



T.C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

KARTAL DR. LÜTFİ KIRDAR

SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ KLİNİĞİ

**RATLARDA GASTROKİNEMİÜS KASINI UYARAN TİBİAL
SİNİR HASARINDA PRİMER NÖRORAFİ, DİREKT
NÖROTİZASYON VE SİNİR-KAS SON PLAK GREFTİ (NMEG)
TRANSFERİ SEÇENEKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Barış Kanık

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL - 2022



T.C.

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

KARTAL DR. LÜTFİ KIRDAR

SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ KLİNİĞİ

**RATLARDA GASTROKİNEMİUS KASINI UYARAN TİBİAL
SİNİR HASARINDA PRİMER NÖRORAFİ, DİREKT
NÖROTİZASYON VE SİNİR-KAS SON PLAK GREFTİ (NMEG)
TRANSFERİ SEÇENEKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Barış Kanık

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gaye Filinte

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

İSTANBUL - 2022

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince her zaman desteğini hissettiğim tez danışmanım; sayın hocam Prof. Dr. Gaye Filinte'ye saygılarımı sunarım. Desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen başta Op. Dr. Çağla Çiçek ve Op. Dr. Ali Cem Akpınar olmak üzere değerli uzmanlarım Doç. Dr. Nebil Yeşiloğlu, Doç. Dr. Gökhan Temiz, Doç. Dr. Murat Sarıcı, Doç. Dr. Hakan Şirinoğlu, Op. Dr. Murat Yaman, Op. Dr. Emre Güvercin, Op. Dr. Zafer Kaya, Op. Dr. Mehmet Solmaz ve Op. Dr. Ali Doğan'a teşekkürlerimi sunarım.

Hem çalışma ortamında hem de sosyal hayatta çok kıymetli paylaşımlarımız olan asistan arkadaşlarım Op. Dr. Celal Alioğlu, Op. Dr. Sultan Yalçın, Op. Dr. Arda Akgün, Op. Dr. Kübra Ece Kalafatlar, Op. Dr. Tunç Tunçbilek, Op. Dr. Cem Berkay Sınacı, Op. Dr. Sedat Öz, Op. Dr. Zeynep Arpacık, Op. Dr. Bükem Cüce, Dr. Şuheda Çıldır, Dr. Salih Cem Altunal, Dr. Mert Can Rador, Dr. Anıl Mert Güleryüz, Dr. Mehmet Akkurt, Dr. Berkay Canbaz, Dr. Ali Kıvanç Şahin, Dr. Kandemir Cengaver, Dr. Mehmet Yılmaz, Dr. Deniz Esenyel ve Dr. Emre Balcı'ya; ameliyathane ve servis hemşirelerine, sağlık memurlarına, yardımcı personel ve başta Veteriner Hekim Engin Sümer ve Farmakoloji Arş. Gör. Buğra Özgün olmak üzere Yeditepe Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi çalışanlarına ve tezimde bana çok yardımcı olan sayın Doç. Dr. Deniz Filinte'ye teşekkür ederim.

Hayatım boyunca koşulsuz destek gösteren sevgili aileme, babam Hikmet Kanık, annem Fatma Kanık, kardeşim Sevgi Kanık ile nişanlım Nazlı Dönmez'e teşekkür ederim.

Dr. Barış Kanık

İstanbul -2022

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
KISALTMALAR.....	iv
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ.....	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. SİNİR FİZYOLOJİSİ VE ANATOMİSİ.....	3
2.2. SİNİR HASARI SINIFLAMASI	5
2.2.1. Kompresyon Yaralanmaları.....	7
2.2.2. Ezilme ve Transeksiyon Yaralanmaları.....	8
2.3. SİNİR İYİLEŞME MEKANİZMALARİ	8
2.3.1. Wallerian Dejenerasyon	9
2.3.2. Distal Uç Değişiklikleri.....	9
2.3.3. Proksimal Uç Değişiklikleri	10
2.3.4. Aksonal Rejenerasyon	10
2.3.5. Uç Organ Reinnervasyonu.....	12
2.4. SİNİR ONARIM ALTERNATİFLERİ	14
2.4.1. Direkt Onarım Çeşitleri	14
2.4.1.1. Epinöral Onarım	14
2.4.1.2. Fasiküler Onarım	15
2.4.1.3. Epiperinöral Onarım	15
2.4.2. Nörotizasyon.....	16
2.4.3. NMEG Transferi.....	17
2.4.4. Periferik Sinir Defektlerinin Yönetimi	18
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	19
3.1. Deney Hayvanları	19
3.2. Deney Gruplarının Sınıflandırılması	19
3.3. Çalışma Akış Planı ve Süreç	19

