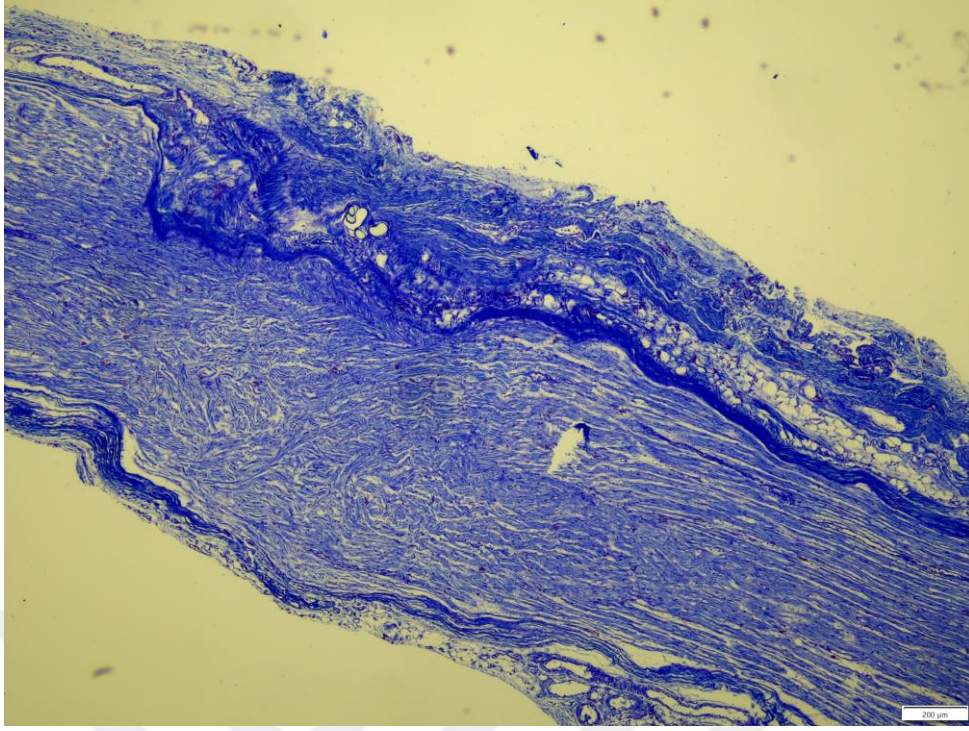
çevresinde mononükleer hücre infiltrasyonları, makrofaj ve yabancı cisim dev hücreleri gözlemlendi



Şekil 31. C grubu Hematoksilen eozin boyama preparatı



Şekil 32. C grubu Hematoksilen Eozin boyama preparatı

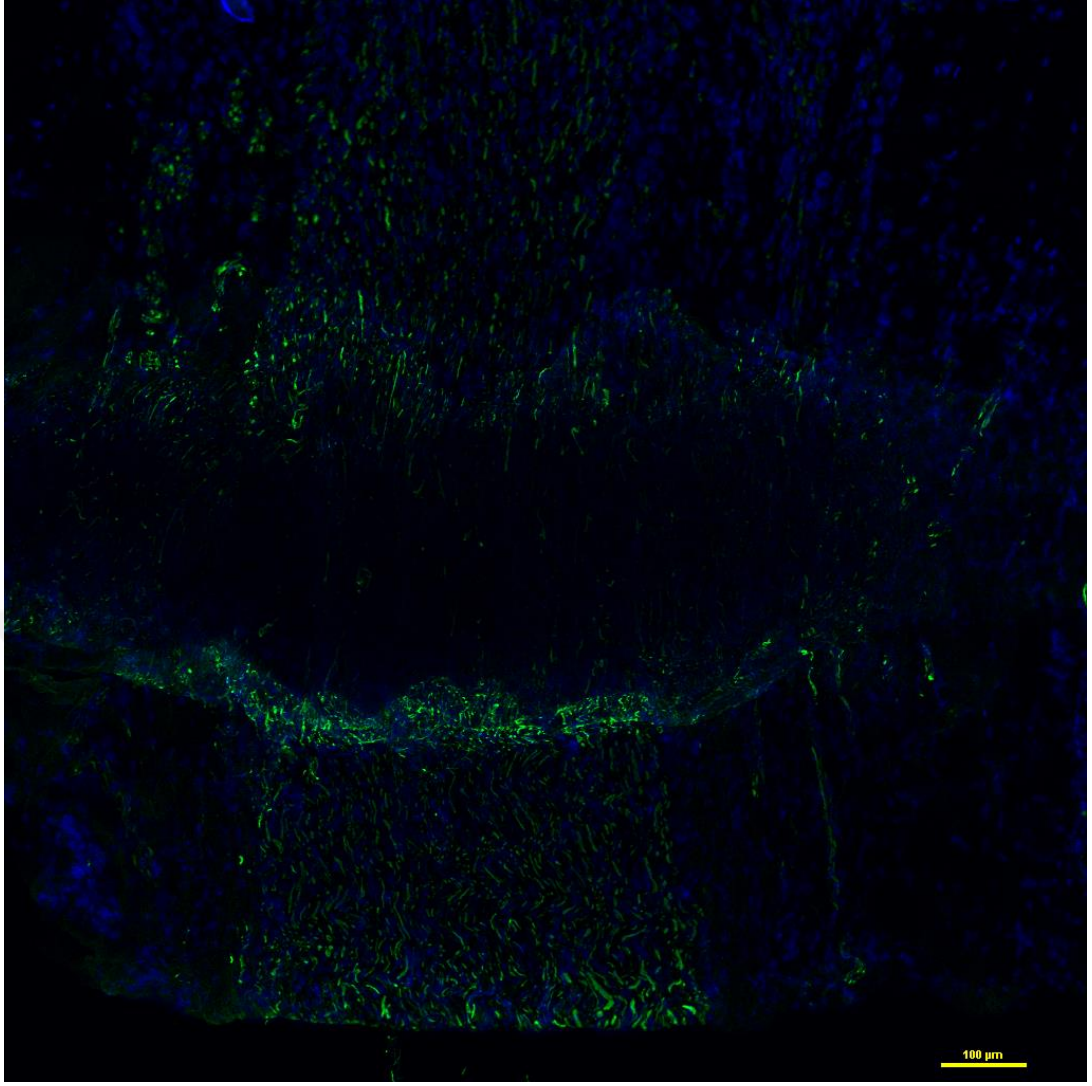


Şekil 33. C grubu toluidine blue boyama preparatı.

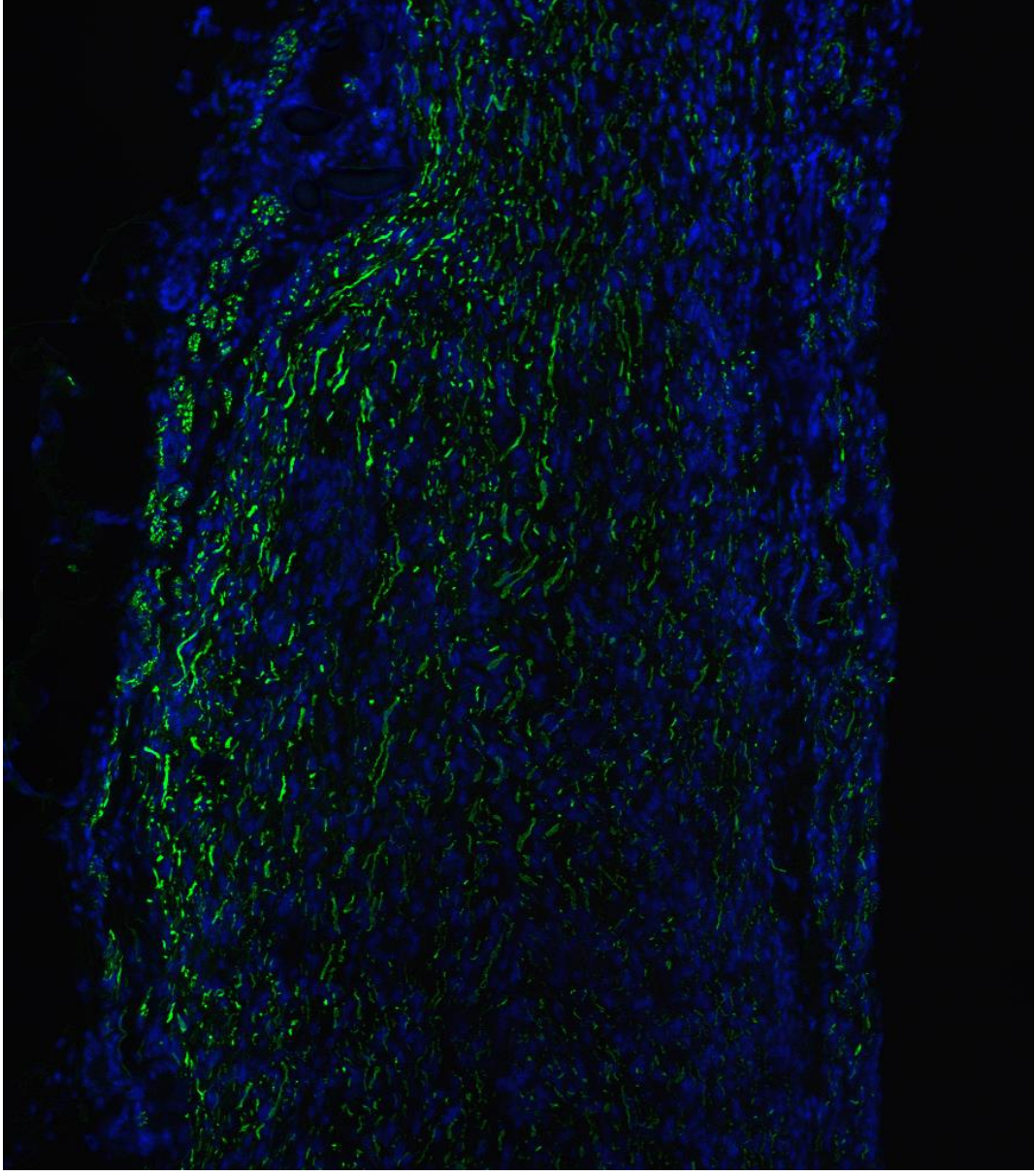
İmmunfloresan ve immunohistokimyasal olarak neurofilament ve laminin boyamalarında tüm gruplarda primer onarım yapılan iyileşme bölgesinde özellikle kesilmiş iki sinir uçlarında akson tomurcuklarında yoğun, iyileşme bölgesinde ise akson ipliklerinde pozitif ekspresyonlar görüldü . Siyatik sinirlerin iyileşme bölgesinde hem proksimalde hem de distal bölgede pozitif reaksiyonlar gözlemlendi (şekil 34-46). İyileşme bölgesinde akson yoğunluğu A grubunda bir sıçanda hafif şiddette, üç sıçanda orta şiddette ve 6 sıçanda şiddetli, B grubunda bir sıçanda hafif, iki sıçanda orta ve 7 sıçanda şiddetli görülürken, C grubunda iki sıçanda hafif, üç sıçanda orta ve beş sıçanda şiddetli olduğu belirlendi.

