



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ

SİNİR GREFTLEMESİNDE GREFT YÖNÜNÜN İYİLEŞMEYE ETKİSİ

Musa ERGİN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman:
Dr. Öğr. Üyesi Selim SAFALI

Konya-2022

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ

SİNİR GREFTLEMESİNDE GREFT YÖNÜNÜN İYİLEŞMEYE ETKİSİ

Musa ERGİN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman:
Dr. Öğr. Üyesi Selim SAFALI

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından
22122004 proje numarası ile desteklenmiştir.

Konya-2022

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu çalışmada periferik sinirlerin greftlemesinde greft yönünün fonksiyonel ve histolojik iyileşmeye etkisi araştırılmıştır. El cerrahisi ve mikrocerrahi ile ilgilenen cerrahların mesleki pratiğinde sinir greftlemesi önemli bir yer tutmaktadır. Sinir greftlemesinde greftin yönünün sinir iyileşmesine etkisinin olup olmadığını araştıran bu çalışma hem pratik uygulamalara hem de literatüre katkı sağlamayı amaçlamaktadır. Asistanlık eğitimi gördüğüm Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği'nde el cerrahisi ve mikrocerrahi ameliyatları sık bir şekilde yapılmaktadır. Birçok kez sinir greftlemesi gerektiren yaralanmaların ameliyatlarında bulunmuş olmam ve bu konuda literatürde kısıtlı bilginin olması tezimin ortaya çıkmasında etkili olmuştur.

Uzmanlık eğitimim süresince hekimlik sanatını öğrenmemde katkıları olan tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Selim Safalı başta olmak üzere Prof. Dr. Hakan Şenaran, Prof. Dr. Mehmet Ali Acar, Prof. Dr. Ömer Faruk Erkoçak, Doç. Dr. Bahattin Kerem Aydın, Doç. Dr. Ahmet Yıldırım, Dr. Öğr. Üyesi Ali Özdemir, Dr. Öğr. Üyesi Sadettin Çiftci'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Bilgi ve tecrübesini hiçbir zaman esirgemeyen, yetiştirdiği hekimlerin başarısı ile gurur duyan, sadece benim değil tüm asistan arkadaşlarıma eğitimine verdiği sonsuz destek için Dr. Öğr. Üyesi Ali Güleç hocama ayrıca saygılarımı sunar ve teşekkürü borç bilirim. Daha önce asistanlık eğitimine başladığım ve kısa bir süre de olsa çalışma fırsatı bulduğum, ortopedi eğitimimin başlangıç yeri olan Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Kliniğinden Dr. Öğr. Üyesi Erkal Bilgiç, Doç. Dr. Bora Bostan, Doç. Dr. Murat Aşçı hocalarıma saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca asistanlık eğitimim sürecinde beraber çalıştığım bütün asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatım boyunca beni destekleyen ve haklarını ödeyemeyeceğim sevgili aileme, desteğini her zaman hissettiren sevgili eşim Fatoş'a ve ailesine, onlara ayırmam gereken vaktin çoğunu onlardan çalıp eğitim sürecime eklediğim biricik oğlum Ali Yahya ve biricik kızım İnci'ye sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Dr. Musa ERGİN
Ekim 2022-KONYA

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	i
SİMGELER VE KISALTMALAR	iv
ŞEKİLLER ve TABLOLAR LİSTESİ.....	v
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Periferik Sinir Sistemi Yapısı.....	1
1.2. Periferik Sinir Yaralanmalarının Sınıflaması.....	2
1.3. Periferik Sinir sistemi cerrahisi ve onarım teknikleri.....	3
1.3.1. Sütür ile Direkt Onarım	3
1.3.2. Sinir Ototrefti ile Köprüleme	4
1.3.3. Fibrin Yapıştırıcı ile Onarım.....	4
1.3.4. Konduitler ile Onarım	4
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	6
2.1. Gruplar.....	6
2.2. Cerrahi İşlem	7
2.3. Değerlendirme Yöntemleri.....	10
2.3.1. Fonksiyonel İnceleme.....	10
2.3.2. Histolojik İnceleme	14
2.4. İstatistik	15
3. BULGULAR.....	16
3.1. Makroskobik Bulgular.....	16
3.1.1. Fonksiyonel Bulgular.....	16
3.1.2. İtme Kuvveti Oranı (Extensor Postural Thrust) Bulguları.....	16
3.1.3. Pinprick Testi Bulguları.....	18
3.1.4. Sıcak Zemin Testi Bulguları	19

3.1.5 Gastroknemius Ağırlık Oranı Bulguları	21
3.2. Histolojik Bulgular	22
4. TARTIŞMA	43
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	47
KAYNAKLAR.....	48
ÖZET.....	51
SUMMARY	52



SİMGELER VE KISALTMALAR

MSS: Merkezi sinir sistemi

PSS: Periferik sinir sistemi

PGA: Poliglikolik asit

PLA: Polilaktik asit

PLGA: Polilaktid-co-glikolik asit

HE: Hematoksilen-Eozin

TM: Toluidin mavisi

LFB: Luksol fast mavisi

AP: A grubu proksimal kesit

AG: A grubu greftten alınan kesit

AD: A grubu distal kesit

BP: B grubu proksimal kesit

BG: B grubu greftten alınan kesit

BD: B grubu distal kesit

KP: Kontrol grubu proksimal kesit

KG: Kontrol grubu greftten alınan kesit

KD: Kontrol grubu distal kesit

ŞEKİLLER ve TABLOLAR LİSTESİ

Çizelge 1.1: Seddon ve Sunderland sınıflandırmalarının tablo üzerinde gösterilmesi	3
Tablo 2.1. Çalışma gruplarındaki ratların sayısı ve gruplara göre sinir greft yönleri	6
Şekil 2.1. Cerrahi işleme başlamadan önce rat platform üzerinde hazırlandı(a). Siyatik sinir eksplore edilerek altına steril bir renkli fon yerleştirildi(b). 10 mm segment belirlenerek kesi yapıldı(c). Proksimal ve distalde 9/0 sütürler kullanılarak mikroskop altında epinöral koaptasyon yapıldı(d).	8
Şekil 2.2. Normal yönelimde(a) ve reverse yönelimde(b) greftleme yapılan sinirlerin mikroskop altında alınan görüntüleri.	9
Şekil 2.3. İtme kuvveti hesaplamasının hassas terazi ile gerçekleştirilmesi	11
Şekil 2.4. Pinprick testi esnasında ayağın lateral bölgesine ağırlı uyaran verilmesi	11
Şekil 2.5. Sıcak zemin testi uygulanırken 56°C'ye ayarlanan zemine ayağın temas ettirilmesi (a) ve ayak çekme refleks yanıtının alınması (b)	12
Şekil 2.6. Gastroknemius kasları bilateral çıkarıldıktan sonra yaklaşık olarak aynı boyutta olan kasların makroskobik görüntüsü (a), opere edilen tarafın atrofiye uğramış gastroknemius kası makroskobik görüntüsü (b), kasların hassas dijital terazi ile ölçülmesi (c-d)	13
Tablo 3.1. İtme kuvveti ölçümlerinin tablo ile gösterilmesi	16
Tablo 3.2. İtme kuvveti oranı sonuçlarının tablo üzerinde gösterilmesi	17
Şekil 3.1. İtme kuvveti oranlarının grafik üzerinde gösterilmesi	17
Şekil 3.2. Pinprick skorlarının grafik üzerinde gösterilmesi	18
Tablo 3.3. Pinprick testi sonuçlarının tablo üzerinde gösterilmesi	19
Tablo 3.4. Sıcak zemin testinin tüm ratlardaki sayısal değerlerinin tablo üzerinde gösterilmesi	20
Şekil 3.3. Sıcak zemin testi sonuçlarının grafik üzerinde gösterilmesi	20
Tablo 3.5. Gastroknemius ağırlıklarının tablo üzerinde gösterilmesi	21
Tablo 3.6. Gastroknemius ağırlık oranı sonuçlarının tablo üzerinde gösterilmesi	21
Şekil 3.4. Gastroknemius ağırlık oranları sonuçlarının grafik üzerinde gösterilmesi	22

Resim 3.1. Kontrol kesitlerinde sinir liflerinin normal kesitleri, aksonlarının sürekliliği ve bunların çevreleyen miyelin kılıfı gözlemlendi.	23
Resim 3.2. Kontrol kesitlerinde sinir liflerinin normal kesitleri, aksonlarının sürekliliği ve bunların çevreleyen miyelin kılıfı gözlemlendi.	24
Resim 3.3. Kontrol kesitlerinde sinir liflerinin normal kesitleri, aksonlarının sürekliliği ve bunların çevreleyen miyelin kılıfı gözlemlendi.	24
Resim 3.4. A gurubu distalden alınan ve tüm guruplarda değişik düzeylerde görülen siyatik sinir histopatolojik bulguları olarak folikül ve fibrozis oluşumu ile inflamasyon ve aksonlar arasında boşluklar izlendi.	25
Resim 3.5. A gurubu distalden alınan ve tüm guruplarda değişik düzeylerde görülen siyatik sinir histopatolojik bulguları olarak folikül ve fibrozis oluşumu ile inflamasyon ve aksonlar arasında boşluklar izlendi.	26
Resim 3.6. A gurubu distalden alınan ve tüm guruplarda değişik düzeylerde görülen siyatik sinir histopatolojik bulguları olarak folikül ve fibrozis oluşumu ile inflamasyon ve aksonlar arasında boşluklar izlendi.	26
Resim 3.7. Her üç grup için proksimalden alınan kesitlerin karşılaştırması	27
Resim 3.8. Her üç grup için greft ortasından alınan kesitlerin karşılaştırması	28
Resim 3.9. Her üç grup için distalden alınan kesitlerin karşılaştırması	29
Şekil 3.5. Distalde oluşan hasarın proksimale oranının tablo üzerinde gösterilmesi	30
Resim 3.10. A gurubu distalden alınan ve bütün örneklerde değişik düzeylerde görülen histopatolojik değişiklikler izlendi.	31
Resim 3.11. B gurubu distalden alınan ve bütün örneklerde değişik düzeylerde görülen histopatolojik değişiklikler izlendi.	32
Resim 3.12. A gurubu greft ortasından alınan ve bütün örneklerde değişik düzeylerde görülen histopatolojik değişiklikler izlendi.	32
Resim 3.13. TB kesitlerde her üç grup için proksimalden alınan kesitlerin karşılaştırması	33
Resim 3.14. TB kesitlerde her üç grup için greft ortasından alınan kesitlerin karşılaştırması	34

Resim 3.15. TB kesitlerde her üç grup için distalden alınan kesitlerin karşılaştırması	35
Şekil 3.6. Akson sayısı değişim indeksinin tablo üzerinde gösterilmesi	36
Resim 3.16. A gurubu distalden alınan ve tüm guruplarda değişik düzeylerde gözlenen LFB kesitlerinde sinir liflerinin büzülmesi ve çaplarının azalması, akson atrofisi ve miyelin vakuolizasyon enine kesitlerde gözlendi.	37
Resim 3.17. A gurubu greft ortasından alınan ve tüm guruplarda değişik düzeylerde gözlenen LFB kesitlerinde sinir liflerinin büzülmesi ve çaplarının azalması, akson atrofisi ve myelin vakuolizasyon enine kesitlerde gözlendi.	37
Resim 3.18. B gurubu distalden alınan ve tüm guruplarda değişik düzeylerde gözlenen LFB kesitlerinde sinir liflerinin büzülmesi ve çaplarının azalması, akson atrofisi ve miyelin vakuolizasyon enine kesitlerde gözlendi.	38
Resim 3.19. LFB kesitlerde her üç grup için proksimalden alınan kesitlerin karşılaştırması.	39
Resim 3.20. LFB kesitlerde her üç grup için greft ortasından alınan kesitlerin karşılaştırması.	40
Resim 3.21. LFB kesitlerde her üç grup için distalden alınan kesitlerin karşılaştırması.	41
Şekil 3.7. Myelin kılıf kalınlığı değişim indeksinin tablo üzerinde gösterilmesi	42

1. GİRİŞ

Periferik sinir yaralanmaları klinikte sık karşılaşılan durumlardandır. Gelişmiş ülkelerde periferik sinir yaralanmaları insidansı 100.000 de 13 ile 23 arasında olduğu tahmin edilmekte, ekstremitelerde travmalı hastalarda ise bu oran artmakta ve %1,64 civarında görülmektedir(1, 2). Günümüzde sinir onarımında standart tamir yöntemi olarak epinöral onarım yapılmaktadır(3). Ancak yaralanma sahasında defekt olması uç uca onarıma engel olabilmektedir. Böyle durumlarda sinirin devamlılığını sağlamak için altın standart kabul edilen yöntem sinir otogrefti kullanılarak onarım yapılmasıdır(4). Sinir greftinin hangi yönde yerleştirilmesi gerektiği ise tam olarak aydınlatılamamıştır.

Bu çalışma ile ratlarda defektif siyatik sinir onarımında sıkça kullanılan metod olan otogreft ile sinir koaptasyonu için ideal yöntemin bulunması amaçlanmaktadır. Literatürde ratların siyatik siniri birçok defa sinir iyileşmesinde model olarak kullanılmıştır. Ancak bu çalışmalar incelendiğinde sinir grefti ile onarım için greftin yönüne dair fikir birliği bulunmadığı gözlenmektedir. Sinir iyileşmesinin bu modelde başarılı bir şekilde incelenebilmesi adına onarımda optimal iyileşmenin gözlendiği greft oryantasyonunun belirlenmesi ve diğer çalışmaların bu standardizasyona göre yapılması gerektiğini düşünmekteyiz. Dolayısıyla bu çalışmanın ileride yapılacak olan sinir greftlemesi çalışmalarına ışık tutacağına inanmaktayız. Sinir greftlemesinde ideal oryantasyonun bulunması ile ilerleyen çalışmalar daha standardize şekilde yapılabilecektir.

Ayrıca bu çalışma ratlarda yapılmasına rağmen insan sinirlerinin greftlemesi adına da önem taşımaktadır. Rat siyatik siniriyle benzer boyuttaki sinirler olan digital sinirlerin defektif yaralanmalarına da greftleme yapılırken ideal yöntem hakkında fikir sahibi olunabilecektir.

1.1. Periferik Sinir Sistemi Yapısı

Sinir sistemi; beyin, beyin sapı, beyincik ve omurilikten oluşan merkezi sinir sistemi (MSS) ve kranial sinirler ve spinal sinirlerden oluşan periferik sinir sistemi (PSS) olarak ikiye ayrılır. Periferik sinirler motor ve duyuşal aksonlardan, Schwann hücrelerinden ve merkezi sinir sistemi dokuları ile devamlılık gösteren organize bağ dokusu katmanlarından oluşur(5). Mikroskobik düzeyde bakıldığında ise PSS'nin

fonksiyonel ünitesinin akson ve onunla ilişkili Schwann hücreleri tarafından oluşturulan sinir lifleri olduğu görülmektedir.

Periferik sinirler üç kat bağ dokusu tarafından desteklenir. En dış katmanda periferik siniri çevreleyen 'epinöryum' adı verilen bağ dokusu bulunur. Epinöryumun başlıca işlevi sinir fasiküllerini beslemek ve korumaktır(3). Sinir fasiküllerini çevreleyen bağ dokusu ise 'perinöryum' olarak adlandırılır. Perinöryum, sinir liflerine zarar verebilecek dış gerilme kuvvetlerine karşı koruyucu bağ dokusu katmanıdır(6). En iç katmanda yer alan ve aksonları çevreleyen bağ dokusu katmanı ise 'endonöryum' olarak adlandırılır.

Periferik sinirlerin beslenmesi ekstrinsik vasküler ağ ve intrinsik vasküler ağ ile sağlanır. Bu iki sistem birlikte periferik sinirin vasküler beslenmesini sağlayan vasa nervorum sistemini oluşturur. Ekstrinsik sistem periferik sinirin yüzeyi boyunca seyrederek ve esas olarak epinöral ve perinöral bölgelerin beslenmesinden sorumludur. İntrinsik sistem ise ekstrinsik sistemden bağımsız olarak çalışır ve endonöral bölgenin beslenmesini sağlar(7).

1.2. Periferik Sinir Yaralanmalarının Sınıflaması

Sinir yaralanması sınıflamalarından en sık kullanılanlar Seddon(8) ve Sunderland(9) sınıflamalarıdır (Çizelge1.1).

Seddon sınıflamasında yaralanmanın şiddetine göre üçe ayrılır. Birincisi, geçici kompresyon veya gerilmenin neden olduğu sinirin en hafif yaralanması olan nöropraksidir. Bu grup yaralanmada sinirin anatomisi sağlam olup iletim bloğundan kaynaklanan bir fonksiyon kaybı vardır(10). Fonksiyon kaybı geçici olup tam iyileşme görülür. İkinci derece yaralanma ise aksonal bütünlüğün bozulduğu aksonotmezistir. Endonöral kılıf korunduğu için aksonların distale doğru rejenerasyona kılavuzluk eder ve prognoz çok iyidir. Seddon sınıflamasında üçüncü grup ise nörotmezistir. Bu grupta sinirin bütünlüğü tamamen bozulmuştur. Aksonal rejenerasyonun ve uzuv fonksiyonlarının geri kazanılabilmesi için cerrahi müdahale şarttır.

Sunderland sınıflandırma sisteminde sinir hasarının beş derecesi vardır(9)(Çizelge1.1). Bu sınıflandırma sistemi sinir gövdesinde meydana gelen anatomik bozulmanın derecesini baz alır ve epinöryum, perinöryum veya endonöryumda hasar olan yaralanmaları ayırt eder. Birinci derece yaralanma Seddon

sınıflamasındaki nöropraksiye, ikinci derece yaralanma ise aksonotmezise eşittir. Üçüncü derece yaralanmada endonöral hasarlanma vardır. Dördüncü derecede ise perinöral hasarlanma eklenir. Beşinci ve son derece olan yaralanmada ise sinir bütünlüğü bozulmuş olup epinöral kısmı da içermektedir ve bu grup nörotmezis eşdeğeridir.

Çizelge1.1:Seddon ve Sunderland sınıflandırmalarının tablo üzerinde gösterilmesi

Tip	Seddon	Sunderland
1	nöropraksi	Nöropraksi (iletim bloğu)
2	aksonotmezis	Aksonotmezis (aksonal hasar)
3	nörotmezis	Tip2 + endonöral hasar
4	-	Tip3 + perinöral hasar
5	-	Tip4 + epinöral hasar (Nörotmezis)

1.3. Periferik Sinir Sistemi Cerrahisi ve Onarım Teknikleri

1.3.1. Sütür ile Direkt Onarım

Periferik sinir dikişlerine odaklanan çeşitli teknikler tanımlanmıştır. Genel olarak tüm tekniklerde cerrahi loop veya mikroskop kullanılması, en az seviyede yabancı cisim reaksiyonu, segmentler arası oryantasyonun düzgün bir şekilde sağlayacak kadar sütür sayısı kullanılması dikkat edilmesi gereken ortak noktalardır. En sık kullanılan mikrosütür teknikleri epinöral, fasiküler ve epi-perinöral sütür ile onarım teknikleridir(11).

Epinöral onarımda kesinin her iki ucunda epinöryum katmanlarından geçirilen sütür ile dikiş atılır. Fasiküler dizilimin sağlanabilmesi için epinöral kan damarları kılavuz olarak kullanılır. Bu metotta sütür materyalinin sadece epinöryumdan geçilmesine dikkat edilmeli fasiküllere zarar verilmemelidir. Bu tekniğin en önemli

avantajı daha az sütün materyali kullanılması ve sinir dokusu içerisinde sütün materyali bırakılmamış olmasıdır(12).

Fasiküler (perinöral) onarımda perinöryum katmanlarından geçen sütün ile onarım yapılır. Fasiküller ayrı ayrı koapte edildiği için daha doğru bir dizilim sağlanır. Dezavantaj olarak operasyon süresinin epinöral onarıma göre daha uzun olması, daha fazla sütün kullanıldığı için doku reaksiyonunu daha fazla olması gösterilebilir(11).

Epi-perinöral onarım ise aynı seansta hem epinöral hem fasiküler sütünler kullanılarak yapılır. Fazla sütün sayısı nedeniyle sık tercih edilen bir yöntem değildir.

