

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

**BİOBOZUNUR "ELEKTROSUPUN KAPROLAKTON" SİNİR  
KILAVUZ KANALLARININ PERİFERİK SİNİR SİSTEMİ  
REJENERASYONLARINDA ETKİNLİĞİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. Mehmet DADACI**  
**UZMANLIK TEZİ**  
**Olarak Hazırlanmıştır**

ANKARA  
2007



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

**BİOBOZUNUR "ELEKTROSUPUN KAPROLAKTON" SİNİR  
KILAVUZ KANALLARININ PERİFERİK SİNİR SİSTEMİ  
REJENERASYONLARINDA ETKİNLİĞİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. Mehmet DADACI**  
**UZMANLIK TEZİ**  
**Olarak Hazırlanmıştır**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Prof. Dr. A. Yücel ERK**

ANKARA  
2007

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

**Tez Danışmanı :** Prof. Dr. A. Yücel Erk  
(Hacettepe Üniversitesi) **İmza**

**Üye :** Prof. Dr. Abdullah Keçik  
(Hacettepe Üniversitesi) **İmza**

**Üye :** Prof. Dr. M. Emin Mavili  
(Hacettepe Üniversitesi) **İmza**

**Üye :** Prof. Dr. Figen Özgür  
(Hacettepe Üniversitesi) **İmza**

**Üye :** Prof. Dr. Tunç Şafak  
(Hacettepe Üniversitesi) **İmza**

## TEŞEKKÜR

Yazar, bu çalışmanın gerçekleşmesine katkılarından dolayı aşağıda adı geçen kişilere içtenlikle teşekkür eder.

Sayın Prof. Dr. A. Yücel Erk, tez çalışmasında gerekli çalışma ortamını sağlamış, değerli önerileri ve bilimsel katkılarıyla çalışmayı yönlendirmiştir.

Sayın Prof. Dr. Erhan Pişkin ve Dr. Nimet Bölgen, çalışmada kullandığımız biomateriyalin üretimini sağlamışlar ve değerli önerileri ve bilimsel katkıları ile çalışmaya katkıda bulunmuşlardır.

Sayın Prof. Dr. Gülay Nurlu, çalışma gruplarının elektromiyografik çalışmalarını yaparak katkıda bulunmuştur.

Sayın Prof. Dr. Mustafa Sargon, çalışma gruplarının elektromikroskopik çalışmalarını yapmıştır.

Sayın Dr. Sevgen Önder, çalışma gruplarının ışık mikroskopi çalışmalarını gerçekleştirmiştir.

Sayın Dr. Harika Gözükara, çalışmanın istatistiksel analizini yapmıştır.

Medel Tıp Tıbbi Ekipmanlar Limited Şirketine çalışma için malzeme temin ettiği için teşekkür eder.

## ÖZET

**Dadacı M., Biobozunur "Elektrosupun Kaprolakton" sinir kılavuz kanallarının periferik sinir rejenerasyonlarında etkinliğinin değerlendirilmesi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Ankara 2007.**

Periferik sinir sistemi yaralanmalarında hasarlı sinirin primer olarak onarılamadığı durumlarda araya sinir grefti veya sinir kılavuz kanalları (SKK) konularak koaptasyon yapılmaktadır. Bu çalışmada biobozunur Elektrosupun Kaprolakton'dan üretilen SKK'nın periferik sinir rejenerasyonunda etkinliği değerlendirilmiştir.

Çalışmaya 4 grup (N=8) toplam 32 rat dahil edildi. Ratların sol siyatik sinirinde 1 cm'lik sinir defekti oluşturuldu. Bu defektler, Sham grubunda boş bırakılarak diğer gruplarda sinir grefti, Poli(laktik asit-ε kaprolakton) SKK, Elektrosupun Kaprolakton SKK ile rekonstrükte edildi. Üç ay sonra sinir rejenerasyonunu makroskopik, mikroskopik ve elektrofizyolojik olarak değerlendirildi. Sham grubunda hiçbir rejenerasyon bulgusu gözlenmedi. Makroskopik olarak tüm sinir koaptasyonlarının sağlam olduğu, sinir kılavuz kanallarında biobozunmanın başlamış olduğu görüldü. Gastrokinemius ve soleus kaslarından yapılan elektromiyografi ile sinir grefti grubunda en iyi olmak üzere, Poli(laktik asit-ε kaprolakton) SKK, Elektrosupun Kaprolakton SKK gruplarında benzer düzeyde sinir rejenerasyonu olduğu gösterildi ( $p<0,005$ ). Işık ve elektron mikroskopi çalışmalarında sinir grefti grubunda en fazla olmak üzere her iki SKK'ında da sinir rejenerasyonu gösterilmiştir.

Sinir grefti ile en iyi sonuçlar elde edilmesine rağmen donör alan morbitidesi sinir grefti alımını kısıtlamaktadır. Biobozunur Elektrosupun Kaprolakton SKK'nın Poli(laktik asit-ε kaprolakton) SKK ile benzer sinir rejenerasyonu sağladıkları ve biobozunmaları nedeniyle sinir greftine iyi bir alternatif olduğu sonucuna varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:**Sinir rejenerasyonu, Sinir grefti, Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanalı, Poli(laktik asit-ε kaprolakton) sinir kılavuz kanalı

## ABSTRACT

**Dadacı M., Evaluation of the effectiveness of biodegradable "Electrospun Caprolactone" nerve conduits in peripheral nerve regenerations, Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Plastic, Reconstructive, and Esthetic Surgery, Ankara 2007.**

In peripheral nerve system injuries, nerve grafts or nerve conduits are used to bridge the gap when an injured nerve could not be primarily repaired. The purpose of this study is to show the effectiveness of nerve conduits produced from biodegradable Electrospun Caprolactone in peripheral nerve regenerations.

Four groups (N=8), a total of 32 rats, were included in the study. A nerve defect of 1 cm was constructed in the left sciatic nerve of the rats. These defects were left denuded in the Sham group, and reconstructed with nerve grafts, Poly(lactic acid- $\epsilon$  caprolactone) nerve conduits, and Electrospun Caprolactone nerve conduits in the other groups. After 3 months, nerve regenerations were evaluated macroscopically, microscopically and electrophysiologically. No regeneration was observed in the Sham group. Macroscopically, all nerve coaptations were intact and biodegradation was detected in nerve conduits. Electromyography of gastrocnemius and soleus muscles displayed best regeneration in the nerve graft group and similar results in Poly(lactic acid- $\epsilon$  caprolactone) nerve conduit, and Electrospun Caprolactone nerve conduit groups ( $p < 0.005$ ). Light and electron microscopy studies demonstrated nerve regeneration in both nerve conduit groups, but maximally in the nerve graft group.

Although best results are encountered with nerve grafts, donor site morbidity restricts the use of nerve grafts. It is concluded that biodegradable Electrospun Caprolactone nerve conduits, and Poly(lactic acid- $\epsilon$  caprolactone) nerve conduits caused similar nerve regenerations and are good alternatives to nerve grafts as they biodegrade.

**Key words:** Nerve regeneration, Nerve graft, Electrospun Caprolactone nerve conduits, Poly(lactic acid- $\epsilon$  caprolactone) nerve conduits

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ONAY SAYFASI.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER.....	xii
TABLolar.....	xv
1- GİRİŞ.....	1
2- GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Sinir Sistemi.....	3
2.2. Santral Sinir Sistemi.....	3
2.3. Periferik Sinir Sistemi.....	3
2.4 Periferik Sinir Sistemi Histolojisi.....	4
2.5 Periferik Sinir Yaralanması .....	5
2-6 Periferik Sinir Onarımının Tarihçesi.....	8
2-7 Sinir Onarım Prensipleri ve Zamanlaması.....	9
2-8 Sinir Onarım Teknikleri.....	11
2-9 Postoperatif Bakım.....	13
2-10 Sinir Greftleri.....	13
2-11 Sinir Kılavuz Kanalları.....	15
2-12 Biobozunma ve Biobozunur Polimerlerler.....	22
2-13 Elektrospinnig İşlemi ve Elektrosupun Kaprolakton .....	28
2-14 Poli (Laktik asit -ε kaprolakton ) Sinir Kılavuz Kanalları (Neurolac®) .....	31
2-15 Elektromiyografi (EMG) .....	32
2-16 Sıçan Siyatik Sinir Anatomisi.....	32
3- GEREÇ VE YÖNTEM.....	34
3-1 Anestezi .....	34

Sayfa

3-2 Elektrosupun Kaprolakton Membranlardan Sinir Kılavuz Kanalı Oluşturulması.....	35
3-3 Siyatik Sinir Diseksiyonu ve Deney Protokolünün Hazırlanması.....	36
3-4 Gruplar.....	38
3-5 Rejenerasyonun Değerlendirilmesi .....	42
3-5-1 Makroskopik Değerlendirme.....	42
3-5-2 Elektromiyografik Değerlendirme (EMG).....	42
3-5-3 Mikroskopik Değerlendirme .....	43
a- Işık Mikroskopisi ile Değerlendirme.....	43
b- Elektron Mikroskopisi ile Değerlendirme .....	44
3-6 İstatistiksel Analiz .....	44
4- BULGULAR.....	45
4-1 Makroskopik Değerlendirme.....	45
4-2 Elektromiyografik Değerlendirme (EMG).....	49
4-3 Mikroskopik Değerlendirme .....	51
a- Işık Mikroskopisi ile Değerlendirme.....	51
b- Elektron Mikroskopisi ile Değerlendirme.....	59
5- TARTIŞMA.....	62
6- SONUÇLAR.....	70
7- KAYNAKLAR.....	71

## KISALTMALAR

PSS : Periferik sinir sistemi  
SSS : Santral sinir sistemi  
OSS : Otonomik sinir sistemi  
GAPs : Growth Associated Protein  
MAPC : Mediyal antebrakial sinir  
LAPC : Lateral antebrakiyal sinir  
NGF : Nerve Growth Factor  
BDNF : Brain-Derivated Neurotrophic Factor  
IGF : Insulin-Like Growth Factor  
PDGF : Plateled-Derivated Growth Factor  
bFGF : basic Fibroblast Growth Factor  
aFGF : acidic Fibroblast Growth Factor  
CNTF : Ciliary Neurotrophic Factor  
LIF : Leukemia Inhibitory Factor  
GDNF :Glial Cell Line-Derivated Neurotrophic Factor  
NT: Neurotrophin  
PVDF : Polyvinylidene fluoride  
PLA : Polilaktik asit  
PGA : Poliglikolik asit  
PLLA : Poli L-laktik asit  
PDLA : Poli D-Laktik asit  
PDLLA : Poli D-L Laktik asit  
C° : Santigrad derece  
PCL : Poli ε- Kaprolakton  
DMF : Dimetil formamid  
EMG: Elektromiyografi  
CMAP : Evoked Compound Muscle Action Potential  
SEM :Scanning Electron Microscopy  
mV : Milivolt  
mses : Milisecond

DC : Direct Current

SPB : Sorenson's Phosphate Buffer

G : Gauge

v.b : ve benzeri

bkz.: bakınız

SKK : Sinir Kılavuz Kanalı

## ŞEKİLLER

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
1. Şekil 1 Periferik sinir yapısı	5
2. Şekil 2 Sinir yaralanma dereceleri (Sunderland)	8
3. Şekil 3 Sinir topografisi (Median sinir)	11
4. Şekil 4 Epinöral sinir tamiri	12
5. Şekil 5 Sinir onarım teknikleri	13
6. Şekil 6 Sinir grefti ile kablo şeklinde sinir koaptasyonu	15
7. Şekil 7 Ratlarda 10 mm siyatik sinir defeklerinde silikon sinir kılavuz kanallarıyla yapısal ve hücrel rejenerasyon	17
8. Şekil 8 İdeal sinir kılavuz kanalı	20
9. Şekil 9 Poli $\alpha$ -hidroksi asitler, Poliglikonat, Polilaktat	25
10. Şekil 10 Kaprolaktonun halka açılma reaksiyonu	27
11. Şekil 11 A- Elektrosupun Kaprolakton membran B- Sinir kılavuz kanalı oluşturulması	35
12. Şekil 12 A-Membran köşelerinin Siyanoakrilat Histoacryl® ile yapıştırılması, B- Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanalı	35
13. Şekil 13 Sıçan dorsumunun hazırlanması	36
14. Şekil 14 Siyatik sinir diseksiyonu	37
15. Şekil 15 Sol siyatik sinirde 1 cm'lik defekt oluşturulması	37
16. Şekil 16 Grup 1, Sinir defekti oluşturulması ve ara segmentin boş bırakılması	38
17. Şekil 17 Grup 2, Sinir grefti ile onarım	39
18. Şekil 18 A- Neurolac® sinir kılavuz kanalı, B- Neurolac®, ticari form	40
19. Şekil 19 Poli (laktik asit - $\epsilon$ caprolakton ) sinir kılavuz kanalları, Neurolac® ile siyatik sinir defekti onarımı	40
20. Şekil 20 Grup 4, Elektrosupun kaprolakton sinir kılavuz kanalları ile siyatik sinir defekti onarımı	41
21. Şekil 21 <b>A</b> ; Kasların yaklaştırılması <b>B</b> ; Cilt dikişi konulması	41

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
22. Şekil 22 Gasrokinemius ve soleus kaslarında oluşan CMAP eğrisi	43
23. Şekil 23 Sıçan bacak fleksör kaslarındaki yoğun atrofi	46
24. Şekil 24 Grup 2, 3 ay sonundaki makroskopik görüntüleme	47
25. Şekil 25 Grup 3, 3 ay sonundaki makroskopik görüntüleme	47
26. Şekil 26 Grup 4, 3 ay sonundaki makroskopik görüntüleme	48
27. Şekil 27 Grup 4, 3 ay sonundaki makroskopik görüntüleme	48
28. Şekil 28 Gruplardaki CMAP ve CMAP alan değerlerinin ortalamalarının grafiksel gösterimi	50
29. Şekil 29 Sıçan normal siyatik sinir kesiti A H-Eozin - B Kluver Barrera yöntemi ile boyanan preparatlar	52
30. Şekil 30 Grup 1, Fibroadipoz doku	53
31. Şekil 31 Grup 2 (x40) A; H-Eozin – B; Kluver Barrera yöntemi ile boyanan preparatlar	54
32. Şekil 32 Grup 2 (x200) A; H-Eozin – B; Kluver Barrera yöntemi ile boyanan preparatlar	54
33. Şekil 33 Grup 3 (x40) A; H-Eozin – B; Kluver Barrera yöntemi ile boyanan preparatlar	55
34. Şekil 34 Grup 3 (x100) A; H-Eozin – B; Kluver Barrera yöntemi ile boyanan preparatlar	56
35. Şekil 35 Grup 3 (x200) A; H-Eozin – B; Kluver Barrera yöntemi ile boyanan preparatlar	56
36. Şekil 36 Grup 4 (x40) A; H-Eozin – B; Kluver Barrera yöntemi ile boyanan preparatlar	57
37. Şekil 37 Grup 4 (x100) A; H-Eozin – B; Kluver Barrera yöntemi ile boyanan preparatlar	58
38. Şekil 38 Grup 4 (x200) A; H-Eozin – B; Kluver Barrera yöntemi ile boyanan preparatlar	58
39. Şekil 39 Grup 2 SEM görüntüsü (x3000)	59
40. Şekil 40 Grup 2 SEM görüntüsü (x5000)	60
41. Şekil 41 Grup 3 SEM görüntüsü (x5000)	60

**Şekil****Sayfa****42. Şekil 42** Grup 4 SEM görüntüsü (x5000)

61

**TABLULAR**

<b>Tablolar</b>	<b>Sayfa</b>
1. Taplo 1; EMG ölçümleri sonuçunda elde edilen CMAP ve CMAP alan ölçümleri (msec/mV) .....	49

## 1- GİRİŞ

Periferik sinir sistemi (PSS) yaralanmaları günümüzde sık karşılaştığımız travmalardandır. PSS yaralanmalarında kesilmiş olan periferik sinir erken dönemde karşılıklı getirilerek yapılan cerrahi onarımı (sinir koaptasyonu) en iyi sonucu vermektedir. Distal sinir segmentinde Wallerian dejenerasyon, proksimal segmente ise aksonal tomurcuklanma gelişir. Bu aksonal tomurcuklanma bölgesi dejenerasyona uğramış distal sinir segmentini kılavuz olarak kullanarak sinir iyileşmesi gerçekleşir. Sinir onarımındaki en önemli olay, gergin olmayan primer koaptasyondur. Periferik sinirin iki uğunun birbirine yaklaşmadığı durumlarda araya sinir grefti konularak rekonstrüksiyon sağlanmaktadır. Bu durumda sinir grefti ile rekonstrüksiyon en iyi sonuçları vermektedir. Fakat bu sinir greftinin alınması donör alan morbitidesine neden olmaktadır. Bu morbitideyi azaltmak amaçlı araya sinir kılavuz kanalları (sinir kondüitleri) konularak periferik sistemin iki uçu arasında bağlantı sağlanabilir. Bu sinir kılavuz kanalları, arter, ven, sinir kılıfları, organik ya da inorganik biobozunur olan veya olmayan biomateriyallerden olabilir.

Biobozunur sinir kılavuz kanalları üzerine çalışmalar son dönemlerde hız kazanmıştır. Donör alan morbititesi yaratmadan sinir rekonstrüksiyonunun yapılabilmesi, ikincil bir cerrahi müdehaleye gerek duyulmaması, bu kılavuz kanallarına rejenerasyon için önemli faktörlerin yüklenebilmesi bu konudaki çalışmaları artırmıştır.

Nanoteknolojinin hızla önem kazanmasına paralel olarak nanofiberler ve bunlardan yapılan polimerik materyaller günümüzde yaygın bir kullanım alanı bulmuştur. Nanofiber elde etmenin en kolay yolu Elektrospinning işlemidir. Elektrospinning, polimer çözeltisine elektrik akımı uygulanarak nano boyutlarda fiber elde etme yöntemidir. Konvansiyonel polimetrik fiberlerin çapları 10-100 mikrometre iken, nanoteknoloji ile bu aralık 10-100 nanometre (nm) aralığına indirilmiştir. Boyutun nano ölçeğe indirilmesi fiber özelliklerinde önemli değişmelere neden olur. Nanofiberlerin yüzey alanı/ hacim oranı mikrofiberlere göre 1000 kat fazladır. Nanofiberlerin sertlik ve çekme gerilimi

de daha fazladır. Elektrospinning yöntemi ile üretilen bu nanofiberler özellikle biomedikal alanlarda sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır.

Kaprolakton, biobozunur poliester yapısında bir materyaldir. Elektrospinning işlemine maruz bırakılarak Elektrosupun Kaprolakton meydana gelir. Bu işlem Kaprolaktonun biobozunurluk süresini daha kısaltmakta, porların küçük ve sık olması nedeniyle difüzyona kontrollü izin vermekte ve kontrollü ilaç salınımı için etkin kullanımını sağlamaktadır.

Bu çalışmada Elektrospinning işlemiyle oluşturulan Elektrosupun Kaprolakton membranlardan sinir kılavuz kanalları oluşturulması ve bu biobozunur Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanallarının etkinliğinin periferik sinir sistemi rejenerasyonunda gösterilmesi amaçlanmıştır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2-1 Sinir Sistemi**

Sinir sistemi, tüm vücudumuzu bir haberleşme ağı şeklinde saran vücut dokumuzdur. Vücut içinde veya dışında yer alan resöptörlerden elde edilen bilgilerin transferi, analizi, entegrasyonu, direk veya indirek olarak motor, viseral, endokrin, mental aktiviteler ile organizasyon ve koordinasyon sağlayan ana sistemimizdir (1). Anatomik olarak sinir sistemi iki bölüme ayrılır.

### **2.2 Santral Sinir Sistemi (SSS)**

Beyin ve spinal korddan oluşur. Vücut içinden ve dışından gelen bilgileri değerlendiren, istemli veya istemli olmayan hareketlerin yapılması için gerekli uyarıları veren, zeka, hafıza, öğrenme ve emosyonel fonksiyonların düzenlendiği merkezdir (1).

### **2-3 Periferik Sinir Sistemi (PSS)**

SSS dışında kalan bütün sinir yapılarını içerir. Hücre gövdeleri SSS'inde olan sinir hücrelerinin uzantılarından, ganglionlardan ve ganglionlardan çıkan sinir hücre uzantılarından oluşur. Bu sistemin afferent bölümü, periferdeki resöptörlerden gelen duyuları SSS'e, efferent bölümü ise SSS'nin oluşturduğu motor cevapları perifere taşımakla görevlidir.

PSS'nin isteğimiz doğrultusunda çalışan çizgili kaslara giden motor implusları taşıyan kısmı somatik sinir sisteminin periferik kısmını oluştururken; düz kaslar, kalp kası ve hormonal bezler gibi isteğimiz dışında fonksiyon gören organ ve sistemler ile onlara giden motor impulsları taşıyan bölümü otonomik sinir sisteminin (OSS) periferik kısmını oluşturur. OSS parasempatik ve sempatik sistem olmak üzere iki kısma ayrılır.

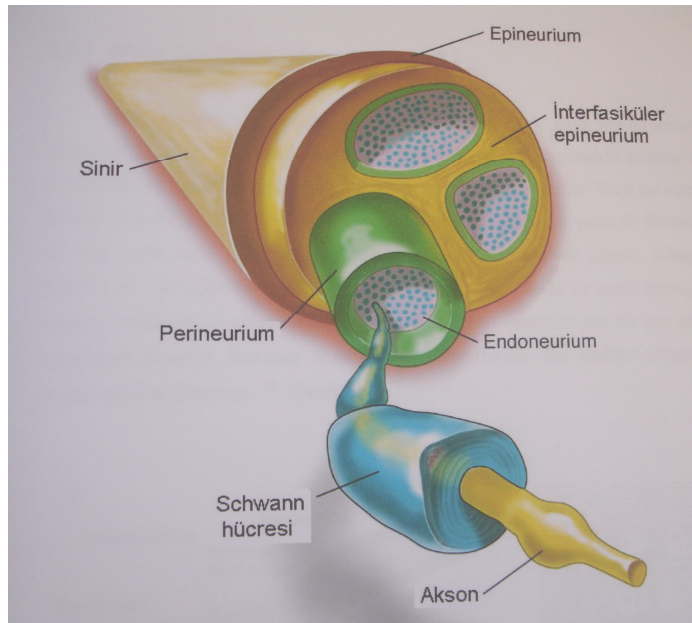
PSS kranial ve spinal olmak üzere iki kısma ayrılır. Kranial sinirler 12 çift, spinal sinirler 31 çift olup simetrik olarak vücut bölgelerine dağılırlar. Spinal sinirler, Medulla Spinalis'ten her seviyede bir çift olmak üzere servikal (8 çift), torakal (12 çift), lumbal (5 çift), sakral (5 çift) ayrılırlar. Bunlar gövde, ekstremiteler, toraks, karın ve pelvis boşluğundaki organ ve yapıları inerve ederler. Kranial sinirler ise, beyin ve beyin sapından çıkarak genellikle baş ve boyun ile ilgili yapıları inerve ederler. Periferik sinirlerin vücut dağılımları sırasında komşu sinirlerle dallanmalar oluşturabilirler. Sık olan dallanma bölgelerine "Sinir Pleksusu" denir. (Brakial, Lumbal ve Sakral pleksus gibi) (2-4).

## 2-4 Periferik Sinir Sistemi Histolojisi

Sinir sisteminin ana hücresi nöronlardır. Nöronlar 3 ana kısımda incelenebilir. **Dentritler**; çevreden, duyuşal epitelyal hücrelerden veya diğler nöronlardan impuls alan sitoplazmik hücre uzantılarıdır. **Hücre gövdesi (perikaryon)**; hücre çekirdeğinin ve hücrenin temel organellerinin bulunduğu merkezdir. **Aksonlar** ise; sinir, kas ve glandlara impulsların iletildiği sitoplazmik uzantılardır. İletiler, hücreler arasında oluşturulan sinapslar aracılığı ile aktarılırlar (1). Periferik sinirler, sinir hücreleri, aksonlar, bağ dokusu elemanları, lenfatikler ve kan damarlarından oluşun, MSS ile motor ya da duyuşal son organlar arasında bağlantı sağlayan kablolardır (5). PSS'inde birden fazla fasikül demeti ve bu demetlerde motor, duyuşal ve sempatik lifler bulunabilir.

Sinir dokusu embriyolojik olarak ektodermal kaynaklıdır. Sinir liflerinin çoğunluğu miyelin adı verilen özel kılıflar ile sarılmışlardır. Miyelin kılıfları SSS'nde oligodentrositler tarafından, PSS'nde ise Schwann hücreleri tarafından sağlanır. Miyelin, sinir liflerinde iletimi hızlandırır. Küçük çaplı bazı sinir liflerinde miyelin bulunmayabilir. Schwann hücreleri miyelinli sinir liflerinde lamininden zengin çok tabakalı miyelin oluştururken, miyelinsiz sinir liflerinde çift bazal membran oluşturur. Miyelin boğumları arasında Ranvier düğümleri bulunmaktadır (5,6).

Sinir fibrillerin etrafı yoğun bir bağ dokusu tarafından çevrenmiştir. Sinir fibrilleri, **endonörium** adı verilen ince bir bağ dokusu ile sarılmıştır. Kollajenden oluşan bu ince bağ dokusu aksonları tek tek sarar. Aksonlar bir araya gelerek fasikülleri oluşturur. Fasiküllerin etrafını konsantrik lameller şeklinde çevreleyen bağ dokusuna **perinörium** adı verilir. Perinörium difüzyonu kısıtlayarak intranöral iyonik çevrenin dengesini korur. Pozitif interfasiküler basıncın devamını sağlar. Enfeksiyon bariyeri oluşturur. Periferik sinirin en dış tabakasını **epinörium** oluşturur. İnternal epinörium sinirleri ve bireysel olarak fasikülleri sararken, eksternal epinörium siniri en dıştan saran tabakadır. Damarlar ve sinirler bu tabakadan girerler. Fibroblastlar bu tabakada bulunur ve inflamasyona sekonder olarak epinöriumu kalınlaştırırlar (1-7). (Şekil1) Sinir fibrili çift yönlü aksonal transporttan sorumludur (8).



**Şekil 1.** Periferik sinir yapısı (9)

## 2-5. Periferik Sinir Yaralanması

Periferik sinir yaralanmasında, yaralanan bölgenin proksimal ve distal segmentinde spesifik değişiklikler gözlenir. Yaralanmanın şiddetine ve hücre

gövdesine uzaklığına göre değişen oranlarda, proksimal kesimde travmatik dejenerasyon gelişir. Bu kısa dönem sonrası aksonlar tomurcuklanarak yeni akson filizleri oluşturur. Rejenere olan her fibrilin uçunda filopodialar bulunur. Bu filopodialar schwann hücrelerin bazal laminaları boyunca ilerlerler. Distal sinir segmenti de Wallerian degenerasyona uğrar (8-11). Transekte olan sinirin distal kesimindeki schwann hücreleri profile olarak miyelin artıklarını fagosite ederler. Schwann hücreleri, fibroblastlar, miyositler ve yaralanan aksondan salınan nörotropik faktörler, hasarlı distal nöral elementlerin fagositozunu ve dejenerasyonunu hızlandırır. Rejenerasyon sırasındaki anahtar rolü oynayan hücre schwann hücreleridir (10). Rejenerasyon sürecinde birçok kaynaktan gelen trofik faktörler, nörotropinler, nörotropik sitokinler, insülin benzeri büyüme hormonu (IGF) ve glial hücre kaynaklı nörotropik faktörler önemli rol oynarlar (10). Distal ve proksimal sinir uçları arasındaki ilişkiyi Bungner bantları adı verilen schwann hücrelerinin oluşturduğu bazal lamina bantları sağlar. Bungner bantları ile aksonlar endonöral tüp gibi hedeflerine ulaşırlar (6,10).