3.4. Yürüme Testinin Uygulanması.....	23
3.5. Gastrokinemius Kas Ağırlıklarının Ölçülmesi	25
3.6. Gastrokinemius Kas Gerimlerinin Ölçülmesi.....	26
3.7. Kasların Histopatolojik Değerlendirmesi	28
3.8. İstatistiksel Değerlendirme	32
4. BULGULAR.....	33
4.1. Büyük Büyütme Alanında Kas Lifi Sayılarının Değerlendirmesi	33
4.2. Tibial Fonksiyon İndekslerinin Değerlendirilmesi	33
4.3. Gastrokinemius Kas Ağırlıklarının Değerlendirilmesi	34
4.4. Gastrokinemius Kas Gerimlerinin Değerlendirilmesi.....	35
5. TARTIŞMA	36
6. SONUÇ	39
7. KAYNAKLAR	40

KISALTMALAR

NMEG	: Sinir-kas son plak grefti
TFI	: Tibial fonksiyon indeksi
NGF	: Sinir büyüme faktörü
NGF-R	: Sinir büyüme faktör reseptörü
BDNF	: Beyin kaynaklı büyüme faktörü
mRNA	: Mesajcı ribonükleik asit
GDNF	: Glial hücre kaynaklı büyüme faktörü
NT-3	: Nörotrofin-3
GAP-43	: Büyümeyle ilişkili protein-43
HSP-27	: Isı şok proteini-27
IL-1	: İnterlökin-1
ATP	: Adenozin trifosfat
NMJ	: Nöromusküler kavşak
H&E	: Hematoksilen ve eozin
CO₂	: Karbondioksit
BBA	: Büyük büyütme alanı

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Bir periferik sinirin histopatolojik kesiti	3
Şekil 2: Bir periferik sinirin anatomik illüstrasyonu	5
Şekil 3: Sunderland Sınıflandırması'na göre sinir hasarı modelleri.....	7
Şekil 4: Larinks denervasyonunda doğru/yanlış reinnervasyon illüstrasyonları	13
Şekil 5: Epinöral onarım tekniği modeli.....	15
Şekil 6: Periferik motor fasiküler nörotizasyon modeli.....	16
Şekil 7: Sıçanda sternokleidomastoid kas üzerine sternohyoid kastan yapılan NMEG transferinin ıslak ve boyalı görünümü.....	18
Şekil 8: Çalışmada kullanılan mikroskop ve masa düzeni	20
Şekil 9: Yapılan cilt insizyonu ve pozisyonlama.....	20
Şekil 10: Kas fleplerinin kaldırılması	20
Şekil 11: Siyatik sinir ve dallarının anatomik görünümü	20
Şekil 12: Sıçan siyatik sinir ve dallarının anatomik görünümü	21
Şekil 13: Çalışmada kullanılan stimulus izolatörü	21
Şekil 14: Stimulus izolatörünün tibial sinir motor dalı üzerinde kullanımı.....	21
Şekil 15: Gastrokinemius medial başına giden tibial sinir motor dalının epinöral teknikle onarımı	22
Şekil 16: Gastrokinemius lateral başına giden tibial sinir motor dalının epinöral teknikle onarımı	22
Şekil 17: Gastrokinemius medial başına giden tibial sinir motor dalının nörotizasyonu.....	23
Şekil 18: Gastrokinemius lateral başına giden tibial sinir motor dalının transfer edilen sinir-kas son plak grefti (NMEG)	23
Şekil 19: Sıçanların yürüme düzeneği üzerinde görüntülemesi	24
Şekil 20: Sıçan ayak izlerinin görüntülemesi	24
Şekil 21: Eksize edilen gastrokinemius kası	26
Şekil 22: Gastrokinemius kasının yaş ağırlığının hassas terazide ölçülmesi.....	26
Şekil 23: Çalışmada kullanılan gerim makinesi	27
Şekil 24: Gastrokinemius kasına gerim uygulamasının görüntülemesi.....	27
Şekil 25: Gastrokinemius kasına gerim uygulaması esnasında entegre	