1.3.2. Sinir Otogrefti ile Köprüleme

Periferik sinir defektlerinin köprülenmesinde sinir otogreftleri altın standart kabul edilir. Otogreftler hem bazal laminaya sahip bir kanal sağlayıp hem de aksonların rejenerasyonuna rehberlik ederken immünolojik reaksiyona sebep olmamaları da avantajdır. Periferik sinir cerrahisindeki en önemli prensiplerden birisi de onarım hattında gerginlik olmamasıdır. Bu prensip göz önünde bulundurulduğunda defekt uzunluğundan daha uzun bir greft alınmasına özen gösterilmelidir. Klinikte en yaygın kullanılan sinir otogrefti sural sinirdir. 30-40 cm ye kadar alınabilmesi ve donör sahada en az fonksiyonel defisit yapması en önemli avantajlarından(13). Medial antebraial kütanöz sinir, lateral antebraial kütanöz sinir, dorsal antebraial sinir ve lateral femoral kütanöz sinir de otogreft olarak kullanılabilen diğer seçeneklerdir(14).

1.3.3. Fibrin Yapıştırıcı ile Onarım

Mikrosütünlere alternatif olarak sinir uçlarını bir arada tutmak için fibrin yapıştırıcılar kullanılabilir. Sütün ile karşılaştırıldığında daha az travmatik olması, hızlı ve kolay uygulanabilmesi avantajlarıdır(15). Biyomekanik olarak sütünlerden dayanıksız olması ise dezavantaj olarak gösterilebilir(16).

1.3.4. Konduitler ile Onarım

Konduitler; sinir kesisi sonrası aksonların distale uygun bir şekilde ilerlemesini sağlayan rehber niteliğindeki kanalcıklardır. Konduitleri otojen biyolojik, non-otojen biyolojik ve non-biyolojik olarak gruplara ayırabiliriz(14). Otojen biyolojik konduit olarak ven greftleri kullanılabilir(17). Non-otojen biyolojik konduit

olarak kolajenden yapılan sinir kondütleri örnek gösterilebilir(18). Non-biyolojik kondüt olarak ise en sık poliglikolik asit(PGA), polilaktik asit(PLA) ve polilaktid-co-glikolik asit(PLGA) kullanılır(17).



2. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma 31.12.2021 tarih ve 2021-66 karar sayılı Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyle Yere Etik Kurulu'ndan etik onay alınarak başlatıldı (Bkz. EK-A). Çalışmanın cerrahi işlemleri ve fonksiyonel incelemeleri Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezinde, histolojik incelemeleri Eskişehir MER-TER Medikal firmasında gerçekleştirildi. Çalışma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 22122004 proje numarasıyla desteklendi.

Çalışmaya Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezinde üretilmiş olan 350-400 gram ağırlığında 30 adet Wistar Albino cinsi rat dahil edildi. Ratlara cerrahi öncesi ve sonrası sınırsız(ad-libitum) besin ve su sağlandı, cerrahi sonrası her bir rat ayrı ayrı kafeslerde barındırıldı.**Gruplar**

Toplam 30 adet Wistar Albino rat iki cerrahi ve bir kontrol grubu olacak şekilde üç gruba randomize şekilde ayrıldı. Kontrol grubuna herhangi bir cerrahi işlem uygulanmadı. Cerrahi gruplardaki ratların sağ siyatik sinirleri cerrahi işlemle 10 mm defekt oluşturulacak şekilde kesildikten sonra çıkarılan segment her gruptaki ratın sinirine reverse ve normal yönde proksimal ve distalden epinöral onarım uygulanarak greftlendi (Tablo 2.1).

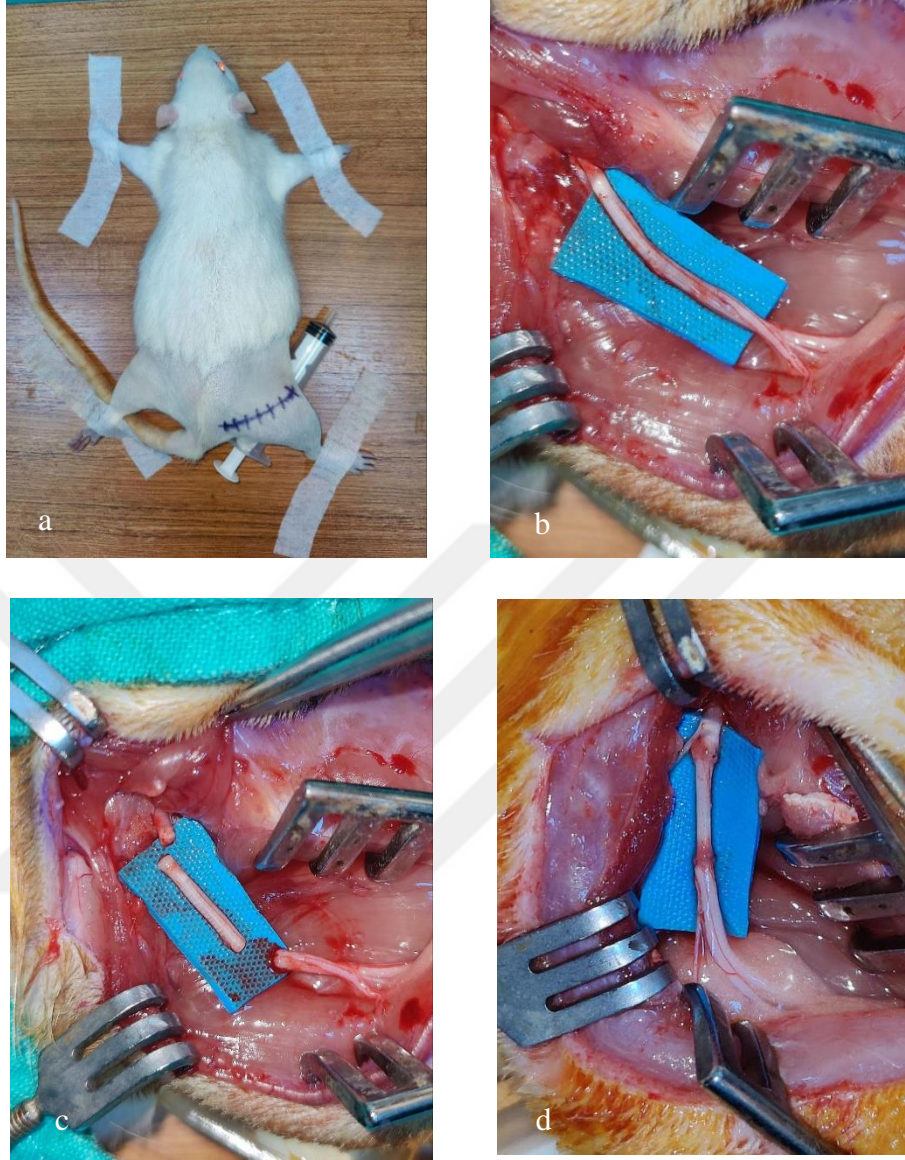
Tüm ratlar 12 haftalık takip süresi sonrasında fonksiyonel ve histolojik incelemeler için kullanıldı.

Tablo 2.1.Çalışma gruplarındaki ratların sayısı ve gruplara göre sinir greft yönleri

Gruplar	Greftin Yönü	Rat Sayısı
Kontrol grubu	Onarım yapılmadı	10
A grubu	Normal yönde greftleme	10
B grubu	Reverse yönde greftleme	10

2.2. Cerrahi İşlem

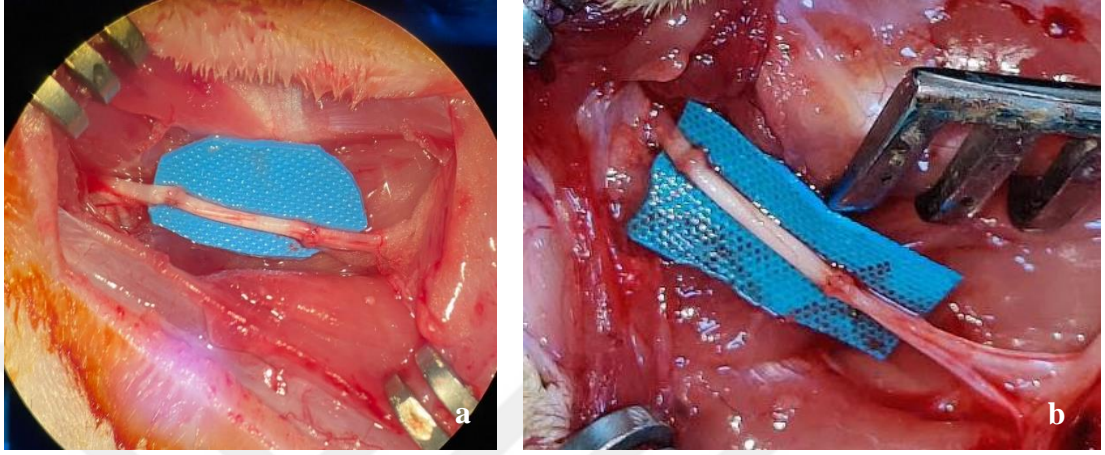
Anestezi öncesi ratların ağırlıkları not edilerek kaydedildi ve 10 mg/kg ksilazin (Xylazin Bio %2, Bioveta; Çek Cumhuriyeti) ve 50 mg/kg ketamin (Ketasol, Richterfarma AG; Wels, Avusturya) kullanılarak anestezi gerçekleştirildi. Anestezi sonrası her iki alt ekstremitte ve kalça bölgesi tıraşlanarak cerrahi işlemin uygulanacağı masaya prone pozisyonunda alındı. Ratların ayakları flaster yardımı ile sabitlendi ve sağ uyluklarının altına 5 cc hacimli enjektör ve ratın kuyruğu yerleştirilerek bacağı yükseltildi. Sağ diz ve sağ iskiyal tüberkülden geçen bir çizgi cerrahi kalemle işaretlenerek cilt kesi hattı belirlendi (Şekil 2.1. a). Cerrahi sahanın %10'luk povidon iyot ile boyanması ve steril örtülmesi sonrası, gluteus ve biceps femoris kasları arasındaki plandan girilerek siyatik sinire ulaşıldı ve sinir eksplorasyonu yapıldı. Siyatik sinirin trifurkasyona ayrıldığı yerin 1 cm proksimali ve 2 cm proksimali kesi hattı olarak belirlendi. 10 mm olacak şekilde sinir segmenti çıkarılması planlandı. Düzgün bir kesi sağlamak amacıyla sinirin altına steril edilmiş bir tahta abeslang, izotonik solüsyonla ıslatılarak yerleştirildi. 11 numara bistüri kullanılarak tek hamlede siyatik sinir iki seviyeden kesildi. Abeslang cerrahi sahadan uzaklaştırıldı. Sinirin onarım hattının altına steril edilmiş renkli fon yerleştirilerek epinöral uç uca koaptasyon safhasına geçildi. Koaptasyon sırasında mikrocerrahi aletleri kullanıldı. Koaptasyon cerrahi mikroskop altında (World Precision Instruments; Sarasota, Florida, ABD) 9-0 monofilament naylon suturele (Ethilon, Ethicon; Somerville, New Jersey, ABD) sağlandı. Kesinin proksimali ve distali bir araya getirilirken fasiküllerin karşılıklı gelmesine özen gösterildi. Kesi hattı proksimal ve distalde 4'er adet suture kullanılarak koapte edildi. Tüm işlemler esnasında sinir dokusuna zarar verecek sert manipülasyonlardan kaçınıldı. Onarım hattında gerginlik olmaması için proksimal ve distalde mezonöral gevşetme yapıldı.



Şekil 2.1. Cerrahi işleme başlamadan önce rat platform üzerinde hazırlandı(**a**). Siyatik sinir eksplore edilerek altına steril bir renkli fon yerleştirildi(**b**). 10 mm lik segment belirlenerek kesi yapıldı(**c**). Proksimal ve distalde 9/0 sütürler kullanılarak mikroskop altında epinöral koaptasyon yapıldı(**d**).

Sütürlerin pozisyonu belirlenirken 360° eş parçalara bölünecek şekilde planlama yapıldı. 90° lik açılarla dörder adet sütün greftin proksimal ve distalinde mikrocerrahi tekniklere uygun olarak atıldı (Şekil 2.2). A grubundaki ratların kesilen

10 mm'lik sinirleri normal yönde koapte edilirken B grubundakiler ise reverse yönde koapte edildi (Şekil 2.2). Koaptasyon tamamlandıktan sonra cerrahi saha izotonik mayi ile yıkandı ve ciltaltı 2-0 emilebilen poliflament suturele, cilt ise 2-0 emilemeyen monofilament suturele kapatıldı.



Şekil 2.2. Normal yönelimde(a) ve reverse yönelimde(b) greftleme yapılan sinirlerin mikroskop altında alınan görüntüleri.

Cerrahi işlem sonrası ratlar, anestezi etkisi geçene kadar hipotermiden korumak amacıyla ısıtma platformu üzerinde bekletildi. Anestezi etkisi geçtikten sonra ratlar ayrı ayrı kafeslere yerleştirilerek takip edildi.

Ratların takip süresi bittikten sonra fonksiyonel analizleri yapılarak yüksek doz anestezi ile sakrifikasyon uygulandı. Her iki bacak tıraş edildikten sonra eski insizyon yerlerinden girilerek siyatik sinire ulaşıldı. Greftleme yapılan alanın 1 cm distali ve 1 cm proksimaline farklı renklerde işaret sutureleri yerleştirilerek sinirler çıkartıldı.

2.3. Değerlendirme Yöntemleri

2.3.1. Fonksiyonel İnceleme

Ratların 12 haftalık takip süreleri tamamlandıktan sonra fonksiyonel testler gerçekleştirildi. İtme kuvveti testi (extensor postural thrust), pinprick testi ve sıcak zemin testi ratlara sakrifikasyon öncesi yapıldı. Sinirlerin toplanması için ratlar sakrifiye edildikten sonra bilateral gastroknemus kasları çıkarılarak gastroknemus ağırlık oranı ölçümleri yapıldı.

İtme kuvveti oranı (extensor postural thrust)

Ratların test edilecek alt ekstremitesi açıkta kalacak şekilde tüm vücudu havluya sarıldı. Havlu yardımıyla vücudu kavranan ratların sol ayağı tutan kişinin parmağıyla desteklendikten sonra sağ ayağı dijital teraziye (Kern&Sohn GmbH; Balingen, Almanya) temas etmesi sağlandı. Ratların hassas teraziye itme kuvveti uygulaması için beklendi (Şekil 2.3.). İşlem beş kere tekrarlandı ve en yüksek ölçülen değer hesaplama için kullanıldı. Aynı işlem sol alt ekstremitte için de tekrarlandı. İtme kuvveti oranı hesaplanırken normal taraftaki itme kuvvetinden deneysel taraftaki itme kuvveti çıkartılıp, normal taraftaki değere bölünerek hesaplandı. Bu formül Koka ve Hadlock tarafından(19) tariflenmiştir.



Şekil 2.3. İtme kuvveti hesaplamasının hassas terazi ile gerçekleştirilmesi

Pinprick testi

Pinprick testi ağrı duyusunun değerlendirilmesi amacı ile kullanıldı. Ağrılı uyaran vermek için tüm ratlarda aynı dişli forseps kullanıldı. Ratların parmaklarından dizlerine kadar ciltlerine ağrılı uyaran verilerek ayak çekme refleksi yanıtı incelendi. Ayak çekme refleksi yanıtı alınamamasına 0 puan verildi, ayak bileği proksimalinden yanıt alınıp distalinden alınamamasına 1 puan verildi, ayak bileği distali ve topuktan yanıt alınmasına 2 puan ve metatars seviyesinden yanıt alınmasına 3 puan verildi(20).

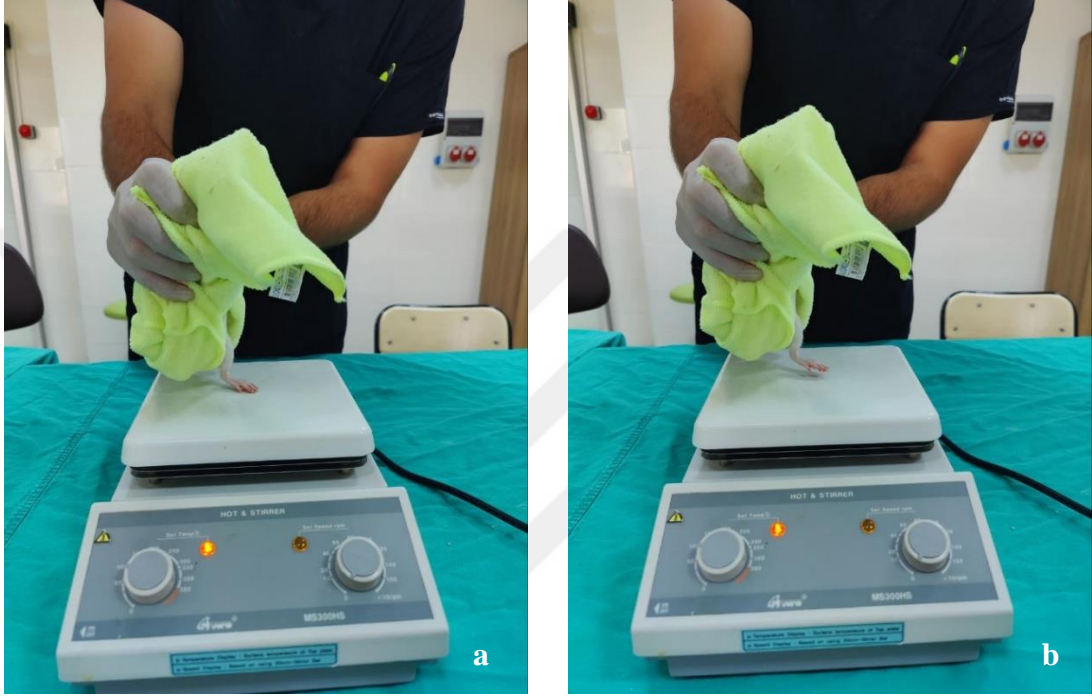
Ratların ayak tabanının duyu haritası incelendiğinde medial taraftaki duyular safen sinir (femoral sinirin dalı) tarafından alınırken, lateral tarafı sural sinir (siyatik sinirin dalı), santral kısımları ise tibial sinir (siyatik sinirin dalı) tarafından alınır(21). Ayak tabanı duyu innervasyonu göz önünde bulundurularak medial tarafa ağrılı uyaran verilmesinden kaçınıldı ve lateral tarafa ağrılı uyaran verilmesine dikkat edildi. (Şekil 2.4.).



Şekil 2.4. Pinprick testi esnasında ayağın lateral bölgesine ağrılı uyaran verilmesi

Sıcak zemin testi

Sıcaklığı 56°C'ye ayarlanan platform hazırlanarak ratların sağ ayaklarının lateral kısmı getirilecek şekilde temas ettirildi. Ayaklarını refleks olarak çektikleri süre kronometre kullanılarak kaydedildi. Bu işlem beş dakika ara verilerek üç kez tekrarlandı. Ölçülen üç değerın ortalaması kaydedildi. 12 saniye içinde ayaklarını çekmeyen ratlarda cilt hasarını önlemek amacıyla işlem sonlandırıldı ve bu ratlar için 12 saniye olarak kaydedildi(22). (Şekil 2.5.)