Sinir iyileşmesinde distal ve proksimal uçtaki aksonların yoğunluğu da değerlendirildi. A, B ve C gruplarındaki distal ve proksimal uçlardaki akson yoğunlukları değerlendirildiğinde akson yoğunluklarının distal ve proksimal uçlardaki şiddetinin sıçan sayıları **Tablo 2.6 da** verilmiştir. Yapılan istatistiksel incelemede longitudinal kesitlerde proksimal ve distal akson yoğunluğu açısından gruplar arası anlamlı farklılık saptanmamıştır.($p<0,05$)

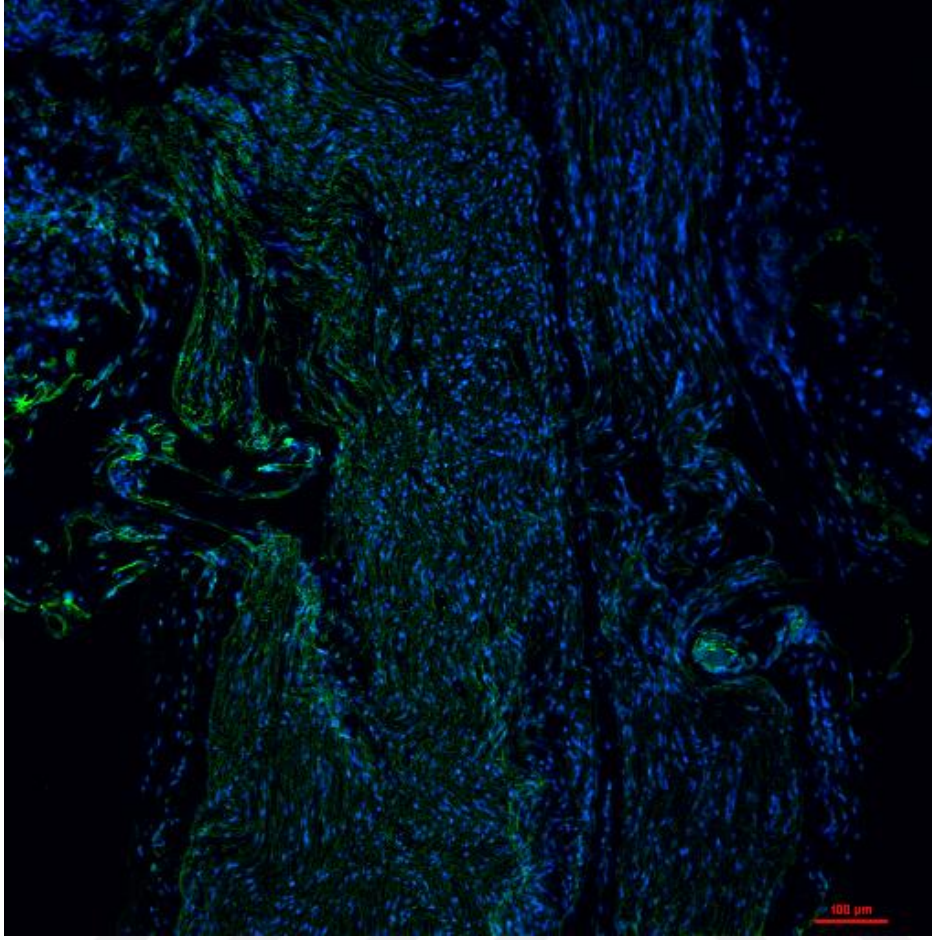
A ve B gruplarında immünfloresan incelemelerde süpercharge yapılan bölgelerde sağ siyatik sinirlerden sol siyatik sinirlere immün işaretli aksonların epinöral pencereden sol siyatik sinir perinöryumuna nüfuz ettiği, aksonların distal yönde filizlendiği gözlemlendi.



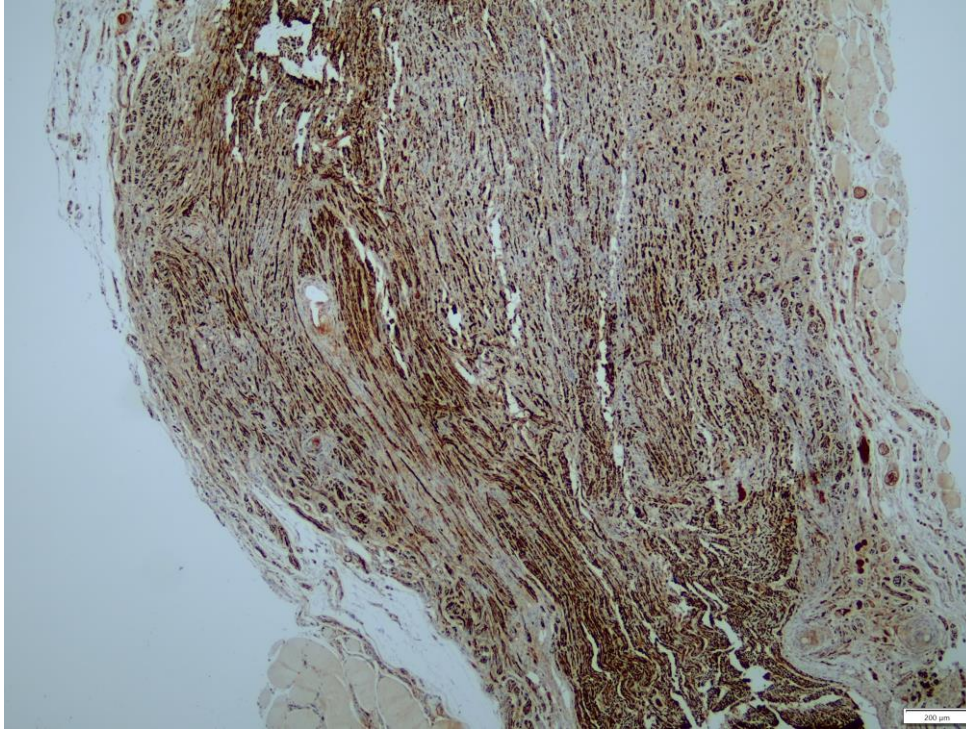
Şekil 34 A grubu neurofilament immünfloresan boyama materyali, akson tomurcukları pozitif ekskresyonlar.



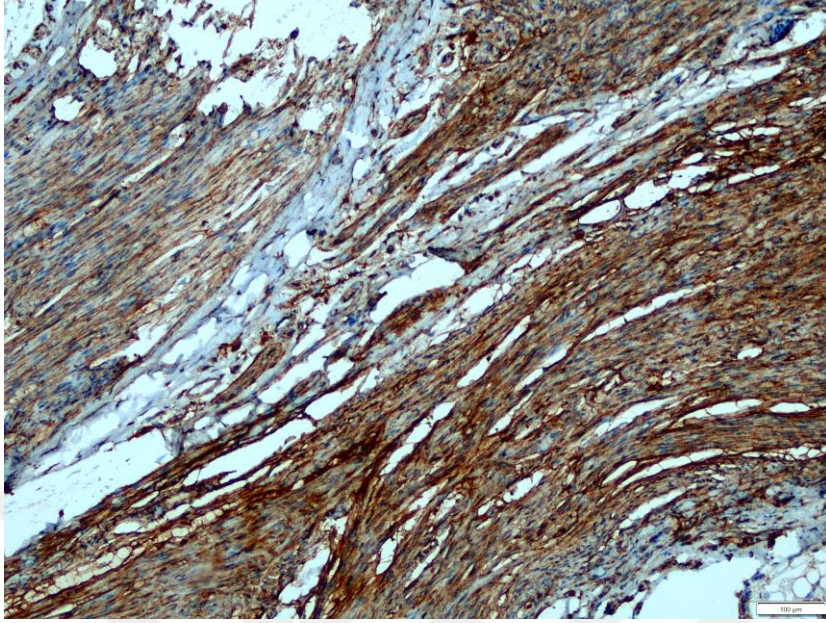
Şekil 35. A grubu neurofilament Immünfloresan boyama. Siyatik sinirler arası akson filizleri



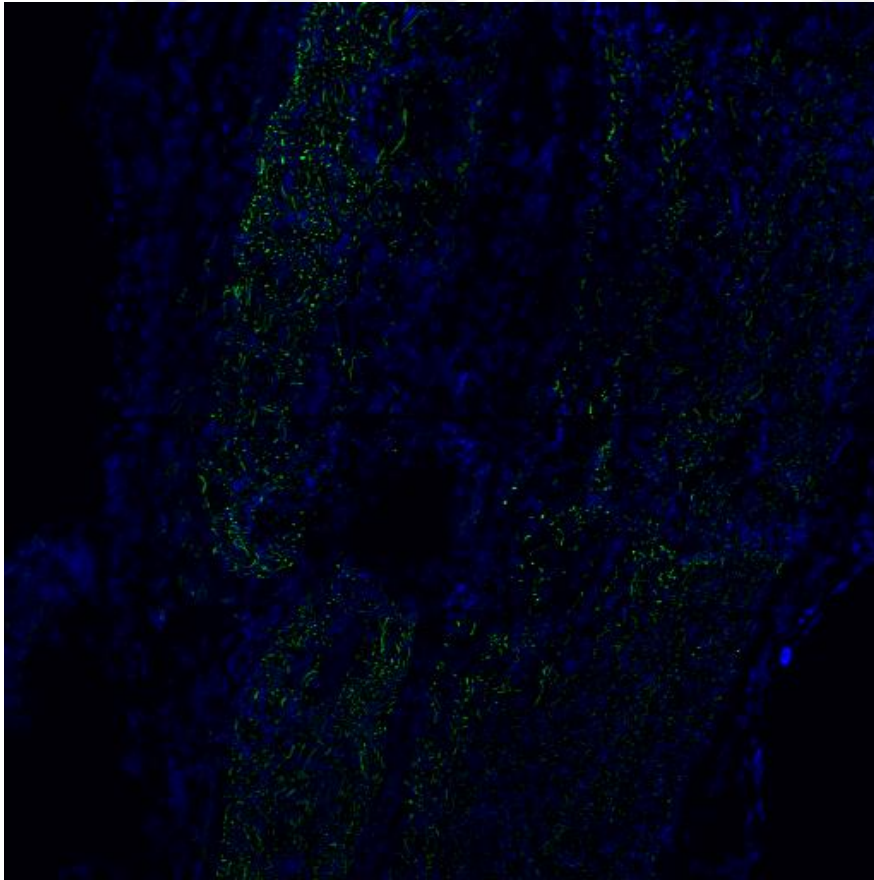
Şekil 36. A grubu laminin immünfloresan boyama



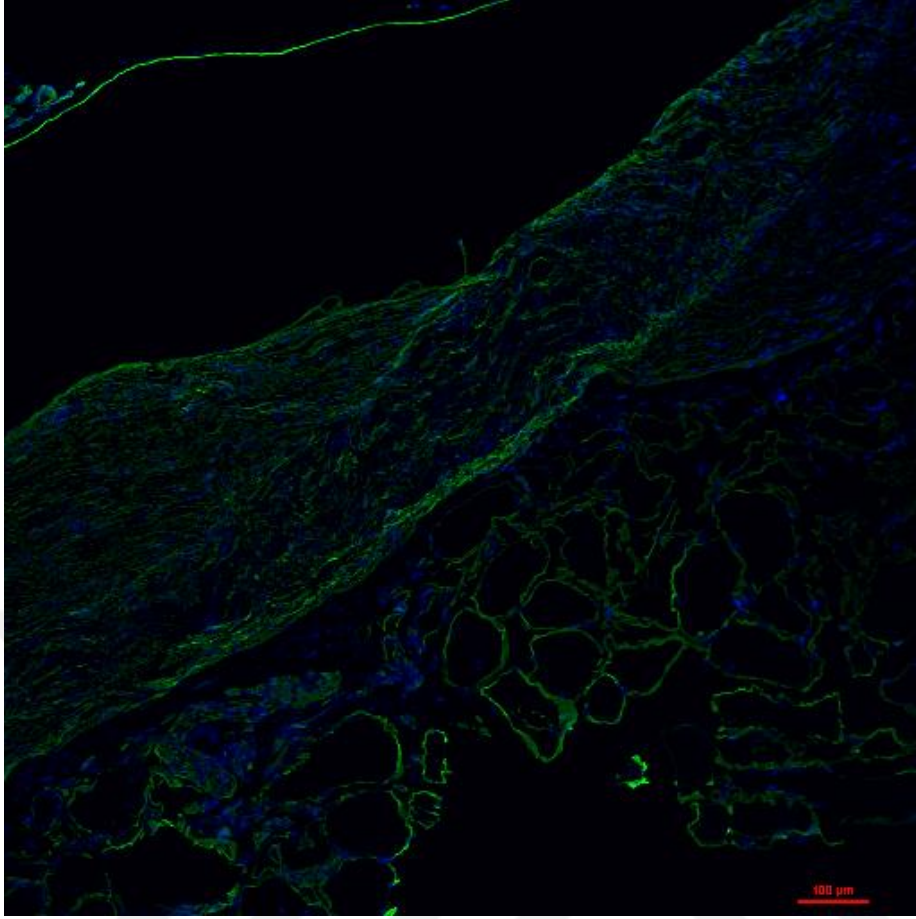
Şekil 37. A grubu neurofilament immünohistokimya boyama