Nörotropizm'in sözlük anlamı sinir besini olmasına rağmen salgılandıkları yerlerden otokrin veya parakrin etki ile sinir liflerinin uzamasını, matürasyonunu ve iyileşmenin doğru yönde olmasını sağlayan maddelerdir. Nörotropizm ayrıca rejenere olan sinir liflerinin son organ spesifitesine de verilen addır. Fonksiyonel iyileşme, motor sinir liflerinin motor son plaklara, duyu sinir liflerinde duyu resöptörlerine ulaşmasına bağlıdır. Deneysel çalışmalarda, rejenere olan fibrillerin hem doku hem de organ spesifitesine sahip oldukları gözlenmiştir. Sinir fibrillerinin çevre dokular yerine, arasında belli mesafe bulunan bir sinire doğru ilerlemesi distal sinirden salgılanan indükleyici ajanlara bağlıdır (10,12-14).

Sinir yaralanmalarında Seddon (1947) ve Sunderland (1951) tarafından tarif edilen iki önemli kabul görmüş sınıflandırma mevcuttur.

**Seddon sınıflandırması;** **1- Nöropraksi** Akson devamlılığının bozulmadığı sinir yaralanmasının en hafif şeklidir. Sinirde lokalize bir iletim bozukluğu mevcut olup haftalar içinde kendiliğinden iyileşir. **2- Aksonotimesis** PSS'inde akson devamlılığı bozulmuş ve sinirde bir iletim

bloğu oluşmuştur. Distalde Wallerian dejenerasyon gelişir. Bağ dokusu ve bazal membran devamlılığı bozulmadığı için iyi prognozla iyileşir. **3-Nörometesis** en şiddetli yaralanmayı gösterir. Periferik sinirin anatomik bütünlüğü tamamen kaybolmuştur. Cerrahi sinir koaptasyonu olmadan iyileşme olmaz (6,15).

**Sunderland sınıflandırması;** yaralanmayı daha çok sinir fasiküler yapısını göz önüne alarak sınıflandırmış ve yaralanma paternini önce beşe sonra da miks yaralanma paternini de içine katarak altıya ayırmıştır (6,16).

**Birinci derece yaralanma:** Lokalize bir iletim bloğu bulunan segmental demiyelinizasyondur. Akson hasarı olmadığı için rejenerasyona gerek olmadan remiyelizasyon sonrası (12hafta içinde) iyileşmenin tam olması beklenir.

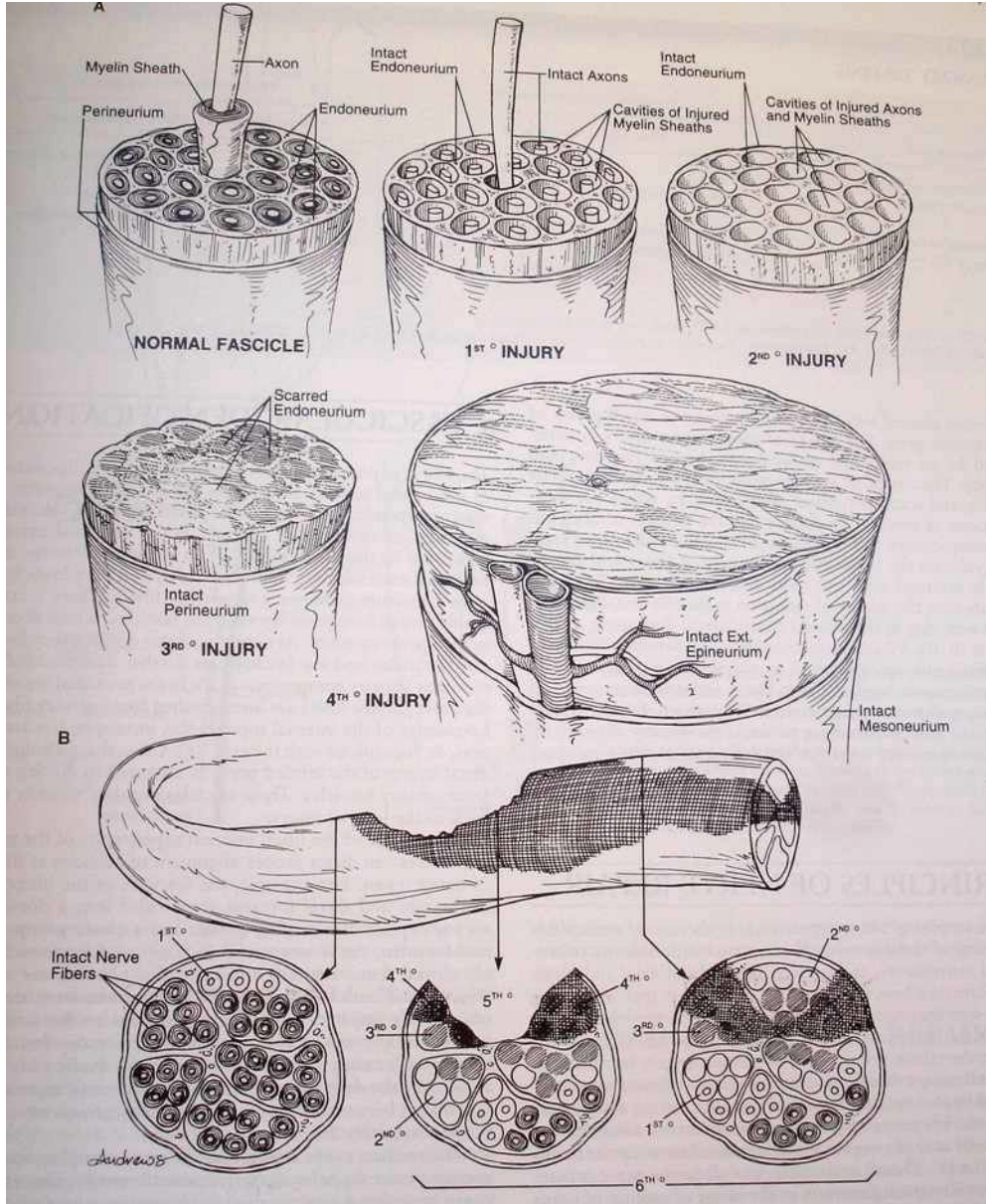
**İkinci derece yaralanma:** Akson yaralanması oluşur ve distal segment Wallerian dejenerasyona uğrar. Proksimal sinir lifleri ayda bir inç hızında rejenere olurlar. Bağ dokusu yaralanmadığı için iyileşmenin tam olması beklenir. Muayenede Tinel belirtisinin distale doğru ilerlemesi sinir rejenerasyonunu gösterir (17).

**Üçüncü derece yaralanma:** Wallerian dejenerasyonun yanında bir miktarda endonörium fibrozisi mevcuttur. Bu skar dokusu bazı rejenere olan fibrilleri etkileyeceği için, eğer eksize edilmese iyileşme tam olmaz.

**Dördüncü derece yaralanma:** Yaralanma sonucunda sinir dokusu üzerinde tam kat bir skar dokusu oluşur ve bu skar dokusu eksize edilip sinir koapte edilmedikçe veya greftlenmedikçe iyileşme tam olmaz.

**Beşinci derece yaralanma:** Sinir tamamen bölünmüştür ve rejenere olabilmesi için sinir onarımı gerçekleştirilmelidir.

**Altıncı derece yaralanma:** Sinir trasesi boyunca değişik seviyelerde ve değişik derecelerde yaralanmalar mevcuttur (6,16). (Şekil 2)



**Şekil 2.** Sinir yaralanma dereceleri (Sunderland) (6)

## 2-6 Periferik Sinir Onarımın Tarihçesi

Periferik sinir onarımının cerrahi tedavisi son ikiyüz yıldır gerçekleştirilmektedir. **Galen**, periferik sinirlerin rejenerasyon kapasitesine sahip olmadığını belirtmiş ve bu görüş orta çağa kadar kabul görmüştür. 14.yy'da **Guy de Chauliac** (18) genç hastalarda tendon ve sinirlerin cerrahi onarımlarını yapmış ve iyi sonuç almasına rağmen pek kabul görmemiştir.

Periferik sinir rejenerasyonu ilk olarak **Cruikshank** (19) tarafından gösterilmiştir. Bunu **Haighton**'un (20) yaptığı çalışmalar takip etmiştir. 1842 de **Müller**'de (21) tavşan siyatik sinir kesisinde distal güdükte aksonların varlığını ve fonksiyonel iyileşmeyi göstermiştir. 19.yy'da distal sinir güdüğündeki aksonların nereden kaynaklandığı tartışılmış, **Waller**'in öncülük ettiği grup tarafından bu liflerin proksimal liflerin uzantısı olduğu öne sürülmüştür. Bu distal güdükteki aksonların kaynağına yönelik diğer bir görüş ise, distal güdükteki liflerin transeksiyon sonrası yaşamaya devam ettikleri ve proksimal güdükteki fibrillerle birleştikleridir (18).

Sinir yaralanmalarındaki ilk organize bilgiler **Mitchell** tarafından Amerikan iç savaşı zamanında gözlemlediklerini "injuries of nerves" adlı kitapta özetlemiştir (22). **Tinel** 1. dünya savaşı sırasında sinir rejenerasyonunu gösteren Tinel işaretini (Tinel sign) bulmuştur (23). 2. dünya savaşı sırasında İngiltere'de **Sir Herbert Seddon**, Amerika'da **Woodhall**, brakial pleksustan dijital sinire kadar olan periferik sinir lezyonlarını incelemişler, primer ve sekonder sinir onarımları ve sinir greftlemeleri üzerine çalışmalar yapmışlardır (24,25). **Sir Sidney Sunderland**, 2. dünya savaşı sonrası major periferik sinirlerin yapılarını detaylı incelemiş ve modern grup fasiküler sinir onarımı ve sinir rekonstrüksiyonu kavramlarını ortaya atmıştır (16).

## 2-7 Sinir Onarım Prensipleri ve Zamanlaması

Sinir onarımının, uygun magnifikasyon, mikrocerrahi alet ve sütürlerle mümkün olan en erken dönemde yapılması gereklidir. Hastanın klinik ve cerrahi durumu elverdiği sürece onarım gergin olmamalıdır. Onarım yapılacak sinirin topografisinin bilinmesi sonuçları daha başarılı kılacaktır (6). En iyi sonuçlar düzgün şekilde kesilmiş, erken onarım yapılan sinirlerde görülür. Sinir uçlarındaki vasküler işaretler ve fasiküler yapılar, erken onarımda dikkat edilmesi gereken yapılardır. Bunlara dikkat edilerek sinirin tam karşılıklı gelmesine çalışılır. Transekte olan köklerin retraksiyonu ve

nöroma formasyonunun gelişmesi sinir uçlarının karşılıklı gelmesini zorlaştırır (6).

**Primer sinir onarımı**, yaralanmayı takip eden saatler içinde olan sinir onarımlarıdır. **Geçikmiş primer onarım**, yaralanmadan sonraki 5-7 gün içerisinde gerçekleştirilen sinir onarımıdır. Birinci haftadan sonra gerçekleştirilen tüm onarımlar **Sekonder sinir onarımı** adını alır.

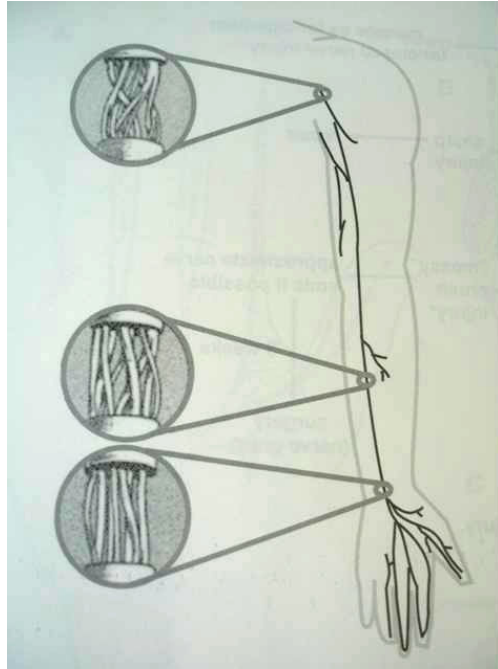
Sekonder sinir onarımları, savaş koşullarında, kontamine, genel durumu bozuk olan travma hastalarında ilk olarak uygulanmış, başarılı sonuçlar alınması nedeniyle temiz ve keskin yaralanmalarda da denenmiştir. Bu erteleme amacını, nöral aktivitenin en fazla olduğu döneme koaptasyonun rastlatılması amacıyla (26). Teorik olarak, sinir yaralanmasından sonra onarım için bir müddet beklendiği zaman onarımın daha başarılı olması beklenir. Sonraki araştırmalar, bu bekleme sürecinde Growth associated protein (GAPs)'lerin sentezinin ve aksonal güdüge taşıma hızının artması olarak gösterilmiştir (27). Bütün bu teorik avantajlara rağmen geçikmiş sinir onarımlarının klinik sonucu iyileştirdiği gösterilememiştir. Keskin sinir yaralanmalarında, primer sinir tamirinin geciktirilmiş sinir tamirine üstün olduğu deneysel olarak sıçanlarda, tavşanlarda ve maymunlarda gösterilmiştir (28-30). Klinikte de ulnar ve median sinir yaralanmalarında primer sinir tamirinin sonuçlarının gecikmiş primer sinir onarım sonuçlarından daha başarılı olarak gözlenmiştir (31-34).

Primer sinir tamiri yapılabilmesi için keskin bir sinir transeksiyonu ya da ezilmiş segmentler rezeke edildikten sonra sinir tamirinin gergin olmayacak şekilde yapılması gereklidir. Kontamine olmayan temiz bir yarada yapılan primer koaptasyonda en iyi sonuçlar gözlenir. Dolaşım sorunu, iskelet instabilitesi veya yumusak doku örtü eksikliği olan vakalarda sinir onarımı geciktirilebilir. Ayrıca ezilmiş devital dokularda, iyileşme sırasında skar dokusu gelişeceği ve zamanla bu skar dokusunun siniri sıkıştıracağı göz önüne alınarak sinirin vital dokular arasına yerleştirilmesi (transpozisyonu) önerilir. Bu koşulların sağlanmadığı durumlarda sinir onarımının geciktirilmesi uygundur (6,35).

## 2-8 Sinir Onarım Teknikleri

Periferik sinir anatomisi bir sinirden diğerine hatta bir sinirin trasesi boyunca bile farklılık gösterir. Ekstremitelerin proksimal segmentindeki sinirler tek fasiküllüdür ve genellikle motor ve duysal lifler karışık olarak yer alır. Periferik sinir distale ilerledikçe çok fasiküllü, motor ve duysal lifler ayrılmış olarak seyreder ve bu trase boyunca sinir içinde pleksus tarzında fasiküller arasında giriş çıkış vardır (36,37). Fonksiyonel lokalizasyon, duysal ve motor sinir liflerinin karışım miktarı, fasiküllerin sayısı ve büyüklüğü onarım tekniklerinin belirlenmesinde rol oynar (35). (Şekil 3 )

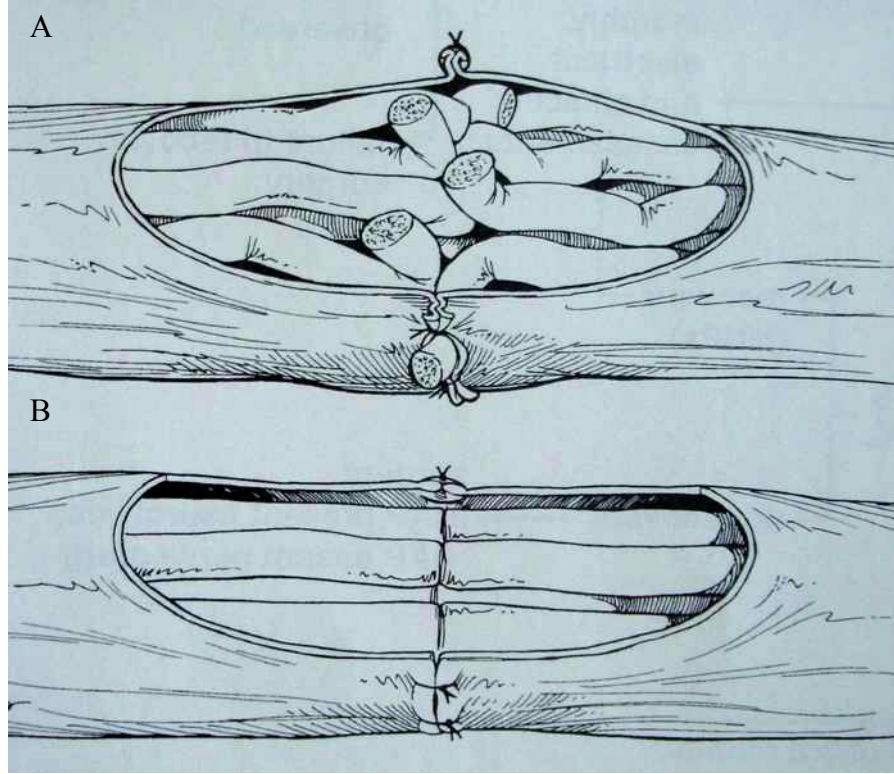
Hastaya uygun anestezi verilmesi gereklidir. Cerrahi işlemler sırasında magnifikasyon kullanmak, cerrahın tercihine göre loup veya ameliyat mikroskopu sonuçları geliştirecektir (38).



**Şekil 3.** Sinir topografisi (Median sinir) (6)

**Epinöral onarım;** Proksimal ve distal sinir güdükları izole edilip zarar görmemiş olduğuna kanaat getirdiğimiz bölgeye kadar sinir uçları keskin olarak tazelenir. Fasiküler ve vasküler işaretler dikkate alınarak gergin

olmayan epinöral dikişler konulur ve koaptasyon yapılır. Dikişler çok sıkılmamalıdır, fazla sıkıştırıldığı takdirde fasiküller dışarı doğru kıvrılır (39). Epinöral onarımda epinörium içindeki fasiküllerin bir miktar trim edilmesi koaptasyon sonrası sinir uçlarının dışarı kaymasını engeller ve içeride kıvrılmadan uç uça gelmesini kolaylaştırır (6). (Şekil 4, A-B )

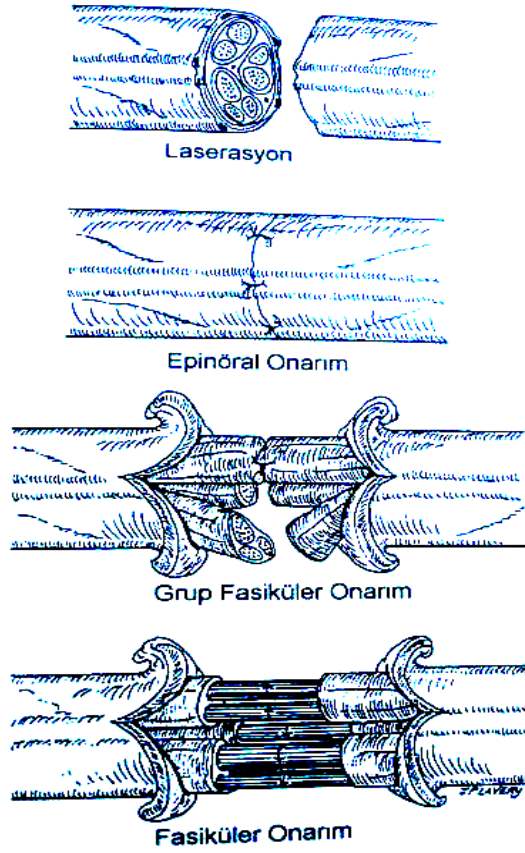


**Şekil 4.** Epinöral sinir onarımı (**A-** Fasiküller uygun şekilde trim edilmediği durumda rejenerasyon yanlış doğrultuda olmaktadır. **B-** Fasiküller trim edilerek düzenli şekilde karşılıklı gelen sinir uçları ile yapılan epinöral sinir koaptasyonu) (6)

**Grup fasiküler onarım;** bu onarım yapılırken magnifikasyon ve mikro cerrahi aletler kullanmak gereklidir. Proksimal ve distal güdükler incelenerek güdüklerdeki fasiküller değerlendirilir ve bu fasiküller 3-4 mm diseke edilip mümkün olan en az dikiş ile koaptasyon yapılır (39). (Şekil 5)

**Fasiküler onarım;** fasikül gruplarını çevreleyen internal epinörium diseke edilerek yapılan onarımdır. İnterfasiküler bağlantıların kesilmemesine

dikkat edilmelidir. Her fasiküle bir dikiş veya gerekiyorsa 180 derece uzağa ikinci dikiş konulabilir. (Şekil 5)



**Şekil 5.** Sinir onarım teknikleri (40)

## 2-9 Ameliyat Sonrası Bakım

Gergin olmayan sinir koaptasyonunu takiben 3 hafta boyunca immobilizasyon uygulanır. Bu süre zarfında hafif derece traksiyona dayanıklı hale gelir (41). Onarımın gerçekleştirildiği sinirin yanındaki eklem hafif derecede fleksiyona getirilip onarımın daha rahat olması sağlanır. İlk 3 hafta sonrası eklemlerin hiperekstansiyonunu engelleyen dinamik ateller kullanılıp hiperekstansiyonun vereceği gerilme hasarından korunulabilir (41).

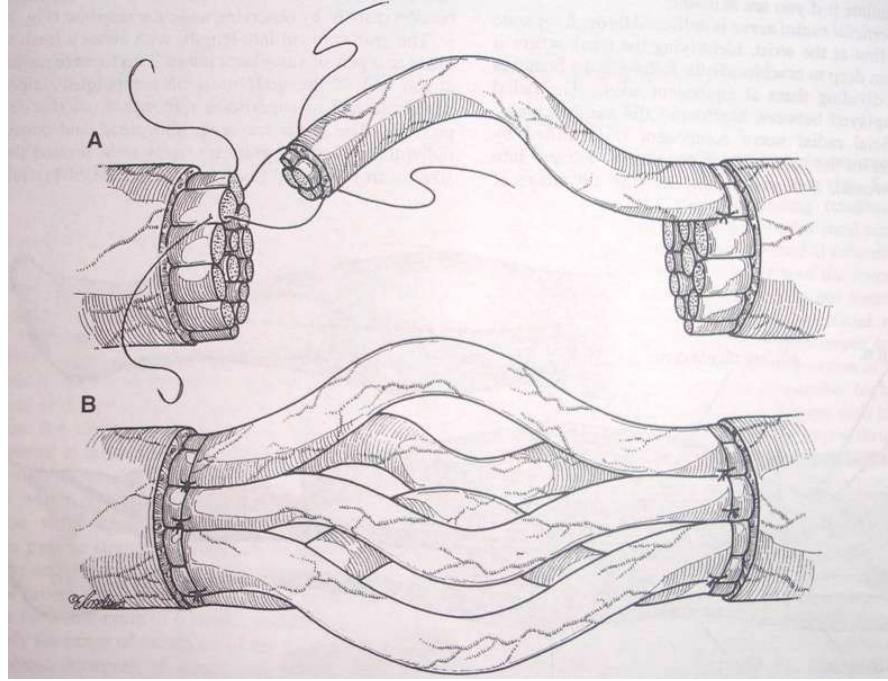
## 2-10 Sinir Greftleri

Primer veya sekonder sinir onarımı sırasında sinir uçlarının hasarlı bölümleri eksize edilip gergin olmayan bir koaptasyon yapılması gereklidir. Normal ekstremitelerde postüründe mikrocerrahi dikişlerle sinirler yaklaşmıyor ise araya greft konulması gereklidir. Proksimal ve distalden siniri serbestleştirmek bir miktar rahatlama sağlayabilir. Donör alan için Sural sinir, Medial yada Lateral Antebrakiyal Kütanöz sinir ve Süperfisyal Radial sinir kullanılabilir.

**Sural sinir**'den 30-40 cm uzunluğuna kadar uzanan sinir grefti elde edilebilir. Sural sinir grefti alınmasının dezavantajları, donör alan duyu kaybı (ayak lateral kesim), skar oluşumu ve alt ekstremitelerde sinirlerinde üst ekstremitelerde sinirlerine uymayan nöral-bağ dokusu oranının bulunmasıdır (6,40-42). **LABC sinir**'den 8 cm'lik sinir grefti elde edilebilir. Donör alan duyu kaybı radial sinirin duyu alanı ile örtüştüğü için minimaldir. **MABC sinir**'den de 20 cm kadar sinir grefti elde etmek mümkündür. Önkolun ön tarafının duyusal inervasyonunu sağlar. Skarların üst ekstremitelerde olması memnuniyetsizlik yaratır(6,40-43).

Sinir greftleri alındıktan sonra koaptasyon yapılacağı bölgede ters çevrilerek kullanılır. Distal uç proksimale getirilir. Bu sayede dallanma bölgelerinden iyileşme sırasında olacak kayıplar minimize edilir.

Greftli sinir onarımlarında proksimal ve distal uçtaki fasikül sayısı göz önüne alınarak sinir greftleri ile kablolar şeklinde sinir onarımı yapılır. Sinirin büyüklüğüne göre onarımda kullanılacak kablo sayısı değişiklik arzeder.(Şekil 6)



**Şekil 6.** Sinir grefti ile kablo şeklinde sinir koaptasyonu (42)

### 2-11 Sinir Kılavuz Kanalları (Nerve conduits)

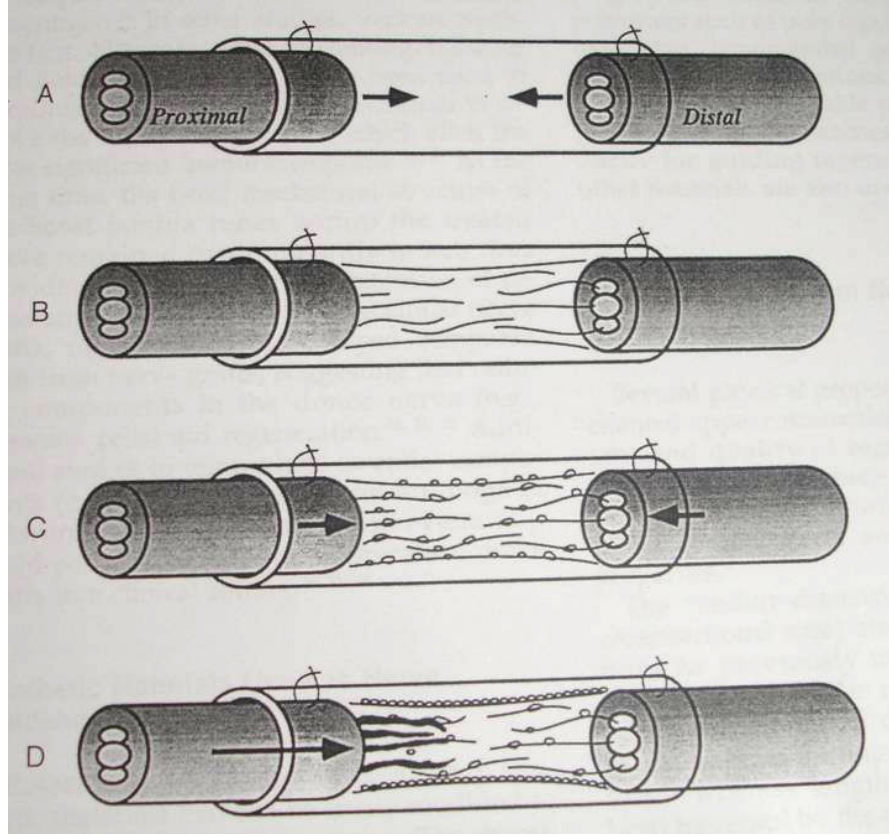
Periferik sinir onarımlarında gergin olmayan primer onarım standart tedavi seçeneğidir. Fakat ameliyat zamanının geciktirilmesine neden olabilecek kompleks travmalar, kirli yaralanmalar ve benzeri nedenlerden dolayı koaptasyon yapılamayabilir. Onarılmayan sinirlerde oluşacak nöroma formasyonu nedeniyle cerrahi öncesi nöromanın eksizyonu, travma bölgesindeki hasarlı sinir bölgesinin eksizyonu ve sinir köklerinde oluşacak retraksiyon nedeni ile proksimal ve distal uçlar karşılıklı gelmediği durumlarda araya sinir grefti konularak yapılan koaptasyon en başarılı sonuçları verir (44,45). Sinir grefti alınması, donör alanda morbiditeye yol açar. Bunlar donör saha skarı, nöroma formasyonu ve donör alan duyu kaybıdır (46-48). Bu donör alan morbiditeleri nedeniyle sinir kılavuz kanallarına olan ilgi giderek artmaktadır.