bilgisayardaki yazılımın ölçümleri	28
Şekil 26: Kas-sinir kavşağının H&E boyasıyla boyanmasından elde edilen mikroskop görüntüsü	29
Şekil 27: Kasın H&E boyasıyla boyanmasından elde edilen mikroskop görüntüsü	29
Şekil 28: Kas-sinir kavşağının gold klorid boyasıyla boyanmasından elde edilen mikroskop görüntüsü	30
Şekil 29: Kas-sinir kavşağının gold klorid boyasıyla boyanmasından elde edilen mikroskop görüntüsü	31



TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Sinir lifi tipleri ve özellikleri	4
Tablo 2: Seddon ve Sunderland'in sinir hasarı sınıflandırmaları.....	6
Tablo 3: Sinir onarımı teknikleri.....	14
Tablo 4: Sıçanların ölçülen tibial fonksiyon indeksleri (TFI).....	25
Tablo 5: Sıçanların ölçülen gastrokinemius kas ağırlıkları.....	27
Tablo 6: Sıçanların ölçülen gastrokinemius kas gerimleri.....	27
Tablo 7: Sıçanların büyük büyütme alanında (200 μ m) görülen kas lifi sayıları.....	31
Tablo 8: Sıçanların büyük büyütme alanında (200 μ m) görülen kas lifi sayılarının istatistiksel analizi	33
Tablo 9: Sıçanların ölçülen tibial fonksiyon indekslerinin (TFI) analizi	34
Tablo 10: Sıçanların ölçülen gastrokinemius kas ağırlıklarının analizi	34
Tablo 11: Sıçanların ölçülen gastrokinemius kas gerimlerinin analizi	35

ÖZET

Amaç: Periferik sinir hasarı, ekstremitte travmalarında, maksillofasyal yaralanmalarda, iyatrojenik nedenlerle ve kitle eksizyonları sonrası karşımıza çıkabilen bir problemdir. Hasar sonrası onarımda primer nörorafi ilk sırada tercih edilse de laserasyonun distalinde devamlılık gösteren bir sinir dokusu mevcut değilse; proksimal ucun kas dokusuna nörotizasyonu veya komşu diğer kas gruplarından sinir-kas son plak grefti (NMEG) ile onarım gibi farklı tedavi seçenekleri mevcuttur. Çalışmamızda deneysel sinir hasarı modellemeleri üzerinde farklı onarım seçenekleri uygulanarak elde edilen verilerin karşılaştırılması ve birbirlerine üstünlüklerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 3 ayrı grupta toplam 18 adet Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Her grup kendi içerisinde ortak kafeslerde yaşayan sıçanlar olarak iki alt gruba ayrıldı. Birinci (A) gruptaki sıçanların sağ gastrokinemius kaslarının medial ve lateral başlarına giden tibial sinir motor dalları kesilerek primer nörorafi ile onarıldı. İkinci (B) gruptaki sıçanların sağ gastrokinemius kaslarının medial ve lateral başlarına giden tibial sinir motor dalları kesilerek proksimal sinir uçları, kasların üzerinde 6x6 mm genişliğinde epimisyum eksizyonunu takiben direkt nörotizasyon uygulandı. Üçüncü (C) gruptaki sıçanların sağ gastrokinemius kaslarının medial ve lateral başlarına giden tibial sinir motor dalları kasa dek disseke edilerek kasa girdikleri kısımda 6x6x2 mm genişliğinde NMEG eksizyonu yapılarak aynı kas üzerinde 6x6 mm epimisyum eksizyonu üzerine NMEG transfer edildi. Çalışmanın 90. gününde tüm sıçanlara yürüme testi uygulandı. Takiben bütün sıçanlar termine edildi. Önceden gruplandırılmış olan tüm sıçanların sağ gastrokinemius kaslarının yaş ağırlıkları ve kasların gerim kuvvetleri ölçüldü. Alınan kas örnekleri uygun şekilde hazırlanarak histopatolojik değerlendirme yapıldı.