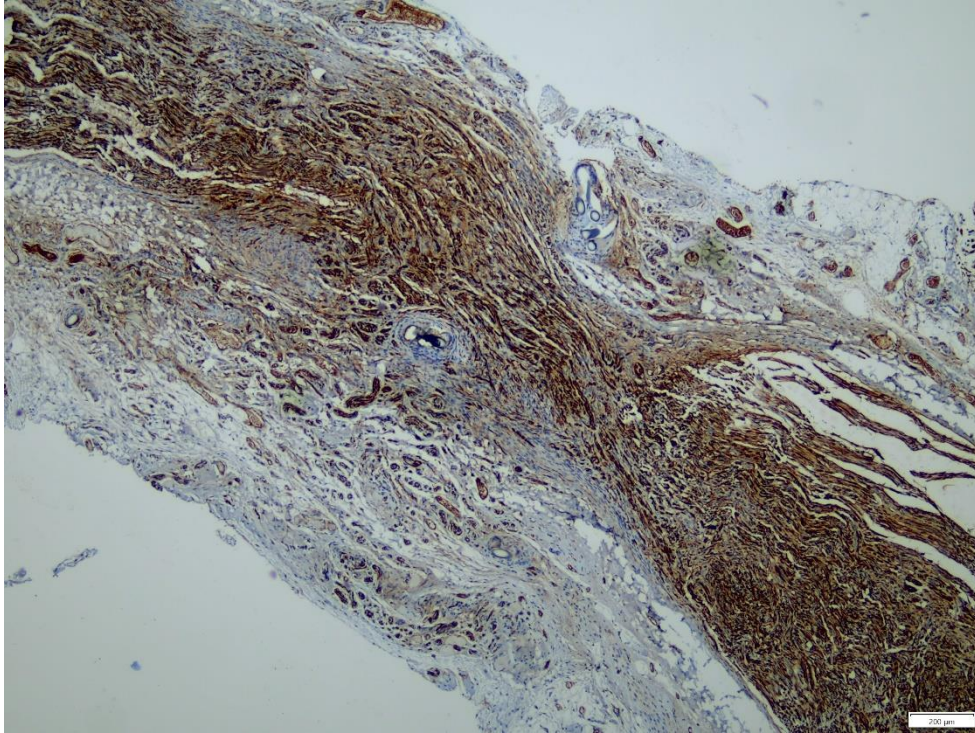
Şekil 38. A grubu laminin



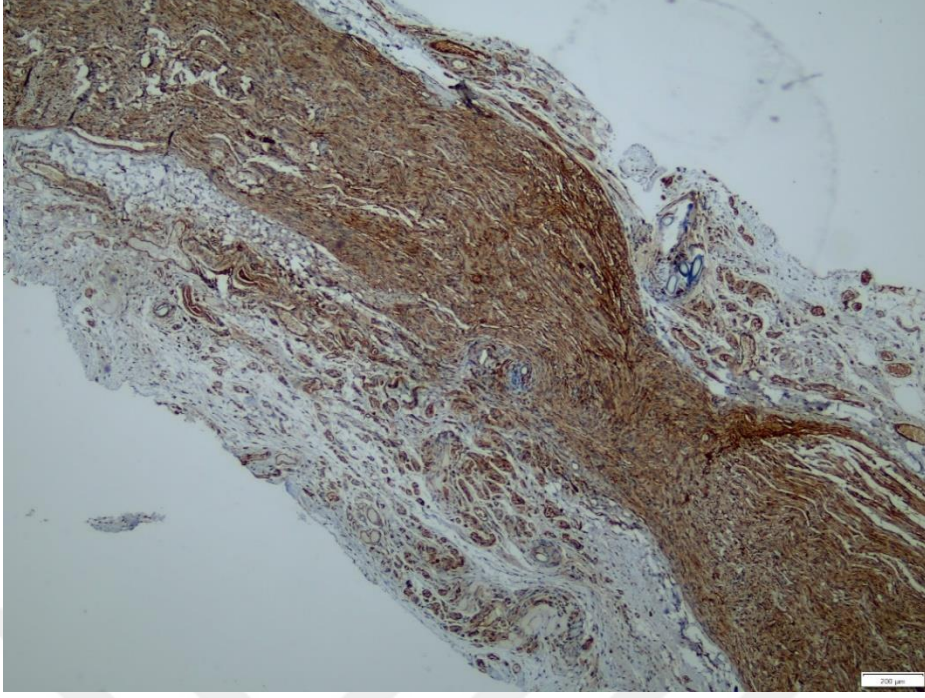
Şekil 39. B grubu neurofilament Immünfloresan boyama.



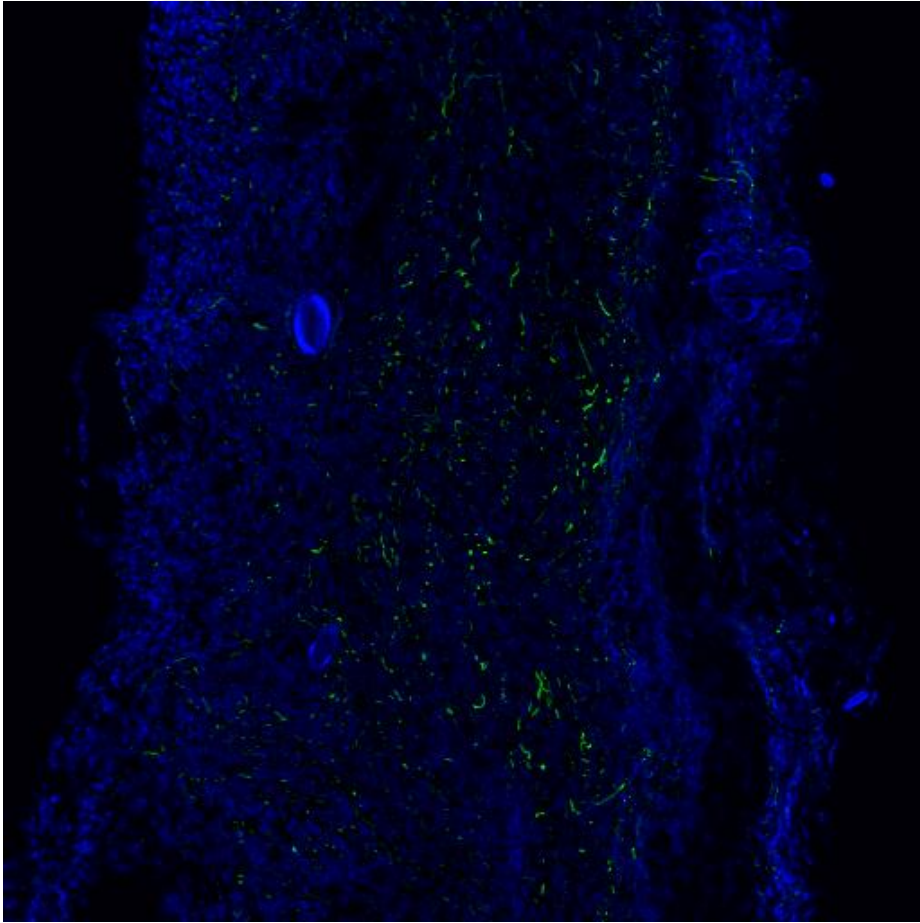
Şekil 40. B grubu laminin Immünfloresan boyama



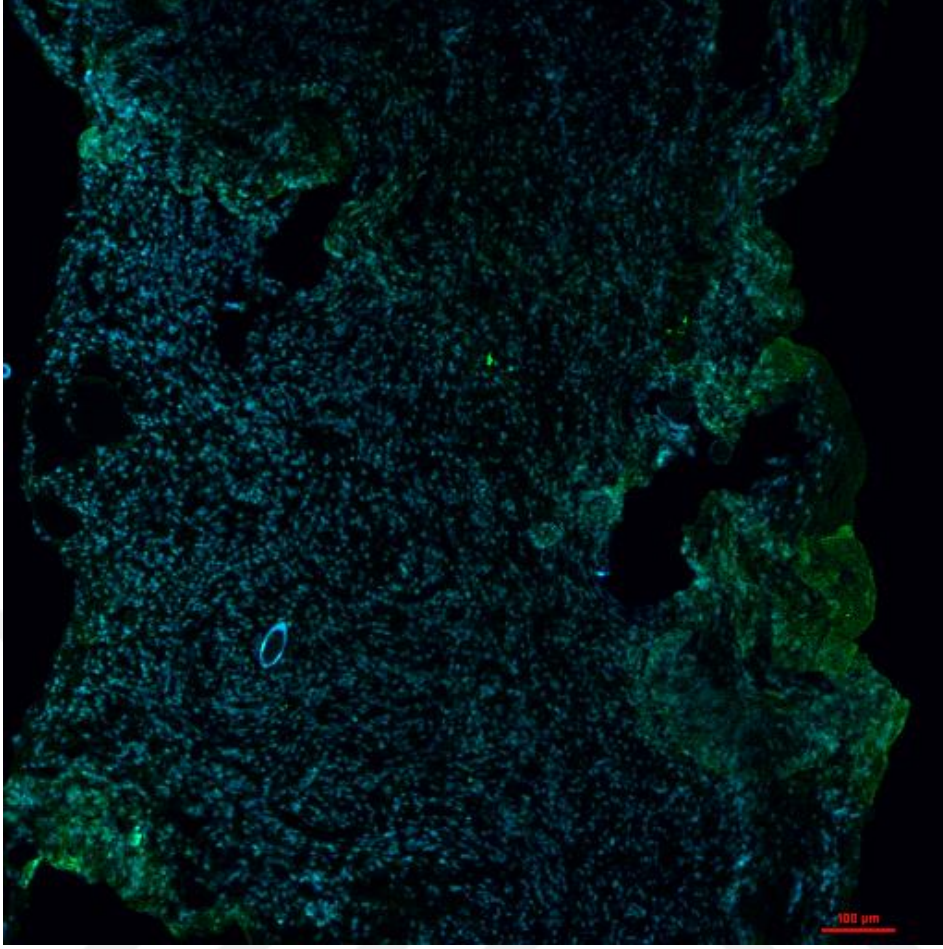
Şekil 41 B grubu neurofilament immünohistokimya boyama