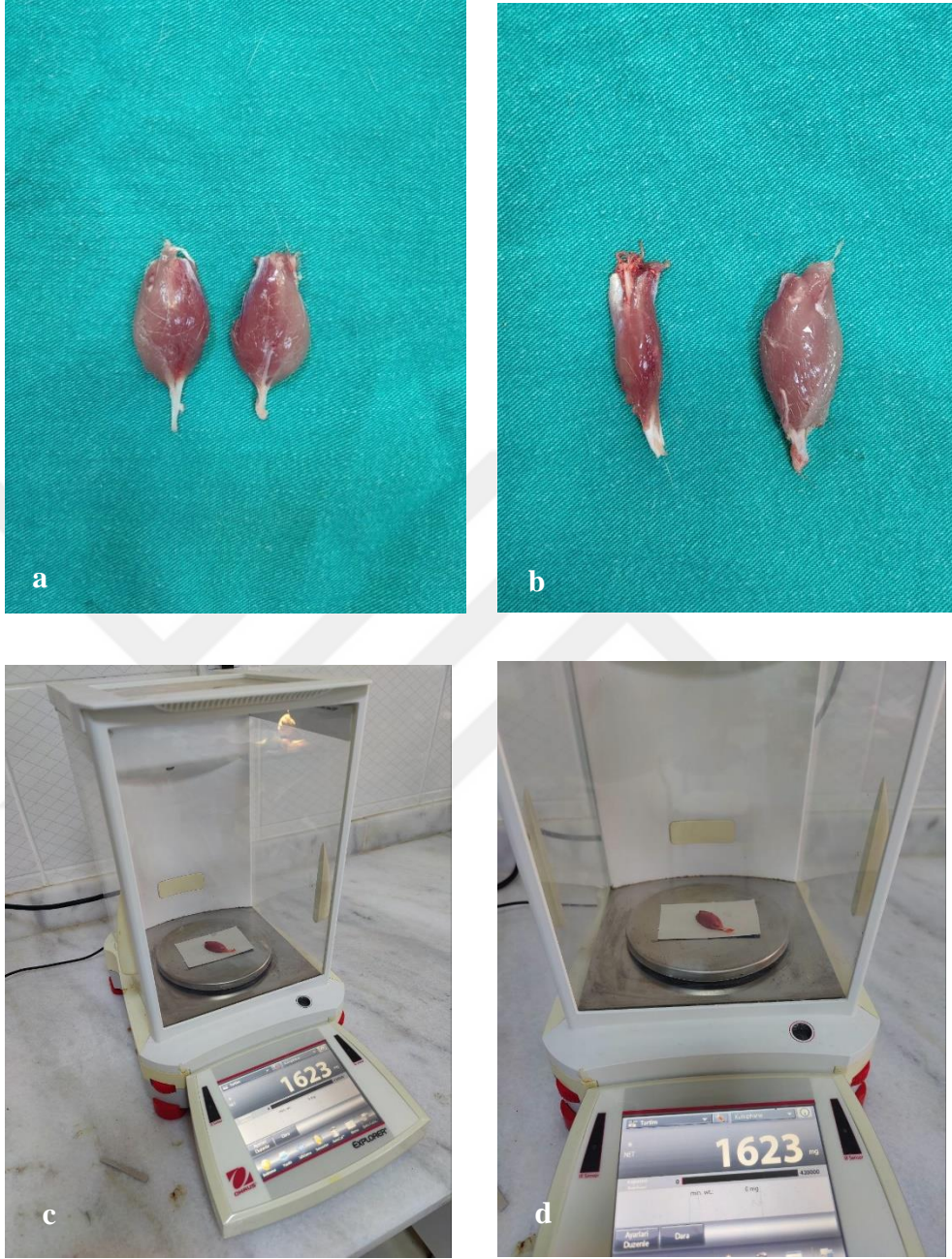


Şekil 2.5. Sıcak zemin testi uygulanırken 56°C'ye ayarlanan zemine ayağın temas ettirilmesi (a) ve ayak çekme refleks yanıtının alınması (b)

Gastroknemius ağırlık oranı

Ratlarda gastroknemius kası siyatik sinirin posterior tibial dalı tarafından inerve olmaktadır. Siyatik sinir kesisi sonrası gastroknemius kasında kullanılmaya bağlı atrofi gelişmesi beklenmektedir. Optimal sinir iyileşmesi sonrasında tekrardan innervasyona bağlı olarak atrofiye uğrayan kas kitlesi yeniden kazanılabilmektedir ve bu rejenerasyonun bir göstergesidir(23). Çalışmada kullanılan ratlara yüksek doz anestezi altında sakrifikasyon uygulandı ve sağ siyatik sinirleri histolojik değerlendirme için çıkartıldı. Sinirler çıkarıldıktan sonra her iki gastroknemius kasları proksimal ve distal yapışma yerlerinden ayrılarak hassas digital terazi (Ohaus Explorer; ABD) ile ağırlıkları ölçüldü ve değerler kaydedildi (Şekil 2.6.). Sinir

greftlemesi yapılan taraftaki gastroknemiusun ağırlığı normal taraftaki gastroknemius ağırlığına bölünerek bu oran hesaplandı.



Şekil 2.6. Gastroknemius kasları bilateral çıkarıldıktan sonra yaklaşık olarak aynı boyutta olan kasların makroskobik görüntüsü (a), opere edilen tarafın atrofiye uğramış gastroknemius kası makroskobik görüntüsü (b), kasların hassas dijital terazi ile ölçülmesi (c-d)

2.3.2. Histolojik İnceleme

Postoperatif 12 haftalık takip sonrası fonksiyonel incelemeler yapıldıktan sonra tüm ratlara yüksek doz anestezi altında sakrifikasyon uygulandı. Eski insizyon yerinden girilerek siyatik sinir eksplorasyonu yapıldı. Greftin bir santimetre proksimali ve bir santimetre distalini içerecek şekilde sağ siyatik sinirler çıkarıldı. Proksimale ve distale karışmaması amacıyla farklı renklerde işaret sutureleri yerleştirildi.

Diseke edilen sinir dokuları %10'luk formalin fiksatif solüsyonunda bir gün boyunca bekletildi. Ardından dokular bir gece boyunca akarsu altında bekletildi, ardından %60, %70, %80, %100'lük alkol serilerinden sırası ile geçirildi ve ksilene alındı. Daha sonra parafine gömülerek dokulardan ince kesitler alınması amaçlandı. Parafine gömülen preparatlardan mikrotom yardımı ile 5 µm'lik kesitler alındı. Kesitler alınırken sinir otogreftinin 4 mm proksimalinden, greftin orta noktasından ve 4 mm distalinden alınmaya çalışıldı. Kesitlerden alınan örnekler 1 gece boyunca 600 °C'lik etüvde bekletildi ve deparafinizasyon yapıldı. Ardından morfolojik değerlendirme için ilk basamak olan rutin Hematoksilen-Eozin boyaması yapıldı. Boyama işlemi sonucunda elde edilen preparatlar 20, 40 ve 100'lük büyütme oranlarında incelendi ve fotoğrafları çekildi.

Kesitler toluidin mavisi (TM) ile boyandı ve olympus tipi ışık mikroskobu ile incelendi, bir dijital kamera ile fotoğraflandı. Akson ve myelin kılıf değerlendirmeleri yapıldı.

Kesitler Luxol Hızlı Mavisi (LFB) ile boyandı ve olympus tipi ışık mikroskobu ile incelendi, bir dijital kamera ile fotoğraflandı. Myelin değişiklikleri ve demyelinizasyon gözlemlendi. Bu özel boya myeline bağlanıp tek başına myelinin derin mavi boyamasını vererek boyanmamış akson ve diğer yapıları ortaya koyar. Bir optik mikroskop altında enine kesitte normal sinir, sinir liflerini çevreleyen myelinin merkezi noktalı görünümünü gösterir. Boyuna kesitte myelin yığınlar halinde görülür ve bazal membranla çevrili uzun, düzgün yapılardan oluşur.

Morfometrik değerlendirmenin skorlanmasında HE boyamalarında nöron dejenerasyonu, nekroz, hücrel infiltrasyon, glial hücre reaktivitesi ve ödem parametreleri üzerinden hiç yok veya en az +1 ile en çok +5 aralığında kör olarak 2 histolog tarafından değerlendirildi.

Akson ve myelin morfometrisinde veriler alınan TB görüntüler üzerinde her örnekte en büyük sinir lifleri olmak üzere 10 ölçüm yapıp ortalamaları alındı. Yapılan ölçümler μ m olarak ifade edildi. Myelin LFB ile değerlendirildi.

2.4.İstatistik

Tüm çalışma sonucunda elde edilen veriler kör bir çalışmacı tarafından değerlendirilerek gruplar arasında taraf tutmanın önüne geçildi. Elde edilen veriler normal dağılım ve varyansın homojenliği açısından Kolmogorov-Smirnov ve Levene testleriyle kontrol edildi. Bu testleri tek yönlü varyans analizi takip etti (One-way ANOVA); analizin istatistiksel olarak anlamlı çıktığı durumlarda LSD post-hoc analizi ikili karşılaştırmalar için kullanıldı. Normalite şartlarının sağlanmadığı durumlarda parametrik olmayan testlerden Kruskal-Wallis testi uygulandı ve sonrasında ikili karşılaştırmalar için ise Mann-Whitney U testi kullanılarak değerlendirme yapıldı.

3. BULGULAR

3.1. Makroskobik Bulgular

Ratlar sakrifiye edildikten sonra çıkartılan sinirlerin hiçbirinde rüptür olmadığı gözlemlendi. Sinir onarım bölgelerinde nöroma formasyonu da izlenmedi. Gastroknemius kaslarının makroskobik olarak incelenmesinde ise sağlam tarafa göre genelde atrofik oldukları izlendi. Sinirlerin hiçbirisinde ise makroskobik anormallik gözlemlenmedi.

3.1.1. Fonksiyonel Bulgular

3.1.2. İtme Kuvveti Oranı (Extensor Postural Thrust) Bulguları

Tüm ratların itme kuvveti ölçülerek kaydedildi (Tablo 3.1.). Ardından itme kuvveti oranları hesaplanarak kaydedildi (Tablo 3.2.). Bu formülasyona göre itme kuvveti oranı ne kadar düşük saptanırsa fonksiyonel iyileşme daha iyi olduğu kabul edilmektedir.

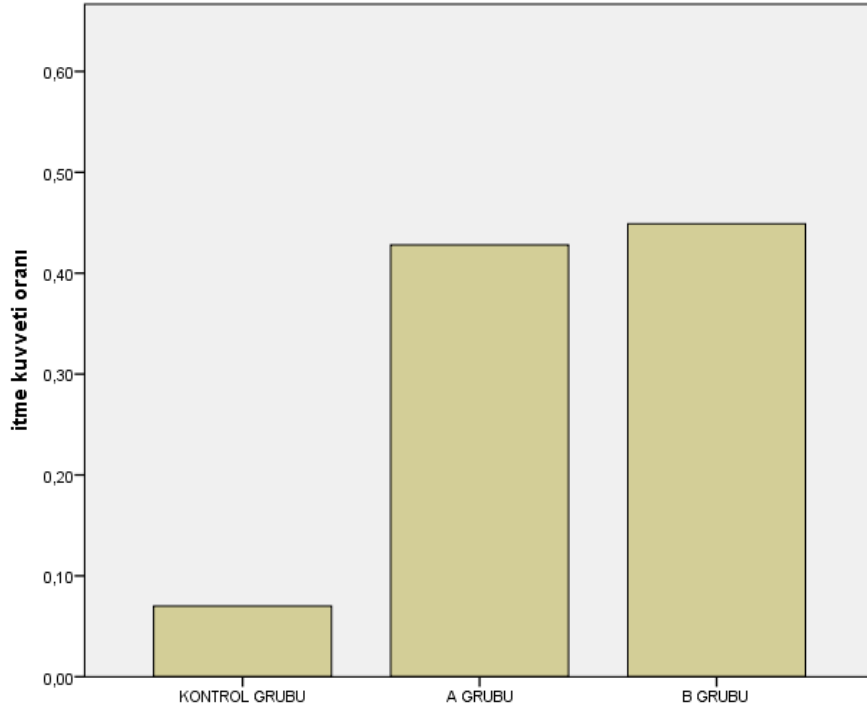
Tablo 3.1. İtme kuvveti ölçümlerinin tablo ile gösterilmesi

İTME KUVVETİ TESTİ SONUÇLARI					
	NORMAL YÖNDE GREFTLEME (A GRUBU)			REVERSE YÖNDE GREFTLEME (B GRUBU)	
RAT	DENEYSEL TARAF	SAĞLAM TARAF	RAT	DENEYSEL TARAF	SAĞLAM TARAF
A1	76	132	B1	1100	1400
A2	24	240	B2	350	726
A3	82	145	B3	216	360
A4	37	126	B4	110	284
A5	242	310	B5	346	630
A6	160	227	B6	140	205
A7	109	223	B7	139	213
A8	124	216	B8	60	109
A9	460	510	B9	42	75
A10	610	900	B10	34	156

Tablo 3.2. İtme kuvveti oranı sonuçlarının tablo üzerinde gösterilmesi

İTME KUVVETİ ORANI SONUÇLARI			
RAT	NORMAL YÖNDE GREFTLEME (A GRUBU)	RAT	REVERSE YÖNDE GREFTLEME (B GRUBU)
A1	0,42	B1	0,21
A2	0,90	B2	0,51
A3	0,43	B3	0,40
A4	0,70	B4	0,61
A5	0,21	B5	0,45
A6	0,29	B6	0,31
A7	0,51	B7	0,34
A8	0,42	B8	0,44
A9	0,08	B9	0,44
A10	0,32	B10	0,78

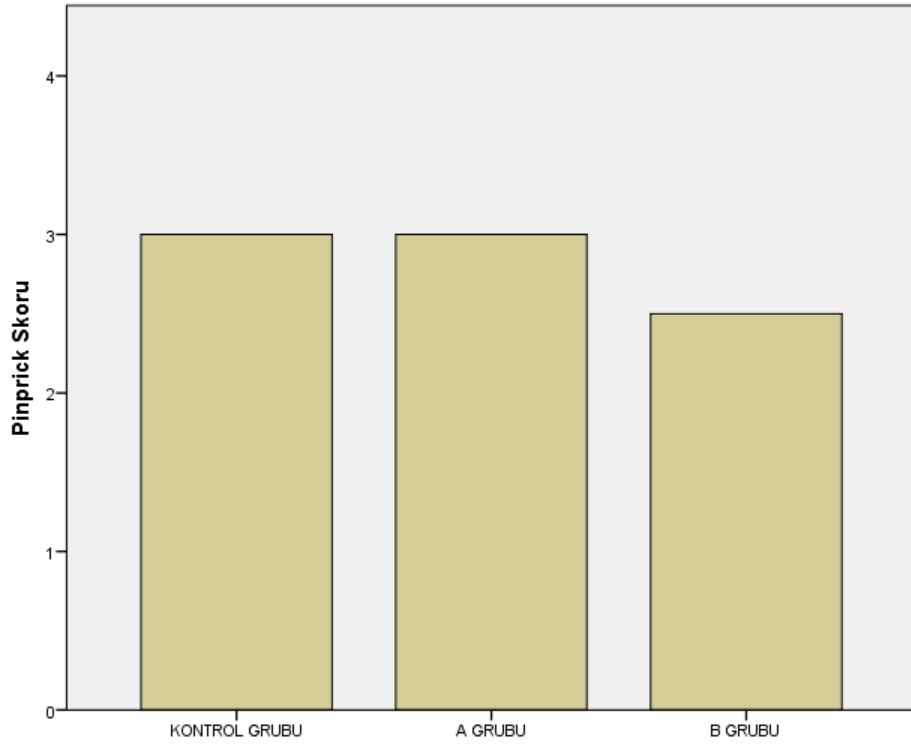
Ratlar itme kuvveti oranı açısından istatistiksel olarak değerlendirildiklerinde kontrol grubunun itme kuvveti oranı A ve B gruplarına kıyasla anlamlı olarak daha iyi olduğu saptandı ($p < 0,05$). A ve B grupları karşılaştırıldığında ise ($p: 0,679$) anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. İtme kuvveti oranlarının grafik üzerinde gösterilmesi

3.1.3. Pinprick Testi Bulguları

Tüm ratlarda pinprick skorları değerlendirilerek tablo üzerinde kaydedildi (Tablo 3.3.). Pinprick skorları istatiksels olarak değerlendirildiğinde kontrol grubu ile A grubu arasında anlamlı fark izlenmedi. Kontrol grubu ile B (p:0,028) grubu arasında anlamlı fark izlendi. A ve B grupları arasında ise anlamlı fark izlendi (p:0,028). Pinprick skorlarının A grubunda (normal yönde greftleme yapılan) B grubuna (reverse yönde greftleme yapılan) göre anlamlı derecede iyi olduğu gözlemlendi (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. Pinprick skorlarının grafik üzerinde gösterilmesi

Tablo 3.3. Pinprick testi sonuçlarının tablo üzerinde gösterilmesi

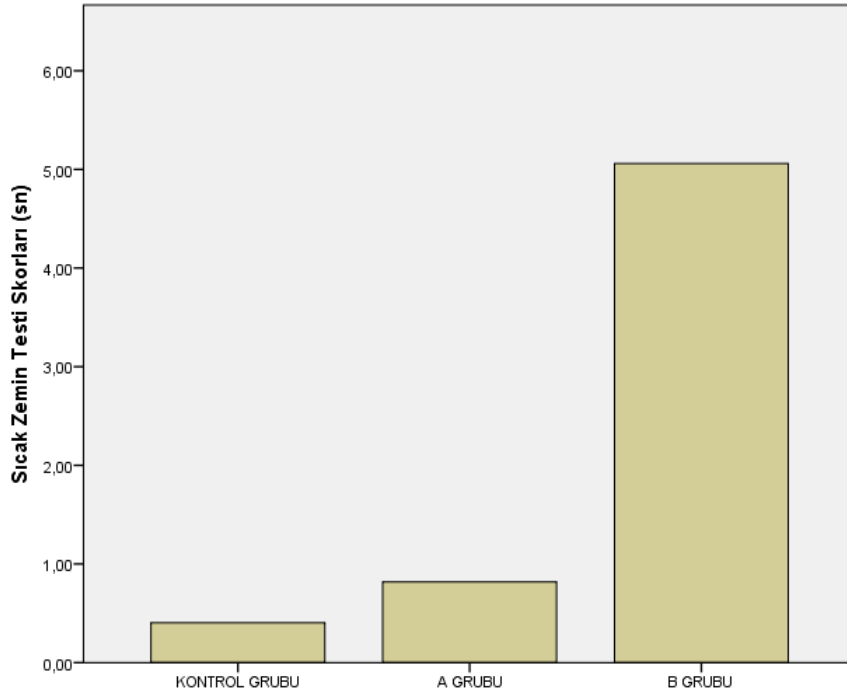
PİNPRİCK TESTİ SONUÇLARI					
	NORMAL YÖNDE GREFTLEME (A GRUBU)			REVERSE YÖNDE GREFTLEME (B GRUBU)	
RAT	OPERE TARAF	SAĞLAM TARAF	RAT	OPERE TARAF	SAĞLAM TARAF
A1	3	3	B1	1	3
A2	3	3	B2	3	3
A3	3	3	B3	3	3
A4	3	3	B4	3	3
A5	3	3	B5	3	3
A6	3	3	B6	1	3
A7	3	3	B7	3	3
A8	3	3	B8	3	3
A9	3	3	B9	2	3
A10	3	3	B10	3	3

3.1.4. Sıcak Zemin Testi Bulguları

Tüm ratlara bilateral sıcak zemin testi yapılarak tablo üzerinde kaydedildi (Tablo 3.4.). Gruplar karşılaştırıldığında sıcak zeminden ayak çekme süreleri açısından anlamlı fark saptandı. Kontrol grubundaki ratlar A(p:0,007) ve B(p:0,001) gruplarına kıyasla sıcak zeminden ayaklarını daha kısa sürede çektiler. A ve B grubu karşılaştırıldığında ise anlamlı fark saptanmadı.