Bulgular: Deneysel sinir hasarı oluşturulduktan sonra epinöral onarım yapılan A grubunda kasların yaş ağırlıkları, nörotizasyon ile onarım yapılan B grubunda tibial fonksiyon indeksi (TFI) istatistiksel olarak anlamlı şekilde en yüksek bulunmuştur. NMEG transferi ile onarım yapılan C grubunda kas gerimi istatistiksel olarak anlamlı

şekilde B gurubuna göre yüksek bulunurken, A grubuyla C grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Büyük büyütme alanı (BBA) başına düşen kas lifi sayıları farkları her üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Sonuç: Çalışmamız her ne kadar primer nörorafi ile onarımın mevcut tedavi seçenekleri arasında ilk sırada yer aldığını destekler nitelikte sonuçlar verse de, nörotizasyonun ve kısmen NMEG transferinin sinir koaptasyonlarında proksimal ve distal uç rezervi olmadığı durumlarda tedavi alternatifi olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Epinöral onarım, nörotizasyon, NMEG transferi



ABSTRACT

Aim: Peripheral nerve damage is a problem that can occur in extremity traumas, maxillofacial injuries, iatrogenic reasons and after mass excisions. Although primary neuroraphy is preferred in the post-damage repair, if there is no continuous nerve tissue distal to the laceration; there are different treatment options such as neurotization of the proximal end to the muscle tissue or repair with nerve-muscle end plate graft (NMEG) from other adjacent muscle groups. In our study, it was aimed to compare the data obtained by applying different repair options on experimental nerve damage models and to evaluate their superiority to each other.

Materials and Methods: In the study, a total of 18 male Sprague-Dawley rats were used in 3 different groups. Each group was divided into two subgroups as rats living in common cages. The tibial nerve motor branches going to the medial and lateral heads of the right gastrocnemius muscles of the rats in the first (A) group were cut and repaired with primary neurorhea. In the second (B) group rats, the tibial nerve motor branches going to the medial and lateral heads of the right gastrocnemius muscles were cut, and the proximal nerve endings were excised, followed by the excision of the 6x6 mm wide epimysium on the muscles, and direct neurotization was performed. The motor branches of the tibial nerve that goes to the medial and lateral heads of the right gastrocnemius muscles of the rats in the third (C) group were dissected up to the muscle, and a 6x6x2 mm wide NMEG excision was made on the part where they entered the muscle, and NMEG was transferred over the 6x6 mm epimysium excision on the same muscle. On the 90th day of the study, the walking test was applied to all rats. Subsequently, all rats were terminated. The wet weights of the right gastrocnemius muscles and the tension strength of the muscles were measured in all previously grouped rats. Muscle samples were prepared appropriately and histopathological evaluation was made.

Results: After the experimental nerve damage was created, the wet weights of the muscles in group A who underwent epineural repair, and the tibial function index (TFI) in group B, which was repaired by neurotization, were found to be statistically

the highest. While muscle tension was found to be statistically significantly higher in group C, which was repaired with NMEG transfer, there was no statistically significant difference between group A and group C. Differences in muscle fiber counts per large zooming area (LZA) were not statistically significant between all three groups.

Conclusion: Although our study shows that primary neurotization and repair are the first treatment options available, it shows that neurotization and partial NMEG transfer may be a treatment alternative in cases where there is no proximal and distal end reserve in nerve coaptations.