1880'lerden itibaren **Gluck** (49) dekalsifiye kemik ile sinirleri karşılıklı getirmek için girişimlerde bulunmuştur. Yaklaşık 10 yıl sonra **Buenger** (50) kadavra brakial arterini köpeğin siyatik sinirini onarmak amaçlı kullanmıştır.

1900'lü yılların başlarında **Formatti** (51) ve **Nageotte** (52) ven grefti ile sinir onarımını kemirgenlerde denemiştir. 1920'li yıllarda **Platt** (53), insanda fasya ve ven grefti kullanarak periferik sinir onarımı yapmıştır. Bu dönemlerden başlayarak biyolojik olmayan materyallerden jelatin, agar, metal, plastikten sinir kılavuz kanalı yapılmış fakat başarılı olmamıştır (54). 2. dünya savaşı sonrası tekrar damarlardan ve sentetik materyallerden sinir kılavuz kanalları yapımına ilgi artmıştır.

Doğal yada sentetik materyallerden yapılan, yaralanan proksimal ve distal sinir uçları arasındaki boşluğu tübüler bir yapı ile birleştiren yapılara **sinir kılavuz kanalları (nerve conduits)** denir (44,55). Sinir kılavuz kanalları proksimal sinir segmentinden çıkan aksonal tomurçukları yönlendirmekte, fibröz doku infiltrasyonuna geciktirmekte veya izin vermemekte ve hasarlanan uçlardan salgılanan nörotrofik ve nörotropik faktörlerin difüzyonu için uygun ortam sağlamaktadır. Bu kanallar sinir onarım hattı gerginliğini ortadan kaldırmaktadır. Sinir kılavuz kanalları endojen proteinlerin konsantrasyonunu artırmakta ve makromoleküllerin difüzyonunu da selektif olarak inhibe etmektedir (55).

**Williams** ve ark. (57) ratlarda 1 cm'lik siyatik sinir defektleri oluşturarak inert sentetik materyal olan silikon ile yaptığı koaptasyonlar, sinir kılavuz kanallarındaki iyileşmenin mekanizmasını anlamamıza yardımcı olmuştur. Koaptasyonu takiben saatler içerisinde sinir kılavuz kanallarının içerisini, kan damarlarından ve hasarlı sinir uçlarından salınan berrak bir sıvı doldurur. Bu sıvı proteinden, pıhtılaşma faktörlerinden ve sinir uçlarından salınan faktörlerden zengin bir içerik bulundurur (Şekil 7A). Bir hafta sonra sinir uçları uzunlamasına düzenlenmiş fibrin matriks ile birbirine bağlanır (Şekil 7B). 2. haftada sinir uçlarından fibroblastlar, makrofajlar ve schwann hücreleri fibrin matrikse doğru göç ederler (Şekil 7C). Proksimal uçtan gelen aksonlar, matriks üzerinden yaklaşık 4. haftada distal köke ulaşır ve miyelinize olur (Şekil 7D). Distal kökten ilerleyen aksonlar sinirin hedef dokusuna ulaşır (44,56,57).



**Şekil 7.** Ratlarda 10 mm'lik siyatik sinir defeklerinde silikon sinir kılavuz kanallarıyla yapısal ve hüresel rejenerasyon modeli (56-57) (**Şekil 7A**, Kan damarlarından ve transekte sinir uçlarından kaynaklanan berrak bir sıvı ile silikonun içinin dolması, **Şekil 7B**, Fibrin matriks oluşumu, **Şekil 7C**, Fibroblastlar, makrofajlar ve schwann hücrelerinin fibrin matrikse göç etmesi, **Şekil 7D**, Aksonların matriks üzerinden distale ulaşması ve miyelinize olması)

**Chiu ve ark.** (58-60), 1982 yılında venöz sinir kılavuz kanalları kullanarak insanlarda yapmış oldukları periferik sinir onarım sonuçlarını yayınlamışlardır. Bu serilerde, küçük sinir defektlerinde başarılı sonuçlar alınmıştır. Sonrasında yapılan çalışmalarda 3 cm'den küçük kütanöz sinir defektlerinin venöz sinir kılavuz kanalları ile rekonstrüksiyonları değerlendirilmiş, hem duyuda hem de iki nokta diskriminasyon testlerinde başarılı sonuçlar elde edilmiştir (58-61). Bu çalışmalarda primer sinir onarımı yapılan hastalardaki sonuçlarının daha iyi olduğu gösterilmiştir. **Tang ve**

**ark.** (62,63), 0.5-5,8 cm aralığında dijital sinir defektlerinde, venöz sinir kılavuz kanallarını kullanmışlardır. Bu çalışmada başarılı sonuçlar alınması nedeniyle, venöz sinir kılavuz kanallarını median sinir, radial sinir ve radial sinirin duyuşal dallarının rekonstrüksiyonunda da kullanmış ve 4,5 cm'lik sinir segment defektlerinde bile rahatlıkla kullanılabilceğini göstermişlerdir. Ven greftinin lümeninin kollapsını önlemek için içine kas demeti konulması **Brunelli ve ark.** (64,65) tarafından ortaya atılmıştır. Brunelli ve ark. yaptığı çalışmada kas ven içerisine interpoze edilmiş, ven içine kas transpoze edilen sinir kılavuz kanalı ile sadece ven veya kastan oluşan sinir kılavuz kanalları ile yapılan rekonstrüksiyonlar fonksiyonel ve histolojik olarak karşılaştırılmış, içine taze kas interpoze edilen venöz sinir kılavuz kanallarında başarılı sonuçlar elde etmiştir. Fakat venöz sinir kılavuz kanalların duvarında bulunan kollajen ve laminin iyileşme için yararlı olmakta fakat venin duvarında bulunan fibroblastlar burada fibrozisi artırarak erken dönem sonuçlar iyi de olsa geç dönemde iyileşmeyi kötü yönde etkileyecektir.

İspanyol biyolojist **Cajal** (66,67), distal kökten salgılanan bazı kimyasal maddelerin proksimal kök rejenerasyonunu artırdığı ve distal köke doğru yönlendirdiğini ortaya sürmüş ve buna nörotropizm demiştir. **Weiss ve ark.** (68) tarafından Y şeklinde arterlerden yapılan sinir kılavuz kanallarında sinir rejenerasyonunu göstermişler ve kontak yönlendirmenin nörotropizmden daha önemli olduğunu ortaya sürmüşlerdir. 1980'lerden sonra kontak yönlendirme ve nörotropizmin birlikte rejenerasyona etkisi olduğu düşünülmüştür (69-71).

1990 başlarında **Dahlin ve Lundborg** (72) tarafından insan önkol median ve ulnar sinir yaralanmalarında silikon tüpler ile yapılan koaptasyonlar değerlendirilmiştir. 18 hastadan oluşan vaka serilerinde 3-4 mm'lik median ve ulnar sinir defektleri rekonstrükte edilmiş. 11 hastaya silikon tüp ile sinir koaptasyonu, 7 hastaya da primer sinir koaptasyonu yapılmış. Bir yıllık sonuçlarında hem duyuşal hemde motor fonksiyonlarda bir farklılık gösterilememiştir. Fakat bu sonuç daha büyük sinir defektlerinde gösterilememiştir (73). Ayrıca, klinikte uzun süreli silikon sinir kılavuz kanalları kullanımında kronik sinir kompresyonu, inflamatuvar ve fibrotik

reaksiyonlar, sinir rejenerasyonunu ve fonksiyonunu kötü yönde etkilemektedir (74,75). Diğer bir çalışmada, silikon tüplerle siyatik sinirdeki 1 cm'lik defekt rekonstrükte edilen ratların iyileşmesi normal sinir iyileşmesinin %60'ına kadar gerçekleşmiştir. Başka rejenerasyonu hızlandıran faktörler kullanılmadan silikonun rejenerasyonu desteklemediği görülmüştür (76).

Ven grefti ile 3 cm kadar distal duysal sinir onarımları yapılabileceği, duysal sinirdeki sonuçlarının kabul edilebileceği, fakat sinir greftine göre sonuçların kötü olduğu görülmüştür. Kritik olmayan sinir defektlerinde ven grefti ile onarım yapılabilir (6).

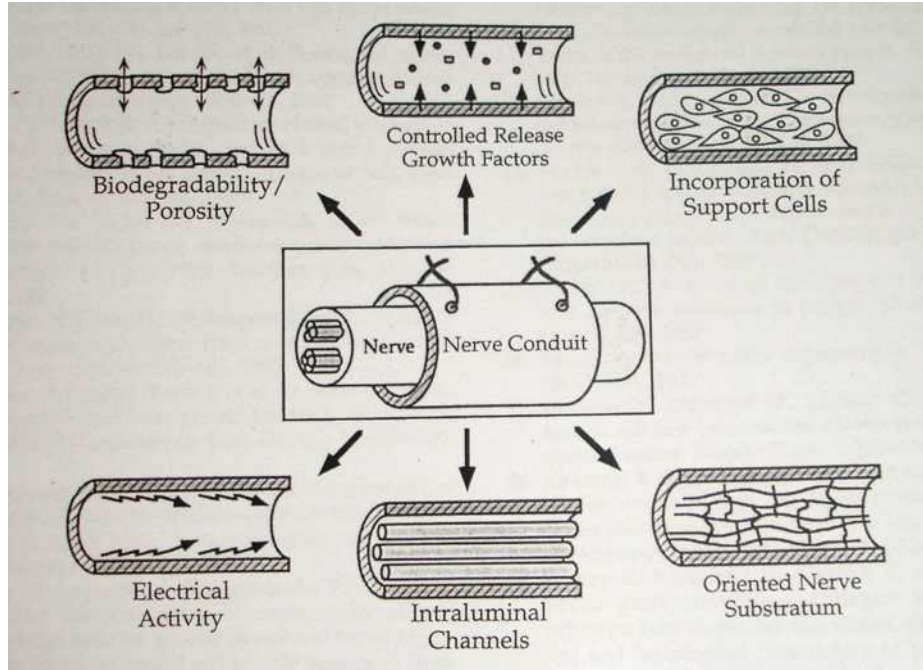
Literatürde arter (68), fasya, epinöral ve perinöral kılıf (sheath) (77), aselüler sinir greftleri (78) ile sinir kılavuz kanalları oluşturulmuştur.

Biobozunur materyallerle ilk olarak sinir kılavuz kanalı üretimi **Makkinnon** ve **Dellon** (79) tarafından polilaktik asit ve poliglikolik asitler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Poliglikolik asitten oluşan sinir kılavuz kanallarını 3 cm'den az sinir defektlerinde başarı ile kullanmışlardır. **Weber ve ark.** (80) dijital sinirler üzerinde yaptığı çalışmalarda poliglikolik asit'den yapılan sinir kılavuz kanalların 3 cm'e kadarki sinir defektlerinde etkinliğini göstermişlerdir.

Çalışmalar, rejenerasyon sonrası vucut tarafından absorbe edilebilen, sinir rejenerasyonunu hızlandıran ve daha büyük sinir defektlerinde de iyileşmeyi sağlayacak yeni sinir kılavuz kanalları geliştirilmesine yönelik yoğunlaşmıştır. Klinik ve deneysel çalışmalar ideal bir sinir kılavuz kanalı geliştirmek üzerine artarak devam etmektedir.

Sinir kılavuz kanalları uygun çapta ve uzunlukta hazır bulunmalıdır. Kolayca sterilize edilebilmeli, iltihaplanma ve toksik etkilerden uzak olmalıdır. Uygulama yerinde istenen mekanik dayanımı gösterebilmeli, çabucak kollabe olmamalıdır. Kolayca bulunduğu ortama uyum sağlayacak (pliable) olması, yerleştirirken cerrahiye zorlaştırmaması gereklidir. Sinir iyileşmesi sağlandıktan sonra metabolizma tarafında tamamen ortadan kaldırılabilmesi, ikinci bir cerrahi müdahaleye gerek olmamalıdır. Bu sayede kalıcı materyallerde görülen enfeksiyon ve yabancı cisim reaksiyonu riski azaltılır. Ayrıca bu materyallerin içine yerleştirilen rejenerasyon için kritik biomoleküller ile iyileşme hızlandırılabilir.

İdeal bir sinir kılavuz kanalı, seçici geçirgen olmalıdır. Malzemenin geçirgenliği, rejenerasyon ve dış ortam arasında madde geçişi sağlaması açısından önemlidir. Permselectif kanallar, normal sinir hücresinin gösterdiği hıza sahip iken, silikon gibi permselectif olmayan kanallar bu değerden daha uzaktır (81). Aebischer ve ark. (82), 50 KD kadar olan seçici geçirgen kanalın 100 KD olan seçici geçirgen membrana göre daha iyi sinir iyileşmesi olduğunu göstermişlerdir.



**Şekil 8,** İdeal sinir kılavuz kanalı (56)

Sinir kılavuz kanallarının nörotrofik ve nörotropik faktörleri kontrollü şekilde salgılaması sinir rejenerasyonunu hızlandırır. Sinir büyüme faktörü (Nerve Growth factor, NGF), beyin kaynaklı nörotropik faktör (Brain-Derived Neurotrophic Factor, BDNF), insülin benzeri büyüme hormonu (İnsulin-Like Growth Factor 1-2) (IGF1-IGF2), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (Platelet-Derived Growth Factor , PDGF BB- PDGF AB), fibroblast büyüme faktörü (basic and acidic Fibroblast Growth Factor) (bFGF- aFGF), silier nörotrofik faktör (Ciliary Neurotrophic Factor, CNTF), interlokin 1(IL-1) etkisi bilinen faktörlerdir. Bazıları nöronal yaşamı artırırken (CNTF, PDGF,

BDNF), bazıları da aksonal tomurcuklanma ve yayılımı (IGF-1, IGF-2, aFGF, bFGF) artırır (83,84). Bu proteinlerin aktif formu önemlidir. Özellikle kontrollü ilaç salınım teknolojilerinden yararlanılarak bu faktörlerin regenerasyon sürecinde salınması regenerasyonu hızlandırır (85-88).

Sinir rejenerasyonunda, sinir kılavuz kanalının iç yüzey düzgünlüğü önem arzeder. Yapılan çalışmalarda iç yüzeyi düzgün olan sinir kılavuz kanallarında miyelinli, oriente düzgün aksonlar görülürken, içi düzgün olmayan yüzeyli kanallarda iyileşme aksonların oriente olmadığı miyelinsiz akson iyileşmesi şeklinde gözlenmiştir (88).

Nöronların farklılaşmasının uyarılmasında elektrik yüklerinin önemli rolü olduğu gösterilmiştir. Piezoelektrik materyaller (küçük deformasyonla yüzey yükü oluşturan materyaller) (polyvinylidene fluoride, PVDF) veya elektrik ileten materyaller (polypyrrole) ile yapılmış sinir kılavuz kanalları ile çalışmalar yapılmıştır (90-92).

Ekstrasellüler matriks elemanlarından Laminin, Fibronektin, Kollajenin bazı formları aksonal regenerasyonu hızlandırdığı gösterilmiştir. Sadece içi serum fizyolojik ile dolu sinir kılavuz kanalları ile içine laminin jel ve kollagen jel ile doldurulmuş kanallarda sinir iyileşmesi karşılaştırılmış ve laminin ve kollagen jelin anlamlı şekilde sinir regenerasyonunu artırdığı gösterilmiştir (93-95).

Sinir kılavuz kanalları içerisine uzunlamasına düzenlenmiş matriks ve uzunlamasına düzenlenmiş kollagen tüpler ile yapılan çalışmalarda sinir rejenerasyonunu hızlandırdığı gösterilmiştir. Uzunlamasına düzenlenmiş poliamid filamentlerin (polyamide filaments) silikon kanal içerisine yerleştirilmiş ve bu sinir kılavuz kanalı 1.5 cm'den daha uzun sıçan siyatik sinir defektinde başarı ile kullanılmıştır (96-98).

Sinir kılavuz kanalları içerisine Schwann hücresi gibi nöral destek hücrelerin yerleştirilmesi ve bu destek hücrelerinin salgıladığı nörotrofik ve nörotropik faktörlerin sinir rejenerasyonu üzerine etkileri incelenmiştir. Çalışmalarda kültüre edilmiş schwann hücreleri ile döşeli sinir kılavuz kanallarında iyileşmenin hızlandığı görülmüştür. Temel problem, bu hücrelerin minimal cerrahi işlemlerle izolasyonu ve kültürüdür. Bunun

alternatifi genetik olarak modifiye edilmiş kültürize fibroblastlarla istenilen faktörün üretilmesidir (99-102).

İdeal bir sinir kılavuz kanalı Şekil 8'de görüldüğü gibi poröz yapısı sayesinde diffüzyona izin vermeli, biobozunur olmalı, nöral destek hücreleri kanal üzerine yerleştirilebilmeli, lümen içi kanallar bulundurmamalı, uzunlamasına lümen içi matriks bulundurmamalı ve elektriksel aktiviteye sahip olmalıdır (56).

## 2-12 Biobozunma ve Biobozunur Polimerler

Biyolojik sistemlerde kullanılan materyallere **biomateryal** denir. Biomateryal uygulamalarında insan vücudunun agresif bir çevre olduğunu bilerek uygulanacak materyalin özelliklerini uygulama boyunca koruyabilmesi gereklidir. Bu da ana yapıdaki kimyasal bağların kararlılıklarını korumaları anlamına gelir. Bozunma; hidrolitik olarak Carbon ana zincirinin parçalanması (-C-), polimerin önce oligomere, sonrada karbondioksit ve su'ya dönüşmesidir. **Biyobozunma**; biyolojik ortamdaki etkileşimler sonucu oluşan bozunmadır. Enzimatik ya da hidrolitik olarak bu bozunma olabilir. Enzimatik bozunmada bir enzimin aktif olarak bozunmayı gerçekleştirmesi gereklidir. Enzimin polimer zincirinde etkileşeceği spesifik bir fonksiyonel grup bulunur. Biyolojik olarak parçalanan polimerlerin çoğunluğu kararsız, kolaylıkla hidrolize olabilen fonksiyonel gruplar (Amid, Ester) içerirler. Biobozunur matriksten oluşan yapılar, bir fizyolojik ortama yerleştirildikleri zaman su, bu polimer matriks içine diffüzyonla geçer ve polimer zincirlerini hidrolize ederek parçalar. Bozunma ürünleri matriks yüzeyinden difüzyon yoluyla uzaklaşır. Kararsız hidrolitik bağlar ve su geçirgenliği gibi özellikler temel olarak hidrolitik bozunma hızını belirlemekte ve yığın hidroliz veya yüzey erozyonu oluşmaktadır. Eğer suyun polimer içerisine giriş hızı suyun difüzyon hızından büyükse polimer yüzey erozyonu ile bozulur. Hidroliz yolu ile polimerlerin bozunması asit, baz ve enzim kullanılarak katalizlenebilmektedir (103) .

Biomedikal implantlarda biobozunur polimerlerin kullanılmasının iki önemli avantajı vardır. Birincisi; dokudaki iyileşme gerçekleştikten sonra implante edilen materyalin ikinci bir cerrahi müdahaleye gerek kalmadan ortamdan uzaklaşması, ikincisi ise; materyalin bozunması sırasında doku yenilenmesini başlatma ve yönlendirme olanağının bulunmasıdır (104,105).

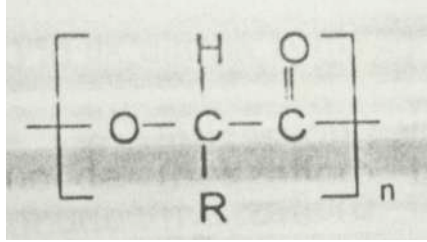
Biobozunmaya etki eden faktörler; su geçirgenliği ve çözünürlüğü (hidrofilik/hidrofobik), kimyasal yapı (kararsız hidrolitik bağların yapısı), hidroliz mekanizması (katalitik olmayan, otokatalitik, enzimatik), katkıları (asidik, bazik, monomerler, ilaçlar), morfoloji (kristal, amorf), camsı geçiş sıcaklığı, molekül ağırlığı, sterilizasyon, çevre koşulları (Ph, iyonik güç, implantasyon yada enjeksiyon) ve sistemin porositésidir. Bu faktörlerden de anlaşılacağı gibi biobozunma sadece polimerin türüne değil polimerik yapıya ve bozunma ortamına bağlıdır. Biobozunur polimerler doğal yada sentetik olarak iki ana kısma ayrılır.

Doğal biobozunur materyaller, doğadaki çeşitli organizmalar tarafından sentezlenen biopolimerlerdir. Bu maddeler insan dokuları ve biyolojik sıvılarla uyumlu olmaları, enzimatik veya hidrolitik degradasyon özelliğine sahip olmaları nedeniyle biotıp alanında yaygın olarak kullanılmaktadır. Günümüzde yara pansuman malzemelerinde, kontrollü ilaç salınım sistemlerinde, ameliyat ipliklerinde, hücre kültür ortamlarında kullanılmaktadırlar. Dezavantajları ise, immünojenik olması nedeniyle antijenik karakterdedir ve bağışıklık sistemi tarafından reaksiyonla karşılaşılır. Yapılarında proteinler bulunduğu için yüksek sıcaklıkta denatüre olurlar. Doğal biobozunur materyallere örnek olarak albümin, kollagen, jelatin, kitin, fibrinojen, antikorlar, dekstran, aljinat, kasein, selüloz, nişasta örnek olarak verilebilir.

Sentetik biobozunur materyaller; Poli ( $\alpha$ -hidroksi asitler,  $\alpha$ -amino asitler,  $\epsilon$ - kaprolakton, ortoesterler, anhidritler, alkil 2-siyanoakrilatlar, hidroksi alkanoatlar, fosfazenler)'dir.(103-107) Biobozunur materyallerden Poli  $\alpha$ -hidroksi asitler ve  $\epsilon$ - kaprolakton yapıları ve özelliklerine değinilecektir.

**Poli  $\alpha$ -hidroksi asitler**,  $\alpha$ -hidroksi asitlerden (HO-CHR-COOH) elde edilen poliesterlerdir. Monomerler birbirine ester bağı ile bağlanarak

poliesterleri oluşturur. Ester bağları kolay hidroliz olan bağlardır. Laktik asit ve glikolik asit ile bunların homo ve kopolimerleri yüksek biouyumlulukları nedeniyle  $\alpha$ -hidroksi asitler içerisinde en çok kullanılanıdır. Glikolik asit ve laktik asit dimerleşerek bisiklik esterleri olan glikonat ve laktat elde edilir(108 - 110).



**Şekil 9,** Poli  $\alpha$ -hidroksi asitler Poliglikonat (R-H), Polilaktat (R-CH<sub>3</sub> )(103)

Poli  $\alpha$ -hidroksi asitler, suda çözünmezler. Ancak ester bağlarından hidrolitik ataklara açıktırlar ve bu ataklar neticesinde bozulurlar. Günlerden aylara, hatta yıllara göre değişen bozunma süreleri ile karakterize edilirler. Bozunma süreleri polimerlerin formülasyonuna ve başlangıç molekül ağırlıklarına bağlıdır (105,111). Polilaktik asit (PLA) ve Poliglikolik asit (PGA)'in asidik bozunma ürünleri doku reaksiyonuna neden olabilir.

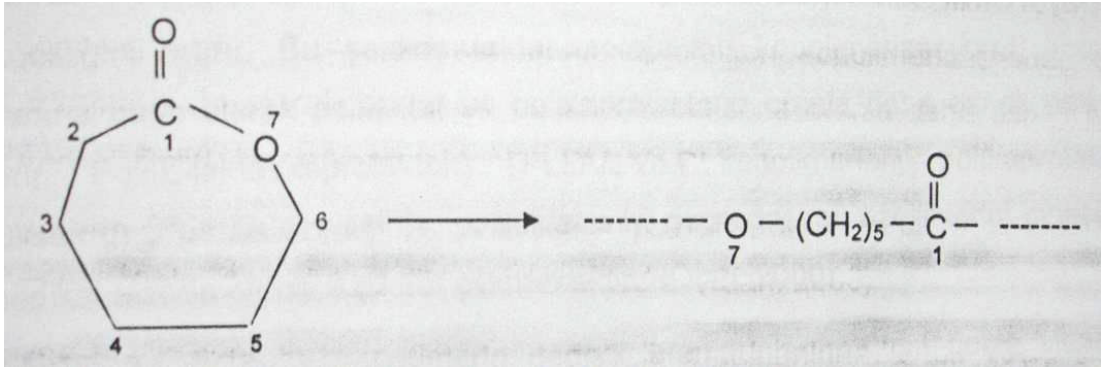
Glikolik asit, doğal olarak ekşimiş sütte ve meyvelerde bulunan ayrıca sentetik olarakta üretilen bir maddedir. Camsı geçiş sıcaklığı 35-40 C°, erime sıcaklığı da 224-226 C° arasındadır. 1983'de ilk olarak sentezlenen PGA'nın genellikle fiber formu kullanılmaktadır. Polimerin molekül ağırlığı, kristal özelliği ve malzeme geometrisine bağlı olarak in vitro bozunması birkaç haftadan birkaç aya kadar değişiklik gösterir. İn vivo bozunmasında enzimatik bozunmanın rol aldığı bilinmektedir. PGA ameliyat ipliği olarak (Vicryl ®,%90PGA, %10 PLA), Dexon® (Homopolimer PGA) ve örgülü yumuşak doku tamir malzemesi olarak sıklıkla kullanılmaktadır.

Laktik asit, ilk olarak 1780'de Carl Wilhelm Schele tarafından süt asiti olarak tarif edilmiştir. Süt ve süt ürünlerinde, insan ve hayvan dokularında yaygın olarak bulunur. Sentetik üretimi ise kimyasal olarak (propen, propionik asit vb.) üzerinden veya fermentasyon (glikoz, süt vb) (bakteri- Lactobacillus,

Lactococcus) yoluyla üretilmektedir. Laktik asit, hafif sarı renkli, kokusuz bir sıvıdır. Fermantasyon bakterisinin seçimine göre L(+) ya da D(-) izomeri oluşur. L formu biyolojik bir metabolittir, insan ve hayvan dokularında bulunmaktadır (105,109,112). Bu iki izomerin rasemik karışımına D,L-Laktik asit denir. Polilaktik asit 3 formda da bulunabilir; Saf Poli L-laktik asit (PLLA), Saf Poli D-Laktik asit (PDLA), Poli D-L Laktik asit (PDLLA). Laktik asit, su ve karbondioksite kadar bozunabilir. Laktik asit tuzları ve esterleri, besin, farmasötik ve kozmetik endüstride sıklıkla kullanılmaktadır.

PLLA, yarı kristalin biomateriyaldir. Camısı geçiş sıcaklığı 57-60 C°, erime sıcaklığı 180-185 C°'dir. Mekanik dayanımı yüksek olan PLLA absorbe olan plak vida üretiminde kullanılmaktadır(109). PLLA'lar PGA'daki metil (-CH<sub>3</sub>) grubunun bulunmaması nedeniyle daha hidrofobiktir ve bu sayede bozunması daha yavaş olur. PDLLA, rastgele stereo dizilime sahip, transparan, tamamen amorf yapıda olan camısı geçiş sıcaklığı 57-60 C°, olan biomateriyaldir. PLLA'ya oranla çabuk bozular.