Tablo 3.4. Sıcak zemin testinin tüm ratlardaki sayısal değerlerinin tablo üzerinde gösterilmesi

SICAK ZEMİN TESTİ SONUÇLARI					
RAT	NORMAL YÖNDE GREFTLEME (A GRUBU)		RAT	REVERSE YÖNDE GREFTLEME (B GRUBU)	
	OPERE TARAF	SAĞLAM TARAF		OPERE TARAF	SAĞLAM TARAF
A1	1,9	0,32	B1	12	0,49
A2	1,1	0,43	B2	12	0,36
A3	0,59	0,39	B3	0,44	0,40
A4	1,4	0,4	B4	0,43	0,40
A5	0,5	0,33	B5	0,40	0,39
A6	0,41	0,32	B6	0,38	0,32
A7	0,81	0,28	B7	12	0,49
A8	0,42	0,49	B8	0,50	0,28
A9	0,54	0,22	B9	12	0,92
A10	0,51	0,44	B10	0,45	0,40



Şekil 3.3. Sıcak zemin testi sonuçlarının grafik üzerinde gösterilmesi

3.1.5 Gastroknemius Ağırlık Oranı Bulguları

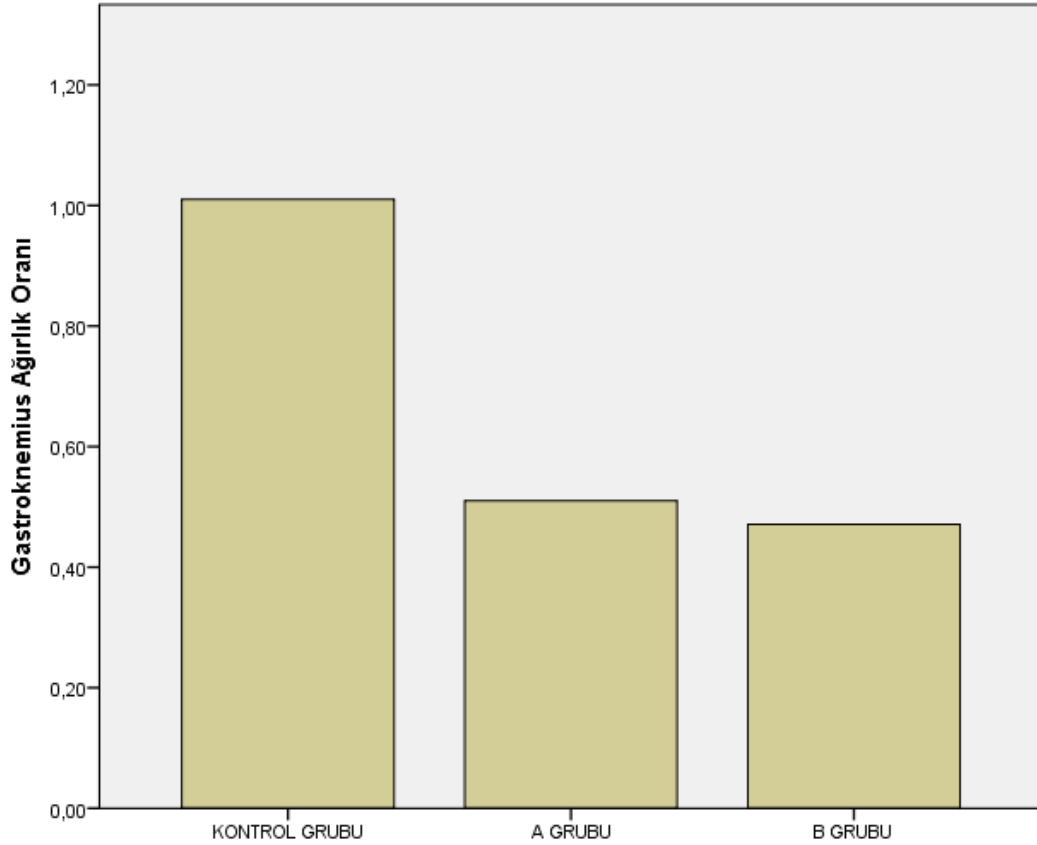
Tablo 3.5. Gastroknemius ağırlıklarının tablo üzerinde gösterilmesi

GASTAROKNEMUS AĞIRLIKLARI SONUÇLARI					
	NORMAL YÖNDE GREFTLEME (A GRUBU)			REVERSE YÖNDE GREFTLEME (B GRUBU)	
RAT	OPERE TARAF	SAĞLAM TARAF	RAT	OPERE TARAF	SAĞLAM TARAF
A1	664	1623	B1	916	1519
A2	972	1733	B2	1122	1877
A3	932	1683	B3	933	1837
A4	1022	1789	B4	747	1456
A5	935	1932	B5	569	1780
A6	806	1590	B6	825	1757
A7	724	1573	B7	718	1811
A8	843	1830	B8	713	1839
A9	843	1619	B9	863	1696
A10	1017	1673	B10	806	1735

Tablo 3.6. Gastroknemius ağırlık oranı sonuçlarının tablo üzerinde gösterilmesi

GASTROKNEMİUS AĞIRLIK ORANI SONUÇLARI			
RAT	NORMAL YÖNDE GREFTLEME (A GRUBU)	RAT	REVERSE YÖNDE GREFTLEME (B GRUBU)
A1	0,40	B1	0,60
A2	0,56	B2	0,59
A3	0,55	B3	0,50
A4	0,57	B4	0,51
A5	0,48	B5	0,31
A6	0,50	B6	0,47
A7	0,46	B7	0,39
A8	0,46	B8	0,38
A9	0,52	B9	0,50
A10	0,60	B10	0,46

Ratlar sakrifiye edildikten sonra bilateral gastroknemius kasları origo ve insersiyolarından ayrılarak hassas elektronik terazide ağırlıkları ölçüldü ve tablo üzerinde kaydedildi (Tablo 3.5.). Ardından opere edilen taraf sağlam tarafa bölünerek gastroknemius ağırlık oranları kaydedildi (Tablo 3.6.). Gastroknemius ağırlık oranları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında kontrol grubu A ve B gruplarına göre anlamlı derecede fazla olduğu izlendi ($p<0,005$). A ve B grupları arasında ise gastroknemius ağırlık oranı bakımından anlamlı fark saptanmadı.



Şekil 3.4. Gastroknemius ağırlık oranları sonuçlarının grafik üzerinde gösterilmesi

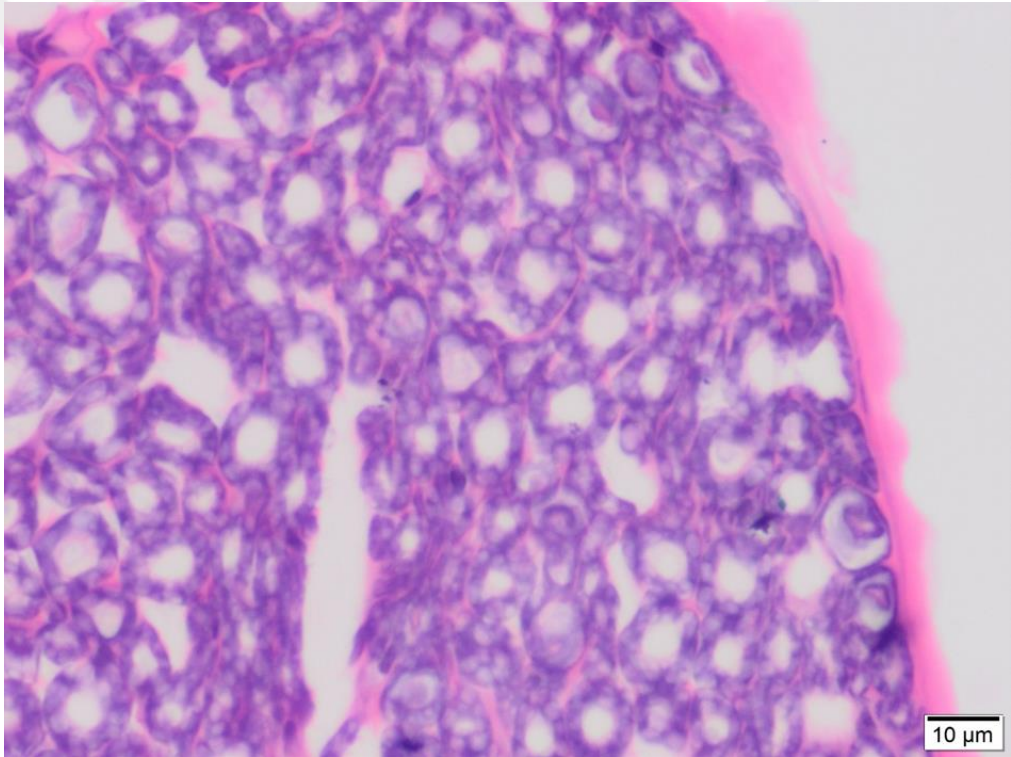
3.2. Histolojik Bulgular

Histolojik değerlendirmeler esnasında HE boyamalar ile periferik sinirlerde oluşan hasarın skorlanmasında dejenerasyon, nekroz, hücresel infiltrasyon, glial hücre reaktivitesi ve ödem parametreleri üzerinden hiç yok veya en az +1 ile en çok +5 aralığında kör olarak 2 histolog tarafından değerlendirme yapıldı.

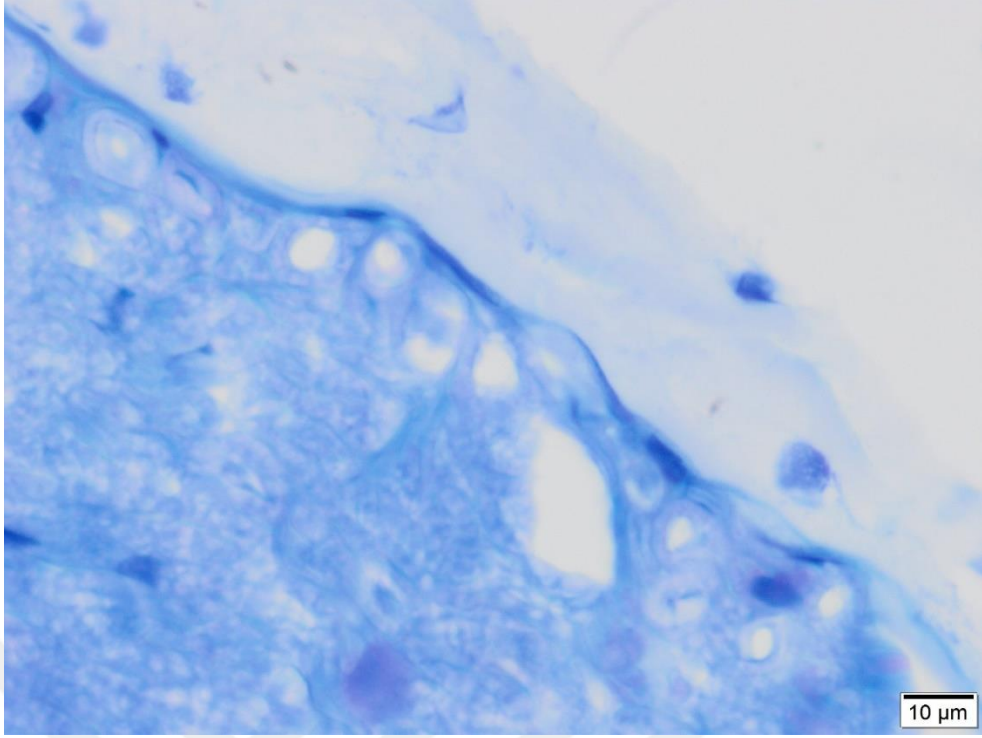
Akson sayısı ve myelin morfometrisi incelemeleri TB ile boyanan preparatlar üzerinde her örnekte en büyük sinir lifleri olmak üzere 10 ölçüm yapıp ortalamaları alındı. Yapılan ölçümler ile μm olarak ifade edildi.

Myelin kılıf kalınlığı ise LFB ile boyanan preparatlar üzerinden değerlendirildi.

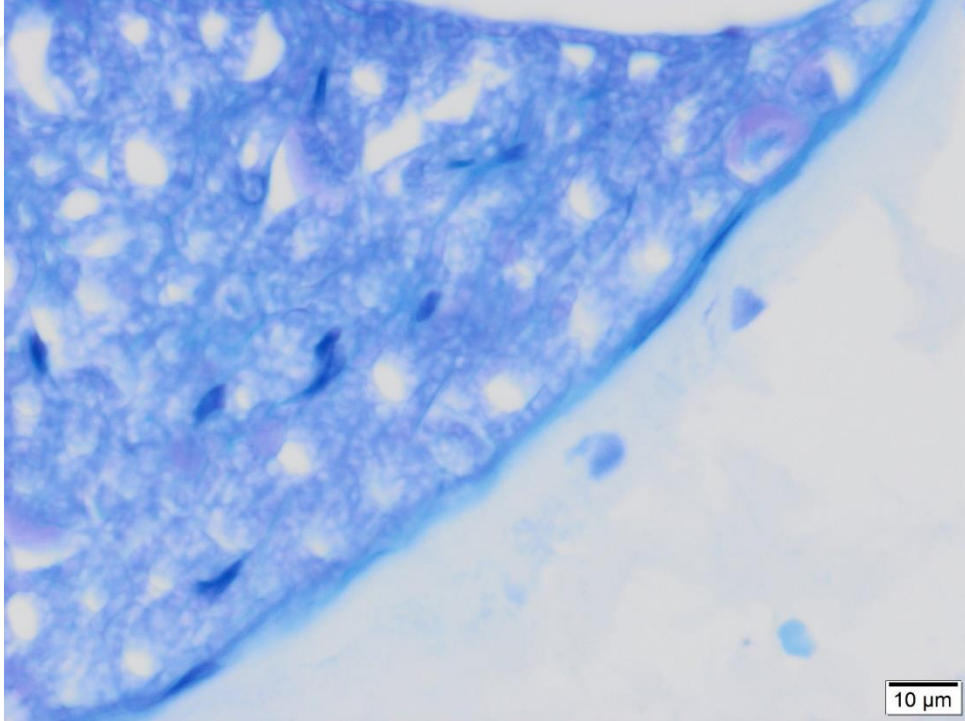
Kontrol grubundan alınan örneklerde sinir liflerinin bağ dokusu lifleri içinde yer alan farklı büyüklükteki demetleri görüldü. Miyelin kılıfı farklı boyutlarda, kalınlıklarda ve yoğunluklarda izlendi. Normal yoğunluklu miyelinli lifler ve büyük Schwann hücrelerinin veziküler aktif çekirdekleri ile sinir liflerinin normal kesitleri görüldü (Resim 3.1., Resim 3.2., Resim 3.3.).



Resim 3.1. Kontrol kesitlerinde sinir liflerinin normal kesitleri, aksonlarının sürekliliği ve bunların çevreleyen miyelin kılıfı gözlemlendi.

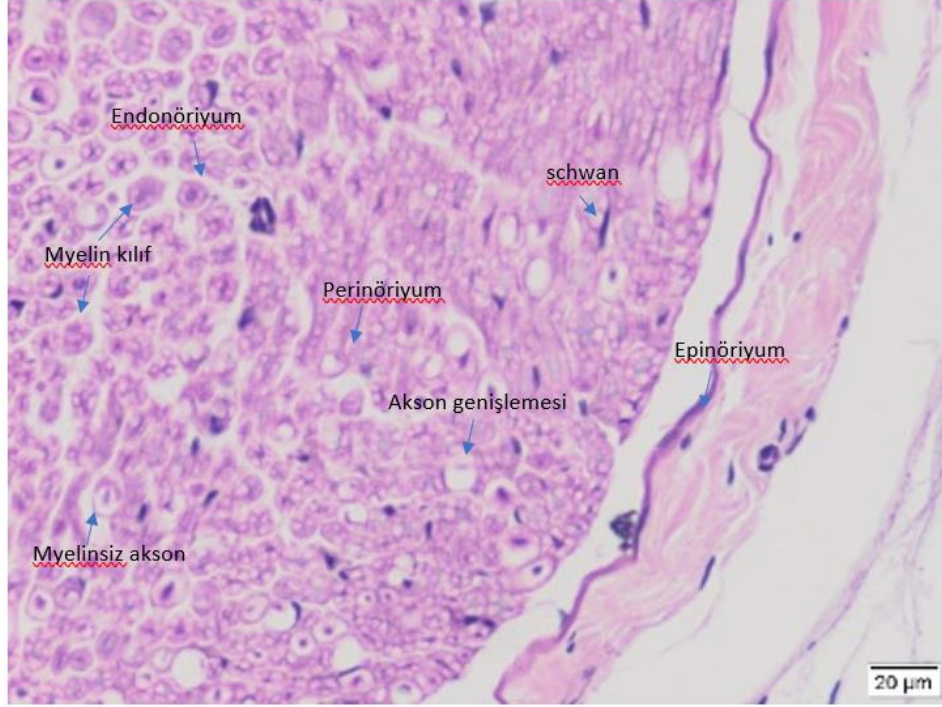


Resim 3.2. Kontrol kesitlerinde sinir liflerinin normal kesitleri, aksonlarının sürekliliği ve bunların çevreleyen miyelin kılıfı gözlendi.

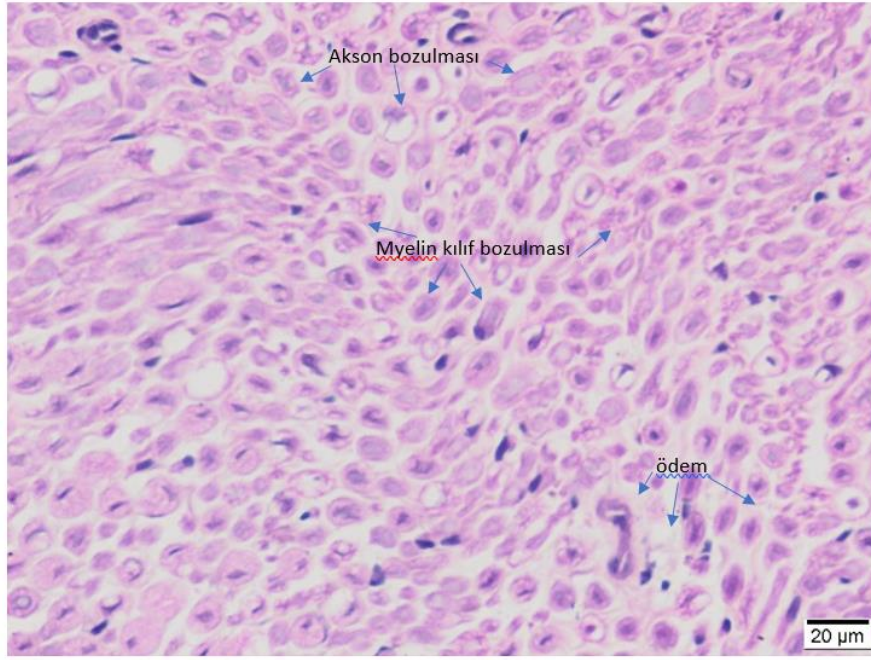


Resim 3.3. Kontrol kesitlerinde sinir liflerinin normal kesitleri, aksonlarının sürekliliği ve bunların çevreleyen miyelin kılıfı gözlendi.

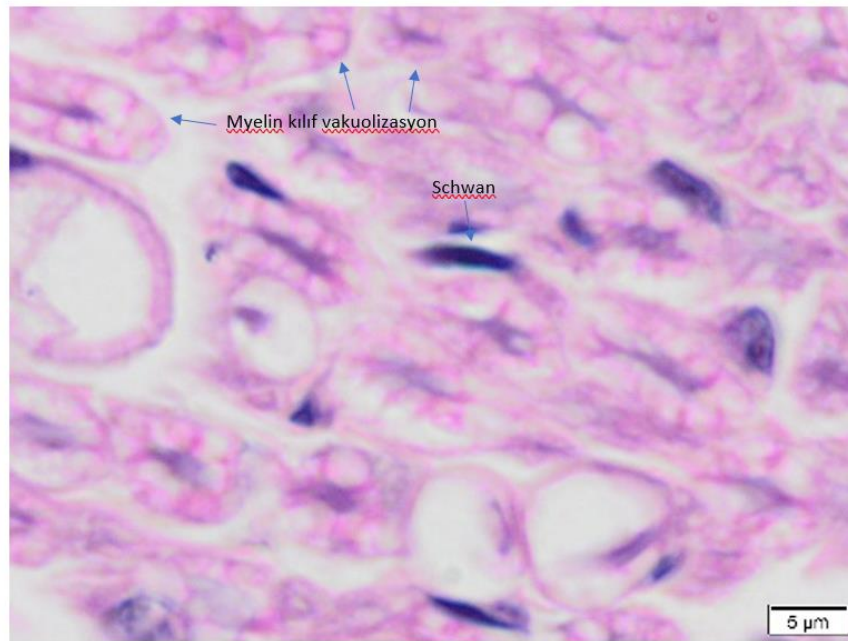
HE boyaması yapılan örnekler incelendiğinde kontrol grubunda histolojik olarak, sinir fasikülleri ve epinöryum inflamasyon olmayan normal görünümde izlendi. Perinörium benzer şekilde normal morfolojide gözlemlendi. A ve B grubundan alınan örnekler incelendiğinde ise sıralı lameller yapı, aksonal büzülme veya şişme, endonöral kapiller izlendi. Miyelinli sinirin miyelin kılıfında lifler ince, gevşek, düzensizdi ve vakuolar benzeri bozukluklar saptandı. Bazı sinir lifleri miyelinsiz görünüyordu. Liflerde ayrılma ve aksonal atrofi belirtileri izlendi. Endonöral kapiller duvar kalın ve düzensiz görüldü. Miyelin sinir liflerinde şişme, bozulma ve azalma bulundu (Resim 3.4., Resim 3.5., Resim 3.6.).



Resim 3.4. A gurubu distalden alınan ve tüm guruplarda değişik düzeylerde görülen siyatik sinir histopatolojik bulguları olarak folikül ve fibrozis oluşumu ile inflamasyon ve aksonlar arasında boşluklar izlendi.