Keywords: Epineural repair, neurotization, NMEG transfer

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Periferik sinir yaralanmaları; düşmeler, çarpışmalar, motorlu araç kazaları, kesici-delici alet yaralanması ve endüstriyel kazalar gibi etiyolojiler sonrasında; kırıklar, çıkıklar, bağ yırtıkları, ezilme veya amputasyon yaralanmaları dahil olmak üzere ekstremitre travmalarında yaygın olarak karşımıza çıkabilen bir problemdir. (1)

Periferik sinirlerdeki travmatik hasar, tüm ekstremitre travmalarının %2'sini temsil eden potansiyel olarak yıkıcı yaralanmalardır. Tüm periferik sinir yaralanmalarının %33 kadarı, motor ve duysal fonksiyonun kaybı veya kısmi iyileşmesi, kronik ağrı ve son hedef kas atrofisi ve derin zayıflık dahil olmak üzere eksik sinir iyileşmesi ve kötü fonksiyonel sonuçlar sergiler (2,3)

Ferara, 17. yüzyılın ilk yıllarında kesilen bir sinirin rekonstrüksiyonunu gerçekleştiren ilk kişidir. 1964 yılında Curtze tarafından sinir cerrahisinde operatif mikroskobun kullanılması ve mikrocerrahinin evrimi, modern periferik sinir cerrahisinin doğuşuna işaret eder. (4)

Geçen yüzyılda sinir yaralanmalarının tedavisi, amputasyondan tendon transferlerine, sinir onarımına, sinir greftlerine ve şimdi de sinir transferlerine kadar ilerlemiştir. Sinir onarımlarında primer nörorafi olarak adlandırılan epinöral onarımın yanı sıra, direkt nörotizasyon ilk olarak yirminci yüzyılın başında, I. Dünya Savaşı sırasında, yaralanmalar ve çocuk felcinin tedavisi olmayan uzuv paraliziyle sonuçlandığı zamanlarda rapor edilmiştir. Bu tekniğin uygulanması, yüksek başarısızlık oranı nedeniyle sınırlı olmasına rağmen bu tekniğe olan ilgi, iyi sonuçların bildirildiği yirminci yüzyılın ortalarında yeniden alevlenmiştir. (5) NMEG transferi ile kaslarda motor yanıt elde edilmesine dayalı tedavi modalitesi ise son yıllarda popülerite kazanan ve araştırılan yeni bir tedavi seçeneğidir. (6)

Yaralanma ve rejenerasyon mekanizmaları hakkında çok fazla bilgi olmasına rağmen, tam fonksiyonel iyileşmeyi sağlayan güvenilir tedaviler azdır. (7) Epinöral onarım, nörotizasyon ve NMEG transferi; etkinlikleri farklı dönemlerde değerlendirilerek sinir hasarında birer tedavi seçeneği olabileceklerine dair çalışmalar yürütülmüştür. Ancak her üç seçeneğin kıyaslandığı bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Çalışmamız, sıçanlarda gastrokinemius kasının medial ve lateral başlarının motor innervasyonunu sağlayan tibial sinir motor dallarının deneysel olarak