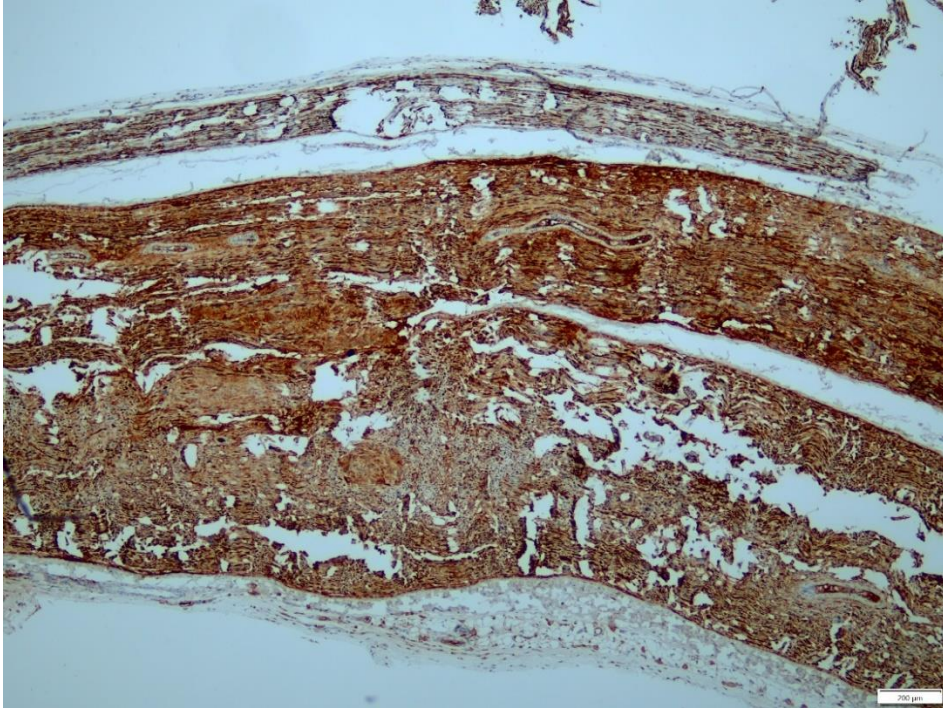
Şekil 42. B grubu laminin immünohistokimya boyama



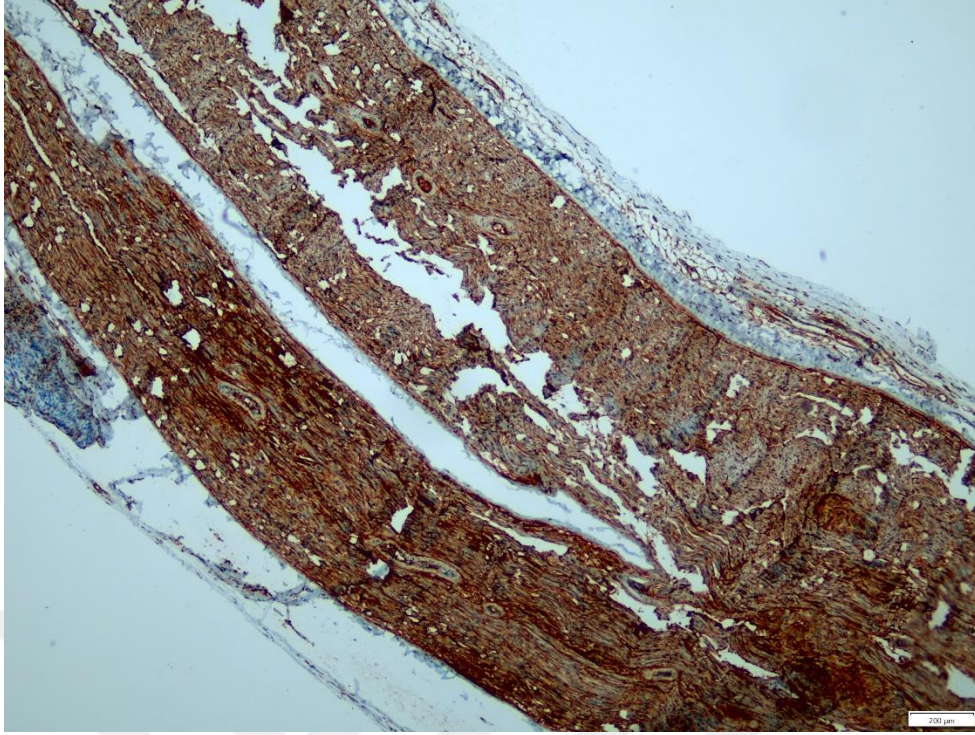
Şekil 43. C grubu neurofilament Immünfloresan boyama



Şekil 44. C grubu laminin immünfloresan boyama

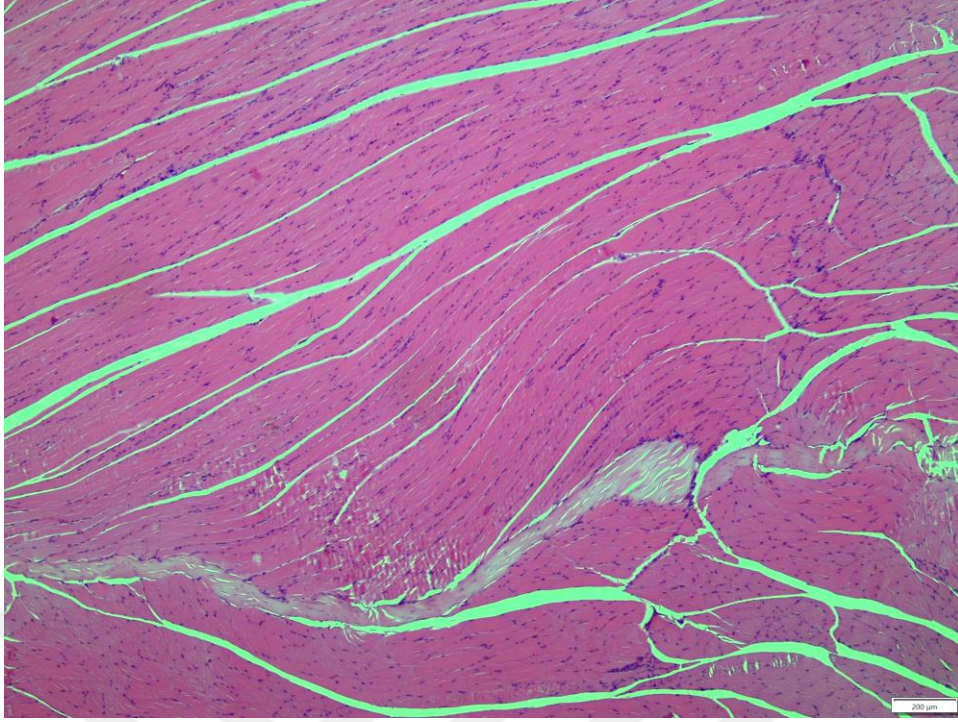


Şekil 45. C grubu neurofilament immünohistokimya

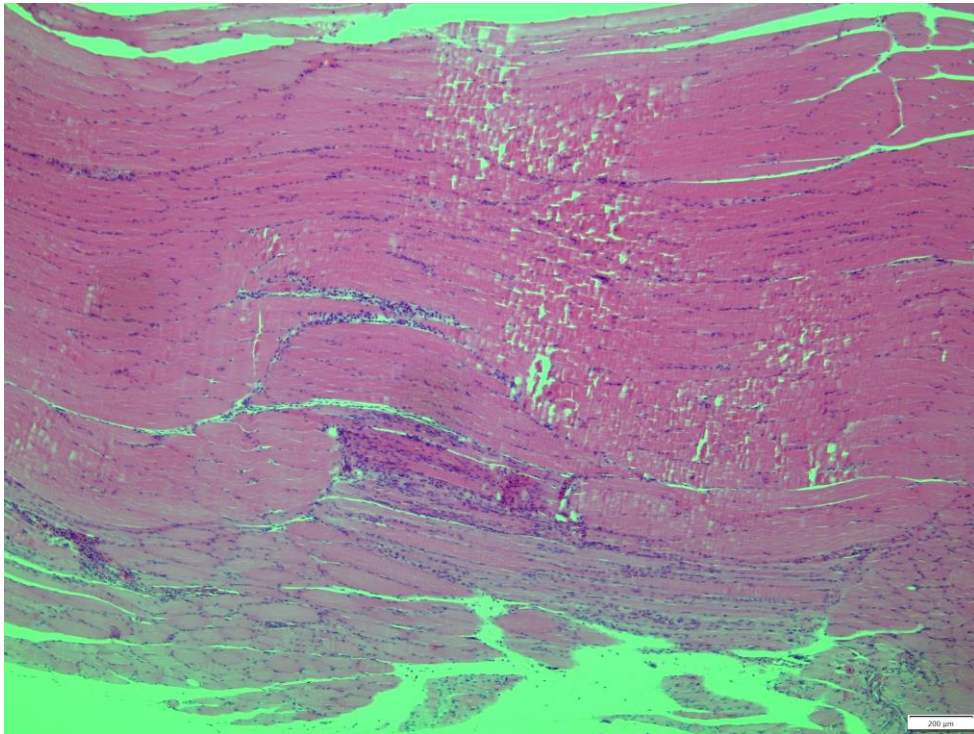


Şekil 46. C grubu laminin immünohistokimya boyama

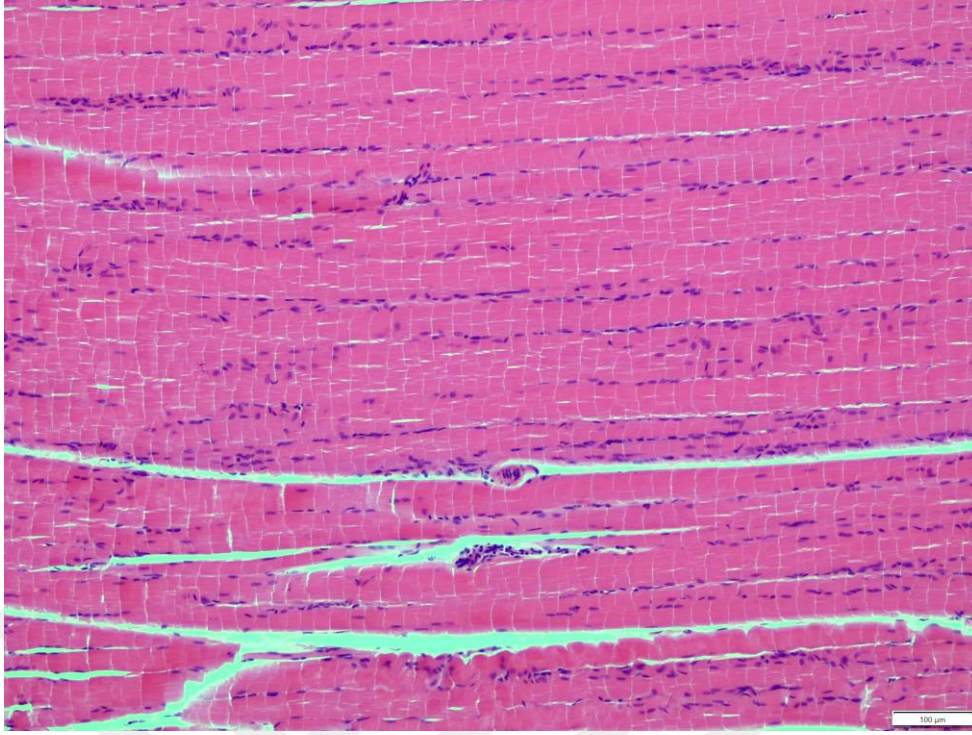
Hematoksilen-eozin ile boyalı Gastrocnemius kas kesitlerinin histopatolojik incelemelerinde hiyalin dejenerasyonları (şekil 47-49) ve kas liflerinde bantlaşmalarda kopmaların ya da ayrılmaların olduğu (şekil 47-49) ayrıca bazı kas lifleri arasında eozinofil granülosit infiltrasyonları, bazı kas lifleri arasında ise mononükleer hücre infiltrasyonları görüldü (şekil 47-49). Kas liflerinde bantlaşmalarda kopmaların ya da ayrılmaların gruplar arasında en şiddetli C grubunda olduğu görülürken, A grubunun ise B grubuna göre daha şiddetli olduğu gözlemlendi.



Şekil 47. A grubu Hematoksilen-eozin ile boyalı Gastrokinemius kas kesitlerinin histopatolojik incelemeleri. hiyalin dejenerasyonları, kas liflerinde bantlaşmalarda oluşan kopma ve ayrılmalar ,kas lifleri arasında eozinofil granülosit infiltrasyonları, ,bazı kas lifleri arasında ise mononükleer hücre infiltrasyonları



Şekil 48. B grubu Hematoksilen-eozin ile boyalı Gastrokinemius kas kesitlerinin histopatolojik incelemeleri.