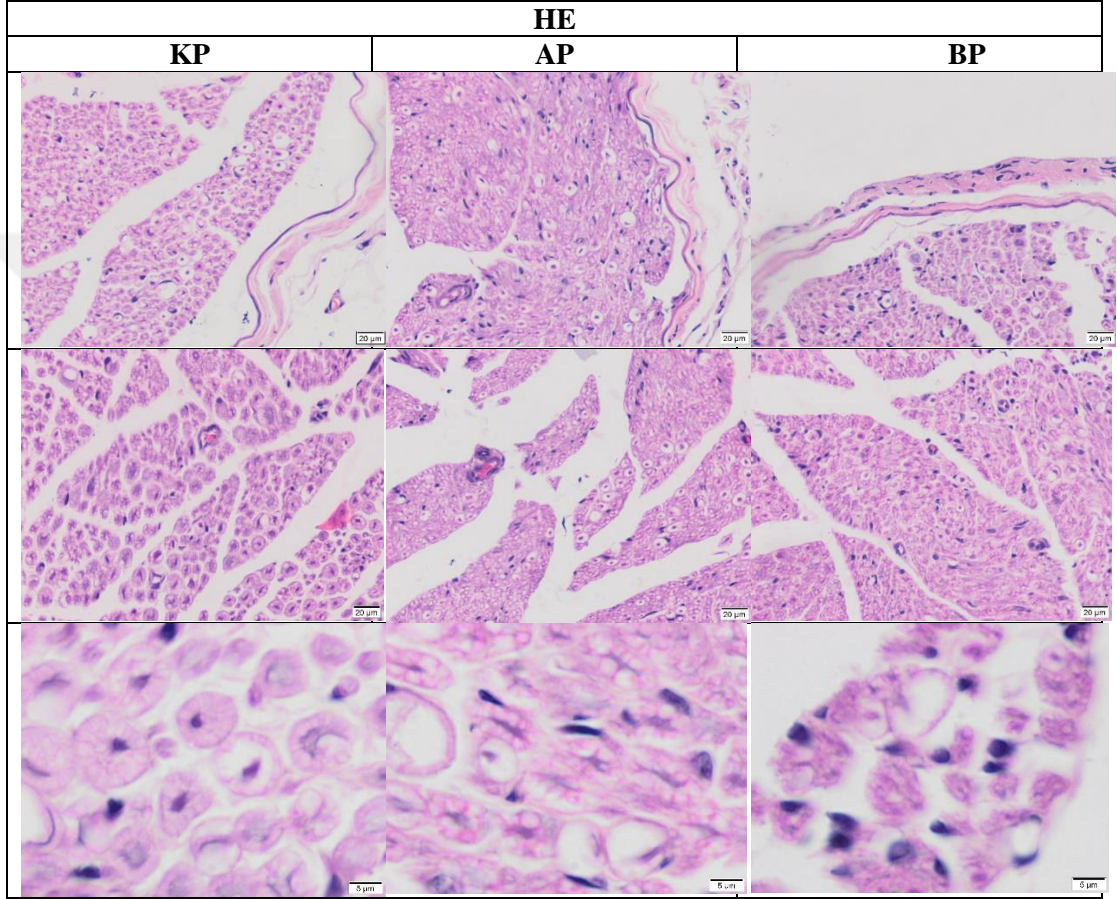


Resim 3.5. A gurubu distalden alınan ve tüm guruplarda değişik düzeylerde görülen siyatik sinir histopatolojik bulguları olarak folikül ve fibrozis oluşumu ile inflamasyon ve aksonlar arasında boşluklar izlendi.



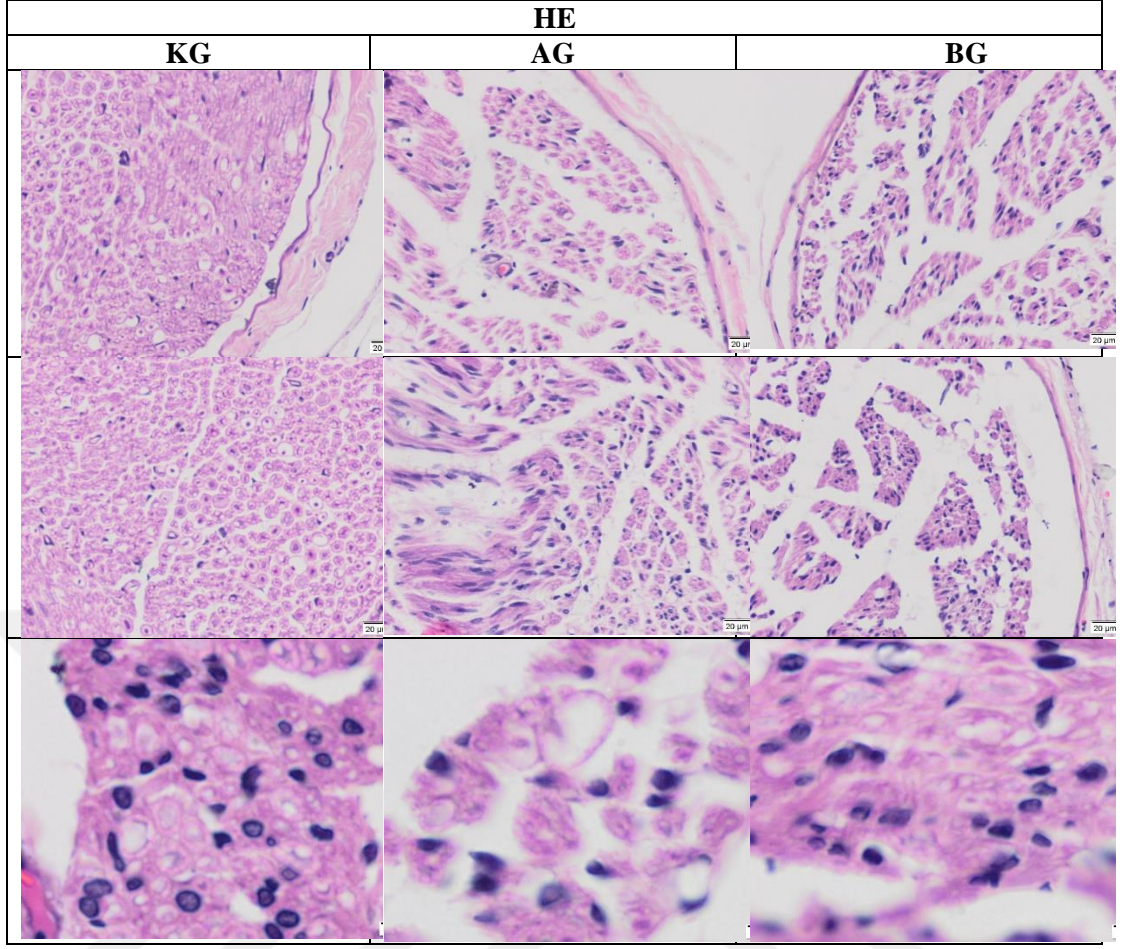
Resim 3.6. A gurubu distalden alınan ve tüm guruplarda değişik düzeylerde görülen siyatik sinir histopatolojik bulguları olarak folikül ve fibrozis oluşumu ile inflamasyon ve aksonlar arasında boşluklar izlendi.

Her grubun proksimal kesitleri, greft ortasından alınan kesitler ve greft distalinden alınan kesitleri hasar miktarı açısından karşılaştırıldı (Resim 3.7., Resim 3.8., Resim 3.9.).



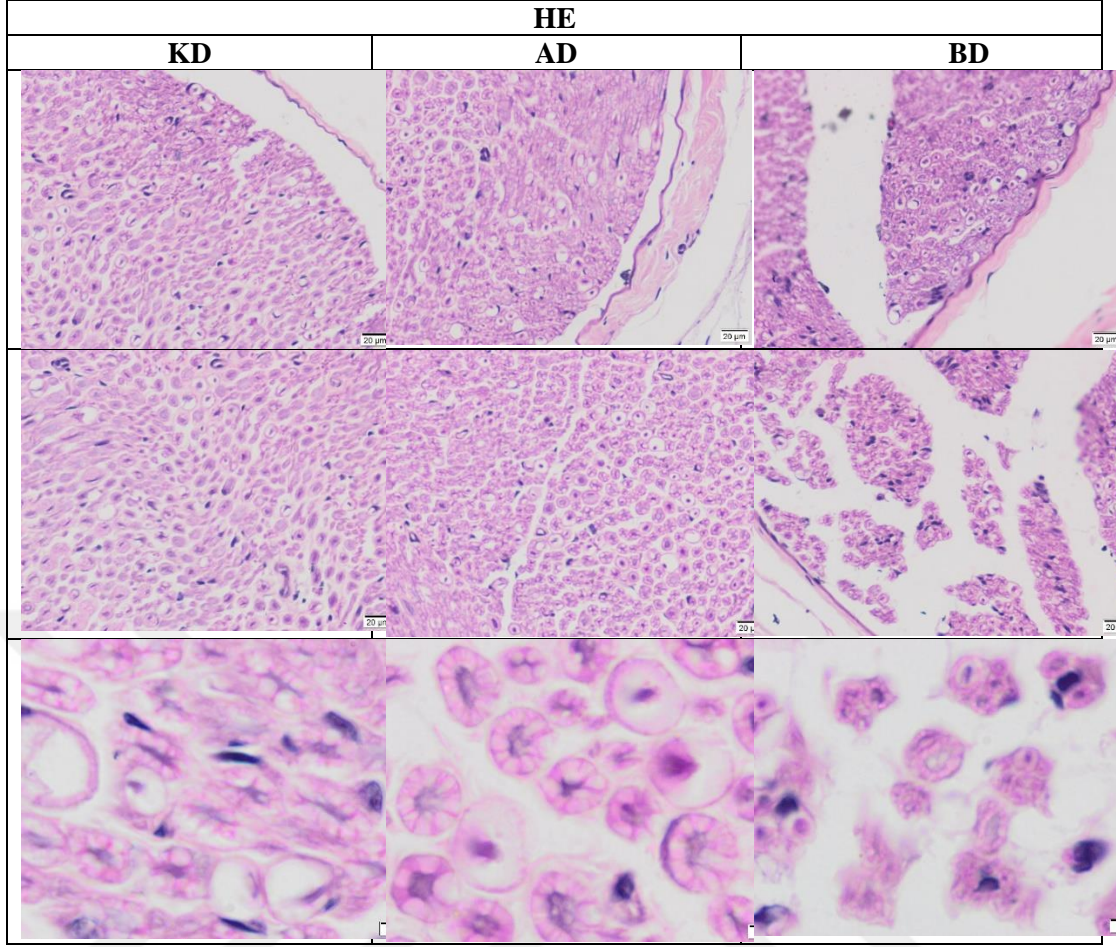
Resim 3.7. Her üç grup için proksimalden alınan kesitlerin karşılaştırması

Örneklerde sinir liflerinin normal kesitleri, aksonlarının sürekliliği ve bunların çevreleyen myelin kılıf gözlendi. Hasar oluşan bölgelerde liflerin kalınlaşması, düzensizliği ve devamsızlığı, ayrıca yoğunluğunun azalması saptandı.



Resim 3.8. Her üç grup için greft ortasından alınan kesitlerin karşılaştırması

Örneklere sinir liflerinin normal kesitleri, aksonlarının sürekliliği ve bunların çevreleyen myelin kılıf gözlemlendi. Hasar oluşan bölgelerde liflerin kalınlaşması, düzensizliği ve devamsızlığı, ayrıca yoğunluğunun azalması saptandı.

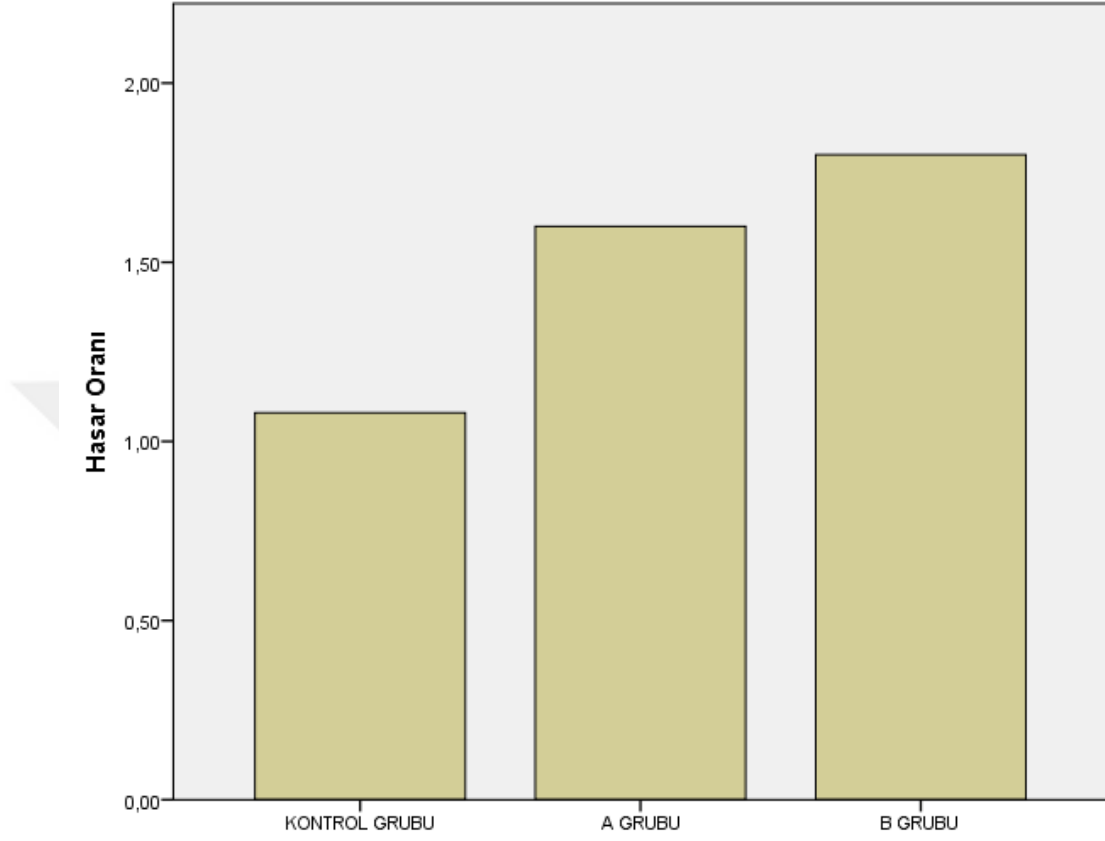


Resim 3.9. Her üç grup için distalden alınan kesitlerin karşılaştırması

Örneklerde sinir liflerinin normal kesitleri, aksonlarının sürekliliği ve bunların çevreleyen myelin kılıf gözlemlendi. Hasar oluşan bölgelerde liflerin kalınlaşması, düzensizliği ve devamsızlığı, ayrıca yoğunluğunun azalması saptandı.

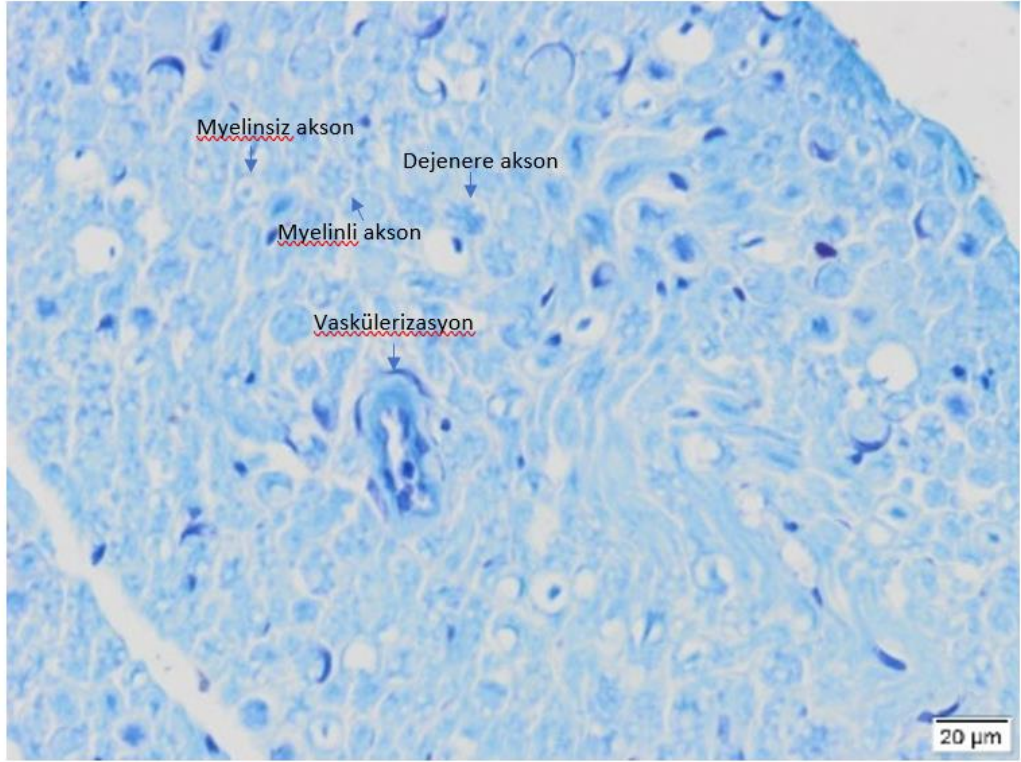
HE ile boyama yapılan kesitlerde sinirde oluşan hasar skorlamaları yapıldı. Her grubun proksimal, greft ve distal kısımlarından alınan kesitlere nöron dejenerasyonu, nekroz, hücresel infiltrasyon, glial hücre reaktivitesi ve ödem parametreleri üzerinden hiç yok veya en az +1 ile en çok +5 aralığında kör olarak 2 histolog tarafından değerlendirme yapıldı. Daha sonra distal kesitlerin skorları proksimal kesitlerin skorlarına bölünerek bir oran oluşturuldu. Hasar miktarı ile bu oran doğru orantılı olarak artacağı için küçük değerler iyileşmenin daha iyi olduğunu göstermektedir. Veriler her grup için hesaplanarak tablo üzerinde kaydedildi (Şekil 3.5.). Distal hasar skorunun proksimal hasar skoruna oranları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde kontrol grubu ile A ve B grupları arasında anlamlı fark saptandı

($p < 0,05$). A grubu ile B grubu arasında da anlamlı fark izlendi ($p:0,024$). A grubunda daha az hasar oranı olduğu izlendi.

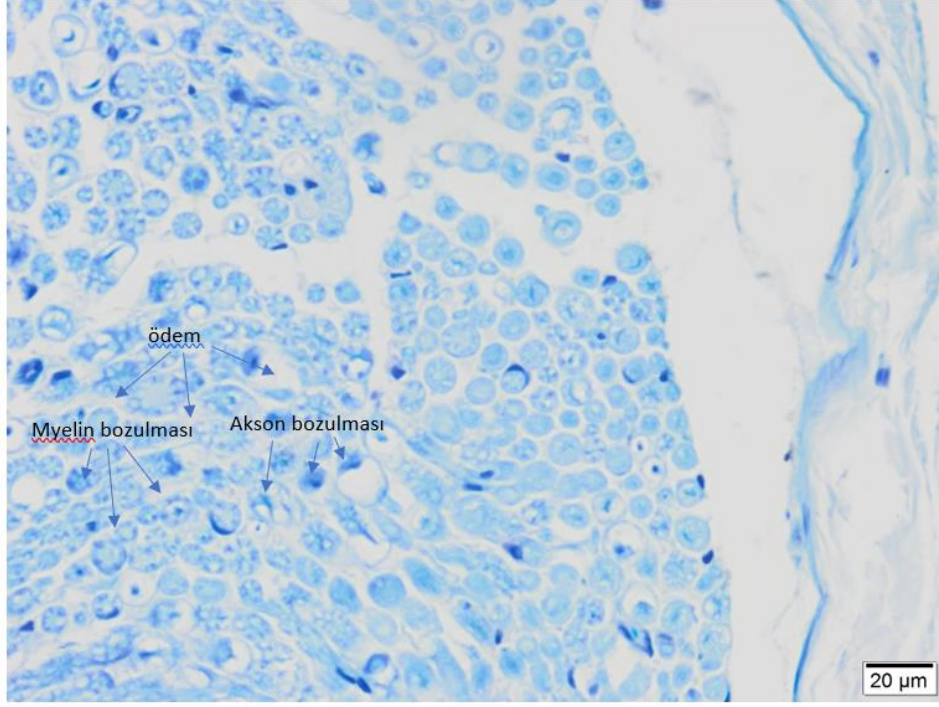


Şekil 3.5. Distalde oluşan hasarın proksimale oranının tablo üzerinde gösterilmesi

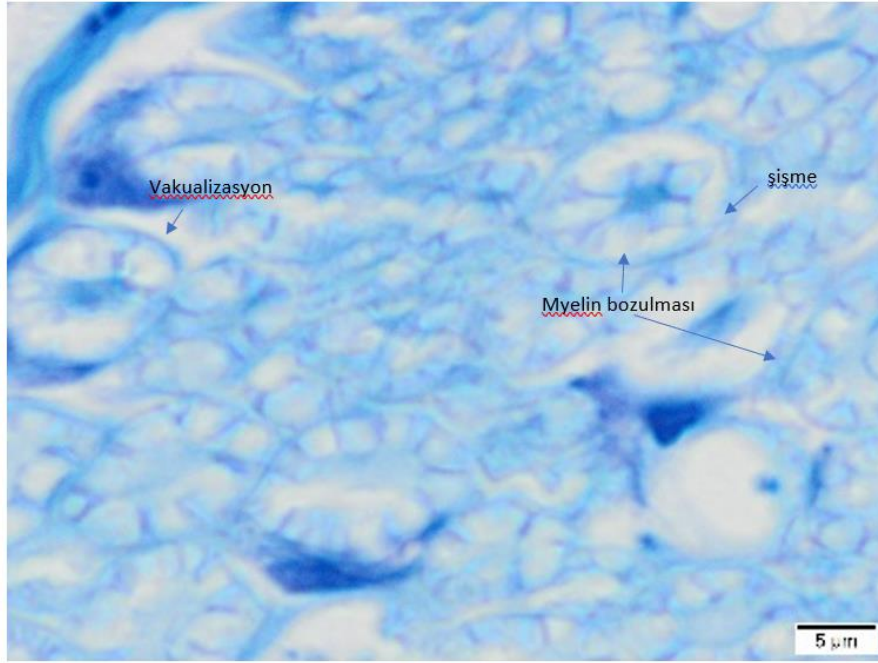
Kesitler toluidin mavisi (TM) ile boyandı ve ışık mikroskobu ile incelendi, bir dijital kamera ile fotoğraflandı. Akson ve myelin hasarının varlığı gözlemlendi. Sinir hücrelerinin sitoplazmasında vakuolar dejenerasyon, enflamasyon, ödem, fibröz alanlar ve mavi lekeli sinir hücresi fibroz alanları izlendi (Resim 3.10., Resim 3.11., Resim 3.12.).