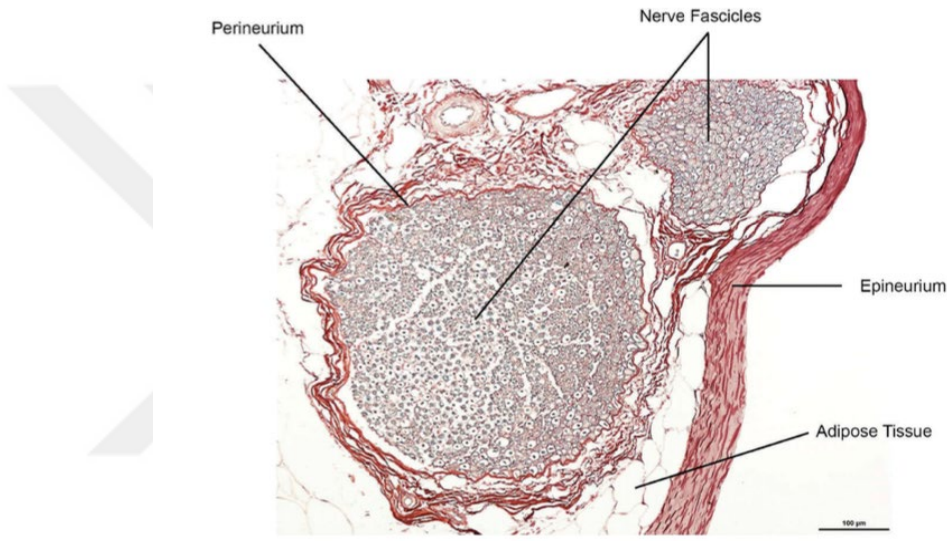
hasarlandırılması sonrasında bu üç onarım şeklinin fizyolojik ve histopatolojik olarak karşılaştırılarak birbirlerine üstünlüğü açısından değerlendirilmesini amaçlamıştır. Ayrıca çalışmamızın; henüz laboratuvar deneyleri aşamasında olan nörotizasyon ve NMEG transferi gibi onarım modelleri üzerine ilginin artmasıyla birlikte klinik kullanım alanlarının daha detaylı olarak incelenmesine olanak tanıyabilecek yeni araştırmalara da öncülük etmesini umuyoruz.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. SİNİR FİZYOLOJİSİ VE ANATOMİSİ

Her bir periferik sinir veya sinir gövdesi, fasikül olarak bilinen çok sayıda gruplandırılmış uzunlamasına akson düzenlemesinden oluşur. Yaygın olarak sinir lifleri olarak da adlandırılan aksonlar, tek tek nöronların uzun iletkin kısımlarıdır. Büyütme altında enine kesitte görüldüğü gibi, periferik bir sinirin fasikülleri birbirinden kolayca ayırt edilebilir. (Şekil 1) (8)



Şekil 1: Bir periferik sinirin histopatolojik kesiti

Periferik sinir sisteminde nöronal hücreler, glial hücreler ve stromal hücreler bulunur. Periferik sinirler, omurilik ve vücut arasındaki sinyal iletiminden sorumludur. (4) Sinirler, motor, duysal ve otonomik nöronların çeşitli kombinasyonlarından oluşur. Efferent nöronlar (motor ve otonomik), merkezi sinir sisteminin nöronlarından dendritleri aracılığıyla sinyaller alırlar. Afferent (duysal) nöronlar, sinyallerini dendritleri aracılığıyla, ince duyu için özelleşmiş hücre tiplerinden alırlar. Bu sinyaller, bir refleks yanıtı gerektiğinde beyne ve omurilikteki internöronlara duysal bilgi sağlamak için merkezi sinir sistemine gönderilir. (8,9)

Periferik sinirlerin bakımında ve işlevinde nöronlar dışındaki hücreler anahtar rol oynar. Schwann hücreleri, sinirleri bir miyelin tabakasıyla kaplar ve sinir büyüme faktörü (NGF) gibi önemli nörotrofların salınımı yoluyla trofik destek sağlar. Miyelin, akson boyunca iyonik transfer bölgelerini Ranvier düğümleriyle sınırlayarak iletim

hızını iyileştirir, bu da atlamalı iletim olarak adlandırılan daha hızlı, sıçrayan aksiyon potansiyeli yayılımıyla sonuçlanır. (10) En ağır miyelinli lifler, büyük motor nöronlardır (tip A α), ardından afferent kas içcikleri (tip A β) gelir. Bu nöronlardaki sinir iletim hızları yaklaşık 30 m/s ile 120 m/s arasındadır. Ağrı ve sıcaklık ileten duyuşal nöronlar ile postganglionik sempatik miyelinsiz nöronlar (tip C), en yavaş olanlardır ve yaklaşık 1 m/s ile 2 m/s'de iletirler. (Tablo 1) (11)