**Polikaprolakton** ε-kaprolaktonun halka açılması reaksiyonu ile ilk kez Carothers tarafından üretilmiştir. ε-kaprolakton 7 metilen grubu ve bir ester bağından oluşan siklik bir monomerdur.



**Şekil 10.** Kaprolaktonun halka açılma reaksiyonu (103)

Poli ε-kaprolakton'un (PCL) erime sıcaklığı 63 C°, camısı geçiş sıcaklığı - 60 C°'dir. Yarı kristalindir, kristalinitesi %60'a kadar çıkabilir. Hidrofobiktir, oda sıcaklığında kauçuğumsu özellik gösterir. Bu nedenle

bozunması PGA ve PLA'dan daha yavaştır. In vivo bozunması yavaştır. Enzimatik hidrolizle yıkılır. Bozunma ürünlerinin toksik özellikleri çok düşüktür. Birçok ilaç için yüksek geçirgenliğe sahiptir. Bu nedenle kontrollü ilaç salım sistemlerinde çok tercih edilir.

Bir polimerin özelliklerini geliştirmek amacıyla kullanılan en yaygın yöntem, uygun komonomerler kullanılarak kopolimerizasyona sokulmasıdır. Homopolimerlerden farklı olarak kopolimerin karakterizasyonunda, monomer yapısı, monomer oranları ve blok dizilimi önem arzeder. Laktatların en bilinen komonomerleri Glikolat ve  $\epsilon$ -kaprolakton'dur. Glikolat, polilaktatın hidrolitik degradasyon hızını artırırken,  $\epsilon$ -kaprolakton düşürür. Laktat ve kaprolakton siklik monomerleriyle çok çeşitli miktarda monomer ve kopolimer sentezlenebilir. Bu kopolimerler, biouyumlulukları, elastomerik yapıları, biobozunmaları ve işleme yetenekleri nedeni ile son yıllarda oldukça yaygın olarak çalışılmaktadır. Bu sayede yumuşak elastomerik yapılardan rigid mühendislik polimerlerine kadar farklı özelliklerde üretilebilmektedir. Burada  $\epsilon$ -kaprolakton, camsı geçiş sıcaklığını düşürerek film veya fiberların esnekliğini artırır. Bu şekilde laktat-kaprolakton kopolimerizasyonu kopolimer oranına bağlı olarak polilaktat ve polikaprolaktona oranla daha esnek polimerler verir. Poli(L-Laktat /  $\epsilon$ -Kaprolakton) (PLLA /  $\epsilon$ -CP) kopolimerleri polikaprolaktonun yüksek geçirgenlik özelliği ile polilaktatın iyi degradasyon özelliklerini birleştirerek biomedikal alanda yoğun kullanım alanı bulmuştur (103).

### **2-13 Elektrospinnig İşlemi ve Elektrosupun Kaprolakton (Electrospinning Process and Electrosupun $\epsilon$ - Caprolacton)**

**Elektrospinning**, elektrostatik kuvvetleri kullanarak polimerik flaman üretimidir. 1934-1944 arasında Formalas tarafından tanımlanmış, fakat aktif olarak kullanılmaya 1994'den sonra başlanmıştır. Elektrospinning yöntemi tüm polimerlerden basit, hızlı, sürekli ve büyük boyutta nanofiber üretime imkan verir(113-114)

Nanoteknolojinin 21. yüzyılda hızla önem kazanmasından sonra Elektrospinning'e olan ilgi artmıştır. Polimer çözeltilisine elektrik kuvveti uygulanarak nano boyutlarda fiber elde etme yöntemidir. Normal fiberlerin çapları genellikle 10-100 mikrometre aralığında iken, nanofiberlerin çapları 10-100 nanometre aralığına iner. Nanofiberlerin yüzey/hacim oranı mikro fiberlerinkinden yaklaşık 1000 kat daha fazladır. Nanofiberlerin sertlik ve çekme gerilimi mikrofiberlere göre çok fazladır. Yüksek yüzey/hacim oranı ve iyi mekanik özellikleri nedeniyle biomedikal alanında sıklıkla kullanılmaktadır (113-114).

Elektrospinning yöntemi ile nanofiber üretimi için yapılan sistemde 3 ana ünite vardır. Birinci ünite yüksek güç kaynağıdır (genellikle 1-50 kV,DC). İkinci ünite, polimer çözeltilisinin bulunduğu kapiller tüptür. Kapiller tüpün içindeki elektrota güç kaynağından yüksek gerilim uygulanır. Üçüncü ünite, toplayıcı ünitedir ve zıd yüklü elektrot görevini üstlenir. Sisteme gerilim verilmeye başlanınca, polimer çözeltisi tüpün uçundan buhar jeti şeklinde zıt yüklü elektrota doğru püskürür. Yol boyunca çözücünün buharlaşması ile katılaştıran polimer, toplayıcıya nanofiber şeklinde ulaşır ve birikir. Genellikle çözücü tam olarak buharlaşmadığı için fiberler toplayıcı yüzeyinde birikirken birbirine dokundukları noktada yapışır ve film şeklinde örgüsüz fibröz bir yapı oluşur. Yalnız çözeltiliden değil, eriyikten de elektrospinning işlemi ile nanofiber üretmek mümkündür fakat, vakum donanımı ve yüksek sıcaklık gerektiğinden bu yaklaşım daha az tercih edilmektedir. (113,114).

Toplayıcı sistem kendi etrafında dönebilecek şekilde yapıldığı takdirde dönme hızı ve ileri geri hareket hızları ayarlanarak nanofiberlerin tüp etrafına birikmesi ve tüp şeklinde ürün eldesi mümkün olmaktadır (113,114).

Polimer çözeltilisinden elektrospinning ile fiber üretiminde polimer çözeltilisinin viskozitesi, iletkenliği, elastikiyeti, yüzey gerilimi, kapiller tüpteki hidrostatik basınç, kapiller tüp uçundaki elektrik potansiyeli, tüp ucu ile toplayıcı arasındaki uzaklık, çözelti sıcaklığı, ortam nemliliği önemlidir.

Polimer fiber çapları, birçok uygulama için hedef parametredir. Çözeltiden nanofiber üretiminde fiber çapı, kapiller tüpten çıkan jetin çapı ve jetteki polimer miktarı ile ilgilidir. Fiber çaplarını önemli oranda etkileyen diğer

faktör, elektrik voltajıdır. Yüksek voltajla çalışılırsa jete yüklenen sıvı miktarı artacağından, elde edilen fiber çapı daha büyük olur.

Elektrospinning işleminde önemli sorunlardan biri, boncuk (bead) ve gözenek (pore) oluşumudur. Boncuk oluşumu viskozite ile ilişkilidir. Viskozite artırılarak boncuk oluşumu tamamen ortadan kaldırılabilir.

Elektrospinning işlemi ile üretilen nanofiberler, kimyasal ve biokimyasal sensörlerde, filtrasyon malzemelerinde, yeni pil teknolojilerinde, koruyucu giysi kumaşlarının yapımında, yapay damar, yara örtü materyalleri ve kontrollü ilaç salım sistemleri için kullanılmaktadır (113,114).

**Elektrosupun Kaprolakton**, Elektrospinning yöntemi ile üretilen polimerdir. Elektrospinning işlemi ile Kaprolaktonun fiber yapısı nano boyutlara indirilebilmektedir. Elektrosupun Kaprolakton'un küçük kontrollü por genişliği, yüksek porozitesi, geniş yüzey alanı ile doku mühendisliğinde geniş yer bulacağı düşünülmektedir.

Elektrosupun Kaprolakton membranlarının hazırlanışında; PCL ile Kloroform ve Dimetil formamid (DMF) karışımı elektrospinning işleminde jet akıma maruz bırakılır, jet akım sırasında solvent buharlaşır ve toplayıcı üzerinde Elektrosupun Kaprolakton membranlar film şeklinde oluşur (113-116). Bölgen N'in yapmış olduğu Hacettepe Üniversitesi Kimya mühendisliği yüksek lisans tezinde Elektrosupun Kaprolakton membranlarının üretimi ayrıntılı şekilde anlatılmaktadır.

#### **2-14 Poli (Laktik asit- $\epsilon$ kaprolakton) Sinir Kılavuz Kanalları (Neurolac®)**

DL-Laktik asit ve  $\epsilon$ -Kaprolakton moleküllerinin kopolimerizasyonu ile meydana gelen biobozunur polimerlerdir. Polikaprolaktonun yüksek geçirgenlik özelliği ile polilaktatın iyi degradasyon özelliklerini birleştirerek medikal alanlarda sık kullanılan materyal elde edilmiştir.  $\epsilon$ -Kaprolakton camsı geçiş sıcaklığını düşürerek film ve fiberlerin esnekliğini artırır. Bu şekilde laktat ve kaprolakton kopolimerizasyonu kopolimer oranına bağlı olarak polilaktat ve polikaprolaktona oranla daha esnek polimerler verir.(103)

Poli(laktik asit- $\epsilon$  kaprolakton) biokopolimerlerin birbiriyle yüksek uyumu, biobozunur olması, bozunma ürünlerinin toksik olmaması medikal alanda sık kullanımına neden olmuştur. Bu kullanım alanlarından biride sinir kılavuz kanalı yapımıdır.

Poli(laktik asit- $\epsilon$  kaprolakton) sinir kılavuz kanalları (Neurolac®) proksimal ve distal sinir kökleri arasına konularak aksonal tomurcuklanmaya yön verir. Ortalama 8 hafta, başlangıçtaki mekanik özellikleri sabit kalır ve sonrasında mekanik dayanım gücü azalmaya başlar. Hayvan çalışmalarında 16 ayda tümünden rezorbe edildiği gösterilmiştir. Son ürün olarak laktik asit ve  $\omega$  hidroksi hexonoik asit oluşarak vucuttan uzaklaştırılır. Degredasyon hidroliz aracılığı ile olur (113).

Sinir koaptasyonunda kullanmadan önce sıcak suyun içinde bekletilmesi önerilmektedir. Isı ile sinir kılavuz kanalı yumuşamakta ve mikrocerrahi sütür iğneleri daha rahat geçebilmektedir.

Neurolac® (Polyganics, Groningen, Netterlands) Poli(laktik asit- $\epsilon$  kaprolakton) sinir kılavuz kanallarının ticari formudur. 3 cm uzunluğunda 1,5 mm ve 2 mm olmak üzere iki farklı çapta piyasa formu bulunmaktadır. Etilen Oksit ile sterilize edilmiş, kullanım için hazır steril formda bulunmaktadır.

## 2-15 Elektromiyografi (EMG)

Elektromiyografi (EMG), spesifik olarak iğne şeklindeki elektrotun çevresindeki kas fibrillerinde depolarizasyon ve repolarizasyon sonucu oluşan aksiyon potansiyelini ölçmek için kullanılır. Normal bir kas aktivitesi periferik motor sinirin inervasyonuna bağlı olduğu için, EMG sinirin durumu hakkında bilgi verir (117). İğne şeklindeki elektrot sadece birkaç motor birim ile temas halinde olacak şekilde kas fibrilleri içine yerleşir. Bu şekilde sinir iletim hızının belirlenmesi için kullanılan ve kitle aksiyon potansiyelini ölçen yüzey elektrotlarının tersine, sadece lokalize aksiyon potansiyelleri ölçülür (118). İğnenin kasa girerken neden olduğu yaralanma sonucu oluşmuş akım dışında, dinlenme halinde normal bir kasta aktivite gözlenmez. İstemli

kasılma esnasında ise tek bir motor ünitenin aktivitesini gösteren çoklu aksiyon potansiyelleri ölçülür.

Sinir yaralanmasından sonra kontraksiyon oluşturmak istendiğinde motor ünite aksiyon potansiyeli azalır veya görülmez. Denerve bir kasta Wallerian dejenerasyonun motor son plaklara ulaşması için gereken zamana bağlı olarak spontan aktiviteler görülmeye başlar. Spontan fibrilasyonlar yaralanmadan sonra iki ile dört hafta arasında görülmeye başlar. Kas ne kadar distalde ise fibrilasyonlar da o kadar geç başlar.

Kas reinervasyonlarında, karakteristik EMG değişiklikleri görülür. Fibrilasyon potansiyelleri yavaş yavaş kaybolup polifazik potansiyeller görülmeye başlar. İstemli kontraksiyonların oluşması da motor reinervasyonun klinik olarak geri dönüş belirtisidir (117,118).

## **2-16 Sıçan Siyatik Sinir Anatomisi**

Siyatik sinir sıçandaki en kalın periferik sinirdir. L4, L5, L6 ve S1'den gelen spinal sinirlerin oluşturduğu lumbosakral trunkustan çıkar. Varyasyon göstermekle birlikte L5, L6 ve S1 kaynaklanan sinir liflerinin birleşmesi ile oluşur. Pelvis minör içerisinde siyatik sinir adını alıp iskiyumun dorsal kenarı ile kuyruk sokumu arasındaki derin oluktan ilerler ve siyatik çentikten çıktıktan sonra priform kasın ventralinde seyrederek. Sırt derisinin yarıya yakın kısmını ve arka bacak kaslarının çoğunu inerve eder. Siyatik sinirin ana gövdesi, priform kas seviyesinin 1-2 mm aşağısından kuadratus femoris kasının üzerinden ilerleyerek abduktör femoris fasyası üzerinde oblik olarak bacağa doğru iner. Priformis seviyesinde, siyatiğin ana gövdesiyle birlikte çıkan ince dalçık ventrale doğru kuadratus femoris altından geçer ve biseps femoris, semitendinöz ve semimebranöz kasların motor sinirlerini sağlar. Siyatik sinir, diz ekleminin seviyesinin yaklaşık yarım cm üzerinde ventrale doğru seyreden kalın tibial sinir ve dorsale doğru seyreden ince peroneal (fibular) sinir dallarına ayrılır. Peroneal sinir, daha aşağı doğru gastrokinemius'un lateral karnını ve derin parmak fleksörlerini çaprazlayıp önce ince peroneus longus dalını verir ve daha sonra yüzeysel ve derin

peroneal sinirlere ayrılarak sonlanır. Yüzeyel dal peroneus longus ve brevis kaslarını ve parmak ekstansörlerini inerve edip ayak sırtı ve parmakların bir bölümünün duyusunu alır. Derin dal ise tibialis anterior ve uzun parmak ekstansörlerini inerve ederek ikinci parmak arası bölgeye ulaşır. Derin dalın insandakine benzer şekilde dorsal dijital sinirlerle devam ettiği kesin olarak gösterilememiş olmasına rağmen böyle bir dağılım paterni öne sürülmektedir (120). Ventrale doğru uzanan tibial sinir ise ilk dal olarak sural siniri ayrım noktasının 1-2 mm distalinde popliteaya girmeden hemen önce gastrokinemius'un iki başı arasında verir ve plantaris, soleus ve gastrokinemiuslar, fleksör hallucis longus, fleksör digitorum longus ve tibialis posteriorları inerve eder. Bu dallardan sonra ayak bileğinin hemen üzerinde duyusal ağırlıklı lateral ve medial plantar sinirlere ayrılarak sonlanır (121).

### 3- GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji, Anatomi, Nöroloji, Bioistatistik ve Kimya Mühendisliği bölümlerinden destek alınarak Hacettepe Üniversitesi Cerrahi Araştırmalar Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Sıçanların bakımı ve izlemi deney hayvanları laboratuvarında gerçekleşti. Çalışma öncesi Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan gerekli izin alındı ( 04-10-07 tarihli 2007- 18 kayıt numaralı Deney Hayvanları Etik Kurulu Kararı ).

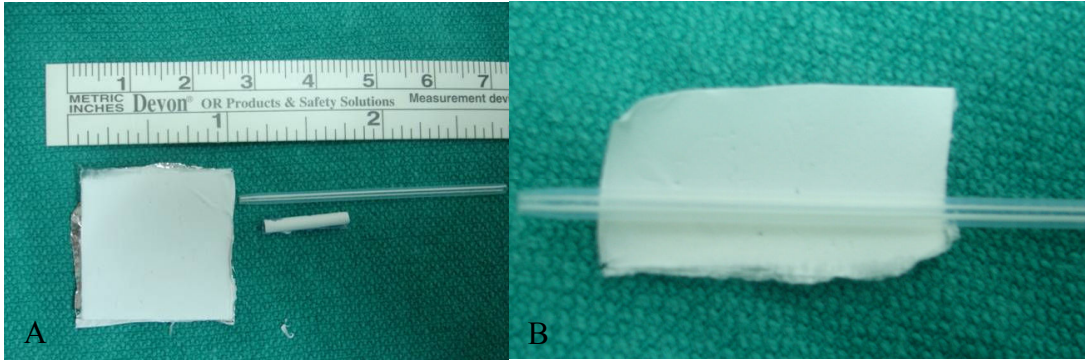
Çalışmada 32 adet 200-280 gr ağırlığında erkek Wistar-albino cinsi sıçan kullanıldı. Tüm hayvanlar deney hayvanları laboratuvarında standart çevre koşulları sağlanacak şekilde her kafeste bir hayvan olacak şekilde barındırılmıştır. Standart sıçan yemi ve musluk suyu ile beslenmişlerdir. Çalışma yapılacak deney hayvanlarına çalışmadan 6 saat önce sıvı ve yiyecek kısıtlaması yapılmıştır.

#### 3-1 Anestezi

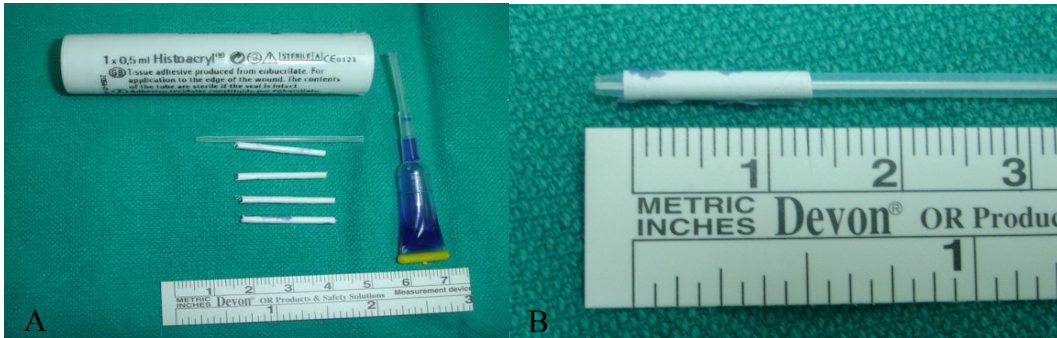
Çalışmamız boyunca sıçanlara 2 tip anestezi yöntemi kullanılmıştır. Deneyin ilk aşamasında, sıçanların siyatik sinir kesilme, sinir grefti veya sinir kılavuz kanalları yerleştirilmesinde anestezi için Xylazine (10mg/kg- Rompun® Bayer,Türkiye) ve Ketamin (90 mg/kg -Ketalar® ,Eczacıbaşı, Türkiye) karışımı kullanılmıştır. Deneyin 2. aşamasında kas elektrofizyolojik çalışma planlandığı için kas gevşetici verilmemiş, sadece Ketamin (90 mg/kg -Ketalar® ,Eczacıbaşı Türkiye) ile anestezi yapılmıştır. Postoperatif ağrı için 100 mg-kg'dan Parasetamol sularına karıştırılarak ilk 24 saat verilmiştir. Deney sonunda yüksek intraperitoneal anestezik ilaçlarla sıçanlara ötenazi yapılacaktır

### 3-2 Elektrosupun Kaprolakton Membranlardan Sinir Kılavuz Kanalı Oluşturulması

Elektrospinning işlemi ile membranlar halinde oluşturulmuş Elektrosupun Kaprolaktonlar 16 Gauge intavenöz silikon kanül etrafına sarılarak iç çapı 16 mm olacak şekilde 1.5 cm'lik sinir kılavuz kanalları elde edildi(122).(Şekil 11) Sinir kılavuz kanalları tek kat Elektrosupun Kaprolakton membrandan oluştu. Mümkün olan en az doku yapıştırması Siyanoakrilat (Cyanoacrylate glue) Histoacryl® (Braun, Aesculap, Germany) ile membran kenarları açılmaması için tespit edildi (122). ( Şekil 12)



**Şekil 11. A;** Elektrosupun Kaprolakton membran **B;** Sinir kılavuz kanalı oluşturulması (x2) (Sony Cyber-shot DSC-P150)



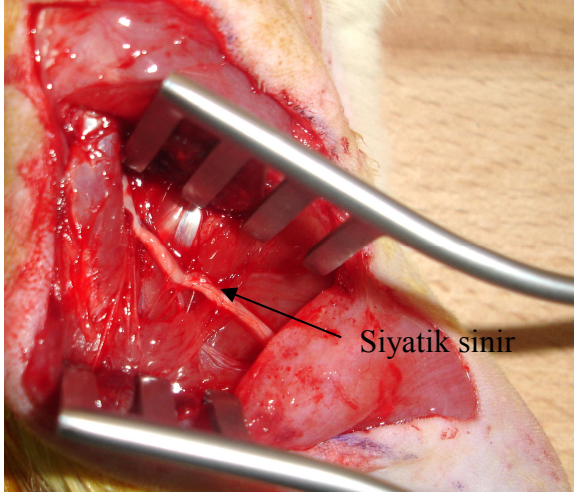
**Şekil 12. A;** Membran köşelerinin Siyanoakrilat Histoacryl® ile yapıştırılması **B;** Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanalı (x2)

### 3-3 Siyatik Sinir Diseksiyonu ve Deney Protokolünün Hazırlanması

Uygun anesteziyi takiben sıçan sağ gluteal ve falangial bölgeler traş edildi. (Şekil 13) Batikon® (Adeka, Samsun) ile temizlenip ameliyat tahtasına yüzüstü şekilde ayaklarına bant yapıştırılarak tespit edildi. Kalça eklemi katlantısını izleyecek şekilde deri kesisi yapıldı. Kesinin her iki tarafındaki deri kenarları gevşek deri altı planından diseke edilerek otomatik ekartör konuldu. Biseps femoris kasının kranial hattı boyunca Fasia Lata'nın yüzeyel kısmı transekte edildi. Biseps kasları kenarıya doğru otomatik ekartör ile retrakte edilerek siyatik sinir diseksiyonu tamamlandı. (Şekil 14) Siyatik sinir diseksiyonu sırasında cerrahi mikroskop kullanıldı. (Carl Zeiss, f170, Opmi pico, Germany) Diseksiyon aşamaları cerrahi mikroskopun üzerinden dijital fotoğraf makinesi ile çekildi. (Sony Cyber-shot DSC-P150)

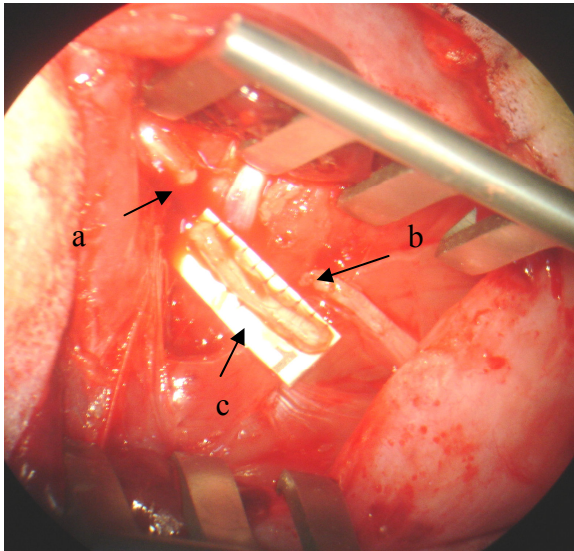


**Şekil 13.** Sıçan dorsumunun hazırlanması



**Şekil 14.** Siyatik sinir diseksiyonu (x3)

Çalışmada Williams ve arkadaşlarının tarif ettiği 1 cm'lik siyatik sinir defekti üzerinde çalışılmıştır (57). Siyatik sinirin siyatik çentikten 0.5 cm çıkışını takiben 0.8 cm'lik bir siyatik sinir segmenti operatif mikroskop altında kesilerek 1 cm'lik sinir defekti oluşturuldu (54,77,120,121). (Şekil15) Deneylerimizde sağ siyatik sinir kullanılmıştır. Herhangi bir cerrahi işlem yapılmayan sol siyatik sinirlere postoperatif dönemde EMG ve histoloji çalışmaları yapılarak normal siyatik sinir değerlendirmeleri elde edilecektir.

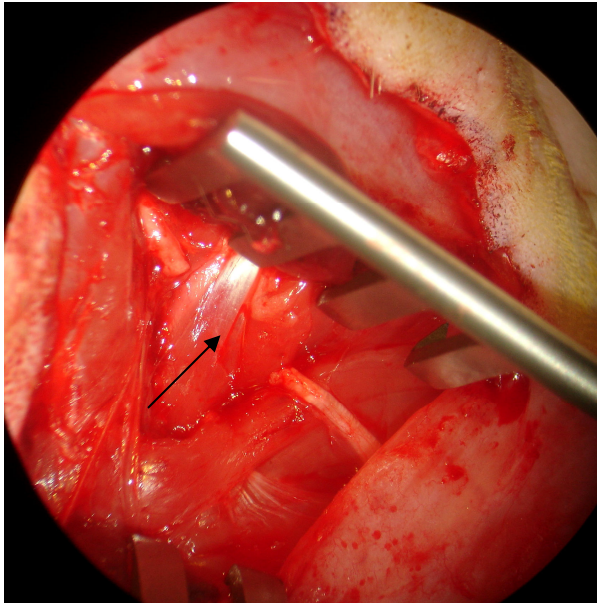


**Şekil 15,** Sol siyatik sinirde 1 cm'lik sinir defekti oluşturulması (x6) (**a;** Proksimal siyatik sinir, **b;** Distal siyatik sinir, **c;** Eksize edilen sinir dokusu)

### 3-4 Gruplar

Çalışmamızda siyatik sinirde oluşturulan 1 cm'lik sinir defekti rekonstrüksiyonu için 4 grup planladık. Her grupta 8 sıçan olmak üzere (n=8) toplam 32 sıçan çalışmaya dahil edildi. Birinci grup Sham grubu, ikinci grup sinir grefti, üçüncü grup Neurolac ®(Poly (DL-Lactide-ε caprolactone) sinir kılavuz kanalları ve dördüncü grupta da Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanalları ile sinir rekonstrüksiyonları yapıldı.

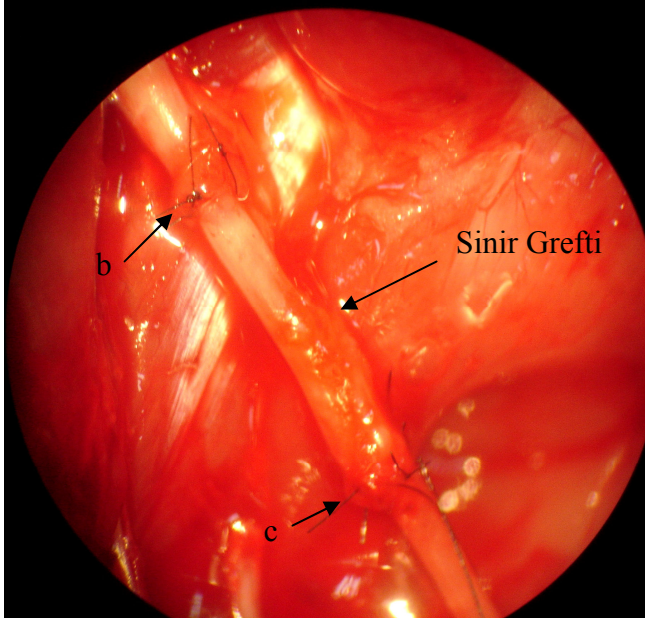
**Grup 1, Sham grubu'**nda siyatik sinirde 0.8 mm'lik sinir eksizyonu yapıp 1 cm'lik siyatik sinir defekti oluşturuldu. Bu grupta sinire herhangi bir cerrahi işlem yapılmadan kaslar 6-0 Vikril® ile yaklaştırılıp cilt prolen® 3-0 ile dikildi. Rastgele seçilen 8 sıçanda bu işlem gerçekleştirildi.