Şekil 49. C grubu Hematoksilin-eozin ile boyalı Gastrokinemius kas kesitlerinin histopatolojik incelemeleri.

Tablo 6 Skar oluşumu ve akson yoğunluğu şiddetine göre sıçan sayıları

Gruplar		A	B	C
Skar oluşumu	Hafif(1)	1	1	2
	Orta(2)	3	2	3
	Şiddetli(3)	6	7	5
Skar dokusu akson yoğunluğu	Hafif	1	1	2
	Orta	3	2	4
	Şiddetli	6	7	4
Distal uçtaki akson yoğunluğu	Hafif	0	0	1
	Orta	2	1	3
	Şiddetli	8	9	6
Proksimal uçtaki akson yoğunluğu	Hafif	0	0	0
	Orta	1	0	0
	Şiddetli	9	10	10

4.TARTIŞMA

Periferik sinir yaralanmalarında onarım standart bir prosedür kabul edilen uc uca nörorafi ile yapılmaktadır; ancak bu onarım tekniğinde sonuçlar her zaman yüz güldürücü olmamaktadır. Proksimal tam sinir yaralanmalarında (Sunderland IV ve V derecesi), distal kasın yeniden sinirlendirilmesine kadar geçen sürenin uzaması, atrofi ve fibrozis ile sonuçlanır ve kasın yeniden sinirlendirmeye yanıt vermemesine neden olur. Sonuç olarak zayıf fonksiyonel iyileşme meydana gelebilir. Rekonstrüktif amaç, maksimum sayıda akson-uç plaka bağlantısını mümkün olan en kısa sürede yeniden

kurmaktadır. Bu yaralanmalar için uçtan uca (ETE) sinir transferleri son zamanlarda primer onarım veya greftlemeye alternatif olarak popüler hale gelmiştir. Bununla birlikte, tamamlanmamış yaralanmalar durumunda (Sunderland II ve III derece), ETE transferi, doğal, yenilenen aksonlardan iyileşme olasılığını ortadan kaldıracaktır. ETE transferinde duyusal iyileşme tipik olarak motor iyileşmeden daha başarılıdır[65]. Bir miktar iyileşme olasılığı bulunan bu süreklilik arz etmeyen yaralanmalar için, harcanabilir normal bir sinirin denerve sinirin olduğu tarafa transferi potansiyel olarak fonksiyonu artırabilir.

Yenilenen aksonların büyümesi çeşitli faktörlerden etkilenir; örneğin çevresel ortam[66], yaralanma noktası ile hedef organ arasındaki mesafe, yeniden innervasyon için gereken süre[29, 67],sinirin kendi doğası[68] diğer örnekler olarak verilebilir. Periferik sinir hasarından sonra fonksiyonel iyileşme, ağırlıklı olarak yeniden sinirlenme süresinden ve yenilenen motor aksonların sayısından etkilenir. Sinir rejenerasyonunun istenen seviyede olmadığı durumlarda, hedef organların reinnervasyonu gecikir ve yenilenen aksonların sayısı sınırlanır, bu da fonksiyonel iyileşmenin zayıf olmasına neden olur. Denerve kasların atrofisini önlemek için çeşitli yöntemler tariflenmiştir[66, 69, 70], ancak az sayıda çalışma, başka bir sinirin donör olarak kullanılmasıyla denerve hedeflerin fonksiyonel iyileşmesinin desteklenip desteklenmediğini araştırmıştır. Eksik rejenerasyonun beklendiği sinir yaralanmaları için, ters uçtan uca (RETS) sinir transferi, yenilenen sinirin ek aksonlarla güçlendirilmesi ve hedef kasın daha hızlı yeniden sinirlendirilmesi için yararlı olabilir. Teorik olarak RETS sinir transferi, yenilenen siniri güçlendirmek için ek motor aksonlar sağlayabilir ve ayrıca kasın orijinal motor sinirinden gelen doğal aksonlar yenilenene kadar hedef kasa "bebek bakıcılığı" (babysitting) yapmak için daha erken kas reinnervasyonu sağlayabilir.

2011 yılında yayınlanan bir vaka raporunda daha önce kübital tünel sendromu nedeniyle kübital tünel ve guyon kanalı gevşetme yapılan ve cerrahi sonrası ulnar sinir duyu ve motor kayıp gelişmiş olduğu tespit edilmiştir. Ardından başka bir merkezde hastaya ikincil cerrahisi yapılmış olup hastanın kübital tünel ve guyon kanalında şiddetli kompresyon alanları görülmüş. Gevşetmeler yapılmış intrinsik kasların fonksiyonunun iyileşmesinin olmayacağı düşünülerek ulnar sinire AIN siniri süpercharge yöntemiyle transferi yapılmıştır. 12 aylık takipte ulnar sinir motor fonksiyona kavuşmuştur. Bu çalışma deneysel süpercharge çalışmalarının klinik kullanımına örnek olarak verilebilir.[55] Yüksek ulnar sinir yaralanması olan klinik vakalarda bazı intrinsik kas fonksiyonlarının iyileşmesinde yararlı olduğu gösterilmiştir[71].

Yaralanan sinirlerin fonksiyonel iyileşmesini iyileştirmek ve denerve kas atrofisini önlemek için, alıcı siniri ters uç yan nörorafi süpercharge tekniği ile (başlangıçta uçtan uca nörorafi kullanılarak onarılmış), ek bir donör sinir olarak yaralanma noktasına kadar başka bir sinirden gelen aksonları bir grupta lezyon proksimalinden diğer grupta lezyon distalinden yenileyerek güçlendirdik. Bu aşırı yükleme tekniğinin amacı, yenilenen aksonları güçlendirmek ve hedef organları daha erken yeniden sinirlendirmektir.

Bu çalışmada, sinir lezyonlarında(özellikle kronik) bir onarım yöntemi olan supercharge işleminin lezyon proksimalinden uygulanması halinde lezyon distalinden

yapılan supercharge işlemine göre sonuçlarını fonksiyonel ve histopatolojik olarak karşılaştırmak amaçlanmıştır. Dikkat edilmesi gereken nokta, bu prosedürlerin klinik pratikte gerçekleştirilme şekli farklı olarak, koaptasyonu sinir hasarından hemen sonra gerçekleştirdik. Kafa karıştırıcı faktörlerden kaçınmayı amaçlayan çeşitli teknik nedenlerden dolayı deneyleri bu şekilde yürütmeyi tercih ettik. Sonuçları etkileyebilecek herhangi bir potansiyel müdahaleden kaçınmaya çalıştık. Aynı zamanda pratikte mümkün olduğu kadar her adımda tutarlı olmaya çalıştık.

Çalışmada kullanılan parametreler standart hale getirilerek sadece supercharge yönleri(lezyon distal/proksimal) değiştirildi. Supercharge seviyesinin sinir iyileşmesine etkisi araştırıldı. Histopatolojik ve fonksiyonel analizlerle sonuçlar değerlendirildi. Fonksiyonel değerlendirmede hem duyu hem motor fonksiyonların değerlendirilmesi amaçlanmış olup bunun için itme kuvveti testi, sıcak zemin testi, pinprick testi, gastrokinemius ağırlık oranları değerlendirilip karşılaştırma yapıldı. Histopatolojik değerlendirmede özellikle sinir iyileşmesindeki skar dokusu şiddeti, akson yoğunluğu, proksimal ve distal akson sayıları oranı değerlendirildi ve gruplar arası karşılaştırmalar yapıldı.

Sonuçlar değerlendirildiğinde itme kuvveti oranı açısından gruplar karşılaştırıldığında distal ve proksimal süpercharge yapılan gruplarının değerlerinin uc uca onarım yapılan gruba göre anlamlı şekilde yüksek olduğu görüldü. Distal ve proksimal süpercharge kendi arasında değerlendirildiğinde distal süpercharge in proksimale göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulundu. İtme kuvvetinin motor fonksiyonu gösterdiği göz önüne alındığında motor fonksiyon açısından yapılan süpercharge işlemlerinin uc uca onarıma göre anlamlı olarak motor fonksiyon iyileşmesine katkısı olduğu saptanmıştır. Gastrokinemius ağırlıkları karşılaştırıldığında gruplar arası anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Sıcak zemin testi ve pin prick testi duyu fonksiyonlarını değerlendirmek için kullanıldı. Sıcak zemin testi sonuçları karşılaştırıldığında gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı saptandı. Pin prick testi skorları karşılaştırıldığında gruplar arası istatistiksel farklılık olmadığı saptandı. Bunun sebebi sıcak zemin testinde sürelerin normal dağılım göstermemesi, nonparametrik değerlendirme yapılması, pin prick testinde nominal veriler kullanılması, denek azlığı olarak değerlendirildi. Sonuç olarak duyu fonksiyon açısından gruplar arası anlamlı farklılık saptanmadı.

Histolojik olarak siyatik sinir ve gastrokinemius kas kesitleri hematoxilen-eozin (HE) ve alınan sinir dokuları ayrıca toluidine blue ile boyandı. Toluidine blue kullanılarak boyamaları yapılan sinirlerin A grubunda proksimalde süpercharge proksimalindeki, distalde ise onarım alanı distalindeki; B grubunda distalde süpercharge distalindeki, proksimalde onarım hattı proksimalindeki, C grubunda onarım hattı distal ve proksimalindeki(immünfloresan, İHC kesitlerini etkilemeyecek şekilde) enine kesitlerde total aksonların sayımları NIS-Elements yazılımı kullanılarak sinir örnekleri için ayrı ayrı hesaplandı. Ardından “her bir gruptaki sinir örnekleri için” distaldeki total akson sayısı, proksimaldeki total akson sayısına bölünerek oranlama yapıldı. Bu oranlama “akson sayısı değişim indeksi (ASDİ)” olarak adlandırıldı. ASDİ karşılaştırıldığında B grubunda diğer gruplara göre iyileşmenin istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu; A grubunda ise iyileşmenin C grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulundu.

Hematoksilen-eozin (HE) ile boyalı kesitlerin histopatolojik incelemelerinde siyatik sinir hasarı modelinin iyileşmesinde skar oluşumu ve yangısal reaksiyon oranı belirlendi. Gastrocnemius kaslarda ise dejenerasyon, nekroz ve yangısal reaksiyonlar değerlendirildi. Histopatolojik değişikliklerin derecelendirilmesinde skar oluşumu şiddetine göre; hafif şiddette/az sayıda lezyon 1, orta şiddette/orta sayıda lezyon 2, şiddetli/çok sayıda lezyon 3 olarak skorlandı. Histolojik boyamalardan elde edilen bulgularda skar oluşumu, skar dokusu akson yoğunluğu, proksimal ve distal akson yoğunlukları değerlendirildiğinde gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmasa dahi değer olarak B grubunda değerlerin daha yüksek olduğu bunu A grubunun takip ettiği görüldü. İstatistiksel olarak anlamlı verilerin çıkmaması parametre olarak nominal değerlerin kullanılması gösterilebilir.

İmmunfloresan ve immunohistokimyasal olarak neurofilament ve laminin boyamalarında onarım bölgesinde akson yoğunlukları ve sinirler arası lif geçişleri değerlendirildi. Akson yoğunlukları gruplararası anlamlı fark göstermedi, ancak B ve A grubunda yoğunluklar C grubuna göre daha yüksek olduğu görüldü. Akson yoğunlukları,skar oluşumu, skar dokusu akson yoğunluğu değerleri arasında gruplararası anlamlı farklılığın oluşmaması nominal bir değerlendirilme yapılmasına bağlanabilir. Yapılan immünfloresan incelemelerde süpercharge yapılan A ve B grubunda sağ siyatik sinirlerden sol siyatik sinirlere epinöral pencere aracılığıyla akson aktarımının olduğu gösterilmiştir. Floresan boya etiketleme kullanarak aksonların hem donör hem de alıcı (yenilenen) sinirlerden aşağı geçişini gösterdik. Elde edilen veriler, yenilenen bir sinirin yan tarafına implante edilen aksonların fonksiyonel innervasyon sağlayacağı kavramını desteklemektedir..Histopatolojik incelemeler çalışmaya kör bir patolog tarafından gerçekleştirildi.