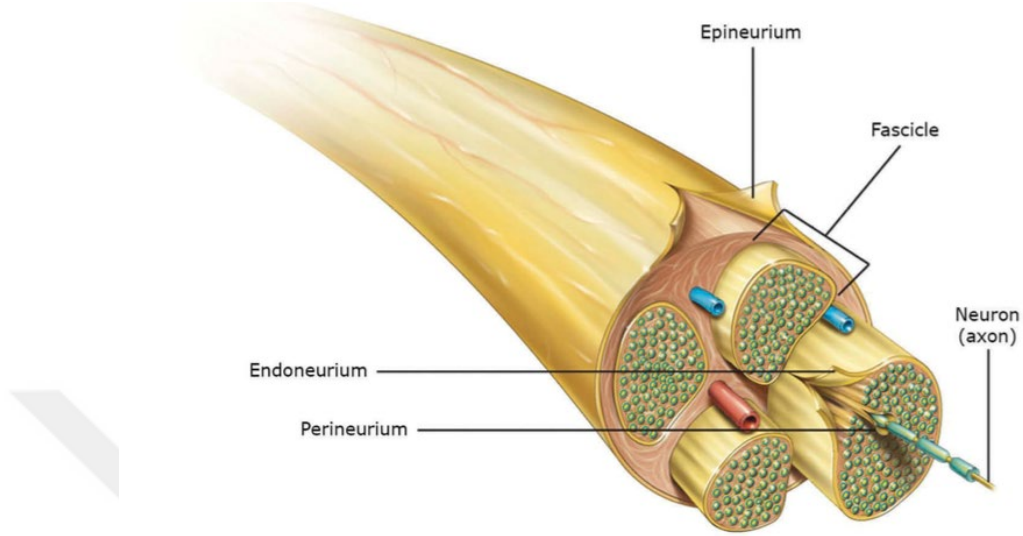
Aksonları çevreleyen hücreler ve bağ dokuları, sinir için karmaşık bir stromal bağ dokusu iskelesi sağlar ve sinir yaralanmalarının anlaşılmasında ve sınıflandırılmasında önemlidir. Aksonları kaplayan en derin yapısal katman endonöryumdur. Aksonları saran perinöryum, endonöryumu çevreleyerek fasiküller oluşturur

Tablo 1: Sinir lifi tipleri ve özellikleri

Lif Tipi	Myelin	Çap (µm)	İletim Hızı (m/s)	Spinal Kord Traktı	Lokasyon	Fonksiyon
A α	+	6-22	30-120	İpsilateral dorsal kolon	Kaslara efferent	Motor
A β	+	6-22	30-120	Kontralateral spinotalamik trakt	Cilt ve eklemden afferent	Taktil, propriosepsiyon
A γ	+	3-8	15-35	İpsilateral dorsal kolon	Kas içciklerinden efferent	Kas tonusu
A Δ	+	1-4	5-30	Kontralateral spinotalamik trakt	Afferent duyuşal sinirler	Ağrı, soğuk, sıcak, dokunma
B	+	1-3	3-15	Preganglionik	Preganglionik sempatik	Çeşitli otonomik fonksiyonlar
sC	-	0,3-1,3	0,7-1,3	-	Postganglionik sempatik	Çeşitli otonomik fonksiyonlar
dC	-	0,4-1,2	0,1-2,0	Kontralateral spinotalamik trakt	Afferent duyuşal sinirler	Çeşitli otonomik fonksiyonlar Ağrı, ısı, dokunma

Sinirin en dıştaki bağ dokusu tabakası olan epinöryum; fasiküller arasında dağılmış epifasiküler epinöryum, sinir gövdesini çevreleyen ise epinöral epinöryum olmak üzere ikiye ayrılır. (11) Mikrodamarlar, bu tabakalarda sinir boyunca aşamalı

olarak dallanır ve aksonları besler. Daha periferik yerleşimli epinöral damarlar, travmaya daha duyarlıdır. (Şekil 2) (12)