**Şekil 16.** Grup 1, Sinir defekti oluşturulması ve ara segmentin boş bırakılması( okla işaretli bölge) (x6)

**Grup 2, Sinir Grefti grubu'**nda eksize edilen siyatik sinir segmenti (Şekil 15) ters çevirilerek 8-0 naylon dikiş ile (Etilon, Monofilament polyamide 6 suture W2850, Ethicon Ltd, U.K) koaptasyon yapılmıştır. Standart olarak 4

dikiş ile sinir koaptasyonları yapıldı. (Şekil 17) Rastgele seçilen 8 sıçanda bu işlem gerçekleştirildi.

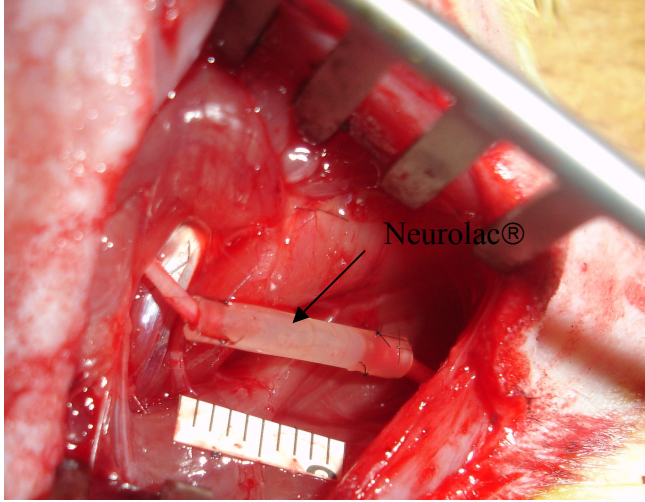


**Şekil 17.** Grup 2, Sinir grefti ile onarımı (x10) (b,c; Koaptasyon hatları)

**Grup 3, Poli (Laktik asit -ε Kaprolakton ) sinir kılavuz kanalları Neurolac® grubu'nda** oluşturulan 1cm lik siyatik sinir defekti onarımında 1,5 mm iç çapı ve 3 cm uzunluğu olan Neurolac® kullanıldı. (Şekil 18) Neurolac®, 2 parçaya bölünerek 2 adet 1.5 cm lik sinir kılavuz kanalı elde edildi. Onarım öncesi sıcak suda beş dakika bekletilip yumuşama sağlandıktan sonra onarıma geçildi. Proksimal ve distal kökler sinir kılavuz kanallarının içine çekilecek şekilde dikişler konulup proksimalde 2,5 mm distalde de 2,5 mm sinir kılavuz kanalın içerisine yerleştirildi. Aradaki defekt 1 cm olacak şekilde ayarlandı ve 8-0 nylon suture konuldu. (Şekil 19) Rastgele belirlenmiş 8 sıçanda bu işlem gerçekleştirildi.

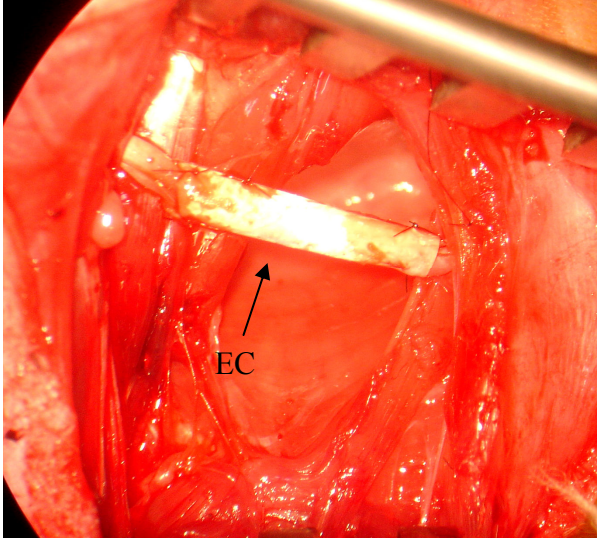


**Şekil 18. A;** Neurolac® sinir kılavuz kanalı, **B;** Neurolac®, ticari form



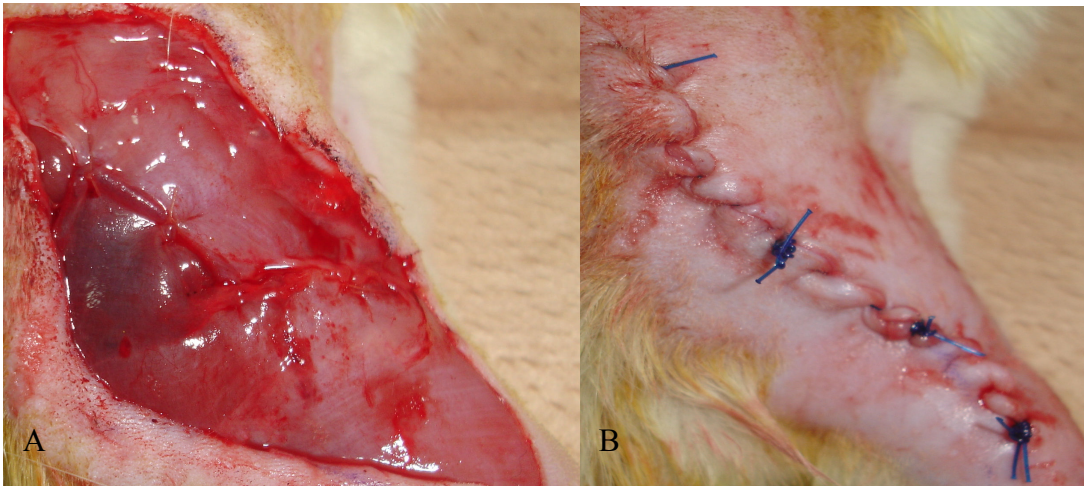
**Şekil 19.** Grup 3 Poli (laktik asit -ε caprolakton ) sinir kılavuz kanalları (Neurolac®) ile siyatik sinir defekti onarımı

**Grup 4, Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanalları grubu'**nda bölüm 3-2'de tarif edilen yöntemle hazırlanmış sinir kılavuz kanalları 1 cm'lik siyatik sinir defekt bölgesine yerleştirildi. 1,5 cm uzunluğu ve 16 mm iç genişliği olan bu sinir kılavuz kanallarına proksimal ve distal sinir uçları 2.5 mm girecek şekilde yerleştirilip 8-0 nylon iplikle tespit edildi. (Şekil 20) Rastgele belirlenmiş 8 sıçanda bu işlem gerçekleştirildi.



**Şekil 20.** Grup 4, Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanalları (**EC**) ile siyatik sinir defekti onarımı(x10)

Tüm gruplarda sinir onarımları sonrası kaslar 6-0 Vikril® ile yaklaştırılıp cilt 3-0 Prolen® ile onarıldı. (Şekil 21)



**Şekil 21. A;** Kasların yaklaştırılması **B;** Cilt dikişi konulması

### **3-5 Rejenerasyonun Değerlendirilmesi**

Üç ay (92 gün) sonra sinir rejenerasyonun değerlendirilmesi amacıyla şu çalışmalar yapılmıştır:

- 1- Makroskopik değerlendirme
- 2- Elektromiyografik değerlendirme (EMG)
- 3- Mikroskopik değerlendirme
  - a-Işık mikroskopi değerlendirmesi
  - b-Elektron mikroskopi değerlendirmesi

#### **3-5-1 Makroskopik değerlendirme**

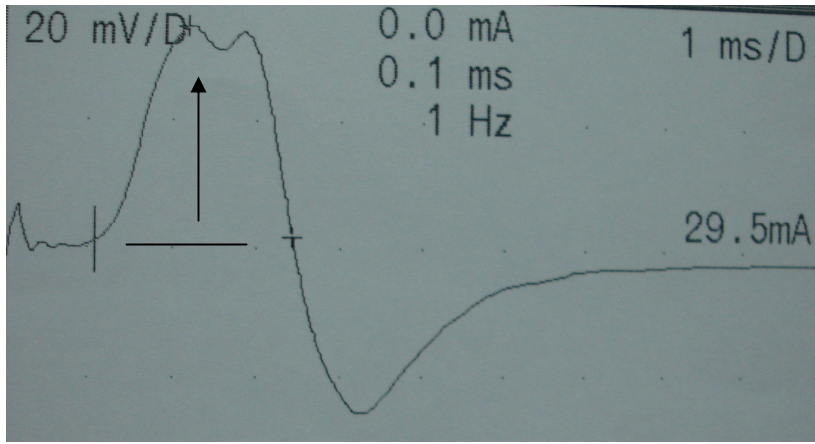
3. ayın sonunda tüm gruplardaki sıçanların gözle incelenmesinde, normal bacak postürü, yere ayak yada topuk basma özellikleri, bacak fleksör kaslarında atrofi gelişip gelişmediği, bası yaralarının olup olmadığı gözlenecektir. Ayrıca insizyon hattı özelliklerine (enfeksiyon, kronik yara vb. ) dikkat edilecektir. Koaptasyon bölgelerinde konulan sinir kılavuz kanallarının durumu, yapışıklıklar, abse yada enfeksiyon varlığı dikkate alınarak gözlem yapılacaktır.

#### **3-5-2 Elektromiyografik değerlendirme (EMG)**

Elektrofizyolojik ölçüm ve kayıt için konvansiyonel bir elektromiyografi cihazı (Synergy, Medelec, U.K.) kullanıldı. Anestezi sırasında kas gevşetici kullanılmadı. Daha önce kullanılan insizyondan girilerek gluteal kaslar aralandı ve siyatik sinir trasesine ulaşıldı. Proksimal ve distal kökler serbestleştirilip koaptasyon bölgesindeki sinir segmenti yapışıklıklardan diseke edildi. İlk cerrahi işlemde farklı olarak sıçanların bacak bölgelerindeki cilt adası kaldırılıp gastrokinemius ve soleus kasları ortaya konuldu. Sinir uyarımı için uçu çengel şeklinde olan 2.5 mm aralıklı bir çift tungsten tel elektrot kullanıldı. Gastrokinemius ve soleus kaslarında oluşan aksiyon potansiyeli ölçümünde aktif elektrot gastrokinemius ve soleus kasları

üzerinde, topraklama hattında ratın dorsal bölgesinde herhangi bir kasa dokunabileceği yere yerleştirdi.

Siyatik sinir diseksiyonu tamamlandı diğer dokulardan 2-3 mm yukarı kaldırıldı. Koaptasyon hattının proksimalinden sinire 25-35 mA şiddetindeki akım verilerek kaslarda oluşan aksiyon potansiyeli "Evoked compound muscle action potential (CMAP)" ve CMAP eğrisi altında kalan alan bilgisayar yardımı ile hesaplanıp istatistiksel olarak karşılaştırıldı. (Şekil 22)



**Şekil 22.** Gasrokinemius ve Soleus kaslarında oluşan CMAP eğrisi, (Okun yüksekliği CMAP 'ı, eğri altındaki alan hesaplaması da CMAP eğrisi altındaki alanı verir)

### 3-5-3 Mikroskopik Değerlendirme

#### a- Işık Mikroskopisi İle Değerlendirme

Sinir rejenerasyonunu histolojik açıdan değerlendirmek amacıyla sinir kılavuz kanallarının ve sinir greftinin ortasından distale uzanan 0.5 cm'lik örnekler alındı. Örnekler %10'luk Formol çözeltisi ile fikse edildi. Fiksasyonu takiben örnek dokudan Mikrotom (Leica SM 2000 R) ile sinir liflerine dik olacak şekilde kesitler alındı. Bu kesitler Hemotoksilen-Eozin ve Kluver-Barrera yöntemi ile boyandı. Kluver-Barrera yöntemi miyelin ve sinir hücrelerinin boyanmasında kullanılan bir yöntemdir (Kluver-Barrera yöntemi

ile miyelin ve fosfolipitler maviden yeşile uzanan spektrumda, hücre yapıları ve çekirdekleri de mor renge boyanır). Preperatlar ışık mikroskopi (Olympus, Bx 51) ile değerlendirildi. Işık mikroskopi üzerine monte edilen aletle fotoğraf çekimleri bilgisayar ortamında yapıldı (Insight Fire Wire Diagnostic Instrument. U.S.A.). Preperatlarda sinir yapısı, sinir rejenerasyonu, miyelin yapısı, akson düzeni ve sinir kılavuz kanalları değerlendirildi.

### **b- Elektron Mikroskopisi İle Değerlendirme**

Her gruptan 2'şer örnek alınarak Scanning Elektron Mikroskopi (SEM) ile çalışıldı. SEM için alınan doku örnekleri %2,5'lük Gluteraldehit çözeltisi içerisinde 24 saat fikse edildi. Daha sonra Sorenson's Phosphate Buffer (SPB) çözeltisi ile yıkanıp %1'lik Osmium Tetroksit çözeltisi ile 2 saat süre ile post fiksasyon işlemi uygulandı. Post fiksasyon işleminden sonra yeniden SBP ile yıkanan dokular daha sonra düşükten yükseğe doğru değişen Aseton konsantrasyonlarında dehidrate edildi. Bu işlemden sonra örnekler, 100 Angstrom kalınlıkta kaplanarak Jeol SEM ASID-10 taramalı elektron mikroskop ile 80 kilovoltluk akselerasyon voltajında incelendi ve fotoğraflar çekilip kaydedildi.

### **3-6 İstatistiksel Analiz**

Gruplar arasında EMG değerlendirmeleri sonucunda ortaya çıkacak CMAP ve CMAP Alan değerlendirmeleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak anlamlılıkları Kruskal-Wallis testi ile, gruplar arası ikili karşılaştırmalar da Conover testi ile yapılmıştır. Hacettepe üniversitesi Bioistatistik Anabilim Dalından yardım alınarak SPSS 13.0 yazılım kullanılarak kişisel bilgisayarda gerçekleştirilmiştir.

## 4- BULGULAR

### 4-1 Makroskopik Değerlendirme

Çalışmanın 92. gününde sıçanlara anestezi vermeden tüm gruplardaki hayvanların bacak postürleri ve yürüyüşteki basma paternleri değerlendirilmiştir. Grup 1 (Sham grubu), Grup 3 (Poli (lakti asit-ε-kaprolakton) Neurolac®) ve Grup 4 (Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanalları) sıçanlarda bacaklarda dorsifleksiyonun hakim olduğu ,hayvanların topuğuna basarak yürüdüğü ve bu ayağı fazla hareket ettiremedikleri gözlenmiştir. Bacak fleksör kaslarda diğer bacağa göre ciddi atrofi gözlenmiştir. (Şekil 23) Ayak bileğinde ve parmaklarda doğrusal fleksiyon kaybı mevcuttur. Grup 2 (sinir grefti)'de kas atrofisi hafif-orta düzeyde bulundu. Grup 2'de ki sıçanlarda normal yürüyüş paternine yakın yürüyüş ve ayağı çekme hareketi mevcuttu.

Tüm gruplardaki deney hayvanlarında herhangi bir bası yarası izlenmedi. İnsizyon hatlarının tüm gruplarda sorunsuz iyileştiği, bu bölgedeki tüylerinin çıkması nedeniyle hiç belli olmadığı görüldü.

Tüm gruplarda eski insizyon hattı kullanılarak cerrahi işlem başlatıldı. Cilt altında tüm gruplarda bir miktar fibrozis görüldü. Kasların arasından girilerek siyatik sinir bölgesine ulaşıldı. Bu bölgede değişik gruplarda farklı düzeylerde ödem, fibrozis ve yapışıklıklar gözlemlendi. Grup 1- 2' de yapışıklıklar ve fibrozis daha az seviyede iken, Grup 3-4'de ödemli dokular, yoğun fibrosis ve yapışıklıklar gözlemlendi.

Grup 1 (Sham grubu)'de proksimal güdükte bir nöroma formasyonu görüldü. Proksimal kökün retrakte olduğu ve 1 cm defektin daha arttığı belirlendi. İnflamasyon ve fibrozis daha az seviyede idi. Proksimal ve distal kökler arası fibröz doku ile bağlantılı olarak kaldırıldı, EMG ve histolojik örnek almak için hazırlandı. Bacak derisine doğru cilt insizyonu devam ettirilip bacak fleksörlerinde ciddi atrofinin geliştiği görüldü. (Şekil 23)

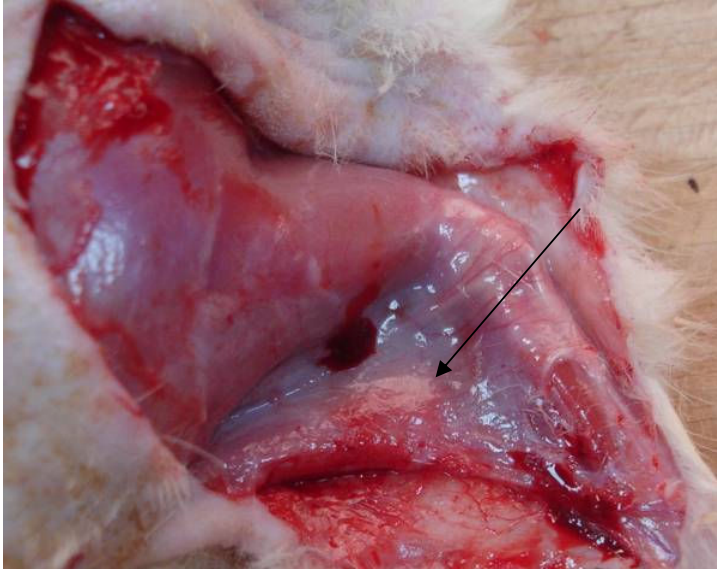
Grup 2 ( Sinir grefti)'de, siyatik sinir çok rahat bir şekilde diseke edildi. Yapışıklıklar ve ödem düşük seviyede mevcuttu. Sütürler sayesinde

koaptasyon bölgesi tam olarak belirlenebildi. Hiçbirinde nöroma formasyonu gelişmediği görüldü. Bacak kaslarında hafif-orta derece atrofi gözlemlendi. (Şekil 24)

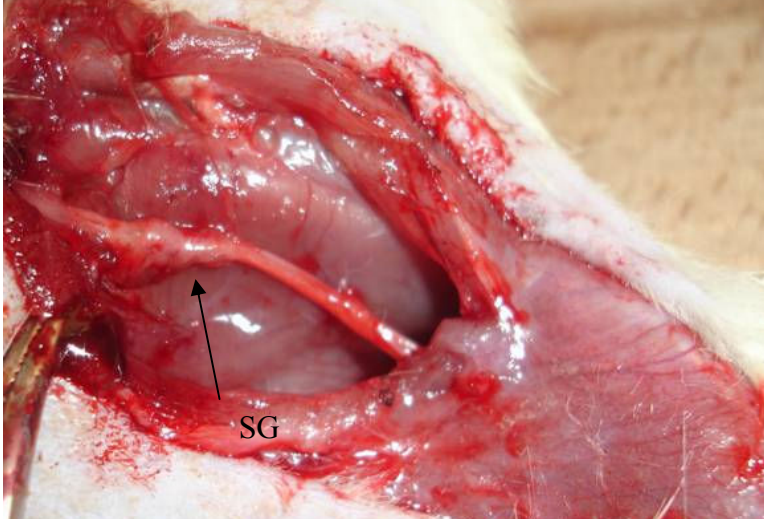
Grup 3'de, (Poli (lakti asit-ε-kaprolakton sinir kılavuz kanalları) Neurolac®) dokular ödemli, yoğun fibrozis ve yapışıklıklar içerisinde siyatik sinir diseksiyonu yapıldı. Sinir kılavuz kanalı ilk konulan sertliği kaybetmiş, yumuşamış ve etrafını bağ dokusu sıkı şekilde çevrelenmiş olarak bulundu. Bacak fleksörlerinde ciddi derecede atrofi mevcuttu. (Şekil 23,25)

Grup 4'de, (Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanalları) diseksiyon sırasında yoğun şekilde ödem ve fibrosis olduğu görüldü. Etraftaki bağ dokusu tarafından sinir kılavuz kanalının etrafı sıkı şekilde sarılmıştı. Sinir kılavuz kanallarında yumuşama ve biobozunma başladığı görüldü. Bacak fleksör kaslarında ciddi şekilde atrofi gözlemlendi. (Şekil 26,27)

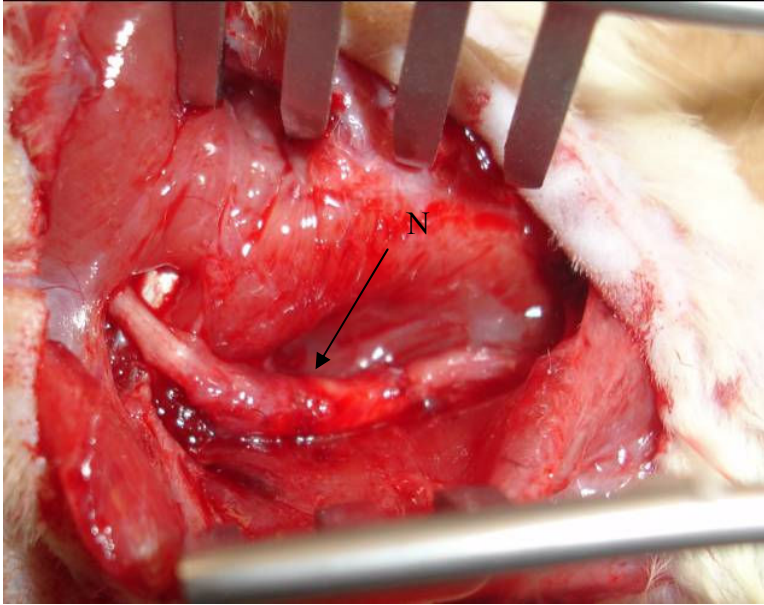
2-3-4. gruplarda konulan sinir greftleri ve sinir kılavuz kanalları koapte edildikleri yerde sabit olarak kalmışlardır. Sinir kılavuz kanallarının hepsi 3 ayın sonunda bütünlüğünü korumuşlardır. Sertliklerinde yumuşama özellikle 3 grupta gözlenmiştir. 3 ve 4. grupta da forsepsle tutulduğu zaman tubülaritesini kaybetme eğiliminde olduğu gözlenmiştir. Grup 3'de orta kesimlerde biobozunmanın fazla olduğu görülmüştür.



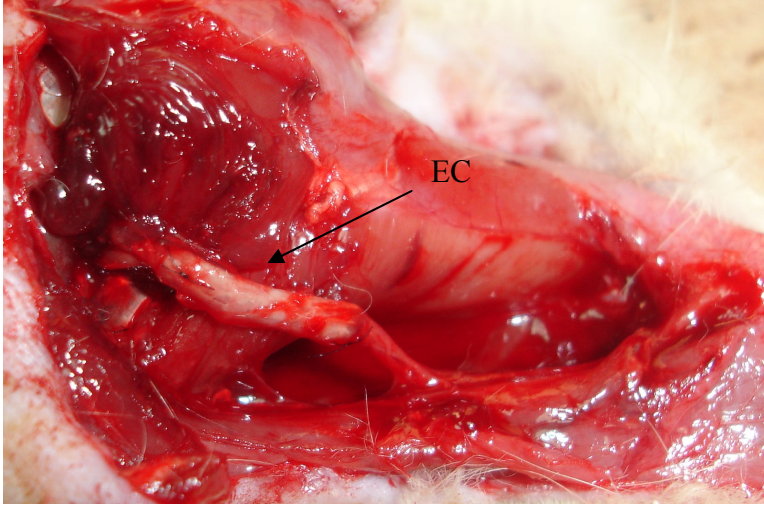
**Şekil 23** Sıçan bacak fleksör kaslarındaki yoğun atrofi (okla işaretli )(x3)



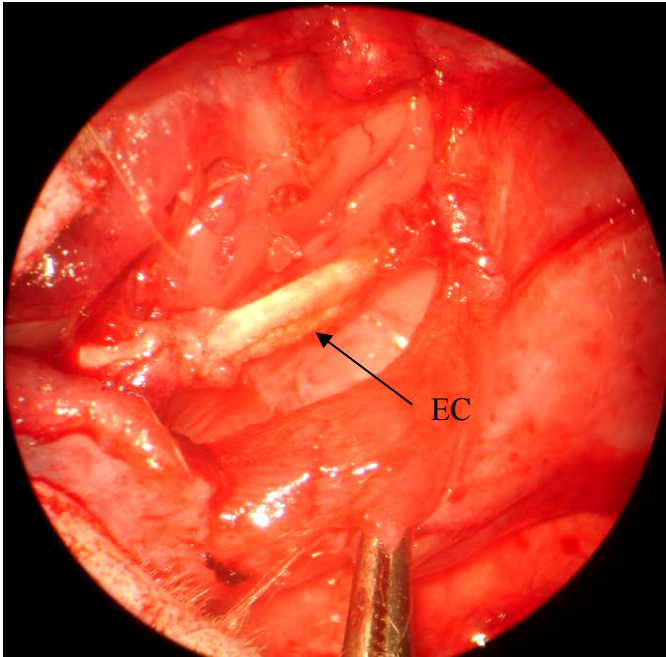
**Şekil 24.** Grup 2 (**SG**; sinir grefti) 3 ay sonundaki makroskopik görüntüleme (okla işaretli) (x6)



**Şekil 25.** Grup 3 (**N**; Poli (lakti asit- $\epsilon$ -kaprolakton sinir kılavuz kanalları) Neurolac®) 3 ay sonundaki makroskopik görüntüleme (x6)



**Şekil 26.** Grup 4 ( **EC**; Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanalları) 3 ay sonundaki makroskopik görüntüleme (x6)



**Şekil 27.** Grup 4, ( **EC**; Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanalları) 3 ay sonundaki makroskopik görüntüleme (x10)

## 4-2 Elektromiyografik Değerlendirme (EMG)

Bölüm 3-5-2 de anlatılan şekilde 25-35 mA arasındaki akım verilerek gastrokinemius ve soleus kaslarından elde edilen CMAP ve CMAP alan ölçüm değerleri karşılaştırıldı. (Tablo 1)

**Tablo 1** EMG ölçümleri sonucunda elde edilen CMAP ve CMAP alan ölçümleri (msec/mV)

Normal	Grup 1		Grup 2		Grup 3		Grup 4		
CMAP	Alan	CMAP	Alan	CMAP	Alan	CMAP	Alan	CMAP	Alan
33,6	51,4	0	0	5	11,3	3,1	6,7	2,6	3,5
27,3	45	0	0	7,1	15	2,8	5,9	3,9	7,5
35,5	53,2	0	0	9,3	15,5	2,6	3,2	1,3	2,5
25	39,4	0	0	9,8	15,5	2,5	3,4	2,5	3,2
34	49,8	0	0	8,5	13,1	1,5	3,6	1,7	2,9
36,5	54,6	0	0	6,2	11,4	1,1	2,9	2,8	5,7
22	31,9	0	0	12,4	22	2,3	3	1,1	2,7
32,2	48,5	0	0	8,1	12,4	1,8	3,1	2,3	3,5