Resim 3.10. A gurubu distalden alınan ve bütün örneklerde değişik düzeylerde görülen histopatolojik değişiklikler izlendi.

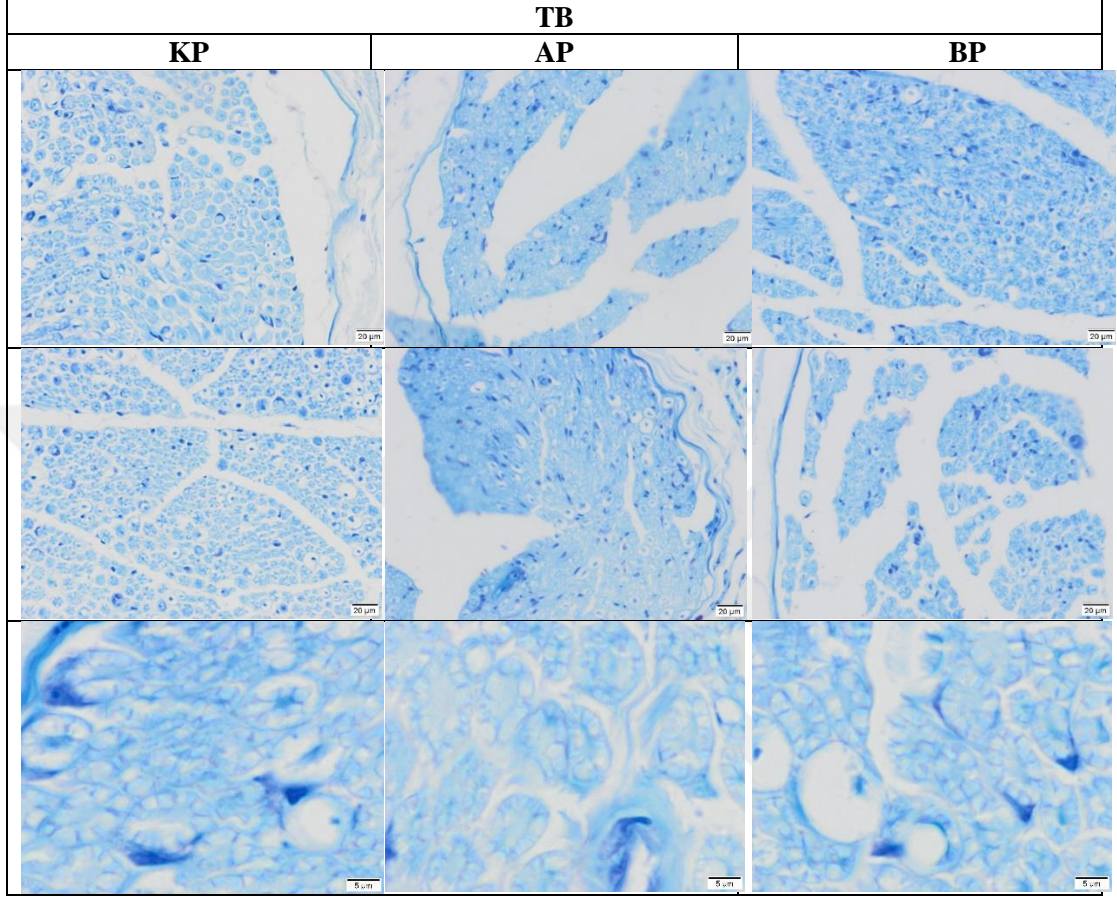


Resim 3.11. B grubu distalden alınan ve bütün örneklerde değişik düzeylerde görülen histopatolojik değişiklikler izlendi.



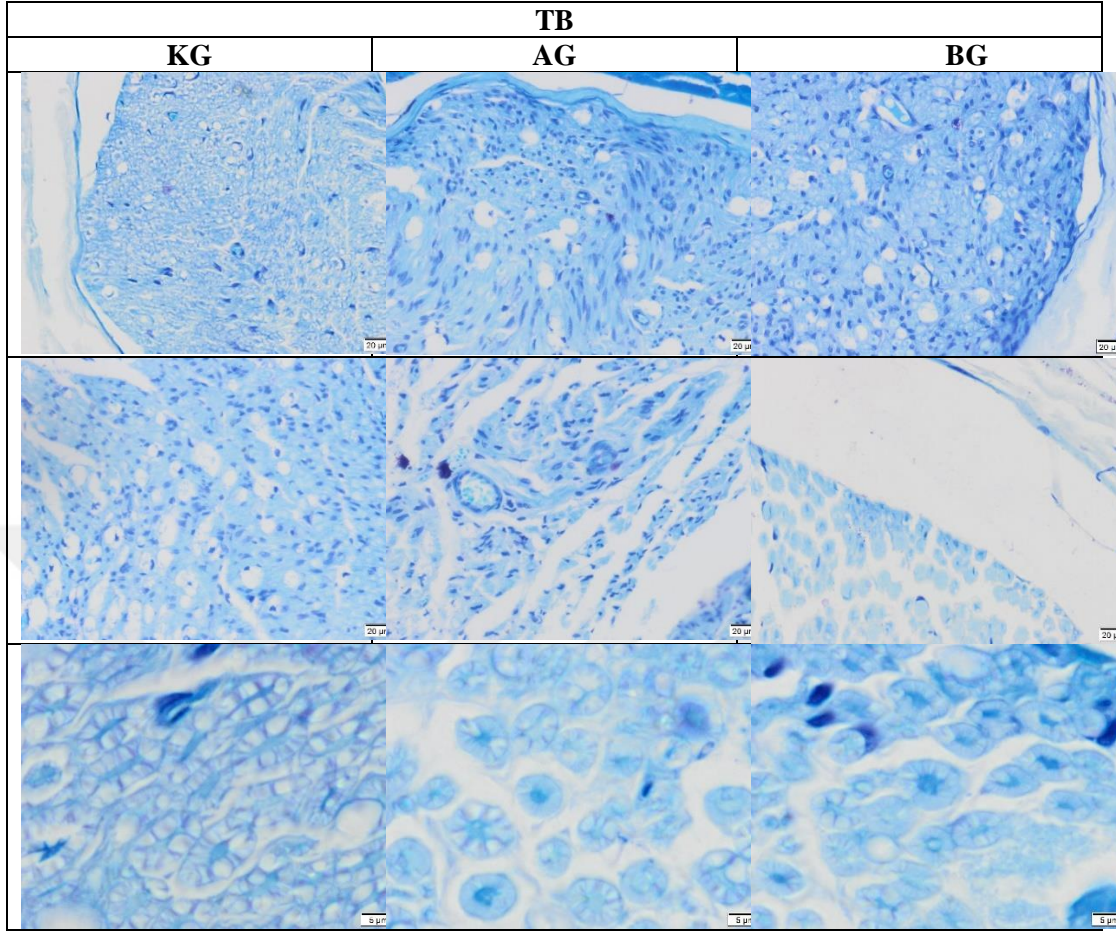
Resim 3.12. A grubu greft ortasından alınan ve bütün örneklerde değişik düzeylerde görülen histopatolojik değişiklikler izlendi.

Her grubun proksimal kesitleri, greft ortasından alınan kesitler ve greft distalinden alınan kesitleri akson sayıları açısından karşılaştırıldı (Resim 3.13., Resim 3.14., Resim 3.15.).



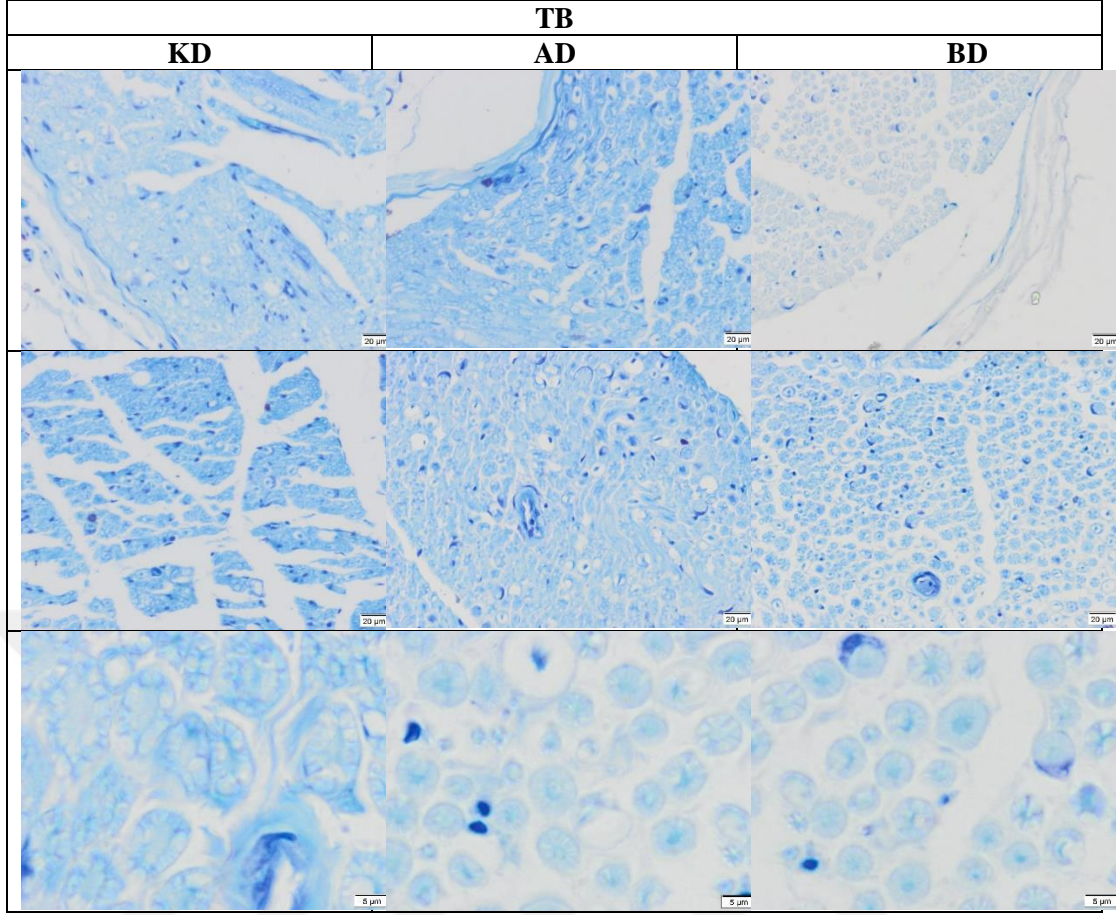
Resim 3.13. TB kesitlerde her üç grup için proksimalden alınan kesitlerin karşılaştırması

Akson sayılarının her örnekte on alandan ölçümleri yapıldı. Ölçümlerin ortalama ve standart sapmaları bulunup istatistiği yapıldı.



Resim 3.14. TB kesitlerde her üç grup için greft ortasından alınan kesitlerin karşılaştırması

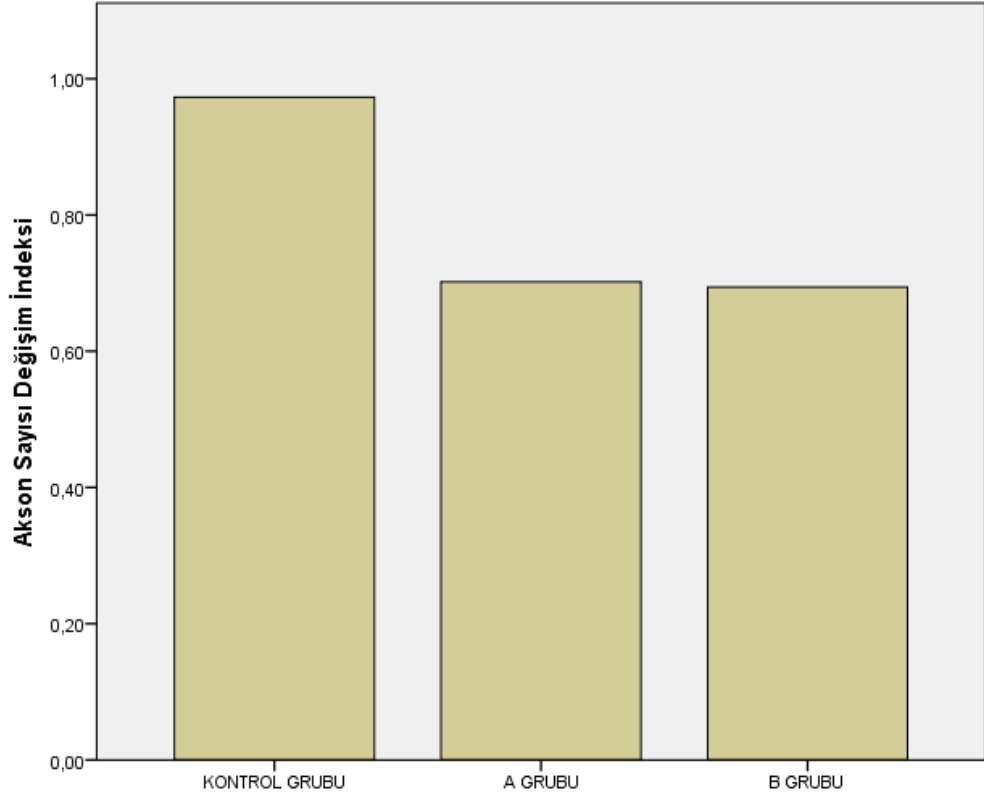
Akson sayılarının her örnekte on alandan ölçümleri yapıldı. Ölçümlerin ortalama ve standart sapmaları bulunup istatistiği yapıldı.



Resim 3.15. TB kesitlerde her üç grup için distalden alınan kesitlerin karşılaştırması

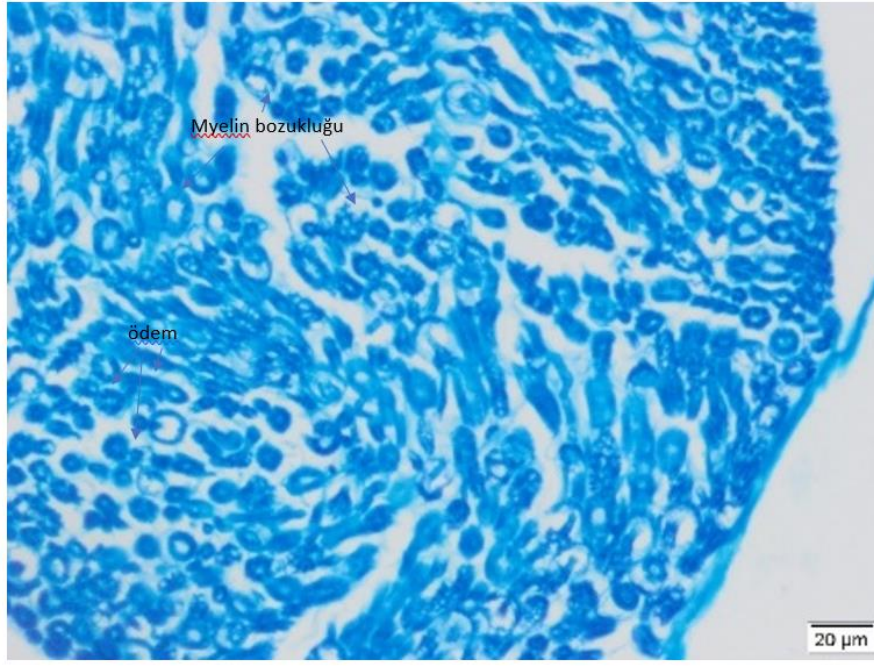
Akson sayılarının her örnekte on alandan ölçümleri yapıldı. Ölçümlerin ortalama ve standart sapmaları bulunup istatistiği yapıldı.

TB kesitler değerlendirilirken her grubun proksimal, orta ve distalinden alınan kesitlerden akson sayımı yapıldı. Ardından distaldeki akson sayısı proksimaldeki akson sayısına oranlanarak akson sayısı değişim indeksi olarak adlandırıldı. Veriler her kesit için hesaplanarak tablo üzerinde kaydedildi (Şekil 3.6.). Akson sayısı değişimleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde kontrol grubu ile A ve B grupları arasında anlamlı fark izlendi ($p < 0,05$). A grubu ile B grubu arasında ise anlamlı fark izlenmedi ($p > 0,05$).

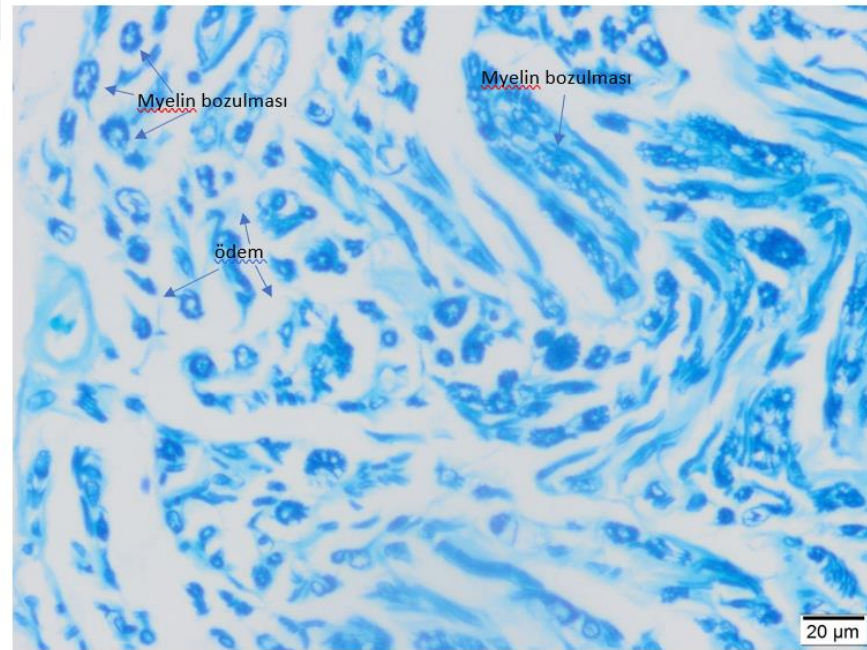


Şekil 3.6. Akson sayısı değişim indeksinin tablo üzerinde gösterilmesi

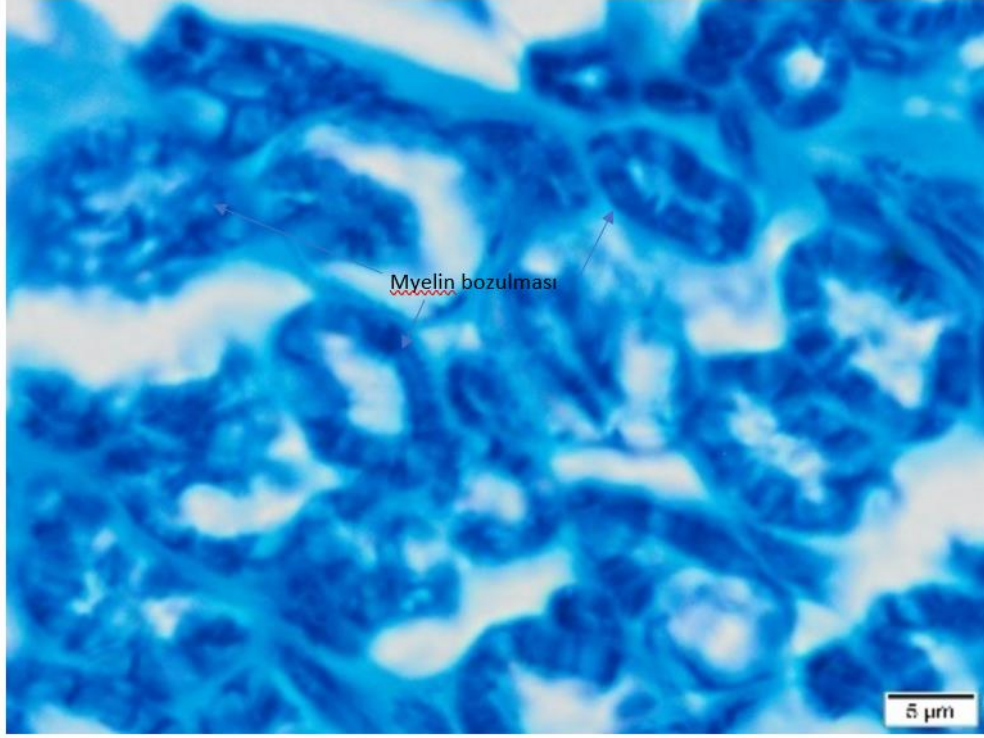
Kesitler Luxol Hızlı Mavisi (LFB) ile boyandı ve myelin değişiklikleri ile demiyelinizasyon değerlendirildi. Bu özel boya myeline bağlanıp tek başına myelinin derin mavi boyamasını vererek boyanmamış akson ve diğer yapıları ortaya koyar. Bir optik mikroskop altında enine kesitte normal sinir, sinir liflerini çevreleyen myelinin merkezi noktalı görünümünü gösterir. Boyuna kesitte myelin yığınlar halinde görülür ve bazal membranla çevrili uzun, düzgün yapılardan oluşur (Resim 3.16, Resim 3.17., Resim 3.18.).