Standart uçtan uca nörorafi tekniğine ek olarak ters uçtan yan nörorafi kullanılarak yapılan sinir onarımının, denerve kas ve duyu fonksiyonunun iyileşmesini desteklediğini ortaya koydu. Verici sinirden gelen yenilenen aksonlar, epinöral pencereden yaralı alıcı sinirin perinöryumuna nüfuz etti ve toplam sayıları nispeten az olmasına rağmen erken aşamada distal yönde uzadı. Bu penetrasyon, hedef organların erken aşamada hem donör hem de alıcı sinir tarafından iki kez innerve edildiğini gösterdi. Ayrıca, alıcı sinirin uç-yan koaptasyonunun distalinde, bu teknik kullanılarak yenilenen aksonlar güçlendirildi. Bu bulgular Grup A ve B deki daha iyi fonksiyonel iyileşmeyi açıklayabilir. Ratlar itme kuvveti oranı açısından istatistiksel olarak değerlendirildiklerinde B grubu itme kuvveti oranı A ve C gruplarına kıyasla anlamlı olarak daha iyi olduğu saptandı ($p<0,05$). A ve C grupları karşılaştırıldığında A grubu itme kuvveti oranının C grubuna kıyasla anlamlı olarak daha iyi olduğu saptandı. ($p<0,05$)

Epinöral pencereci veya epinöral penceresiz uçtan-yana nörorafi (ilk olarak Viterbo ve ark. tarafından tanımlanmıştır[72], donör sinir fonksiyonunda bozulma olmaksızın önemli fonksiyonel yeniden sinirlenme elde etmek için distal yaralı sinirin sağlam bir sinirin lateral yüzeyine transferini ifade eder. . Ters uçtan uca transfer (veya nörotizasyon) ilk olarak Isaacs ve ark. tarafından tanımlandı ve artık "süper şarj" uçtan uca transfer olarak biliniyor[73]: yakındaki sağlam bir sinir (motor, duyuusal veya

karışık sinir) kesilir ve yaralı sinirin distal bölümünün yan yüzeyine aktarılır. SETS transferlerinin doğal olarak onarılan sinirden yenilenen aksonları potansiyel olarak arttırdığı ve böylece daha iyi bir fonksiyonel iyileşme sağladığı kanıtlanmıştır.

Ters uç yan nörorafiyi(supercharge) kullanan sinir rekonstrüksiyon konsepti bazı yazarlar tarafından rapor edilmiştir. Isaacs ve arkadaşları[2], alıcı sinirin yaralanması ve alıcı kasın denerve olması durumunda, donör aksonlarının hasarlı alıcı sinirin epinöral penceresine girebileceğini ve başarılı bir şekilde kasın yeniden sinirlenmesini sağlayabileceğini belirtti. Alıcı sinir yaralanmasaydı ve alıcı kas denerve olmasaydı ek bir innervasyon oluşmazdı. Sundine ve arkadaşları[74], uç yan koaptasyonun, klinik olarak anlamlı büyük hayvan modelinde kontralateral eşzamanlı göz kırpmasına neden olabileceğini gösterdi. Bu araştırmacılar, aynı taraftaki fasiyal sinir yerine kontralateralin palpebral (zigomatik) dalını kullanarak uç-yan koaptasyon kullanarak sinir onarımı gerçekleştirdiler. Yamamoto ve meslektaşları[75] yüz felcinin yeniden canlandırılması için sinir çaprazlama ve çapraz sinir greftlemenin kombine tekniğini kullanarak sinir rekonstrüksiyonunu içeren bir vakayı bildirdiler. Frey ve arkadaşları[76] gülümsemeyi etkileyen geri dönüşümsüz inkomplet yüz felci olan hastalar için çapraz yüz sinir grefti ve distal uç-yan nörorafiyi önermişlerdir. Bu supercharge tekniği, geri dönüşü olmayan inkomplet felç için yararlı olabilir. Birçok araştırmacı, ters uç-yan nörorafi kullanılarak daha etkili ve daha erken nöral rejenerasyonun beklendiğini belirtmiş ve ters uç-yan koaptasyondan yenilenen aksonların epinöral pencereden alıcı sinire girerek hedef kasları yeniden sinirlendirdiğini bildirmiştir.

Alıcı sinirin proksimal güdüğü mevcut değilse, sıklıkla uç uca nörorafi kullanılarak geleneksel sinir transferi gerçekleştirilir. Erken reinnervasyon açısından, çalışmamızda gösterdiğimiz aksonal süperşarj teknikleri ile karşılaştırıldığında, geleneksel sinir transfer tekniği hedefi daha erken reinnerve edebilir. Ancak, geleneksel sinir transferinde, hedef organlar orijinal sinir tarafından değil, donör sinir tarafından innerve edilir ve sıklıkla donör ve alıcı sinirler arasındaki fonksiyonel farklılıklar nedeniyle fonksiyonel iyileşmenin zayıf olmasına neden olur.yakın zamanda yapılan bir çalışmada uzun sinir grefti kullanılarak yapılan bir sinir onarımında sinir greftinin proksimal ve distal bölgelerine ayrı ayrı supercharge yöntemi ile ters uç yan nörografi uygulanmış olup, proksimal ve distal transferler karşılaştırıldığında histomorfometrik analizde anlamlı bir fark görülmezken, kas aksiyon potansiyeli ve tetanik kontraksiyon sonuçları transferin proksimalden yapılmasında avantaj sağladığını gösterdi[77]. Nitekim yaptığımız çalışmada histopatolojik olarak akson sayıları hem distal hem proksimal süpercharge gruplarında anlamlı sonuçlar vermiş, skar ve lezyon bölgesi akson yoğunlukları gruplar arası benzer çıkmıştır. Fonksiyonellik göstergesi olan itme kuvveti oranı da süpercharge gruplarında anlamlı çıkmıştır. Bu çalışmanın amacı, standart onarım prosedürünün (uç uca nörorafi) sağladığı zayıf fonksiyonel iyileşmeyi artırmak ve böylece hem proksimal hem distal supercharge ile sinirin fonksiyonunu korumak ve artırmaktır.

Klinik pratikte donör sinir seçimini iki faktör belirler: Donör sinir, alıcı sinire fonksiyonel olarak antagonist olmamalıdır ve daha önemlisi, donör sinirinin kesilmesinden kaynaklanan fonksiyonel eksiklik göz önünde bulundurulmalıdır. Aday donör sinirin sıklıkla alıcı sinir transferi için kullanılan bir sinir olması arzu edilir; örneğin rekürren laringeal sinir rekonstrüksiyonu için donör sinir olarak ansa servikalis[78], fasiyal sinir rekonstrüksiyonu için hipoglossal sinir[79], ve yaralanan

muskulokutanöz sinir için frenik sinir[80]. Literatürde antagonist[81] sinir kullanan çalışmalar olmasına rağmen çalışmamızda agonist etkide sinir transferi yapmamız fonksiyonellik açısından olumlu değerlendirilebilir. Gerçek anlamda antagonistik bir sinir transferi durumunda, uygun doğal aksonların yenilenmesi için zaman bulduktan sonra, RETS'in bağlantısı kesilebilir, böylece antagonist motor aksonlar, doğal motor aksonlara karşı uç plakayı işgal eden bir blok olarak hareket etmeyecektir (örn. , proksimal frenik sinir onarımından sonra diyaframı korumak için frenik sinire RETS interkostal sinir transferi)[82].

Ayrıca çalışmamızda sinir transferinde kullanılan donör sinir alıcı sinirle aynı büyüklükte, aynı fonksiyona sahipti. Donör sinirin alıcı sinire göre daha küçük ve antagonist etkide olduğu diğer çalışmalara göre çalışmamızdaki avantaj olarak değerlendirilebilir[83, 84].

SETS transferinin (supercharge) denerve kasa yakınlığı nedeniyle, bazı yazarlar SETS'in motor aksonları hedef uç plakaya NIC aracılığıyla rejener aksonlardan daha erken sağladığına inanmaktadır[84]. Çalışmamızda da distal supercharge yapılan B grubunun fonksiyonel ve histolojik bulgularda anlamlı üstünlük bulunması buna bağlanabilir. Zamanında motor son plak reinervasyonu, orijinal motor ünite sayısının yarısından daha azı tarafından sağlansa bile önemli kas iyileşmesini sağlayabilir[85]. Distal SETS koaptasyonunun varlığı, NIC segmentindeki nöronal rejenerasyon üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olabilir ve daha fazla araştırma gerektirir[86].

Bu çalışmada, yaralanan sinirin distalinde ve proksimalinde ters uç-yan nörorafinin eklenmesinin etkisini araştırdık. Bu supercharge tekniği, hedef kasın kasılma kuvvetini arttırdı ve histopatolojik olarak anlamlı sonuçlar ortaya çıkardı. Bildiğimiz kadarıyla bu aşırı yükleme tekniğini kullanan bir nöronal kaynağın sinir grefti kullanmaksızın hem proksimal ve hem distalden eklenmesinin, sinirleri bozulmuş hedef organların iyileşmesini desteklediğini gösteren ilk rapordur. Bu çalışmamızın fonksiyonel ve histolojik olarak yapılan inceleme ve karşılaştırılmalarının literatüre katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda bazı kısıtlılıklar bulunmaktadır. Yaptığımız çalışmada 30 adet rat kullanılmış olup yapılan benzer supercharge çalışmalarında daha fazla rat kullanıldığı görülmüştür[87]. Bu durum bazı sonuçların istatistiksel olarak anlamlı çıkmamasına neden olmuş olabilir. Periferik sinir hasarlarından sonra rejenerasyon hızı 1mm/gün olarak kabul edilmektedir[88]. Ratlarda rejenerasyon hızı 2-3mm/gün olarak tahmin edilmektedir[89].12 haftalık takip süresi siyatik sinir hedef organ arası mesafe hesaba katıldığında iyileşme için yeterli görülebilmektedir. Ancak rejenerasyon ve duysal fonksiyonel iyileşme daha uzun süre alabildiği ve bazı testlerde anlamlı farklılık görülmemesi takip süresi açısından kısıtlılıklar arasında değerlendirilebilir. Elektrofizyolojik incelemelerin fonksiyonel sonuçlar ile korelasyonu ile ilgili tartışmalı düşünceler [90] olmasına rağmen çalışmanın başarısını göstermesi açısından aydınlatıcı olabilecek elektromiyografi incelemesi çalışmamızda yapılmadı. Fonksiyonel testler başlangıç ve sakrifikasyon öncesi yapılmak yerine haftalık olarak yapılabilirdi. Çalışmamızın bir kısıtlılığı da, yalnızca acil proksimal ve distal SETS transferini çalışmış olmamızdır, oysa klinik durumlarda SETS genellikle gecikmiş bir şekilde gerçekleştirilir, bu nedenle gelecekte gecikmiş SETS'deki motor nöron kaynağını deneysel olarak değerlendirmek ilgi çekici olacaktır.

5.SONUÇ ve ÖNERİLER

Daha önceki çalışmalarda denerve hedeflerin fonksiyonel iyileşmesinin, ters uç-yan nörorafi kullanılarak distalden yapılan aksonal güçlendirme yoluyla desteklendiğini göstermiştir. Bu çalışmanın sonucunda aksonal güçlendirmede proksimalden yapılan ters uç yan nörorafi(süperşarjın) distalde bulunan sinir yaralanmalarında kullanımının yararlı olduğunu düşündürmektedir, ancak klinik uygulanabilirliği henüz araştırılmamıştır.