### CMAP Ölçümleri

Normal siyatik sinir CMAP ölçümleri ortalaması;  $30,763 \pm 1,88$  msec/mV

Grup 1 CMAP ölçümleri ortalaması;  $0,00 \pm 0,00$  msec/mV

Grup 2 CMAP ölçümleri ortalaması;  $8,3 \pm 0,8115$  msec/mV

Grup 3 CMAP ölçümleri ortalaması;  $2,213 \pm 0,2423$  msec/mV

Grup 4 CMAP ölçümleri ortalaması;  $2,275 \pm 0,23$  msec/mV

## CMAP Alan Ölçümleri;

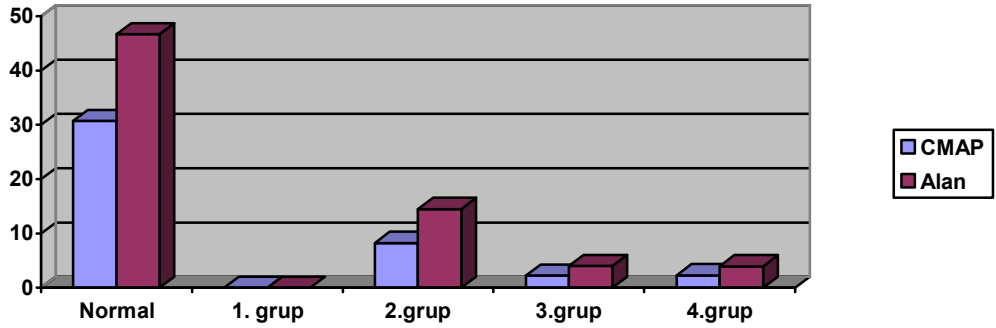
Normal siyatik sinir CMAP alan ölçümleri ortalaması;  $46,725 \pm 2,7217$  msec/mv

Grup 1 CMAP alan ölçümleri ortalaması;  $0,00 \pm 0,00$  msec/mv

Grup 2 CMAP alan ölçümleri ortalaması;  $14,525 \pm 1,2299$  msec/mv

Grup 3 CMAP alan ölçümleri ortalaması;  $3,975 \pm 0,5188$  msec/mv

Grup 4 CMAP alan ölçümleri ortalaması;  $3,938 \pm 0,6182$  msec/mv



**Şekil 28.** Gruplardaki CMAP ve CMAP alan değerlerinin ortalamalarının grafiksel gösterimi

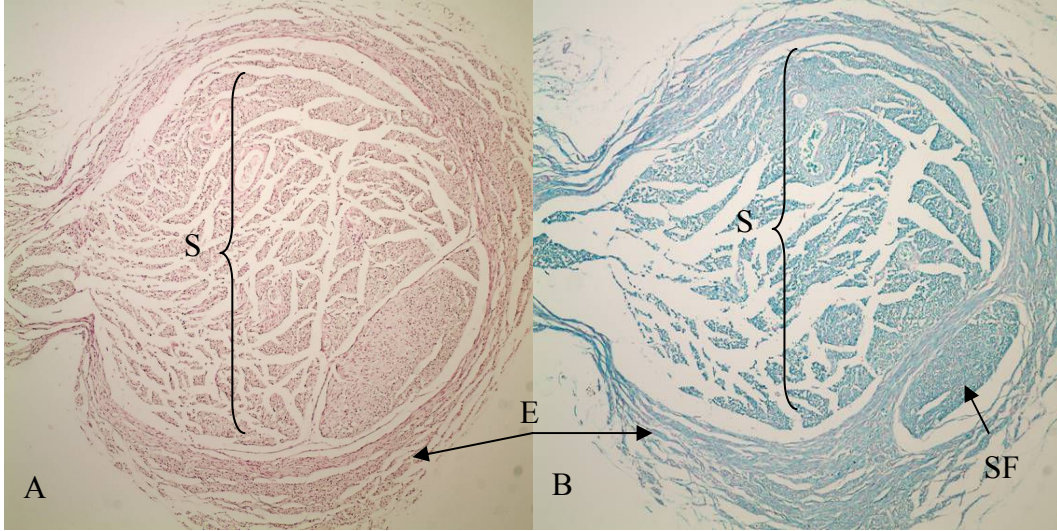
Her gruptan iki tane olmak üzere rastgele seçilen sekiz sıçanın sağlam olan sol siyatik sinirleri explore edildi. Gastrokinemius ve Soleus kaslarının üzerindeki deri kaldırıldı. Sol siyatik sinirlerde EMG ölçümleri ile normal CMAP ve CMAP alan değerleri oluşturuldu. Kruskal–Wallis testi ile gruplar normal değerlerde katılarak karşılaştırıldığında Normal değerler, Grup 1-Grup 2'nin istatistiksel olarak farklılık gösterdiği fakat grup 3 ve grup 4'ün kendi aralarında farklılık göstermediği görülmüştür ( $p < 0,005$ ). Grup değerlerinin ikili olarak karşılaştırılmasında (Conover testi), sinir grefti grubu (Grup 2) de en iyi sonuçlar alındığı, Grup 3 ve Grup 4 birbirinden istatistiksel olarak farkı olmadığı ve sinir grefti grubuna göre daha düşük değerler aldığı görülmüştür. Siyatik sinir 1 cm defekti rekonstrükte edilmeyen ratlarda sinir rejenerasyonu gelişmemiş, EMG'lerde CMAP oluşmamıştır. Bu çalışmada sinir grefti ile yapılan sinir rekonstrüksiyonunda en başarılı sonuçlar

alınmıştır. Poli(laktik asit-ε kaprolakton sinir kılavuz kanalları ve Elektrosupun kaprolakton sinir kılavuz kanalları sinir rejenerasyonunda EMG değerlendirmelerine göre eşit etkinlik göstermiştir. Bu iki biobozunur materyalden elde edilen sinir kılavuz kanalları sinir greftine göre daha düşük sinir rejenerasyonu geliştirmiştir.

### **4-3 Mikroskopik Değerlendirme**

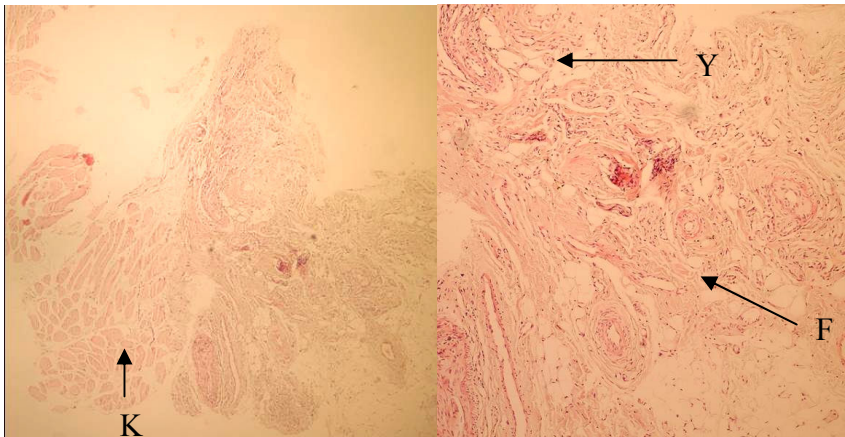
#### **a- Işık Mikroskopisi İle Değerlendirme**

Elektromiyografik değerlendirme sonrasında tüm sıçanlardan proksimal ve distal sinir uçları dahil edilmek üzere örnekler alınıp % 10'luk Formol içerisine konuldu. Burada sinir kılavuz kanallarının orta noktasından geçen kesitlerle değerlendirmeler yapıldı. Preperatları daha iyi anlayabilmek için sıçan normal siyatik sinirinin Hemotoksilen-Eozin (Şekil 29A) ve Kluver Barrera (Şekil 29B) yöntemi ile boyama preperatları gösterilmek istenmiştir. Hemotoksilen-Eozin ile miyelin, aksonal yapılar ve bağ dokusu elemanları kırmızı-pembe-mor spektrumda gözükürken, Kluver-Barrera yöntemi ile miyelin, aksonlar ve bağ dokusu elemanları mavi renkte boyanır. Arada Schwann hücrelerinin çekirdekleri mor olarak gözükür. Boyanma paternlerini anlamak için normal sinir kesitinin her iki boya ile boyanmasını Şekil 29'da görmekteyiz. En dışta epinörium ve sinirin mezosu görülmektedir. Orta bölümde ise, miyelinli aksonal yapılar fasiküller oluşturmuş ve bu fasiküller arasında kapillerler görülmektedir. ( Şekil 29 )



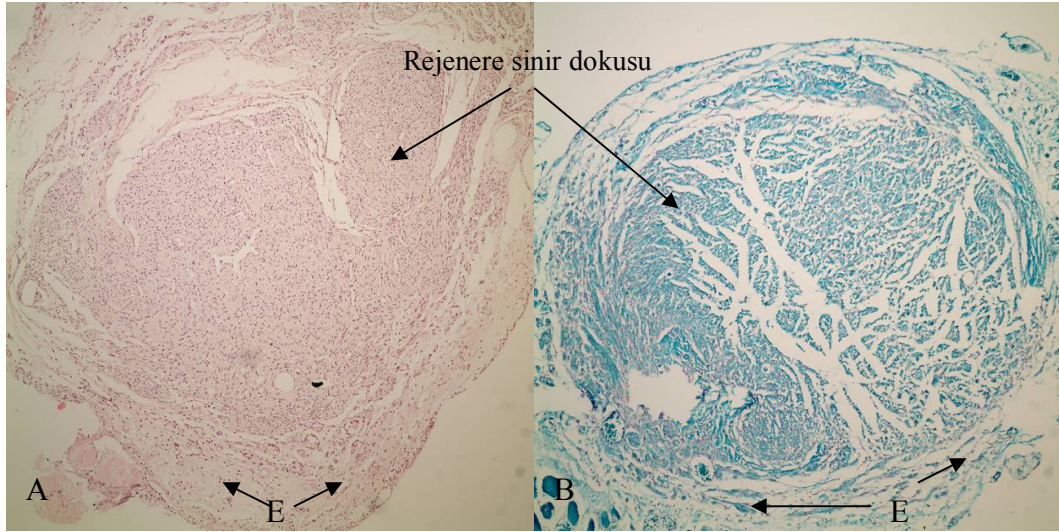
**Şekil 29.** Sıçan normal siyatik sinir kesiti, **A** H-Eozin – **B** Kluver-Barrera yöntemi ile boyanan preparatlar, (x40) (**S**; Sinir dokusu, Miyelinize aksonlar ve Schwan hücreleri, **SF**; Sinir fasikülü, **E**; Epinörium)

Grup 1 (Sham grubu), proksimal kökte nöroma formasyonu izlenmiştir. Proksimal ve distal kökler arasındaki fibröz yapının mikroskopik incelemesinde sinir dokusu görülmemiş, bol miktarda fibrositler, kan damarları ve adipoz doku gözlenmiştir. Bu fibröz doku kasada yapıştığı için preparat kenarlarında kas dokusunda görülmektedir. (Şekil 30) Proksimal kökte düzensiz ,miyelinli ve miyelinsiz aksonların bir arada bulunduğu yumak tarzında nöroma formasyonu izlenmiştir.

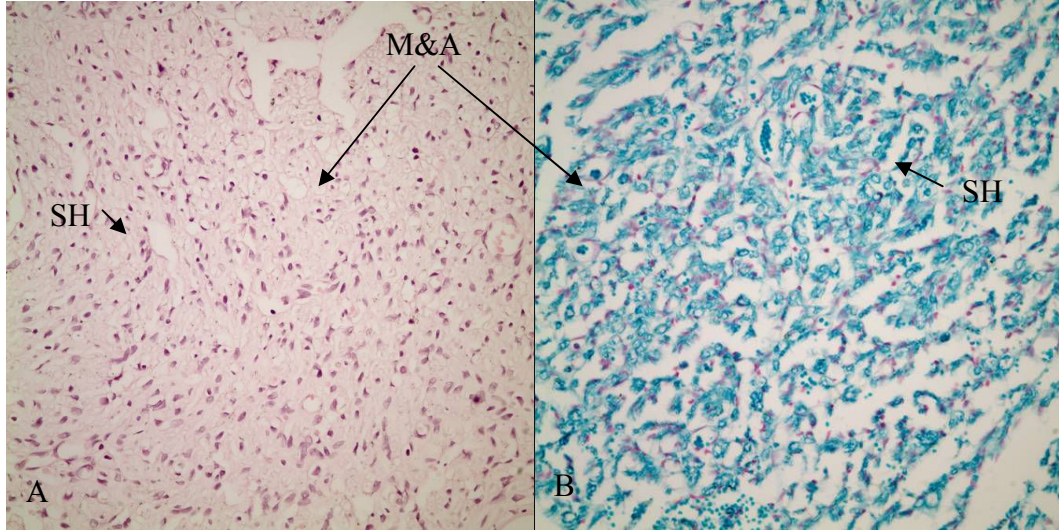


**Şekil 30.** Grup 1 Fibroadipoz doku (H-Eozin , x40, x100 ) (**F**; Fibröz doku, **K**; Kas dokusu, **Y**; Yağ dokusu)

Grup 2 (Sinir Grefti); bu sinir greftinin orta noktasından alınan kesitlerde bol miktarda miyelinli sinir dokusu görülmüştür. Miyelin dokusu Hemotoksilen-Eosin boyasında vakuoler şekilde schwann hücre çekirdekleri arasında görülmektedir. Kluver-Barrera yöntemi ile boyanan preparatlarda miyelin dokusunu mavi renkli boyanmasını görmekteyiz. Arada mor renkli schwann hücre çekirdekleri büyük büyütmede görülmektedir. Preparatlarda çok yoğun bir sinir rejenerasyonu olduğu izlenmektedir. Preparatlarda perinörium en dış tabakada görülmektedir. (Şekil 31,32)

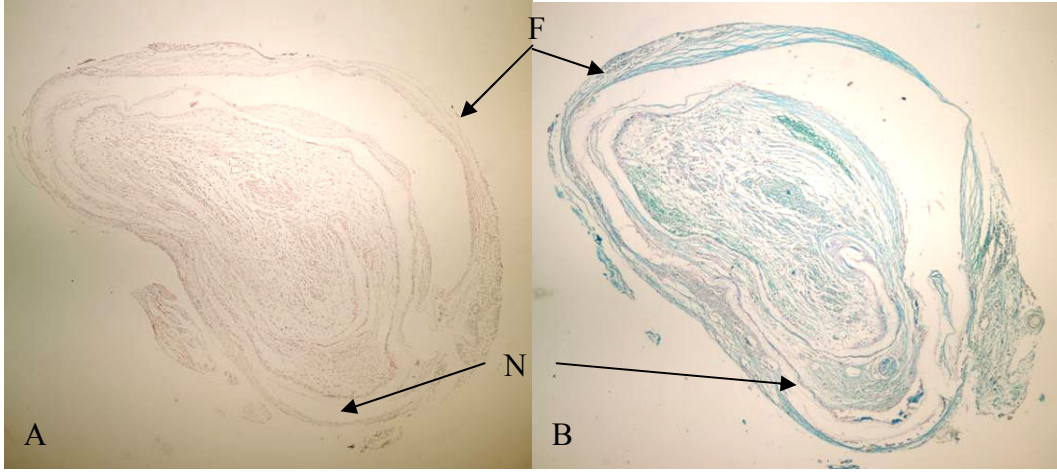


**Şekil 31.** Grup 2 (Sinir Grefti) **A**; H-Eozin – **B**; Kluver Barrera yöntemi ile boyanan preparatlar (x40) (**E**; Epinörium)

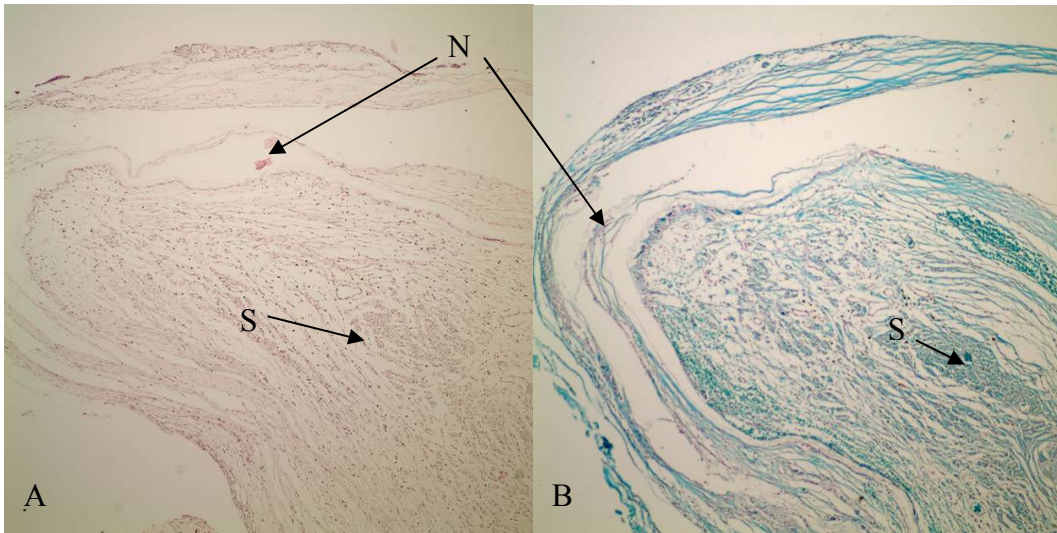


**Şekil 32.** Grup 2 (Sinir Grefti) **A**; H-Eozin – **B**; Kluver Barrera yöntemi ile boyanan preparatlar (x200) (**SH**; Schwann hücresi çekirdeği, **M&A**; Miyelinli ve miyelinsiz aksonlar)

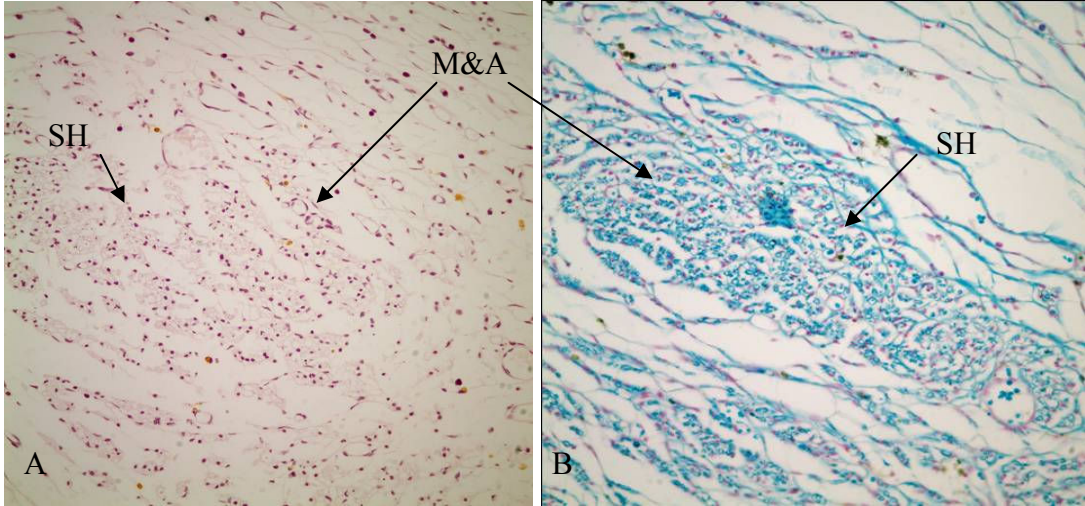
Grup 3'de (Poli (laktik asit- $\epsilon$ -kaprolakton) sinir kılavuz kanalları (Neurolac®)), yapılan histolojik kesitlerde sinir kılavuz kanallarını küçük büyütmelelerde (x40) de rahatlıkla görebiliyoruz. Sinir kılavuz kanalının bir bağ dokusu tarafından çepeçevre sarılmış olduğunu ve bu bağ dokusunun farklı bölgelerde kalınlığının değişiklik gösterdiğini görmekteyiz. Sinir kılavuz kanalın ortasında, rejenere olan miyelinli ve miyelinsiz aksonlar görülmektedir. Düzensiz görünümde olan bu aksonal yapılar homojen bir dağılım göstermemekte bazı bölgelerde daha yoğun olarak bulunmaktadır. Sinir kılavuz kanalının iç yüzeyine yakın olan bölümlerde çok çekirdekli dev hücreleri görmekteyiz. Bunların yabancı cisim reaksiyonuna sekonder olarak geliştiğini düşünmekteyiz. Küçük büyütmelelerde (x40) sinir kılavuz kanalının yuvarlak yapısının kaybolduğu ve yassılaşmaya başladığı görülmektedir. Sinir kılavuz kanalının her bölgede eşit kalınlıkta olmadığını görülmektedir. (Şekil 33-35)



**Şekil 33.** Grup 3, (**N**; Poli (laktik asit- $\epsilon$ -kaprolakton) sinir kılavuz kanalları, Neurolac®, **F**; Fibröz bağ dokusu) **A**; H-Eozin – **B**; Kluver Barrera ile boyanan preparatlar (x40)

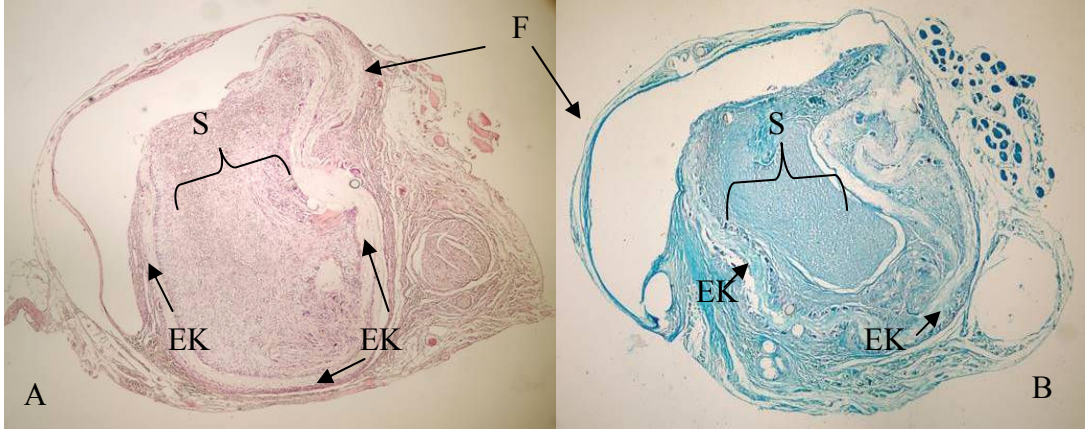


**Şekil 34.** Grup 3, (**N**; Poli (laktik asit- $\epsilon$ -kaprolakton) sinir kılavuz kanalları, Neurolac® **S**; Rejenere sinir dokusu) **A**; H-Eozin – **B**; Kluver Barrera ile boyanan preparatlar (x100)

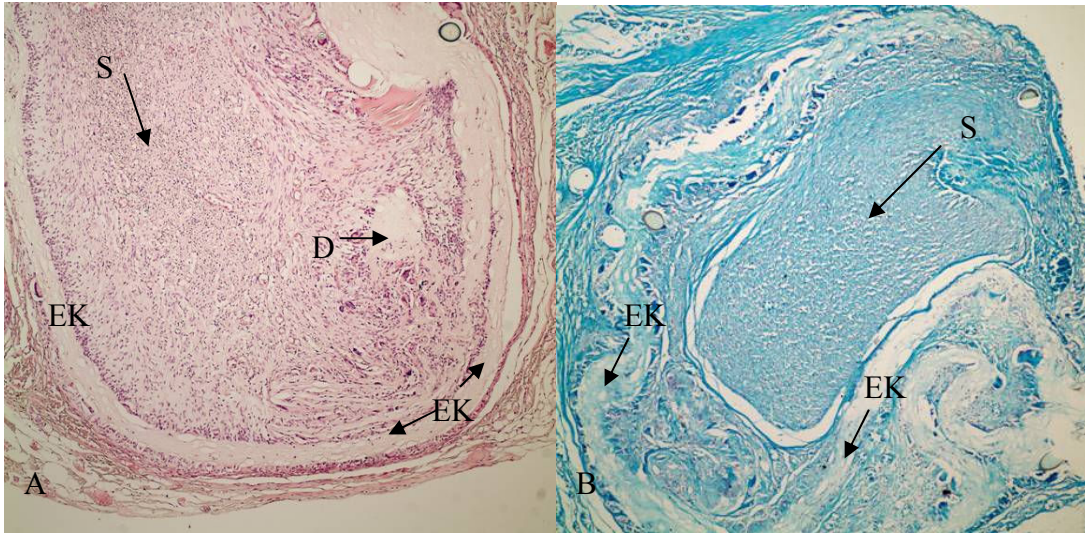


**Şekil 35.** Grup 3, (Poli (laktik asit-ε-kaprolakton) sinir kılavuz kanalları, Neurolac®) **A**; H-Eozin – **B**; Kluver Barrera ile boyanan preparatlar (x200) (**SH**; Schwann hücre çekirdeği, **M&A**; Miyelin ve Aksonlar)

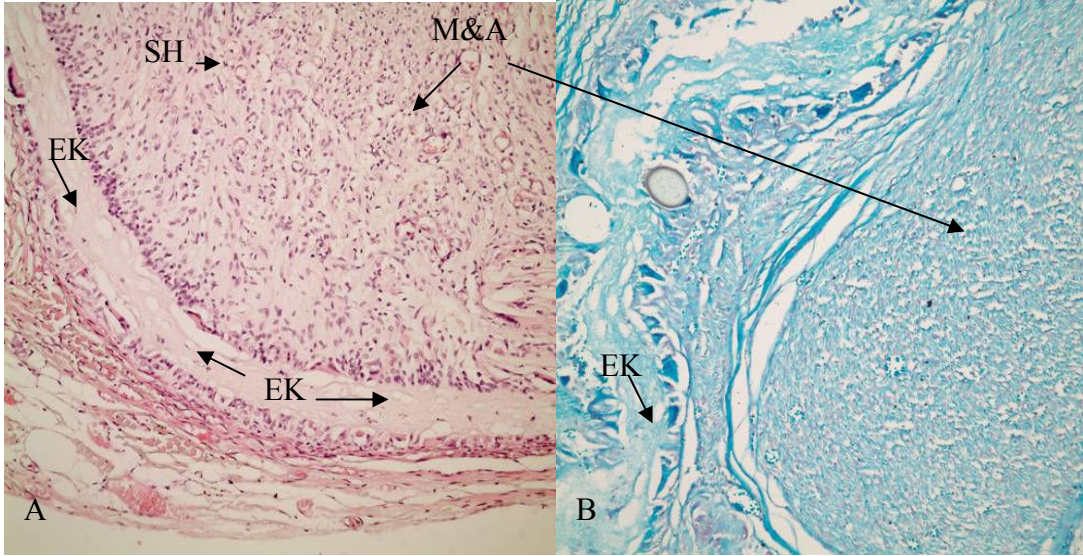
Grup 4 (Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanalları), grup 3'de olduğu gibi küçük büyütmelemlerde rahatlıkla görülmektedir. Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanallarının etrafını fibröz doku çevrelemiştir. Sinir kılavuz kanalının yuvarlak lümen yapısı yassılaştırmıştır. Sinir kılavuz kanalının yapısı, duvar kalınlığı kesitlerde ve tüm büyütmelemlerde görülmektedir. Sinir kılavuz kanalı içerisinde yoğun miktarda miyelinli ve miyelinli aksonlar, yeni damarsal yapılar ve schwann hücre çekirdekleri mevcuttur. Dev hücre reaksiyonları Grup 3'de olduğu gibi burada da özellikle sinir kılavuz kanalına yakın olan bölgelerde görülmektedir. Özellikle 200'lük büyütmelemlerde sinir kılavuz kenarında ince şerit halinde mor çekirdekli hücre dizimini görmekteyiz. (Şekil 36-38)



**Şekil 36.** Grup 4 (**EK**; Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanalları, **F**; fibröz bağ dokusu, **S**; Rejenere sinir dokusu) **A**; H-Eozin – **B**; Kluver Barrera ile boyanan preparatlar (x40)



**Şekil 37.** Grup 4 ( **EK**, Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanalları **D**; Dev hücre, **S**; Sinir dokusu ) **A**; H-Eozin– **B**; Kluver Barrera ile boyanan preparatlar (x100)



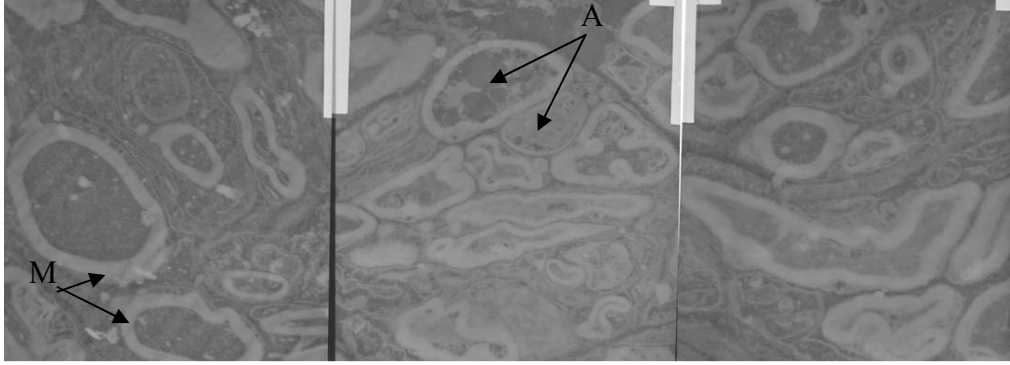
**Şekil 38.** Grup 4, (EK; Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanalları, M&A; Miyelin ve Aksonlar SH; Schwann hücre çekirdeği) **A**;H-Eozin – **B**; Kluver Barrera ile boyanan preperatlar (x200)

#### **b- Elektron Mikroskopisi İle Değerlendirme**

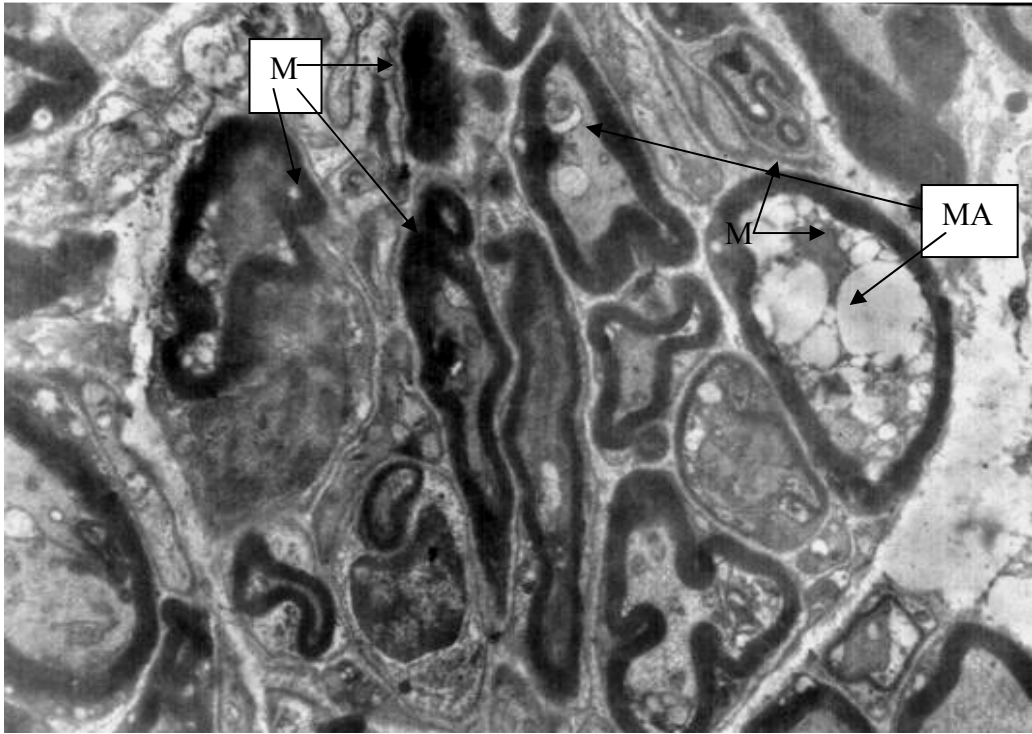
Gruplardaki sinir rejenerasyonlarını değerlendirmek amacıyla Scanning Elektron Mikroskopisi (SEM) ile görüntüler elde edildi. Burada Schwann hücre yapısı, miyelin üretimi, miyelin kalınlığı, akson miktarı ve düzeni değerlendirildi.