Resim 3.16. A gurubu distalden alınan ve tüm guruplarda değişik düzeylerde gözlenen LFB kesitlerinde sinir liflerinin büzülmesi ve çaplarının azalması, akson atrofisi ve miyelin vakuolizasyon enine kesitlerde gözlemlendi.

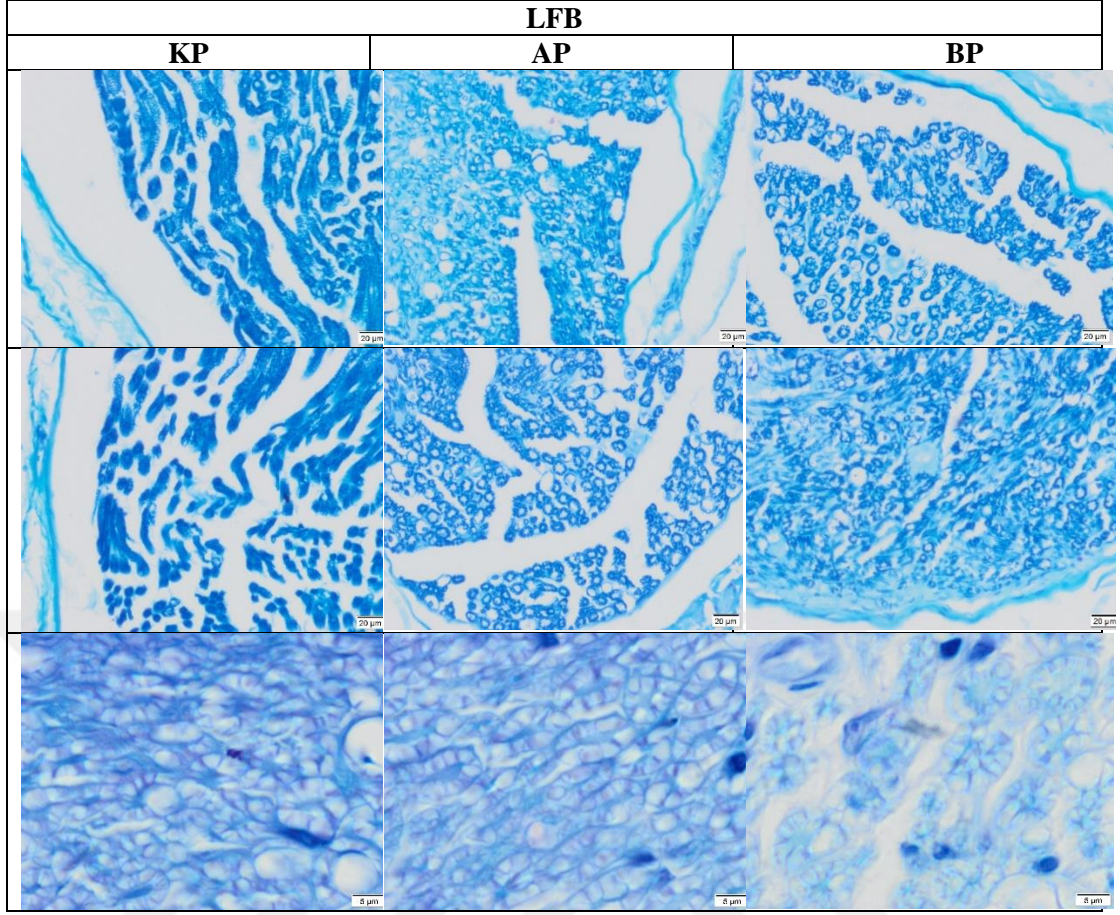


Resim 3.17. A gurubu greft ortasından alınan ve tüm guruplarda değişik düzeylerde gözlenen LFB kesitlerinde sinir liflerinin büzülmesi ve çaplarının azalması, akson atrofisi ve miyelin vakuolizasyon enine kesitlerde gözlemlendi.



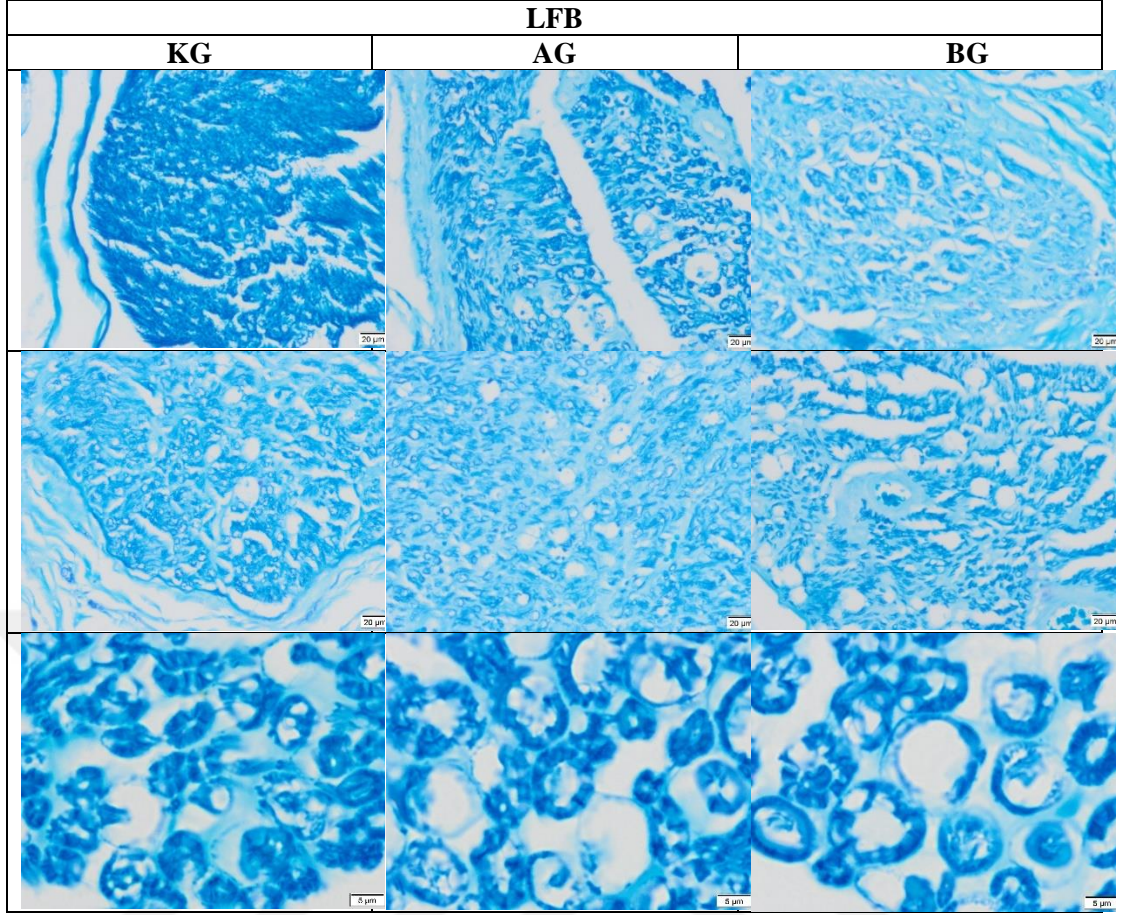
Resim 3.18. B grubu distalden alınan ve tüm guruplarda değişik düzeylerde gözlenen LFB kesitlerinde sinir liflerinin büzülmesi ve çaplarının azalması, akson atrofisi ve miyelin vakuolizasyon enine kesitlerde gözlemlendi.

Her grubun proksimal kesitleri, greft ortasından alınan kesitler ve greft distalinden alınan kesitleri miyelin kılıf kalınlığı açısından karşılaştırıldı (Resim 3.19., Resim 3.20., Resim 3.21.).



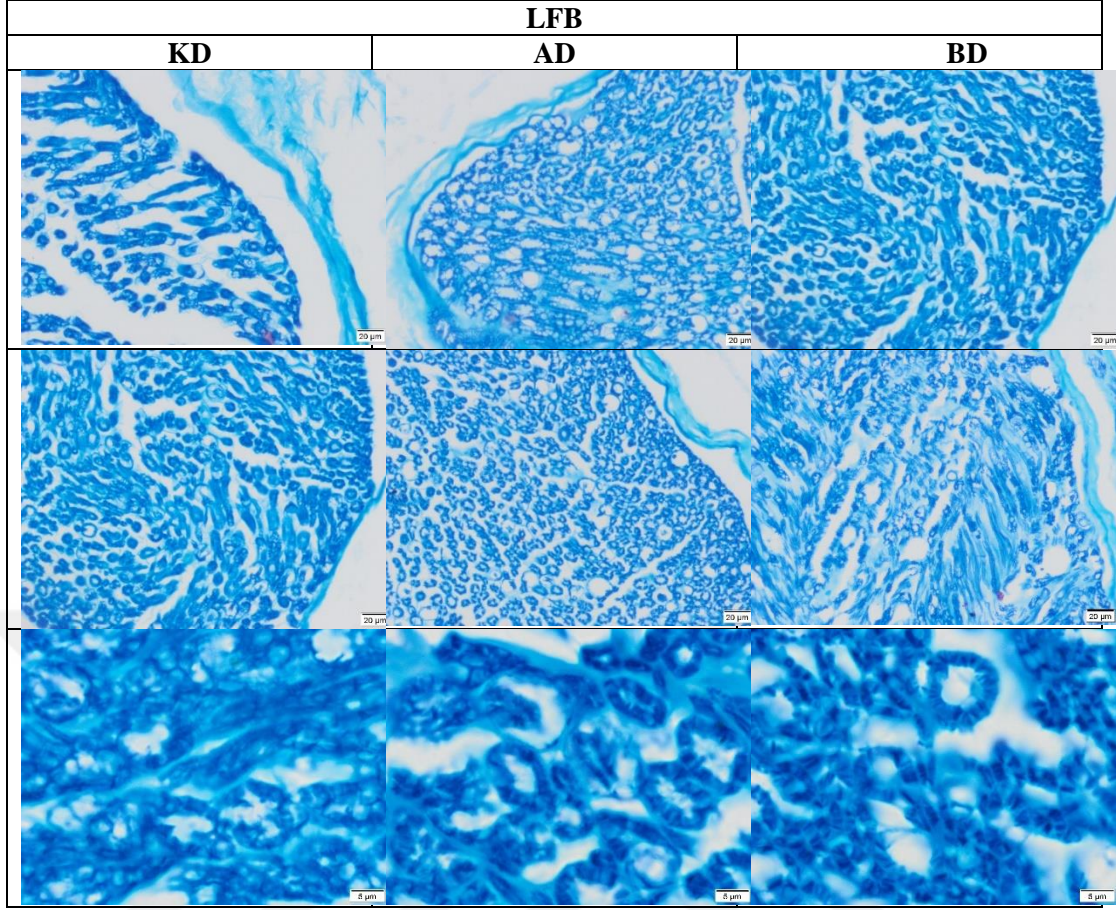
Resim 3.19. LFB kesitlerde her üç grup için proksimalden alınan kesitlerin karşılaştırması.

LFB ile boyanmış sinir. Myelin değişikliklerini izlemek için kullanıldı. LFB kesitlerinde sinir liflerinin büzülmesi ve çaplarının azalması, akson atrofsi ve myelin vakuolizasyon enine kesitlerde gözlemlendi.



Resim 3.20. LFB kesitlerde her üç grup için greft ortasından alınan kesitlerin karşılaştırması.

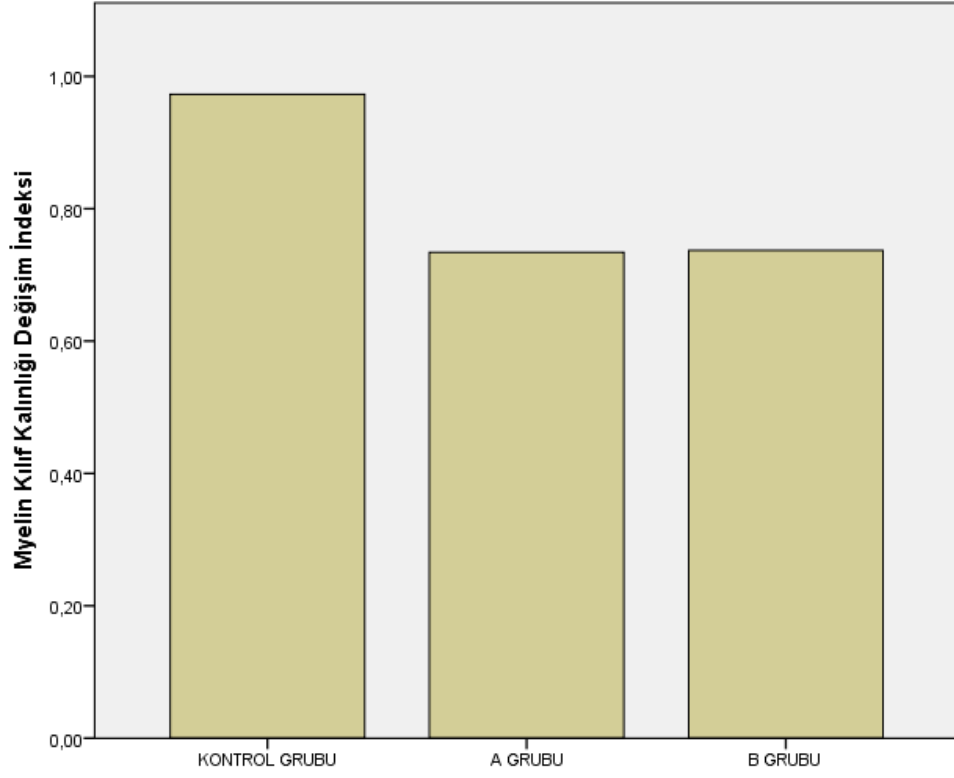
LFB ile boyanmış sinir. Myelin değişikliklerini izlemek için kullanıldı. LFB kesitlerinde sinir liflerinin büzülmesi ve çaplarının azalması, akson atrofisi ve myelin vakuolizasyon enine kesitlerde gözlemlendi.



Resim 3.21. LFB kesitlerde her üç grup için distalden alınan kesitlerin karşılaştırması.

LFB ile boyanmış sinir. Myelin değişikliklerini izlemek için kullanıldı. LFB kesitlerinde sinir liflerinin büzülmesi ve çaplarının azalması, akson atrofisi ve myelin vakuolizasyon enine kesitlerde gözlemlendi.

LFB kesitler değerlendirilirken her grubun proksimal, orta ve distalinden alınan kesitlerden myelin kılıf kalınlıkları ölçüldü. Ardından distaldeki myelin kılıf kalınlığı proksimaldeki myelin kılıf kalınlığına oranlanarak myelin kılıf kalınlığı değişim indeksi olarak adlandırıldı. Veriler her kesit için hesaplanarak tablo üzerinde kaydedildi (Şekil 3.7.). Myelin kılıf kalınlığı değişim indeksi istatistiksel olarak incelendiğinde kontrol grubu ile A grubu arasında ve kontrol grubu ile B grubu arasında anlamlı fark izlendi ($p:0,024$). A grubu ile B grubu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 3.7. Myelin kılıf kalınlığı değişim indeksinin tablo üzerinde gösterilmesi

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada defektif sinirlerin sinir otogrefti ile tedavisinde greftin oryantasyonunun fonksiyonel ve histolojik iyileşmeye etkisi araştırılmıştır.

Çalışmada diğer tüm parametreler standartize edilerek gruplar arasında sadece greft yönleri değiştirildi ve greft yönünün sinir iyileşmesine etkisi araştırıldı. Sonuçlar değerlendirilirken fonksiyonel ve histolojik analiz yapıldı. Fonksiyonel değerlendirme için hem duyuşal hem de motor fonksiyonları değerlendirmek amacıyla itme kuvveti testi, pinprick testi, sıcak zemin testi ve gastroknemius kası ağırlık miktarları değerlendirilerek karşılaştırma yapıldı. Histolojik değerlendirmede ise akson sayısı değişim indeksi, myelin kılıf kalınlığı değişim indeksi ve sinir greftinin distalinde oluşan hasar miktarı değerlendirildi ve gruplar arası karşılaştırmalar yapıldı.

Sonuçlar değerlendirildiğinde itme kuvveti oranı açısından normal ve reverse yönde greftleme yapılan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü. Gastroknemius ağırlık oranları karşılaştırıldığında yine normal yönde greftleme yapılan grup ile reverse yönde greftleme yapılan grup arasında anlamlı fark olmadığı görüldü. İtme kuvveti testinin ve gastroknemius ağırlık oranının motor fonksiyonları değerlendirdiği göz önünde bulundurulursa motor fonksiyonlar açısından her iki grup benzer sonuçlara sahipti.

Pinprick testi ve sıcak zemin testi duyuşal fonksiyonları değerlendirmek için kullanıldı. Pinprick testi skorları karşılaştırıldığında normal yönde greftleme yapılan grup reverse yönde greftleme yapılan gruba üstün geldi. Herhangi bir işlem yapılmayan kontrol grubu ile normal yönde greftleme yapılan grubun ratları pinprick testi skorları açısından aynı değere sahip oldular. Sıcak zemin testi skorları karşılaştırıldığında normal yönde greftlenen grubun sıcak zeminden ayaklarını çekme süresi reverse yönde greftlenen gruba kıyasla bariz bir şekilde daha kısa olduğu görüldü. Reverse yönde greftleme yapılan gruptan dört rat sıcak zeminden ayaklarını 12 saniye boyunca çekmedi ve test sonlandırılarak termal hasar oluşmasının önüne

geçildi. Süreler karşılaştırıldığında normal yönde greftleme yapan grup reverse yönde greftleme yapılan gruba üstün geldi. Fakat istatistiksel olarak değerlendirme yapıldığında anlamlı fark çıkmadı. Bunun sebebi sürelerin normal dağılım göstermemesi olarak değerlendirildi. Sonuç olarak duyuşal fonksiyonlar açısından normal yönde greftleme yapılan grup reverse yönde greftleme yapılan gruba kıyasla üstün fonksiyonel skorlara sahip olduğu görüldü.