Acknowledge

İmmunfloresan resimlerin konfokal mikroskopta çekimi için Selçuk Üniversitesi İleri Teknoloji Müdürlüğü İLTEK çalışanlarına teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. Li, R., et al., *Peripheral nerve injuries treatment: a systematic review*. Cell Biochem Biophys, 2014. **68**(3): p. 449-54.
2. Isaacs, J., et al., *Reverse end-to-side neurotization*. J Reconstr Microsurg, 2005. **21**(1): p. 43-8; discussion 49-50.
3. Goldstein, B., *Anatomy of the peripheral nervous system*. Phys Med Rehabil Clin N Am, 2001. **12**(2): p. 207-36.
4. Wang, M.L., et al., *Peripheral nerve injury, scarring, and recovery*. Connective Tissue Research, 2019. **60**(1): p. 3-9.
5. Kim, H.A., T. Mindos, and D.B. Parkinson, *Plastic fantastic: Schwann cells and repair of the peripheral nervous system*. Stem Cells Transl Med, 2013. **2**(8): p. 553-7.
6. Brosius Lutz, A. and B.A. Barres, *Contrasting the Glial Response to Axon Injury in the Central and Peripheral Nervous Systems*. Developmental Cell, 2014. **28**(1): p. 7-17.
7. Chen, B., et al., *Analysis of Schwann Cell Migration and Axon Regeneration Following Nerve Injury in the Sciatic Nerve Bridge*. Frontiers in Molecular Neuroscience, 2019. **12**.
8. Geuna, S., et al., *Chapter 3 Histology of the Peripheral Nerve and Changes Occurring During Nerve Regeneration*, in *International Review of Neurobiology*. 2009, Academic Press. p. 27-46.
9. Tona, A., et al., *Extracellular matrix in regenerating rat sciatic nerve: a comparative study on the localization of laminin, hyaluronic acid, and chondroitin sulfate proteoglycans, including versican*. Journal of Histochemistry & Cytochemistry, 1993. **41**(4): p. 593-599.
10. Kristensson, K. and Y. Olsson, *The perineurium as a diffusion barrier to protein tracers*. Acta Neuropathologica, 1971. **17**(2): p. 127-138.
11. Reina, M.A., et al. *Ultrastructure of the Endoneurium*. 2015.
12. Gao, Y., C. Weng, and X. Wang, *Changes in nerve microcirculation following peripheral nerve compression*. Neural Regen Res, 2013. **8**(11): p. 1041-7.
13. Boissaud-Cooke, M., T.E. Pidgeon, and R. Tunstall, *Chapter 37 - The Microcirculation of Peripheral Nerves: The Vasa Nervorum*, in *Nerves and Nerve Injuries*, R.S. Tubbs, et al., Editors. 2015, Academic Press: San Diego. p. 507-523.
14. Deumens, R., et al., *Repairing injured peripheral nerves: Bridging the gap*. Prog Neurobiol, 2010. **92**(3): p. 245-76.
15. Fu, S.Y. and T. Gordon, *The cellular and molecular basis of peripheral nerve regeneration*. Mol Neurobiol, 1997. **14**(1-2): p. 67-116.
16. Alexander, E., *Peripheral Nerve Injuries*. Medical Research Council Special Rept. Ser. No. 282. H. J. Seddon, Ed. Her Majesty's Stationery Office, London, 1954. xvi + 451 pp. Illus. £2 15s. Science, 1955. **122**(3162): p. 250-250.
17. Sunderland, S., *Rate of regeneration of sensory nerve fibers*. Arch Neurol Psychiatry, 1947. **58**(1): p. 1-6.
18. Ni, L., et al., *Electrical stimulation therapy for peripheral nerve injury*. Frontiers in Neurology, 2023. **14**.
19. Slutsky, D.J. and V.R. Hentz, *Peripheral nerve surgery: Practical applications in the upper extremity*. 2006: Churchill Livingstone Elsevier Philadelphia.
20. Brown, P.W., *Factors influencing the success of the surgical repair of peripheral nerves*. Surg Clin North Am, 1972. **52**(5): p. 1137-55.
21. Kline, D.G., *Physiological and clinical factors contributing to the timing of nerve repair*. Clin Neurosurg, 1977. **24**: p. 425-55.
22. Kline, D.G. and E.R. Hackett, *Reappraisal of timing for exploration of civilian peripheral nerve injuries*. Surgery, 1975. **78**(1): p. 54-65.
23. Mackinnon, S.E. and A.L. Dellon. *Surgery of the Peripheral Nerve*. 1988.

24. Young, L.V., R.C. Wray, and P.M. Weeks, *A Randomized Prospective Comparison of Fascicular and Epineural Digital Nerve Repairs*. Plastic and Reconstructive Surgery, 1981. **68**: p. 89–92.
25. Lundborg, G., A. Bjorkman, and D. Slutsky, *Cortical effects of nerve injury*. Upper extremity nerve repair—Tips and techniques: A master skills publication, 2008: p. 29-37.
26. Rosen, B. and G. Lundborg, *Sensory re-education following nerve repair*. Upper extremity nerve repair—tips and techniques: A master skills publication. Slutsky D, Ed. ASSH, 2008: p. 159-78.
27. Rosén, B., et al., *Nerve repair: correlation of restitution of functional sensibility with specific cognitive capacities*. J Hand Surg Br, 1994. **19**(4): p. 452-8.
28. Bontioti, E., et al., *End-to-side nerve repair in the upper extremity of rat*. J Peripher Nerv Syst, 2005. **10**(1): p. 58-68.
29. Fu, S.Y. and T. Gordon, *Contributing factors to poor functional recovery after delayed nerve repair: prolonged denervation*. J Neurosci, 1995. **15**(5 Pt 2): p. 3886-95.
30. Eggers, R., et al., *A spatio-temporal analysis of motoneuron survival, axonal regeneration and neurotrophic factor expression after lumbar ventral root avulsion and implantation*. Exp Neurol, 2010. **223**(1): p. 207-20.
31. Höke, A., et al., *Schwann cells express motor and sensory phenotypes that regulate axon regeneration*. J Neurosci, 2006. **26**(38): p. 9646-55.
32. McDonald, D., et al., *Early events of peripheral nerve regeneration*. Neuron Glia Biol, 2006. **2**(2): p. 139-47.
33. Madison, R.D., et al., *Factors contributing to preferential motor reinnervation in the primate peripheral nervous system*. J Neurosci, 1999. **19**(24): p. 11007-16.
34. Ijckema-Paassen, J., M.F. Meek, and A. Gramsbergen, *Reinnervation of muscles after transection of the sciatic nerve in adult rats*. Muscle Nerve, 2002. **25**(6): p. 891-7.
35. Matsuyama, T., M. Mackay, and R. Midha, *Peripheral Nerve Repair and Grafting Techniques: A Review*. Neurologia medico-chirurgica, 2000. **40**(4): p. 187-199.
36. Millesi, H., *Nerve grafting*. Clin Plast Surg, 1984. **11**(1): p. 105-13.
37. Dellon, A.L. and S.E. Mackinnon, *Basic scientific and clinical applications of peripheral nerve regeneration*. Surg Annu, 1988. **20**: p. 59-100.
38. Lee, S.K. and S.W. Wolfe, *Peripheral nerve injury and repair*. J Am Acad Orthop Surg, 2000. **8**(4): p. 243-52.
39. Boyd, J.G. and T. Gordon, *Glial cell line-derived neurotrophic factor and brain-derived neurotrophic factor sustain the axonal regeneration of chronically axotomized motoneurons in vivo*. Exp Neurol, 2003. **183**(2): p. 610-9.
40. Ahlborn, P., M. Schachner, and A. Irintchev, *One hour electrical stimulation accelerates functional recovery after femoral nerve repair*. Exp Neurol, 2007. **208**(1): p. 137-44.
41. Irintchev, A., D.N. Angelov, and O. Guntinas-Lichius, *[Regeneration of the facial nerve in comparison to other peripheral nerves : from bench to bedside]*. Hno, 2010. **58**(5): p. 426-32.
42. Van Breugel, H.H. and P.R. Bär, *He-Ne laser irradiation affects proliferation of cultured rat Schwann cells in a dose-dependent manner*. J Neurocytol, 1993. **22**(3): p. 185-90.
43. Chiu, D.T., et al., *Autogenous vein graft as a conduit for nerve regeneration*. Surgery, 1982. **91**(2): p. 226-33.
44. Meek, M.F., A.S. Varejão, and S. Geuna, *Use of skeletal muscle tissue in peripheral nerve repair: review of the literature*. Tissue Eng, 2004. **10**(7-8): p. 1027-36.
45. Marmor, L., *REGENERATION OF PERIPHERAL NERVES BY IRRADIATED HOMOGRAFTS*. J Bone Joint Surg Am, 1964. **46**: p. 383-94.

46. Whitlock, E.L., et al., *Processed allografts and type I collagen conduits for repair of peripheral nerve gaps*. Muscle Nerve, 2009. **39**(6): p. 787-99.
47. Nath, R.K. and S.E. Mackinnon, *Nerve transfers in the upper extremity*. Hand Clin, 2000. **16**(1): p. 131-9, ix.
48. Dvali, L. and S. Mackinnon, *Nerve repair, grafting, and nerve transfers*. Clinics in plastic surgery, 2003. **30**: p. 203-21.
49. Mackinnon, S.E. and C.B. Novak, *Nerve transfers. New options for reconstruction following nerve injury*. Hand Clin, 1999. **15**(4): p. 643-66, ix.
50. Kozin, S.H., *Nerve transfers in brachial plexus birth palsies: indications, techniques, and outcomes*. Hand Clin, 2008. **24**(4): p. 363-76, v.
51. Tung, T.H., *Nerve transfers*. Clin Plast Surg, 2014. **41**(3): p. 551-9.
52. Fujiwara, T., et al., *Axonal supercharging technique using reverse end-to-side neuroorrhaphy in peripheral nerve repair: an experimental study in the rat model*. J Neurosurg, 2007. **107**(4): p. 821-9.
53. Isaacs, J., *Reverse End-to-Side (Supercharging) Nerve Transfer: Conceptualization, Validation, and Translation*. Hand (N Y), 2022. **17**(6): p. 1017-1023.
54. Isaacs, J.E., et al., *Reverse end-to-side neurotization in a regenerating nerve*. J Reconstr Microsurg, 2008. **24**(7): p. 489-96.
55. Kale, S.S., et al., *Reverse End-to-Side Nerve Transfer: From Animal Model to Clinical Use*. The Journal of Hand Surgery, 2011. **36**(10): p. 1631-1639.e2.
56. Hoyng, S.A., et al., *Nerve surgery and gene therapy: a neurobiological and clinical perspective*. J Hand Surg Eur Vol, 2011. **36**(9): p. 735-46.
57. Hu, X., et al., *Sensory axon targeting is increased by NGF gene therapy within the lesioned adult femoral nerve*. Exp Neurol, 2010. **223**(1): p. 153-65.
58. Haastert, K. and C. Grothe, *Gene therapy in peripheral nerve reconstruction approaches*. Curr Gene Ther, 2007. **7**(3): p. 221-8.
59. Tannemaat, M.R., J. Verhaagen, and M. Malessy, *The application of viral vectors to enhance regeneration after peripheral nerve repair*. Neurol Res, 2008. **30**(10): p. 1039-46.
60. Koka, R. and T.A. Hadlock, *Quantification of functional recovery following rat sciatic nerve transection*. Exp Neurol, 2001. **168**(1): p. 192-5.
61. Siemionow, M., et al., *Peripheral nerve defect repair with epineural tubes supported with bone marrow stromal cells: a preliminary report*. Ann Plast Surg, 2011. **67**(1): p. 73-84.
62. Devor, M., et al., *Two modes of cutaneous reinnervation following peripheral nerve injury*. J Comp Neurol, 1979. **185**(1): p. 211-20.
63. Varejão, A.S., et al., *Functional and morphological assessment of a standardized rat sciatic nerve crush injury with a non-serrated clamp*. J Neurotrauma, 2004. **21**(11): p. 1652-70.
64. Evans, G.R., et al., *In vivo evaluation of poly(L-lactic acid) porous conduits for peripheral nerve regeneration*. Biomaterials, 1999. **20**(12): p. 1109-15.
65. Tos, P., et al., *Chapter 14: End-to-side nerve regeneration: from the laboratory bench to clinical applications*. Int Rev Neurobiol, 2009. **87**: p. 281-94.
66. Rydevik, B., G. Lundborg, and C. Nordborg, *Intraneural tissue reactions induced by internal neurolysis. An experimental study on the blood-nerve barrier, connective tissues and nerve fibres of rabbit tibial nerve*. Scand J Plast Reconstr Surg, 1976. **10**(1): p. 3-8.
67. Gordon, T. and S.Y. Fu, *Long-term response to nerve injury*. Adv Neurol, 1997. **72**: p. 185-99.
68. Sulaiman, O.A.R., et al., *Chronic Schwann Cell Denervation and the Presence of a Sensory Nerve Reduce Motor Axonal Regeneration*. Experimental Neurology, 2002. **176**(2): p. 342-354.