SEM görüntülemesinde birim alanda en fazla miyelinli akson yapısı sinir grefti gurubunda (Şekil 39) gösterilmiştir. Şekil 39-40'da görülen kalın miyelin yapılar ve miyelinin sarmaladığı aksonlar görülmektedir. Bu gruptaki SEM incelemelerinde aksonlar miyelinli olarak izlenmektedir. Şekil 40'da miyelin tabaka içerisindeki akson demetleri net bir şekilde izlenmektedir. Şekil 41,42'de görülen birim alandaki miyelin sayısının azlığı, çaplarının ve duvar kalınlığının küçüklüğü görülmektedir. Grup 3 ve 4'de miyelinli aksonların yanında miyelinsiz aksonlarında varlığı gösterilmektedir. Sinir grefti grubunun rejenerasyonu, miyelin yapısı, kalınlığı ve birim alandaki miyelin sayısı Grup 3 ve 4'de ki sonuçlara göre daha iyidir. Grup 3 ve Grup 4'ün SEM görüntülemeleri miyelinli ve miyelinsiz aksonlar bir arada bulunmakta ve sinir rejenerasyonları birbirine benzemektedir. Schwan hücrelerinin hücre

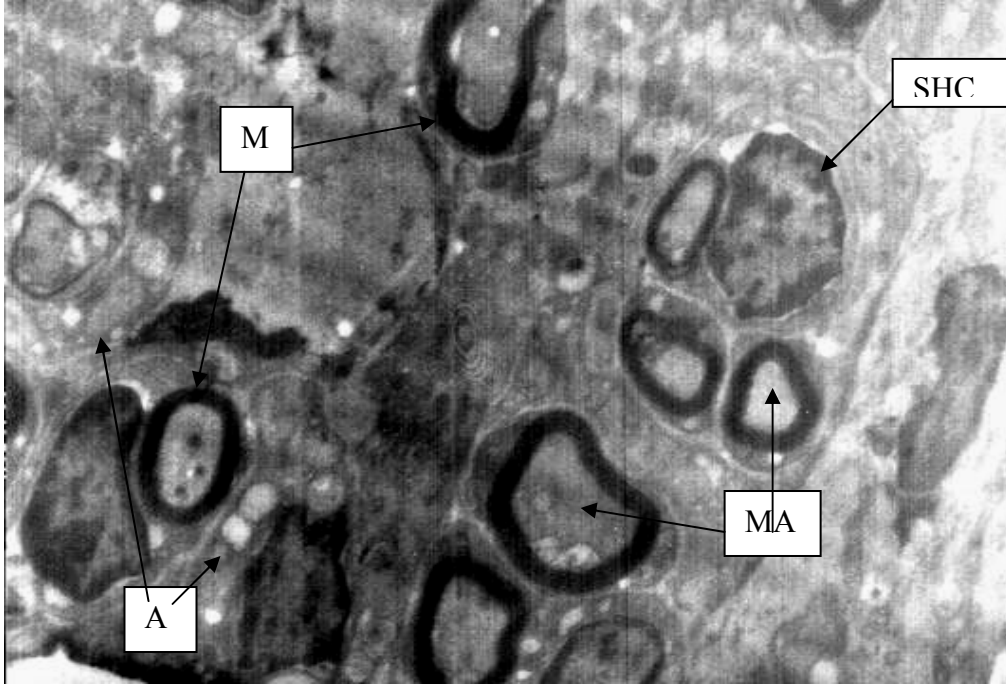
çekirdekleri ,stoplazmaları miyelin üretimi ve miyelin içerisindeki aksonal yapılanmalar SEM görüntülemesinde ayrıntılı şekilde görülmektedir. (Şekil 41-42)



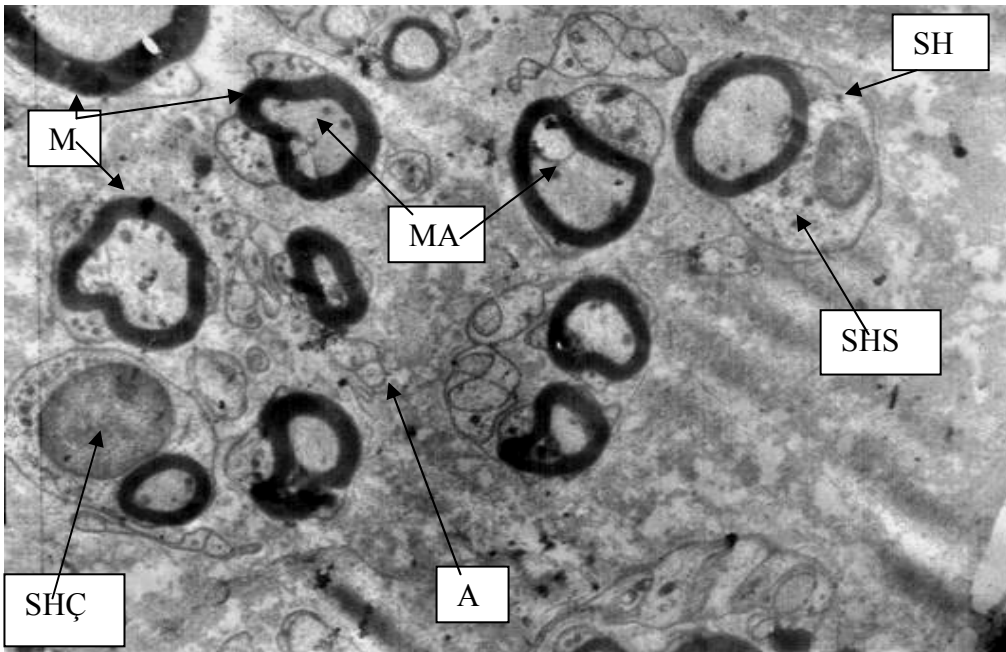
**Şekil 39.** Grup 2 (Sinir grefti) SEM görüntüsü. (x3000) (**M**; miyelin, **A**;Aksonlar)



**Şekil 40.** Grup 2 (Sinir Grefti) SEM Görüntüsü (x5000)( **M**; Miyelin, **MA**; Miyelinli Aksonlar)



**Şekil 41.** Grup 3 (Poli (lakti asit-ε-kaprolakton sinir kılavuz kanalları) Neurolac®) SEM görüntülemesi (x5000) (**M**; Miyelin, **MA**; Miyelinli Aksonlar, **A**; Miyelinsiz Aksonlar; **SHÇ**; Schwann Hücre Çekirdeği)



**Şekil 42.** Grup 4 (Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanalları) SEM görüntülemesi (x5000) (**M**; Miyelin, **MA**; Miyelinli Aksonlar, **A**; Miyelinsiz Aksonlar, **SH**; Schwann Hücresi **SHÇ**; Schwann Hücre Çekirdeği, **SHS**; Schwann Hücre Stoplazması)

## 5- TARTIŞMA

Periferik sinir sistemi yaralanmaları günümüz toplumunda sık görülen yaralanmalardır. Periferik sinir sistemi yaralanmasına sekonder olarak uç organda duyuşsal yada motor kayıplar gelişmekte bu da vücut fonksiyonlarını olumsuz şekilde etkilemektedir. Sinir onarımının mümkün olan en kısa zamanda koapte edilmesi gerekmektedir. Sinir uçlarının karşılıklı gelmediğı durumlarda bu defekt bölgesi sinir greftleri, sinir allogreftleri, sinir kılavuz kanalları (doğal yada sentetik) ile rekonstrükte edilmektedir.

Periferik sinir devamlılığının sağlanması için kullanılan ve sonuçlarına en güvenilir yöntem sinir grefti uygulamasıdır. Sinir grefti uygulaması periferik sinir rekonstrüksiyonlarında altın standarttır (6,40-42,44-48,54). Fakat alınabilecek sinirin sınırlı olması ve dñnor alan morbitidesi yaratması sinir grefti uygulamasını kısıtlamaktadır.

Sinir kılavuz kanalları üzerine çalışmalar 1880'den itibaren başlamış, arter, ven, kas, kıkırdak, organik ve organik olmayan materyaller (gelatin, metal, plastik) sinir kılavuz kanalları oluşturulmaya çalışılmıştır (50-54). **Williams ve ark.** (57) siyatik sinirde 1 cm'lik defekte silikon sinir kılavuz kanalları ile yaptığı koaptasyon çalışmaları sinir kılavuz kanallarındaki sinir rejenerasyonun mekanizmasının açığa kavuşturulmasında önem arzetmiş ve bundan sonra yapılacak sinir kılavuz kanalı çalışmalarına ışık tutmuştur.

Slikon gibi rezorbe olmayan inorganik bir materyal kullanmak yerine, rezorbe olabilen, vücuda uyum sağlayabilen, çıkarılması için tekrar bir cerrahiye gereksinim duymayan biomateryallerle sinir kılavuz kanalı oluşturma düşüncesi ortaya atılmış ve bu biomateryaller üzerine geniş araştırmalar yapılmıştır (72). Halen günümüzde biobozunur, biobozunma materyalleri toksik olmayan, az reaksiyon veren, steril olabilen, enfeksiyona yol açmayan, gerektiğinde kontrollü ilaç salımı yapabilen biopolimerlerin geliştirilmesine uğraşılmaktadır (54,55).

Biobozunur materyallerle ilk olarak sinir kılavuz kanalı üretimi **Makinnon ve Dellon** (79) tarafından Poli  $\alpha$ -hidroksi asitler gurubundan olan polilaktik asit ve poliglikolik asitler üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Biobozunur biopolimer olan Polikaprolakton ile Poli  $\alpha$ -hidroksi asitlerin kopolimerizasyonu ile polikaprolaktonun yüksek geçirgenlik özelliği ve polilaktatın iyi degradasyon özelliği birleşerek sinir kılavuz kanallarında sık kullanılan bir kombinasyon oluştururlar (103). Doğal organik materyallerden olan (kollagen, jelatin vb.) dan elde edilen biobozunur sinir kılavuz kanalları yapımı mevcuttur. Fakat bunlarda immunolojik reaksiyon oluşturma riskleri yüksek olduğu için Poli  $\alpha$ -hidroksi asitler ve Kaprolakton gibi biobozunur sentetik biomateriyallerin önemi gittikçe artmaktadır.

21. yüzyılda nanoteknolojinin önemi hızla önemi artmaktadır. Elektrospinning işlemi ile nano boyutlarda fiberler oluşturulur. Elektrosupun Kaprolakton da nano boyutlarda fiberlerden oluşmaktadır. Bu fiber büyüklüğü sayesinde yüzey/hacim oranı 1000 kat artmakta küçük ama çok sayıda porlarla difüzyona izin vermektedir. Bu nanofiber yapı sayesinde gerim kuvveti çok fazla artmaktadır. Porlu yapı sayesinde kontrollü ilaç salımı için uygun bir yapı oluşturmaktadır. Biz çalışmamızda biobozunur materyalin özelliklerini sinir rejenerasyonunda değerlendirmek amacıyla sinir kılavuz kanalları üretimi gerçekleştirilmesi planlandı. Bu silikon kılavuz kanalını 1 cm'lik sıcan siyatik sinir defektlerinin rekonstrüksiyonundaki etkinliğini değerlendirmek istedik.

Literatürde tarif edilen yöntemlerle 16 G (Gauge) silikon intraket üzerine sararak rulo iç genişliği 16 mm olan sinir kılavuz kanalı oluşturduk ve bunları 1,5 cm lik parçalar şeklinde böldük (122-124). Kenarların Histoacryl® (Cyanoacrylate glue) ile yapıştırdık (122-124). Bu sayede Elektrosupun Kaprolakton membranlardan sinir kılavuz kanalı üretimi gerçekleştirdik. Yapıştırma işlemini sadece kenarlarda ve maddenin özelliklerini değiştirmemesi için çok sınırlı tuttuk. Literatürde yapıştırma işlemi için Fibrin doku yapıştırıcısı (Fibrin glue) ve siyanoakrilat tercih edilmektedir. Çalışmamızda daha kolay ulaşılabilirliği nedeniyle siyanoakrilatı tercih edilmiştir (122-124).

Literatürde en sık kullanılan biopolimer kombinasyonu olan biobozunur Poli(laktik asit- $\epsilon$  kaprolakton)'dan üretilen sinir kılavuz kanallarının periferik sinir rejenerasyonuna olan etkinliği birçok çalışmada

gösterilmiştir (103,125-131). Bu çalışmada sık kullanılması, ticari piyasada pahalı olmasına rağmen rahat ulaşılan bir materyal olması nedeniyle Poli(laktik asit-ε kaprolakton) sinir kılavuz kanallarını (Neurolac®), Elektrosupun Kaprolakton'dan membranlardan oluşturduğumuz sinir kılavuz kanalları ile karşılaştırmak istedik. Neurolac® (Polyganics, Groningen, Netterlands) 1,5 ve 2 cm iç çapında ve 3 cm'lik uzunluğu olan sinir kılavuz kanallarıdır. Biz bu çalışmada orta noktalarından bölerek 1,5 cm uzunluğunda sinir kılavuz kanalları oluşturduk. Siyatik sinir boyutuna uygun olarak çalışmada 15 mm iç çaplı sinir kılavuz kanalı kullandık.

Sinir greftinin altın standart olduğunu bilerek çalışmamızdaki sonuçları karşılaştırmak amaçlı bir grubumuzda sinir grefti ile rekonstrükte ettik. Tüm standart çalışmalarda olduğu gibi Sham grubu oluşturarak sinir defektine herhangi bir işlem yapmadan sinir rekonstrüksiyonunun olup olamayacağını göstermek istedik.

Çalışmamızda 4 grup olarak (Grup 1 Sham grubu, Grup 2 Sinir grefti, Grup 3 Poli(laktik asit-ε kaprolakton) sinir kılavuz kanalları Neurolac® ve Grup 4 Elektrosupun Kaprolakton'dan oluşan sinir kılavuz kanalları) gerçekleştirdik .

Siyatik sinirde 1cm'lik defekt oluşturduktan sonra sinir segmentlerini rekonstrükte etmediğimiz Grup 1 (Sham grubu)'nda yapılan makroskopik, mikroskopik ve elektrofizyolojik çalışmalarda literatürle benzer sonuçlar alınmıştır. Proksimal ve distal köklerin retrakte olduğu ve proksimal kökte nöroma olduğu görülmüştür. İki kök arasında meydana gelen fibröz bağ dokusunda histolojik tetkiklerde sinir dokusunun bulunmaması bu 1 cm'lik defektin sıçanlarda kritik defekt olduğu ve kendi kendine rejenere olmayacağını göstermektedir. Bu grupta yapılan EMG sonuçlarında hiçbir değer alınamaması sinir rejenerasyonunun sağlanmadığını gösteren önemli bir göstergedir. Bu gruptaki yapılan bu çalışma ile diğer gruplarda yapılan rekonstrüksiyon seçeneklerin etkinliğini göstermesi açısından önemlidir ve her çalışmada konulması gereken bir gruptur (56,57,63,77).

Grup 2; Siyatik sinir grefti ile koaptasyon yapılan grupta sinirler arasında çap farkının olmaması nedeniyle 4 dikiş ile koaptasyon rahatlıkla

yapılmıştır. Post operatif 3 ayda yapılan eksplorasyon ve değerlendirmelerde fibrosis ve inflamasyonun minimal olduğu koaptasyon hatları dikişler olmadığı takdirde anlaşılamayacağı kadar güzel iyileşmiş olduğu görüldü. Bu grupta deney hayvanlarının bacak kaslarındaki atrofinin az olması iyileşmenin daha iyi olduğunu mikroskopik ve elektrofizyolojik değerlendirmelerden önce belli etmiştir. Yapılan ışık mikroskopi ve SEM çalışmalarında en fazla miyelinli ve miyelinsiz akson yoğunluğunun bu grupta gözlenmiş olması EMG değerlendirmelerinde en iyi CMAP ve CMAP eğrisi altında kalan alanların istatistiksel değerlendirilmesi sonucunda en iyi değerlerin sinir grefti grubunda alınmış olması literatürle uygunluk gösteren ve beklenen bir durumdur. Genel bilgiler içerisinde anlatılan ideal sinir kılavuz kanalında olması gereken özelliklerin büyük çoğunluğu sinir greftlerinde mevcuttur. Otogreft olduğu takdirde hiçbir immüniteye yol açmadan aradaki defektle aynı özellikte dokunun kullanılması ve bunda en iyi sonuçların alınması doğaldır (6,40-42,44-48,54).

Grup 3; Poli(laktik asit -εkaprolakton) sinir kılavuz kanalları Neurolac®, Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanallarının etkinliğini değerlendirmek için kullanılmıştır. Neurolac® sinir kılavuz kanalları ile yapılan koaptasyonlarda proksimal ve distal sinir uçları kanalın içine sokularak epinöriumdan ve sinir kılavuz kanalından geçilen dikişlerle tespit edildi. Buzlu cam görüntüsü gibi sinir kılavuz kanalının içinin bir miktar görülmesi sinir uçları arasındaki 1 cm'lik defektin uygun şekilde oluşturulmasını sağlamıştır. Fakat yapısının normal sıcaklıkta sert olması ve mikrocerrahi sütürlerin iğnelerin oda sıcaklığındaki sinir kılavuz kanallarından geçmesi büyük sorun teşkil etmektedir. Sıcak suyun içine konularak bir miktar bekletilen Neurolac® yumuşamakta, daha esnek bir hal almakta ve bu sayede mikrocerrahi sütür iğnesi rahatlıkla geçilebilmektedir. Fakat cerrahi onarım sırasında Neurolac® tekrar soğumaya başladığı için koaptasyon mümkün olduğunca hızlı yapılmalıdır. Dokuda aynı sıcaklığı sağlama imkanı olmadığı için koaptasyon sonlarına doğru sertleşmesi nedeniyle sıkıntı olmaktadır. Post operatif 3. ayda yapılan değerlendirmelerde siyatik koaptasyonu yapılan bölgelerde biobozunma ve yabancı cisime sekonder olduğu düşünülen inflamasyon

fibrosis ve ödem görüldü. Poli(laktik asit -εkaprolakton) sinir kılavuz kanalları (Neurolac)'ın gerim direncini kaybettiği ve forseple hafif tutulduğu zaman duvarının içeri doğru göçtüğü görüldü. Bu da biobozunmanın ilk olarak gerilim kuvvetini azalttığını doğruladı. Makroskopik olarak tüm Poli(laktik asit -ε kaprolakton) sinir kılavuz kanalları Neurolac® koaptasyon hatlarında uygun şekilde durduğu, yer değiştirmedeği görüldü. Işık mikroskopi çalışmalarında, sinir kılavuz kanalı içerisinde miyelinli ve miyelinsiz sinir dokuları izlenmiştir. Sinir kılavuz kanalı çevresindeki fibröz doku reaksiyonu hem makroskopik olarak hemde ışık mikroskopi çalışmalarında tüm kanalın etrafı boyunca çepeçevre izlenmiştir. SEM görüntülemesinde Poli(laktik asit-ε kaprolakton) sinir kılavuz kanalı içerisinde Schwann hücreleri, miyelin yapımı ve aksonal yapılar görüntülenmiştir. Elektromiyografik değerlendirmeler sonucunda elde edilen CMAP ve CMAP alan ölçümleride sinir rejenerasyonunun geliştiğini göstermiştir. Sinir grefti kadar başarılı sonuçlar elde edilmese de bu yöntemde donör alan morbitidesi olmadan sinir rekonstrüksiyonu yapılabilecek bir yöntemdir. Literatürde Dunnen ve arkadaşlarının Poli (laktik asit-ε kaprolakton) sinir kılavuz kanallarının sinir greftinden daha başarılı sonuçlar alındığını (122) söylemesine rağmen kabul gören ana görüş sinir greftinin en başarılı olduğu şeklindedir (6,40-42,44-48,54).

Grup 4'de biobozunur Elektrosupun Kaprolakton membranlardan üretilen sinir kılavuz kanalları 1 cm'lik siyatik sinir defektinde kullanılmıştır. 16 mm iç çapı olan bu kanalların içerisine proksimal ve distal sinir uçları sokularak mikrocerrahi teknik ve sütürlerle koaptasyon yapılmıştır. Kaprolaktonun özelliği olan yumuşaklık ve kauçuk benzeri yapısı nedeniyle cerrahi sırasında sinir kılavuz kanalından dikiş geçiminde bir sıkıntıya rastlanmamış ve koaptasyon rahatlıkla yapılmıştır. Poli (laktik asit-εkaprolakton) sinir kılavuz kanallarının (Neurolac®) sertliği, ısı ile yumuşaması ve soğuduğu zaman yine sertleşmesi ciddi dezavantajdır. Post operatif 3 ayda biobozunur Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanallarının değerlendirilmiş, hiç bir deney hayvanında diğer gruplarda da olduğu gibi enfeksiyon, abse formasyonu görülmemiştir. Koaptasyon hattı ve çevresindeki dokularda inflamasyon ödem ve fibrosis görülmüş, bu da

yabancı cisim reaksiyonunu ve biobozunmaya bağlanmıştır. Burada görülen reaksiyon Poli (laktik asit-ε kaprolakton) sinir kılavuz kanallarındaki doku reaksiyonuna benzerdir. Her iki grupta da sinir kılavuz kanalının etrafını çevreleyen, boylamasına damarlanma gösteren fibröz doku reaksiyonu mevcuttur. Her iki grupta da benzer şekilde bacak kaslarında atrofi gözlenmiştir. Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanallarından yapılan histolojik ve SEM incelemelerinde miyelinli ve miyelinsiz sinir lifleri, schwan hücrelerini gösterilmiştir. Sinir grefti grubunda çoğunluk miyelinli akson rejenerasyonu şeklinde iken Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanalı ve Poli (laktik asit-ε kaprolakton) sinir kılavuz kanallarındaki rejenerasyon miyelinli ve miyelinsiz liflerin birlikte bulunduğu rejenerasyondur. Gastrokinemius ve soleus kaslarından yapılan elektromiyografik değerlendirmede elde edilen CMAP ve CMAP alan ölçümleri sinir rejenerasyonunu geliştiğini göstermiştir. Histolojik çalışmalar ve EMG sonucunda Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanallarının Poli (laktik asit-ε kaprolakton) sinir kılavuz kanalları ile benzer sinir rejenerasyonu sağladıkları gösterilmiştir. Sinir grefti ile onarım her iki rejenerasyon yöntemine göre daha üstün olduğu olduğu ve literatürde de söylenen altın standart olduğu bu çalışmada da ortaya konmuştur (6,40-42,54).

Elektrosupun Kaprolaktan sinir kılavuz kanallarının periferik sinir rejenerasyonuna etkisinin Poli (laktik asit-ε kaprolakton) sinir kılavuz kanalların rejenerasyon etkisine göre daha fazla olması beklenmekteydi. Küçük ve çok sayıda por yapısı ile difüzyona daha fazla izin vereceği ve iyileşmenin daha iyi olacağı düşünülmüştü. Genel bilgiler kısmında anlatılan ideal sinir kılavuz kanalının sahip olması gereken özelliklerden olan difüzyon ve porosite özelliğinin yanında birçok farklı özelliklere sahip olması gerektiği bilinmektedir (bkz; 2;11 bölüm). Bu rejenerasyon mekanizmasının birçok faktör tarafından etkilendiği düşünüldüğünde tek başına porozite ve difüzyon özelliği rejenerasyon hızını istatistiksel olarak anlamlı artırmadığı görüldü. Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanallarının yoğun poröz yapısı kullanılarak nörotrofik ve nörotropik faktörlerin kontrollü salımının yapılması sinir rejenerasyonu hızlandırabilir. Nörotropik faktörlerin (Sinir Büyüme

faktörü NGF, Beyin kaynaklı nörotrofik faktör BDNF, Nörotropin 3 NF-3, Nörotropin 4/5 NF-4/5, Nörotropin 6 NF-6, Silier nörotrofik faktör CNTF, Lösemi inhibitör faktör LIF, Glial hücre kaynaklı nörotropik faktör GDNF) Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanallarının yoğun pöroz yapısı sayesinde, kontrollü olarak salınımının sağlanması sinir rejenerasyonunu hızlandıracakğı düşünülmektedir. Bu kontrollü salınımın diğer biobozunur sinir kılavuz kanallarındaki başarısı gösterilmiştir (10,85-88,132-141). Heparin bazlı yada fibrin yapıştırıcıya adapte edilmiş kontrollü salım sistemleri ile sinir kılavuz kanalları içerisine yerleştirilen faktörler sayesinde iyileşme hızlanacaktır. Bu pöroz yapı sayesinde heparin bazlı yada fibrin yapıştırıcıya adapte edilmiş faktörler hemen aktif hale gelemeyecek ve aktif form kontrollü olarak ortaya çıkacaktır. Bu poröz yapı içerisinde kalan kısımlardan daha geç salınım olacak ve tüm rejenerasyon boyunca kontrollü salınım gerçekleşecektir (132,136,137,141,142). Bunun için nanofiber yapıları Elektrosupun Kaprolaktonun idealdir.