Histolojik sonuçlar değerlendirilirken Hematoksilen-Eosin, Toluidin Mavisi ve Luksol Fast Mavisi ile boyanan kesitler değerlendirildi. Kesitler greftin proksimalinden, greftin ortasından ve distalinden alınarak değerlendirildi. HE boyama ile sinirin greft distalinden alınan kesitlerdeki hasar miktarına bakıldı. Normal yönde greftleme yapılan grupta reverse yönde greftlenen gruba kıyasla daha az hasar olduğu görüldü. Toluidin Mavisi ile akson sayıları değerlendirildi. Distaldeki akson sayıları greftin proksimalindeki akson sayılarına bölünerek akson sayısı değişim indeksi olarak adlandırıldı. Akson sayısı değişim indeksi açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmeydi. Luksol Fast Blue ile myelin kılıf kalınlığı değerlendirildi. Greftin distalindeki myelin kılıf kalınlığı greftin proksimalindeki myelin kılıf kalınlığına bölünerek myelin kılıf kalınlığı değişim indeksi olarak adlandırıldı. Myelin kılıf kalınlığı değişim indeksi açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. Tüm bu histolojik sonuçlar değerlendirildiğinde normal yönde greftleme yapılan grubun distalde daha az hasar skoruna sahip olması normal fizyolojik dizilimin korunmasına bağlı olduğu düşünöldü. Distale ulaşan akson sayısı ve distalde oluşun myelinizasyon açısından ise normal yönde greftleme ile reverse yönde greftlemenin arasında anlamlı fark olmadığı yani histomorfometrik olarak iyileşmenin greft yönüne bağlı olmadığı görüldü.

Sinir kesisi sonrasında kesinin proksimalinde sinir hücreleri aksonal filizler oluşturur. Bu aksonal filizlerin hedef organa ulaşabilmesi için uygun bir onarım gerekmektedir. Distal güdüğe yönelim sağlayamayan aksonal filizler hedef organa ulaşamaz ve nöroma adı verilen bir yapı oluşturabilir(24). Kesi hattının distalinde kalan sinir dokusundaki akson ve myelin kılıfta 'walleryan dejenerasyon' oluşur(25). Walleryan dejenerasyon sürecinde schwann hücreleri ve makrofajlar rol almakla birlikte hematojen fagositler de büyük rol üstlenir(26). Schwann hücrelerinin

oluşturduğu ‘büngner bantları’ olarak adlandırılan endonöral tübüler yapılar; proksimalde oluşan akson filizlerinin hedef organa ulaşmasını sağlayan rehber niteliğindeki yapılardır(27). Bu bilgiler ışığında değerlendirme yaptığımızda periferik sinir onarımında kesinin distalinde yer alan yapılar kılavuz görevi üstlenerek proksimaldeki aksonların hedef organa uygun bir şekilde ulaşmasını sağlarlar.

Yaralanmanın şekli, hastaya bağlı faktörler ve cerrahi tekniğe bağlı faktörler gibi sinir iyileşmesine etki eden birçok faktör bulunmaktadır. Sinirin devamlılığının korunduğu kompresif yaralanmalar sonucu oluşan nöropraksi tarzında yaralanmaların sonuçlarının iyi olduğu, buna karşın sinirde defekt oluşturan yüksek enerjili ve ezilme tarzı yaralanmaların sonuçlarının kötü olduğu bilinmektedir. Hastaya bağlı faktörlerden ise en göze çarpanın hastanın yaşı olduğu bilinmektedir(28). Cerrahi tekniğe bağlı faktörlerden ise yaralanmadan sonra onarıma kadar geçen süre ve fasiküler dizilim üzerine daha çok durulmuştur. Devamlılığı bozulan bir sinir, fibrozisi azaltmak, retraksiyondan kaynaklanan gerilimi en aza indirmek ve iyileşmeyi en üst düzeye çıkarmak için yaralanmadan sonra mümkün olduğunca kısa süre içerisinde onarılmalıdır(29, 30). Deneysel çalışmamızda sinir kesisi ile greftleme aynı seansta yapıldığı için yaralanmadan sonra onarıma kadar geçen süre optimize edildi. Yine sinir onarımında fasiküllerin karşılıklı gelmesine dikkat edilmesi gerektiği bilinmektedir. Koaptasyon hattında kuvvetsiz tekniklerin seçilmesi sinirde ayrışma ve boşlukların oluşması kötü sonuçlara sebep olabilir ve nöroma formasyonu oluşabilir(24, 31). Bizim çalışmamızda sinir greftinin proksimal ve distalinde dörder adet epinöral sütür ile koaptasyon yapıldı ve gap oluşmamasına dikkat edildi. Makroskobik ve mikroskopik olarak da hiçbir sinirde nöroma oluşmadı.

Bu çalışmanın vurguladığı en önemli noktalardan birisi deneysel çalışmaların standartizasyonuna olan katkısıdır. Literatüre bakıldığında daha önce sinir greftlemesinde greft yönünü inceleyen bazı çalışmalar olduğu görülmektedir(32-41). Bu çalışmalar incelendiğinde standartize bir onarımın olmadığı ve seçilen greftin farklılıklar göstermesidir. Sural sinir gibi duyuşal sinirlerin greft olarak seçilmesi siyatik sinire nazaran ince olması nedeniyle çap uyumsuzluğuna sebep olmaktadır. Böyle durumlarda birkaç adet kablo greft olarak kullanılmaktadır. Yine koaptasyon hattında sütür ile epinöral onarım veya kondüit ile onarım gibi farklı yöntemlerin

kullanıldığı görülmektedir. Bizim çalışmamızda siyatik sinir için yine siyatik sinir greft olarak kullanıldı ve çap uyumsuzluğunun önüne geçildi. Yine sinir onarımında altın standart kabul edilen epinöral onarım kullanılarak optimal şartlar elde edilmeye çalışıldı.

Bu çalışmanın bazı kısıtlamalarının olduğu da göz ardı edilmemelidir. Kısıtlamalardan ilki takip süresinin kısalığı olarak değerlendirilebilir. Sinir iyileşmesinde aksonal rejenerasyon hızı 1 mm/gün olarak düşünülmektedir(42). Ratlarda ise rejenerasyon hızının daha fazla olduğu, günde 2-3,5 mm'ye kadar ulaşabildiği bilinmektedir(43). Bu bilgiler göz önünde bulundurulduğunda çalışmamızdaki 12 haftalık takip süresinin iyileşmeyi değerlendirme adına iyi bir süre olduğu kanaatindeyiz.

Bir diğer kısıtlama ise sinir greftinin uzunluğu olarak değerlendirilebilir. Periferik sinir greftlemesinde onarım hattında gerilimi engellemek için greft uzunluğunun defekt uzunluğundan %10-20 daha uzun olması önerilmektedir(44). Bu çalışmada greft ile defekt uzunluğunun aynı olması dezavantaj olarak değerlendirilebilir. Ancak kesi ile onarım aynı seansta yapılarak, düzgün kesi hattı oluşturularak ve mezonöral gevşetme yapılarak onarım hattında gerilim oluşmasının önüne geçilmeye çalışıldı.

Sinir iletim çalışması, elektron mikroskopisi ile değerlendirme ve yürüme analizi yapılmaması da kısıtlılıklardan düşünülebilir. Fonksiyonel değerlendirmede duyu ve motor fonksiyonlar için itme kuvveti testi, pinprick testi, sıcak zemin testi ve gastroknemius ağırlık oranı gibi değerlendirmelerin yapılması, histolojik değerlendirmede ise hasar miktarı, akson sayısı değişim indeksi ve myelin kılıf kalınlığı değişim indeksi gibi parametrelerin değerlendirilmesinin yeterli olduğu düşünüldü.

Periferik sinir greftlemesi ile alakalı birçok çalışma yapılmasına rağmen greft oryantasyonu hakkında kısıtlı ve tartışmalı bilgilerin olması bizi bu çalışmayı yapmaya yönlendirmiştir. Bu deneysel çalışmanın planlanması ve standartize bir şekilde yapılarak fonksiyonel ve histolojik olarak karşılaştırılmasının literatüre katkı sağlayacağına inanmaktayız.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Periferik sinirlerin defektif yaralanmalarında sinir otogreftleri ile onarım günümüzde altın standart olarak kabul edilmektedir. Mikrocerrahi tekniklere uygun olarak yapılan sinir greftlemelerinden sonra tatmin edici sonuçlara ulaşılmaktadır. Kullanılan cerrahi teknikler ise başarı açısından büyük önem arz etmektedir. Bu tekniklerden sütür ile epinöral onarımın en iyi sonuçları verdiği bilinmektedir. Kullanılan greft ile onarılan sinir arasında da çap uyumu olması önemli etkenlerden birisidir. Fakat greft yönünün nasıl olması gerektiği açısından yeterli bilgi bulunmamaktadır.

Bu bilgiler ışığında literatüre katkı yapılması amaçlanmış ve bu çalışma planlanmıştır. Deneysel çalışmanın sonuçlarına göre normal yönde sinir greftlemesi yapılması; duyu fonksiyonları açısından daha iyi greftleme tekniği olduğu bulunmuştur. Akson sayısı ve myelin kılıf kalınlığı açısından ise greft yönünün iyileşmeye etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Yine koaptasyon hatlarına dört sütür ile epinöral onarım yapılmasının nöroma formasyonu gibi olumsuz sonuçlar oluşturmadığı görülmüştür. Gelecekte yapılacak çalışmalar için aynı çapta sinir grefti kullanılması ve epinöral onarım yapılmasını önermekteyiz. Böylelikle yapılan çalışmalarda sinir iyileşmesini olumsuz etkileyebilecek parametreleri azaltarak araştırılması istenen etken daha iyi değerlendirilebilecektir.

KAYNAKLAR

1. Taylor CA, Braza D, Rice JB, Dillingham TJAjopm, rehabilitation. The incidence of peripheral nerve injury in extremity trauma. 2008;87(5):381-5.
2. Li R, Liu Z, Pan Y, Chen L, Zhang Z, Lu LJCb, et al. Peripheral nerve injuries treatment: a systematic review. 2014;68(3):449-54.
3. Lee SK, Wolfe SWJJ-JotAAoOS. Peripheral nerve injury and repair. 2000;8(4):243-52.
4. Siemionow M, Brzezicki GJIron. Current techniques and concepts in peripheral nerve repair. 2009;87:141-72.
5. Topp KS, Boyd BSJJoHT. Peripheral nerve: from the microscopic functional unit of the axon to the biomechanically loaded macroscopic structure. 2012;25(2):142-52.
6. Piña-Oviedo S, Ortiz-Hidalgo C. The Normal and Neoplastic Perineurium: A Review. 2008;15(3):147-64.
7. Muangsanit P, Shipley RJ, Phillips JBJTAR. Vascularization strategies for peripheral nerve tissue engineering. 2018;301(10):1657-67.
8. Seddon HJBmj. A classification of nerve injuries. 1942;2(4260):237.
9. Sunderland SJB. A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. 1951;74(4):491-516.
10. Beris A, Gkias I, Gelalis I, Papadopoulos D, Kostas-Agnantis IJEJoOS, Traumatology. Current concepts in peripheral nerve surgery. 2019;29(2):263-9.
11. Hirasawa YJJoOS. Peripheral nerve suture. 1996;1(3):214-29.
12. Kline DG, Hudson AR, Bratton BRJJoN. Experimental study of fascicular nerve repair with and without epineurial closure. 1981;54(4):513-20.
13. Millesi HJHc. Techniques for nerve grafting. 2000;16(1):73-91, viii.
14. Colen KL, Choi M, Chiu DTJP, surgery r. Nerve grafts and conduits. 2009;124(6S):e386-e94.
15. Sameem M, Wood TJ, Bain JRJP, Surgery R. A systematic review on the use of fibrin glue for peripheral nerve repair. 2011;127(6):2381-90.
16. Nishimura MT, Mazzer N, Barbieri CH, Moro CAJJorm. Mechanical resistance of peripheral nerve repair with biological glue and with conventional suture at different postoperative times. 2008;24(05):327-32.
17. Konofaos P, Ver Halen JJJorm. Nerve repair by means of tubulization: past, present, future. 2013;29(03):149-64.
18. Keilhoff G, Stang F, Wolf G, Fansa HJB. Bio-compatibility of type I/III collagen matrix for peripheral nerve reconstruction. 2003;24(16):2779-87.
19. Koka R, Hadlock TAJEn. Quantification of functional recovery following rat sciatic nerve transection. 2001;168(1):192-5.
20. Siemionow M, Duggan W, Brzezicki G, Klimczak A, Grykien C, Gatherwright J, et al. Peripheral nerve defect repair with epineural tubes supported with bone marrow stromal cells: a preliminary report. 2011;67(1):73-84.
21. Devor M, Schonfeld D, Seltzer Z, Wall PJJJoCN. Two modes of cutaneous reinnervation following peripheral nerve injury. 1979;185(1):211-20.
22. Varejão AS, Cabrita AM, Meek MF, Bulas-Cruz J, Melo-Pinto P, Raimondo S, et al. Functional and morphological assessment of a standardized rat sciatic nerve crush injury with a non-serrated clamp. 2004;21(11):1652-70.
23. Evans G, Brandt K, Widmer M, Lu L, Meszlenyi R, Gupta P, et al. In vivo evaluation of poly (L-lactic acid) porous conduits for peripheral nerve regeneration. 1999;20(12):1109-15.

24. Foltán R, Klíma K, Špačková J, Šedý JJMh. Mechanism of traumatic neuroma development. 2008;71(4):572-6.
25. Coleman MP, Freeman MRJAron. Wallerian degeneration, wlds, and nmnat. 2010;33:245.
26. Brück WJBp. The role of macrophages in Wallerian degeneration. 1997;7(2):741-52.
27. Ribeiro-Resende VT, Koenig B, Nichterwitz S, Oberhoffner S, Schlosshauer BJB. Strategies for inducing the formation of bands of Büngner in peripheral nerve regeneration. 2009;30(29):5251-9.
28. Apel PJ, Garrett JP, Sierpinski P, Ma J, Atala A, Smith TL, et al. Peripheral nerve regeneration using a keratin-based scaffold: long-term functional and histological outcomes in a mouse model. 2008;33(9):1541-7.
29. Lundborg G, Rosén BJAp. Hand function after nerve repair. 2007;189(2):207-17.
30. Dahlin LJSJoS. Techniques of peripheral nerve repair. 2008;97(4):310-6.
31. Temple C, Ross D, Dunning C, Johnson JJorm. Resistance to disruption and gapping of peripheral nerve repairs: an in vitro biomechanical assessment of techniques. 2004;20(08):645-50.
32. Stromberg BV, Vlastou C, Earle ASJTJoHS. Effect of nerve graft polarity on nerve regeneration and function. 1979;4(5):444-5.
33. Anselin AD, Davey DFJM. Axonal regeneration through peripheral nerve grafts: The effect of proximo-distal orientation. 1988;9(2):103-10.
34. Anselin AD, Davey DFJRn, neuroscience. The regeneration of axons through normal and reversed peripheral nerve grafts. 1993;5(3):225-40.
35. Sotereanos DG, Seaber AV, Urbaniak JR, Spiegel DA, Sotereanos D, Anthony DCJJorm. Reversing nerve-graft polarity in a rat model: the effect on function. 1992;8(04):303-7.
36. Nakatsuka H, Takamatsu K, Koshimune M, Imai Y, Enomoto M, Yamano YJJorm. Experimental study of polarity in reversing cable nerve grafts. 2002;18(06):509-16.
37. Sanders F, Young JJJoA. The degeneration and re-innervation of grafted nerves. 1942;76(Pt 2):143.
38. Roberts S, Thibaudeau S, Burrell J, Zager E, Cullen D, Levin LJM. To reverse or not to reverse? A systematic review of autograft polarity on functional outcomes following peripheral nerve repair surgery. 2017;37(2):169-74.
39. Afshari A, Nguyen L, Kelm ND, Kim JS, Cardwell NL, Pollins AC, et al. Assessment of the effect of autograft orientation on peripheral nerve regeneration using diffusion tensor imaging. 2018;80(4):384.
40. Kim J, Choi YE, Kim JH, Lee SH, Oh S, Kim SHJBRI. Nerve repair and orthodromic and antidromic nerve grafts: an experimental comparative study in rabbit. 2020;2020.
41. Lee DH, You J, Jung JW, Park JW, Lee JIJM. Comparison between normal and reverse orientation of graft in functional and histomorphological outcomes after autologous nerve grafting: An experimental study in the mouse model. 2021;41(7):645-54.
42. Burnett MG, Zager ELJNf. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. 2004;16(5):1-7.
43. Lundborg GJAOS. Nerve regeneration and repair: a review. 1987;58(2):145-69.

44. Griffin JW, Hogan MV, Chhabra AB, Deal DNJJ. Peripheral nerve repair and reconstruction. 2013;95(23):2144-51.



ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

SİNİR GREFTLEMESİNDE GREFT YÖNÜNÜN İYİLEŞMEYE ETKİSİ

Musa Ergin

Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı

TIPTA UZMANLIK TEZİ / Konya, 2022

Periferik sinir yaralanmaları klinikte sık karşılaşılan durumlardandır. Yaralanma sahasında defekt olması uç uca onarıma engel olabilmektedir. Böyle durumlarda sinirin devamlılığını sağlamak için altın standart kabul edilen yöntem sinir otogrefti kullanılarak onarım yapılmasıdır. Ancak sinir otogreftinin uygulanırken greft yönünün nasıl olması gerektiği tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu durumun detaylı bir şekilde irdelenmesi ve literatüre katkı yapılması amacıyla bu çalışma planlanmıştır.

Toplam 30 adet Wistar Albino rat randomize şekilde üç gruba ayrıldı. Gruplardan birisi kontrol grubu olarak belirlendi ve cerrahi işlem yapılmadı. Diğer iki gruptan birisine sağ siyatik sinirde 10 mm defekt oluşturularak normal yönde sinir otogrefti uygulanırken diğer gruba ise reverse yönde sinir otogrefti uygulandı. Bütün ratlar 12 haftalık takip sonrasında fonksiyonel testlere tabi tutuldu. Sakrifikasyon sonrası sinirler histolojik olarak incelendi.

İtme kuvveti açısından kontrol grubu diğer iki gruptan üstün gelirken normal yönde ve reverse yönde greftleme yapılan gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. Pinprick testi skorları incelendiğinde normal yönde greftleme yapılan grubun reverse yönde greftleme yapılan gruba kıyasla üstünlük sağladığı görüldü. Sıcak zemin testi bulguları ve gastroknemius ağırlık oranları kontrol grubu dışındaki iki grup arasında karşılaştırıldığında anlamlı fark olmadığı gözlemlendi. Histolojik değerlendirmeler sonucunda normal yönde greftlenen grupta distalde oluşan sinir hasar miktarının reverse yönde greftlenen gruba göre daha az olduğu yani daha fazla iyileşme olduğu izlendi. Akson sayısı değişim indeksi ve myelin kılıf kalınlığı değişim indeksi açısından kontrol grubu dışındaki iki grup arasında anlamlı fark izlenmedi.

Bu sonuçlara göre greftin fizyolojik yönelimi göz önüne alındığında normal yönde greftleme yapılmasının daha iyi fonksiyonel ve histolojik sonuçları olduğu düşünülmüştür. Bu bulgular hem klinik olarak benzer boyuttaki insan sinirlerinin greftlenmesinde hem de daha sonra yapılacak deneysel çalışmalar için yol gösterici olacaktır.

Anahtar Kelimeler: sinir greftlemesi; rat modeli; greft yönü

SUMMARY

THE EFFECT OF GRAFT DIRECTION ON HEALING IN NERVE GRAFTING

Peripheral nerve injuries are among the most common clinical presentations. Defects at the injury site may prevent end-to-end repair. In such cases, the gold standard method to ensure the continuity of the nerve is repairing the nerve using autograft. However, it has not been fully clarified which the graft direction should be when applying the nerve autograft. This study was planned in order to examine this situation in detail and to contribute to the literature.

A total of 30 Wistar Albino rats were randomly divided into three groups. One of the groups was determined as the control group and no surgical procedure was performed. While a 10 mm defect was created in the right sciatic nerve to one of the other two groups, nerve autograft was applied in the normal direction, while nerve autograft was applied in the reverse direction to the other group. All rats were subjected to functional tests after 12 weeks of follow-up. After sacrifice, the nerves were examined histologically.

While the control group was superior to the other two groups in terms of thrust force, there was no significant difference between the normal and reverse grafting groups. When the Pinprick test scores were examined, it was seen that the group with normal grafting was superior to the group with reverse grafting. When the warm floor test findings and gastrocnemius weight ratios were compared between the two groups except the control group, no significant difference was observed. As a result of histological evaluations, it was observed that the amount of nerve damage in the distal grafted group was less than the reverse grafted group, that is, there was more healing. There was no significant difference between the two groups except the control group in terms of axon number change index and myelin sheath thickness change index.

According to these results, considering the physiological orientation of the graft, it was thought that grafting in the normal direction had better functional and histological results. These findings will guide both clinically similar sized human nerve grafting and further experimental studies.

Keywords: nerve grafting; rat model; graft direction