69. Day, C.S., et al., *Insulin growth factor-1 decreases muscle atrophy following denervation*. *Microsurgery*, 2002. **22**(4): p. 144-51.
70. Williams, H.B., *A clinical pilot study to assess functional return following continuous muscle stimulation after nerve injury and repair in the upper extremity using a completely implantable electrical system*. *Microsurgery*, 1996. **17**(11): p. 597-605.
71. Novak, C.B. and S.E. Mackinnon, *Distal Anterior Interosseous Nerve Transfer to the Deep Motor Branch of the Ulnar Nerve for Reconstruction of High Ulnar Nerve Injuries*. *J Reconstr Microsurg*, 2002. **18**(06): p. 459-464.
72. Viterbo, F., et al., *End-to-side neurorrhaphy with removal of the epineurial sheath: an experimental study in rats*. *Plast Reconstr Surg*, 1994. **94**(7): p. 1038-47.
73. Isaacs, J., et al., *Reverse End-to-Side Neurotization*. *J Reconstr Microsurg*, 2005. **21**(01): p. 43-48.
74. Sundine, M.J., et al., *The use of end-to-side nerve grafts to reinnervate the paralyzed orbicularis oculi muscle*. *Plastic and reconstructive surgery*, 2003. **111**(7): p. 2255-2264.
75. Yamamoto, Y., et al., *Alternative approach using the combined technique of nerve crossover and cross-nerve grafting for reanimation of facial palsy*. *Microsurgery*, 2003. **23**(3): p. 251-256.
76. Frey, M., P. Giovanoli, and M. Michaelidou, *Functional upgrading of partially recovered facial palsy by cross-face nerve grafting with distal end-to-side neurorrhaphy*. *Plast Reconstr Surg*, 2006. **117**(2): p. 597-608.
77. Zavala, A., et al., *Supercharge End-to-Side Motor Transfer to a Long Nerve Graft to Enhance Motor Regeneration: An Experimental Rat Study*. *Plast Reconstr Surg*, 2023. **152**(1): p. 85e-95e.
78. Gockel, I., et al., *Recurrent laryngeal nerve paralysis (RLNP) following esophagectomy for carcinoma*. *Eur J Surg Oncol*, 2005. **31**(3): p. 277-81.
79. Kukwa, A., et al., *Reanimation of the face after facial nerve palsy resulting from resection of a cerebellopontine angle tumour*. *Br J Neurosurg*, 1994. **8**(3): p. 327-32.
80. Xu, W.D., J.G. Xu, and Y.D. Gu, *Comparative clinic study on vascularized and nonvascularized full-length phrenic nerve transfer*. *Microsurgery*, 2005. **25**(1): p. 16-20.
81. Nadi, M., et al., *Testing the effectiveness and the contribution of experimental supercharge (reversed) end-to-side nerve transfer*. *J Neurosurg*, 2018. **130**(3): p. 702-711.
82. Krieger, L.M. and A.J. Krieger, *The intercostal to phrenic nerve transfer: an effective means of reanimating the diaphragm in patients with high cervical spine injury*. *Plast Reconstr Surg*, 2000. **105**(4): p. 1255-61.
83. Gordon, T., N. Tyreman, and M.A. Raji, *The Basis for Diminished Functional Recovery after Delayed Peripheral Nerve Repair*. *The Journal of Neuroscience*, 2011. **31**(14): p. 5325-5334.
84. Farber, S.J., et al., *Supercharge nerve transfer to enhance motor recovery: a laboratory study*. *J Hand Surg Am*, 2013. **38**(3): p. 466-77.
85. Gordon, T., N. Tyreman, and M.A. Raji, *The basis for diminished functional recovery after delayed peripheral nerve repair*. *J Neurosci*, 2011. **31**(14): p. 5325-34.
86. Nadi, M., et al., *Testing the effectiveness and the contribution of experimental supercharge (reversed) end-to-side nerve transfer*. *Journal of Neurosurgery JNS*, 2019. **130**(3): p. 702-711.
87. Daniel, B.W., et al., *Supercharge End-to-Side Sensory Transfer to A Long Nerve Graft to Enhance Motor Regeneration in A Brachial Plexus Model-An Experimental Rat Study*. *J Reconstr Microsurg*, 2023. **39**(6): p. 435-443.
88. Burnett, M.G. and E.L. Zager, *Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review*. *Neurosurg Focus*, 2004. **16**(5): p. E1.

89. Lundborg, G., *Nerve regeneration and repair. A review.* Acta Orthop Scand, 1987. **58**(2): p. 145-69.
90. Munro, C.A., et al., *Lack of association between outcome measures of nerve regeneration.* Muscle Nerve, 1998. **21**(8): p. 1095-7.



ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

SİNİR İYİLEŞMESİNDE LEZYON PROKSİMAL VE DİSTALİNDEN YAPILAN SİNİR SUPERCHARGE'ININ SİNİR İYİLEŞMESİNE ETKİSİ

‘‘Samed Gürses’’

Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı

TIPTA UZMANLIK TEZİ/ Konya 2023

Amaç: Yaralanma sahasında defekt olması,yaralanmanın kronik olması vs durumlarda uç uca onarıma engel olabilmektedir. Böyle durumlarda sinirin devamlılığını sağlamak için bir başka sinirden uç yan onarım tekniğiyle(supercharge) reinnervasyon sağlanmaya çalışılmaktadır. Supercharge işlemi defektin distalinden uygulanmaktadır. Ancak bazı uç yan onarımlarda donör sinir alıcı sinir distaline uzanamamaktadır..Çalışmanın birinci amacı rat modellerinde siyatik sinir kesisi sonrası diğer siyatik sinirden supercharge yöntemiyle bir grupta lezyon proksimali diğer grupta lezyon distali koaptasyon yapılarak sonuçları karşılaştırmak. Çalışmanın ikinci amacı ise benzer boyutlardaki insan sinirlerine yapılan supercharge uygulamaları adına fikir sahibi olmaktır. Böylece hem ideal supercharge yöntemi bulunacak hem de literatüre katkıda bulunulacaktır.

Gereç ve yöntem: Toplam 30 adet Wistar Albino rat üç adet cerrahi grubu oluşturacak şekilde 3 gruba randomize olarak ayrıldı. Tüm gruplarda ratların bilateral siyatik sinirleri kesildi. Ardından a grubunda sol taraf siyatik sinirleri mikrocerrahi tekniklere uygun olarak primer onarım yapıldıktan sonra sağ taraf siyatik sinir kesi proksimalinden ters uç yan transfer edildi. İkinci grupta (B) sol taraf siyatik sinir kesi seviyesinden mikrocerrahi tekniklere uygun olarak primer onarımı gerçekleştirildi. Ardından sağ taraf siyatik distaline(postlezyoner) olacak şekilde alıcı sinirde uç yan koaptasyon ile transfer edildi. Üçüncü grupta sağ taraf siyatik sinirleri iyileşmeye olanak tanımaması için 10 mm defekt oluşturuldu. Sol taraf siyatik sinirler mikrocerrahi tekniklere uygun olarak onarıldı. 12 hafta takip sonrası ratlara fonksiyonel testler, gastrokinemius ağırlık ölçümleri, histopatolojik,İmmünfloresan, immün histokimyasal incelemeleri yapıldı.

Bulgular: İtme kuvveti açısından distal süpercharge üstün gelirken proksimal süpercharge uc uca onarıma üstün geldi. Pinprick, sıcak zemin testi, gastrokinemius ağırlıkları açısından gruplar arası anlamlı farklılık saptanmadı. Histolojik incelemelerde akson sayısı değişim indeksi distal süpercharge da en üstün gelirken, proksimal süpercharge'ın uc uca onarıma göre anlamlı farklı oldu görüldü. Diğer histolojik,immünfloresan, immünhistokimya incelemelerde gruplar arası farklılık gözlenmedi.

Sonuç: Daha önceki çalışmalarda denerve hedeflerin fonksiyonel iyileşmesinin, ters uç-yan nörorafi kullanılarak distalden yapılan aksonal güçlendirme yoluyla desteklendiğini göstermiştir. Bu çalışmanın sonucunda aksonal güçlendirmede proksimalden yapılan ters uç yan nörorafi(süperşarjın) distalde bulunan sinir yaralanmalarında kullanımının yararlı olduğunu düşündürmektedir, ancak klinik uygulanabilirliği henüz araştırılmamıştır.

Anahtar kelimeler: supercharge, sinir transferi, periferik sinir iyileşmesi

SUMMARY

The Effect of Nerve Supercharge from Proximal and Distal Lesions on Nerve Regeneration

Aim: In cases of defects or chronicity in injury sites, it may impede end-to-end repair. In such instances, to ensure nerve continuity, a technique called supercharge, involving innervation from another nerve, is attempted using a side-to-side repair method. The supercharge process is applied distally to the defect. However, in some side-to-side repairs, the donor nerve may not reach the distal recipient nerve. The primary aim of this study is to compare the outcomes of proximal lesion coaptation with the use of the supercharge technique from another sciatic nerve after sciatic nerve injury in rat models. The secondary aim is to gain insights into supercharge applications on human nerves of similar sizes, thereby potentially finding an ideal supercharge method and contributing to the literature.

Materials and Methods: Thirty Wistar Albino rats were divided randomly into three surgical groups. All groups underwent bilateral sciatic nerve transection. In Group A, after microsurgical primary repair of the left side sciatic nerves, the right side sciatic nerve was transferred in a reversed end-to-side manner proximally. In Group B, microsurgical primary repair was performed on the left side sciatic nerve transection, followed by end-to-side transfer to the distal (post-lesion) side of the recipient nerve. In Group C, a 10 mm defect was created in the right side sciatic nerves to prevent healing, while the left side sciatic nerves were repaired using microsurgical techniques. Functional tests, gastrocnemius weight measurements, histopathological, immunofluorescence, and immunohistochemical examinations were conducted after a 12-week follow-up.

Results: In terms of pushing force, distal supercharge was superior, whereas proximal supercharge prevailed in end-to-end repair. No significant differences were observed among the groups in pinprick, hotplate tests, or gastrocnemius weights. Regarding histological examinations, the axon count change index was superior in distal supercharge, showing significant differences compared to proximal supercharge in end-to-end repair. No differences were observed among groups in other histological, immunofluorescence, or immunohistochemical examinations.

Conclusion: Previous studies have shown that functional recovery of denervated targets is supported through distal axonal reinforcement using reverse end-to-side neurorrhaphy. This study suggests that using proximal reverse end-to-side neurorrhaphy (supercharge) for axonal reinforcement in distal nerve injuries might be beneficial. However, its clinical applicability remains unexplored.

Keywords: supercharge, nerve transfer, peripheral nerve regeneration