Kültürize Schwann hücresi ile sinir kılavuz kanalının iç kısmının döşenmesi sinir rejenerasyonunu hızlandırdığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (99-102,142,143). Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanallarının içerisine Schwann hücre kültürize edilmesi ve buradan salgılanacak olan faktörler sayesinde sinir rejenerasyonunun hızlanacağı düşünülmektedir. Bu poröz yapı skafold vazifesi görerek Schwann hücrelerinin kültürizasyonunu kolaylaştırılacaktır.

Toplayıcı sistem, kendi etrafında dönen tüp şeklinde dizayn edilebilir. Bu sayede dönme hızı, ileri geri hareket hızları ayarlanarak nanofiberların tüp etrafına birikmesi ve tüp şeklinde ürün eldesi mümkün olmaktadır. Bu sayede istediğimiz çapta ve uzunlukta Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanalı elde etme imkanımız olmaktadır (113-114). Bu da üretim aşamasında bize kolaylık getirecek hem de doku yapıştırıcısı kullanılmaya son verecektir.

Poli (laktik asit-εkaprolakton) sinir kılavuz kanallarının ancak ısıyla yumuşaması ve cerrahi sırasında mikrocerrahi suture iğnelerinin geçerken zorlanması ve eğilmesi, koaptasyon yapılırken sinir kılavuz kanalının

soğuması nedeniyle zamanla yarışılıp soğumadan koaptasyonun bitirmeye çalışılması önemli bir dezavantajdır. Elektrosupun Kaprolaktonun yapısının yumuşak olması mikrocerrahi suture iğnesinin kolaylıkla geçmesi cerrahiye kolaylaştırır.

## 6- SONUÇ

Bu çalışmada biobozunur Elektrosupun Kaprolakton membranlardan üretilen sinir kılavuz kanallarının etkinliği değerlendirildi. Sinir grefti ile rekonstrüksiyonun en ideal onarım olduğu görüldü. Biobozunur Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanalları ve Poli (laktik asit-ε kaprolakton) sinir kılavuz kanalları'nın benzer sinir rejenerasyonu sağladıkları tespit edildi. Biobozunur Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanallarının yumuşak kıvamı nedeniyle cerrahiyi kolaylaştırdığı görüldü. Donör alan morbiditesine yol açmadan Biobozunur Elektrosupun Kaprolakton sinir kılavuz kanalları ve Poli (laktik asit-ε kaprolakton) sinir kılavuz kanalları eşit etkinlikte olarak sinir onarımlarında kullanılabilir.

## 7- KAYNAKLAR

- 1- Junguiera L.C, Carneiro J, Kelley R.O, Basic histology, Nerve tissue, s 163-194, 7 th ed. Appleton, Lange 1992
- 2- Snell RS, Organization of the nervous system. Clinical Neuroanatomy Boston, Little Brown, 1992, s 1
- 3- William PL, Warwick R, Dyson M, Grays anatomy. Nerve system s 28 Philadelphia; Saunders 1989
- 4- Taner D Fonksiyonel Anatomi, Sinir sistemi hakkında temel bilgiler, s 32-39 Ankara 1996
- 5- Bell MA, Weddell AG, A descriptive study of the blood vessels of the sciatic nevre in the rat, man and other mammals. Brain,107; 871,1984
- 6- Thorne CH, Beasley RW, Aston SJ at all. Grabb-Smith's Plastic Surgery, Microsurgical repair of peripheral nerves and nerve grafts, s 73-83, 6 th ed. Lippincott- Williams- Wilkins 2007
- 7- Bullock J,Boyle J,Wang MB. Circulatory system physiology, Baltimore William-Wilkins 1994
- 8- Mackinnon SE, Delon AL, Surgery of the peripheral nerve, s 1, New York Thime, 1988
- 9- Filler A. Online,Recovery and Repair in the nerves and spinal cord. <http://www.backpainguide.com/chapter-fig-folders,nevrestruct.html> (14/02/05)
- 10- Fu YS, Gordon T, The cellular and molecular basis of peripheral nerve regeneration, Molecular Neurobiology, 14; 67-116 , 1997
- 11- Sönmez E, Denerve bir kasın duyuşal sinir aracılığı ile reinervasyonu; Sıçan gluteus maksimus kasında deneysel çalışma Hacettepe Üniversitesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi AD. Uzmanlık Tezi, Ankara, 2005
- 12- Mackinnon SE, Delon AL, Wallerian degeneration from the textbook surgery of the peripheral nerve., (14-02-05) <http://nervestudy.com/topic/walleriandegeneration.htm>

- 13- Brushart TM, Seiler WD, Selective reinnervation of distal motor stumps by peripheral motor axons, *Exp Neurol*, 97; 289-300; 1987
- 14- Strauch B, Lang A, Ferder M, The ten test, *PRS*, 99; 1074-78; 1997
- 15- Seddon HJ, War injuries of peripheral nerve, *Br J War Surg*, 325; 1947
- 16- Sunderland S, Nerves and nerve injuries, 2.th Churchill, Livingstone, New York, 1978
- 17- Simpson JA, Nerve injuries, general aspects, American Elsevier Publ Company 244, 1970
- 18- Ochs SA, Brief history of nerve repair and regeneration, Ed. Jewett DL Mosby, 1980
- 19- Cruikshank W, Experiments on the nerves particularly on their reproductions, *Philos Trans Soc, London*, 85-190, 1795
- 20- Haington J, An experimental injury concerning the reproduction of nerves, *Philos Trans R Soc, London*, 85-190, 1775
- 21- Müller J, Elements of physiology, Taylor&Walton, London, 1842
- 22- Mitchell SW, Injuries of nerves, Lippincott, Philadelphia, 1872
- 23- Tinel J, Le signe du 'fourmillement' dans les lesions des nerfs peripheriques, *Presse Med*, 23; 38-81, 1915
- 24- Seddon HJ, War injuries of peripheral nerves, *Br J Surg War Surg* 2; 325, 1948
- 25- Woodhall B, Nulsen FE, White JS, Neurosurgical implications, Peripheral nerve regeneration, A follow-up study of 3656 World War 2 injuries. Medical Monograph, Washington DS, 1956
- 26- Ducker TB, Klempke LG, Hayes GJ, The metabolic background of peripheral nerve surgery, *J Neurosurg*, 270; 30, 1969
- 27- McQuarrie I, Idzikowski C. Injuries to peripheral nerves, Mosby, St Louis 802, 1988
- 28- Van Beek A, Glover JL, Zook E, Primary versus delayed-primary neurography in rat sciatic nerve, *J Surg Res* 137; 157; 1975
- 29- Bolesta MJ, Garret WE, Ribect BM, et al. Immediate and delayed neurography in a rabbit model; a functional histologic and biochemical comparison, *J Hand Surg*, 13A; 352 ; 1988

- 30- Grabb WC, Median and Ulnar nerve suture, An experimental study comparing primary and secondary repair in monkeys, J Bone Joint Surg, 50 A; 964; 1968
- 31- Birch R, Raji ARM, Repair of median and ulnar nerves, Primary suture is best, J Bone Joint Surg 69B; 625; 1991
- 32- March D, Barton N, Does use of the operating microscope improve results of peripheral nerve suture?, J Bone Joint Surg, 69B; 625; 1987
- 33- Merle M, Amend P, Cour C, et al. Microsurgical repair of peripheral nerve lesions, Periph Nerve Repair Regen, 2; 17; 1986
- 34- Vastamaki M, Kalio PK, Solenon KA, The results of secondary microsurgical repair of ulnar nerve injury, J Hand Surg, 18B; 323; 1993
- 35- De Mediaceli L, Seaber AV, Experimental nerve reconnection; Importance of initial repair, Microsurgery, 10; 56; 1989
- 36- Williams HB, Jabaley ME, The importance of internal anatomy of the peripheral nerve repair in the forearm and hand, Hand Clin, 2; 689-707; 1986
- 37- Devali L, Mackinnon S, Nerve repair, grafting and nerve transfers, Clin Plast Surg, 30; 203-21; 2003
- 38- Wise AJ, Topuzoğlu C, Davis P, A comparative analysis of macro and microsurgical neurotaphy techniques, Am J Surg, 117; 566; 1969
- 39- Milesi H, Peripheral nerve repair; terminology, questions and facts, J Reconstr Microsurg 2; 21; 1985
- 40- Grenn DP, Hotchkiss RN, Peterson WC, Nerve repair and grafting, Grenn's Operative Hand Surgery, Churcill, Livingstone, s1387; 1993
- 41- Miller EM, An experimental study to determine the strength of the suture line, Arch Surg, 2; 927; 1987
- 42- Grenn DP, Hotchkiss RN, Peterson WC, Nerve repair and grefting Grenn's Operative Hand Surgery, s1075-1112, Elsevier, Churcill, Livingstone, 2005
- 43- Makinnon SE, Revitalied the use of allogreft in a case of extensive loss of tibial nerve in a 12 years old, Grabb & Smith's Plastic Surgery, 2007

- 44- Taras JS, Nanavati V, Steelman P, Nerve conduits, J of Hand Therapy 18; 2; Apr-Jun 2005
- 45- Millesi H, Nerve grafting, Clin Plast Surgery, 11; 105-113; 1984
- 46- Orutguela ME, Wood MB, Cahil DR. Anatomy of the sural nerve complex J Hand Surgery (Am) 12; 1119-23; 1987
- 47- Rappaport WD, Valente J, Hunter CG, Clinical utilization and complications of sural nerve biopsy, Am J Surg 166; 252-56; 1993
- 48- Stanifort P, Fisher TR, the effects of sural nerve excision in autogenous nerve grafting, Hand ,10;187-90; 1978
- 49- Gluck T, Ueber neuroplastik auf dem wege der transplantations, Arch Klin Chir, 25; 606-16; 1880
- 50- Buenger OV, Ueber die degerations und regenerations vergaenge am nerven nach veletzumen, Beitr Pathol Anat. 10; 321-28; 1891
- 51- Formatti C, Zur technik der nervennaht, Arch Klin Chirc 73; 643; 1904
- 52- Nageotte J, le processus de la cicatrisation des nerfs, C R Soc Biol, (Paris) 78; 249-53; 1915
- 53- Platt H, On the results of bridging gaps in injured nerve trunks by autogenous fascial tubulization and autogenous nerve grafts, Br J Surg, 7; 384-389; 1919-1920
- 54- Hudson TW, Evans GRD, Schmidt CE, Engineering strategies for peripheral nerve repair, Ortho Clin North Am 31; 485-498; 2000
- 55- Dahlin L, Lungborg G, Use of tubes in peripheral nerve repair, Neurosurgery Clinics of North Am, 12; 2; 2001
- 56- Hudson TW, Evans GRD, Schmidt CE, Engineering strategies for peripheral nerve repair, Clin in Plast Surgery, 26; 4; 1999
- 57- Williams LR, Longo FM, Powel HC et al. Spatial temporal process of peripheral nerve regenerations within a silicone chamber; parameters for assay, J Comp Neurol, 218; 460-70; 1983
- 58- Chiu DTW ,Strauch B, A prospective clinical evaluation of autogenous vein grafts used a nerve conduit for distal sensory nerve defects of 3 cm or less, Plast Reconstr Surgery, 86: 934-938; 1990

- 59- Chiu DTW, Janecker I, Krizck TJ, Autogenous vein graft as a conduit for nerve regeneration, *Surgery*, 91; 226-33; 1982
- 60- Chiu DTW, Lowelace RE, Yu LT, Comparative electrophysiologic evaluation of nerve grafts and autogenous vein grafts as a nerve conduits, *J Reconstr Microsurg*, 4; 303-9; 1988
- 61- Straunch B, Lang A, Ferder M, The ten test; use of an analog scale for sensibility testing, *Plast Reconstr Surgery*, 99; 1074-78; 1997
- 62- Tang JB, Gu YO, Song YS, Repair of digital nerve defect with autogenous vein graft during flexor tendon surgery in zone 2, *J Hand Surg (Br)*, 18; 449-453; 1993
- 63- Tang JB, Vein conduits with interposition of nerve tissue for peripheral nerve defects, *J Reconstr Microsurg*, 11; 21-26; 1995
- 64- Brunelli GA, Battison B, Vigasio A, et al. Bridging nerve defects with combined skeletal muscle and vein conduits, *Microsurgery* 14; 247-251; 1993
- 65- Khouri Rk, Chiu DT, Feinberg J, Effects of neurite promoting factors on rat sciatic nerve regeneration. *Microsurgery* 10; 206-9; 1989
- 66- Cajal SR, *Degeneration and regeneration of nervous system*, vol 1, London, Oxford University Press, 1928
- 67- Cajal SR, *mechanismo de la degeneracion y regeneration de nervos*, *Trap Lab Invest Biol*, Madrid, 4; 119; 1905
- 68- Weiss P, Further experimental evidence against (neurotropism) in nerve regeneration. *J Exp Zool* 95; 233-57; 1944
- 69- Lundborg G, Dahlin LB, Danielson N et al. Tissue specificity in nerve regeneration *Scand J Plast Reconstr Surg* 20; 279-283; 1986
- 70- Mackinnon SE, Dellon AI, Lundborg G, et al. A study of neurotropism in a primate model, *J Hand Surgery (Am)*, 11; 888-94; 1986
- 71- Politis MJ, Ederle K, Spancer PS, Tropism in nerve regeneration in vivo; attraction of regeneration axons by diffusible factors derived from cells in the distal nerve stumps of transected peripheral nerves, *Brain Res*, 253; 1-12; 1982

- 72- Lundborg G, Dahlin L, Danielsen N, et al. Tubular versus conventional repair of median and ulnar nerves in the human forearm; early results from a prospective randomized clinical study, *J Hand Surgery (Am)*, 22; 99-106; 1997
- 73- Lundborg G, Dahlin L, Danielsen N, et al. Nerve regeneration in silicone chambers; Influence of gap length and of distal stump components, *Exp Neurol*, 76; 361-75; 1982
- 74- Merle M, Dellon AL, Campbell JN, Chang PS, Complications from silicon-polymer intubulation of nerves. *Microsurgery*, 10; 130-33; 1989
- 75- Dellon AL, Use of silicone tube for the reconstruction of nerve injury, *J Hand Surgery (Br)*, 19; 271-72 ; 1994
- 76- Fields RD, Ellisman MH, Axons regenerated through silicone tube splices; Conduction properties, *Exp Neurol* ,92; 48-60; 1986
- 77- Karacaoğlu E, Yüksel F, Peker F, Güler M, Nerve regeneration through an epineurial sheath; its functional aspect compared with nerve and nerve graft, *Microsurgery*, 21; 196-201; 2001
- 78- Kim BS, Yoo JJ, Atala A, Peripheral nerve regeneration using acellular nerve grafts, *J Biomed Mater Res*, 68A; 201-09: 2004
- 79- Mackinnon SE, Dellon AL, Clinical nerve reconstruction with bioabsorbable polyglycolic tube, *Plast Reconstr Surg*, 106; 419-24; 1990
- 80- Weber RA, Breidenbach WC, Brown RE, A randomized prospective study of polyglycolic acid conduits for digital nerve reconstruction in humans, *Plast Reconst Surgery*, 106; 1036-45; 2000
- 81- Klotz N, Smith GM, Siegal J, Engineering the regeneration of sensory fibers into spinal cord of adult mammals with embryonic astroglia coated millipore implants, *Tissue Eng*, 249-256; 1988
- 82- Aebischer P, Guenard V, Brace S, Peripheral nerve regeneration through blind-ended semipermeable guidance channels; Effect of the molecular weight cutoff, *J Neurosci*, 9; 3590-95; 1989
- 83- Cheng ET, Utley DS, Ho PR, Functional recovery of transected nerves treated with systemic BDNF and CNTF, *Microsurgery*, 18; 35-41; 1998

- 84-** Cordeiro PG, Seckel BR, Lipton SA, Asidic fibroblast growth factor enhances peripheral nerve regenerations in vivo, *Plast Reconstr Surg*, 83; 1013-19; 1989
- 85-** Aebischer P, Salessiotis AN, Winn SR Basic fibroblast growth factor released from synthetic guidance channels facilitates peripheral nerve regeneration across long nerve gap, *J Neurosci Res*, 23; 282-289; 1989
- 86-** Camarata PJ, Suryanarayanan R, Turner RA, Sustained release of nerve growth factor from biodegradable polymer microspheres, *Neurosurgery*, 30; 313-19; 1992
- 87-** Ho PR, Coan GM, Cheng ET, Repair with collagen tubules linked with brain-derived neurotrophic factor and ciliary neurotrophic factor in a rat sciatic nerve model, *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 124; 761-66; 1998
- 88-** Yang Y, Laporte DL, Rivers C, et al. Neurotrophin releasing single and multiple lumen nerve conduits, *J of Controlled Release*, 104; 433-446; 2005
- 89-** Aebischer P, Guenard V, Valentini RF, The morphology of regenerating peripheral nerves is modulated by the surface microgeometry of polymeric guidance channels. *Brain Res* 531; 211-218; 1990
- 90-** Aebischer P, Valentine RF, Dario P, Piezoelectric guidance channels enhance regeneration in the Mouse sciatic nerve after axotomy, *Brain Res*, 454; 179-187; 1987
- 91-** Valentine RF, Vargo TG, Gardella JG, Electrically charged polymeric substrates enhance nerve fibre outgrowth in vitro, *Biomaterials*, 13; 183-190; 1992
- 92-** Borgens RB, Electrically mediated regeneration and guidance of adult mammalian spinal axons into polymeric channels, *Neurosci*, 91(1); 251-264; 1999
- 93-** Madison RD, Da Silva C, Dikkes P, Increased rate of peripheral nerve regeneration using bioresorbable nerve guides and laminin-containing gel, *Exp Neurol*, 88; 767-772 ; 1985

- 94-** Rosen JM, Padilla JA, Nguyen KD, Artificial nerve graft using collagen as an extracellular matrix for nerve repair compared with sutured autograft in a rat model. *Ann Plast Surg* 25; 375-387; 1990
- 95-** Satou T, Nishida S, Hiruma S, A morphological study on the effects of the collagen gel matrix on regeneration of severed rat sciatic nerve in silicone tubes, *Acta Pathol Jpn*, 36; 199-208; 1986
- 96-** Tong X, Hirai K, Shimada H, et al. Sciatic nerve regeneration navigated by laminin-fibronectin double coated biodegradable collagen grafts in rats, *Brain Res*, 663; 155-162; 1994
- 97-** Lundborg G, Dahlin L, Dohi D, et al. A new type of bioartificial nerve graft for bridging extended defects in nerves, *J Hand Surg (Br)*, 22; 229-303 ; 1997
- 98-** Tranquillo RT, Girton TS, Bromberg BA, Magnetically orientated tissue equivalent tubes, *Biomaterials*, 17; 349-357; 1996
- 99-** Brown RE, Eedman D, Lyons SF, The use of cultured Schwann cells in nerve repair in a rabbit hind-limb model, *J Reconst Microsurgery*, 12; 149-152; 1996
- 100-** Guenard V, Kleitman N, Morrissey TK, Syngenic schwann cells derived from adult nerves seeded in semipermeable guidance channels enhance peripheral nerve regenerations. *J Neurosci*, 12; 3310-20 ; 1992
- 101-** Heath CA, Rutkowski GE, The development of bioartificial nerve grafts for peripheral nerve regeneration, *Trends Biotechnol*, 16; 163-68; 1998
- 102-** Frostick SP, Qin Y, Graham JK, Schwann cells, neurotrophic factors and peripheral nerve regenerations, *Microsurgery*, 18; 397-405; 1998
- 103-** Uzunok D, Poli (L-laktat / ε Caprolakton) biobozunur sinir kılavuz kanallarının üretimi, Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği Doktora Tezi, Ankara, 2003
- 104-** Claes LE, Mechanical characterisation of biodegradable implants, *Clinical materials*, 10; 41-42; 1992
- 105-** Griffith LG, Polymeric biomaterials, *Acta Materialia*, 48, 263-67; 2000

- 106-** Lee SY, Park JW, Yoo YT et al, Hydrolytic degradation behavior and microstructural changes of poly(ester-co-amide); *Polymer degradation and Stability*, 78(1); 63-71 ; 2002
- 107-** Heller J, Ng SY, Shen HR, et al. Poly (orthoesters) their development and some recent applications, *European J of Pharmaceutis and Biopharmaceutis*, 50(1); 121-128 ; 2000
- 108-** Niewenhuis J, Synthesis of polylactides, polyglycolides and their copolymers, *Clinical materyals*, 10; 59-67; 1992
- 109-** Södergard A, Stolt M, Properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition, *Prog Polym Sci*, 27; 1123-63; 2002
- 110-** Okada M, Chemical syntesis of biodegradable polymers, *Prog Polym Sci*, 27; 83-133; 2002
- 111-** Pişkin E, Hoffman AS, *Biomaterials ; An intraduction*, Plenium pres, New York, 1992
- 112-**Jacobsen S, Fritz HG, Degee P, et al. Guided regeneration with resorbable conduits in experimental peripheral nerve injuries, *İnt Orthop* 24(3); 121-125; 2000
- 113-** Bölgen N, Elektrospinning ile L-Laktat ve  $\epsilon$ -Kapolakton homo ve kopolimerlerinden nonofiber ve örgüsüz yapıların üretimi, Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği Yüksek Lisans Tezi, Ankara ,2004
- 114-** Rutledge GC, Fridrikh SV, Formation of fibers by electrospinning, *Advanced Drug Delivery Reviews*, ADR-11632; 1-8; 2007
- 115-** Renekeer DH, Chun I, Fong H , Beaded nonofibers formed during elektrospinning, *Polymer*, 40; 4585-92; 1999
- 116-** Bölgen N, Vargel İ, Korkusuz P, Menceloğlu YE, Pişkin E In vivo performance of antibiotic embedded elctrosupun PCL membranes for prevention of abdominal adhesions, *J of Biomedikal Materials Research ,Part B*, 12, 1537-55, 2005
- 117-** Brallier F, Electromyography; its use and misuse in peripheral nerve injuries, *Ortop Clin North Am*, 12; 229; 1981

- 118-** Rainbault J, Contribution of clinical euophysiology in the studies of lesion and regeneration of peripheral nerves, *Int J Microsurg*, 3; 161; 1981
- 119-**Oho SJ, Electromyography; neuromuscular Transmission studies, Baltimore, Williams &Wilkins ,1988
- 120-** Yao ST, Microvascular transplantation of a prefabricated free thigh flap, *Plast Reconstr Surg*, 69; 568; 1982
- 121-** Bayramiçli M, Deneysel Mikrocerrahi, Ankara, 663; 2005
- 122-** Hazari A, Wiberg M, Ruden GJ, A resorbable nerve conduit as an alternative to nerve autograft in nerve gap repair, *Br J of Plas Surg*, 52; 653-657; 1999
- 123-** Young RC, Wiberg M, Terenghi G. Poly 3-hydrxybutyrate (PHB), a resorbable conduit for long-gap repair in peripheral nerves, *Br J Plast Surg*, 55; 234; 2002
- 124-**Borkenhagen M, Stoll RC et al. In vivo performance of new biodegradable polyester urethane system used as a nerve guidance channel, *Biomaterials*, 19; 2155-65; 1998
- 125-** Bini TB, Gao S, Xu X, et al. Peripheral nerve regeneration by microbraided poly(L-Lactide-co-glycolide biodegradable polymer fibers) *J Biomed Mater Res*, 68A; 286-295; 2004
- 126-** Dunnen WFA, Van Der Lei B, et al. Poly( DL-Lactide - $\epsilon$ -Caprolaktone) nerve guides perform better than autologous nerve grafts, *Microsurgery*, 17; 348-357; 1996
- 127-** Giardino R, Nicoli AN, Perego G et al. Biological and synthetic conduits in peripheral nerve repair; A comparative experimental study, *Int J Artif Organs*, 18(4); 261-68; 1993
- 128-** Meek MF, Dunnen WFA, Robinson PH et al. Evaluation of functional nerve recovery after reconstruction a new biodegradable Poly(DL-Laktide- $\epsilon$  caprolakton) nerve guide, *Int J Artif Organs*, 20(8); 463-68; 1997

- 129-** Nicoli AD, Perego G, Cella GD et al. Effectiveness of bioabsorbable conduit in the repair of peripheral nerves, *Biomaterials*, 17(10); 959-62; 1996
- 130-** Dunnen WFA, Stokross I, Blaauw EH et al. Light-microscopic and electron microscopic evaluation of short term nerve regeneration using Poly (DL-Laktide- $\epsilon$  caprolakton) nerve guide, *J Biomed Mater Res*, 31; 105-115; 1996
- 131-** Bini TB, Shujun G, Xu X et al, Peripheral nerve regeneration by microbraided poly(L-lactide-co-glycolide) biodegradable polymer fibers, *Inc J Biomed Mater Res*, 68A; 286-95; 2003
- 132-** Sterne GD, Brown RA, Green CJ et al, Neurotrophin-3 delivered locally via fibronectin mats enhances peripheral nerve regeneration, *Euro J Neuroscience*, 9; 1388-96; 1997
- 133-** Falls DL, Neurogulins and neuromuscular system: 10 years of answers and questions, *J Neurocytology*, 32; 619-47; 2003
- 134-** Newman PJ, Verity NA, Hawatmeh S, et al. Clialy neurotrophic factor enhances peripheral nerve regeneration, *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 122; 399-403; 1996
- 135-** Welch JA, Karl HK, Wells MR et al, Effect of combined administration of IGF and PDGF on the regeneration of transected and anastomosed sciatic nerve in rats, *Am J Vet Res*, 58; 1033-37; 1997
- 136-** Iwaya K, Mizoi K, Tessler A, Itoh Y, Neurotrophic agent in fibrin glue mediate adult dorsal root regeneration into spinal cord, *Neurosurgery*, 44; 589-96; 1999
- 137-** Shelly E, Hubbell JA, Controlled release of nerve growth factor from a heparin-containing fibrin-based cell ingrowth matrix, *J Controlled Release*, 69; 149-58; 2000
- 138-** Robinson PP, Yates JM, Smith KG, An electrophysiological study into the effect of neurotrophin-3 on functional recovery after lingual nerve repair, *Arc of Oral Biology*, 49; 763-75; 2004

- 139-** Bloch J, Fine EG, Bouche N et al, NGF and NT-3 Releasing guidance channels promote regeneration of the transected rat dorsal root, *Experimental Neurology*, 172; 425-32; 2001
- 140-** Lee AN, Yu VM, Lowe JB et al. Controlled release of nerve growth factor enhanced sciatic nerve regeneration, *Experimental Neurology*, 184; 295-303; 2003
- 141-** Yin Q, Kemp GJ, Yu LG, et al. NT-4 delivered by fibrin glue promotes peripheral nerve regeneration, *Inc Muscle Nerve*, 24; 345-51; 2001
- 142-** Bunge RP, The role of the schwann cell in trophic support and regeneration, *J Neurol*, 241; 19-21; 1994
- 143-** Bamber NI, Li H, Lu X et al, Neurotrophins BDNF and NT-3 promote axonal re-entry into distal host spinal cord trough schwann cell seeded mini channels, *Euro J Neurosciense*, 13; 257-68; 2001