Şekil 2: Bir periferik sinirin anatomik illüstrasyonu

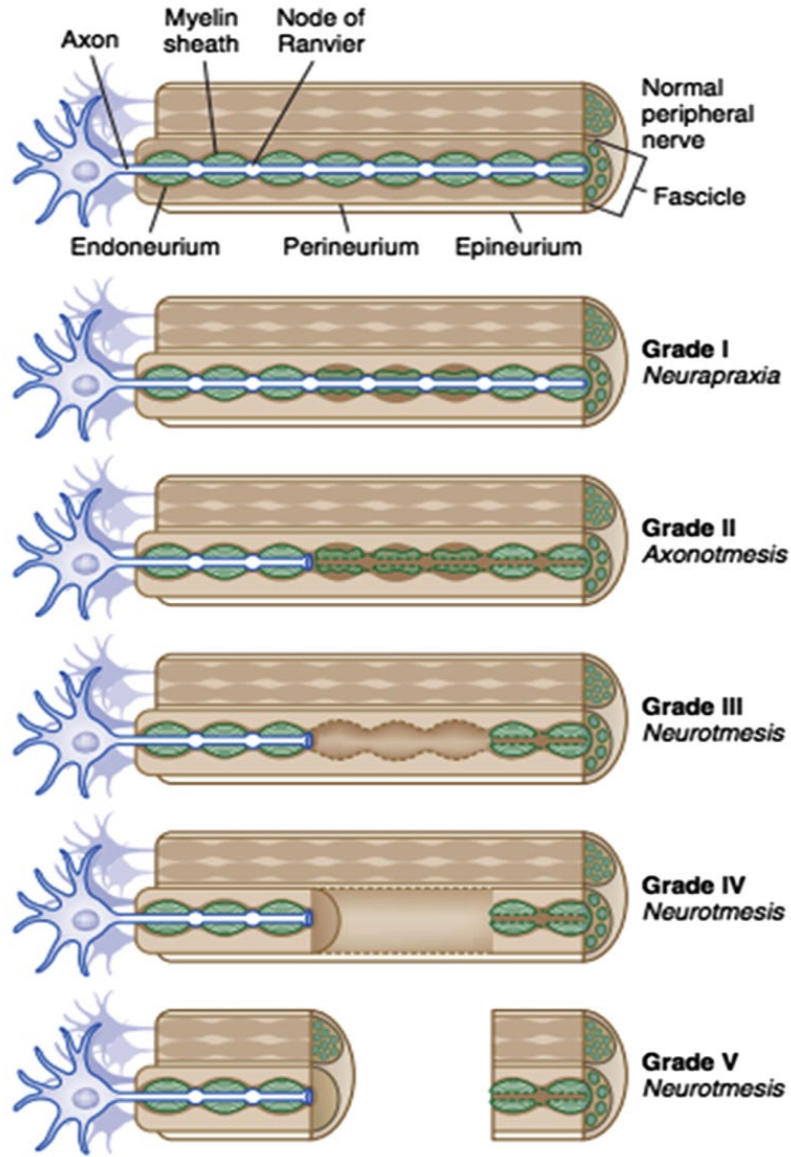
2.2. SİNİR HASARI SINIFLAMASI

Periferik sinir yaralanmaları, hastalar için hafif rahatsızlıktan kalıcı hasarlara kadar çeşitli zorluklar yaratır. Bir sınıflandırma şeması, sinir iyileşmesi ile ilgilenenler için ortak bir dil sağlaması açısından önemlidir. (Tablo 2) Seddon, sinir yaralanmalarını demiyelinizasyonun varlığına ve aksonlardaki ve sinirin bağ dokularındaki hasarın derecesine göre 3 kategoride sınıflandıran ilk kişidir. Seddon'a göre en hafif yaralanma şekli, aksonlara veya bağ dokularına zarar vermeden fokal demiyelinizasyon ile tanımlanan nöropraksi olarak adlandırılır. Nöropraksi tipik olarak sinirin hafif sıkışması veya traksiyonundan oluşur ve iletim hızında bir azalma ile sonuçlanır. (12) Demiyelinizasyonun ciddiyetine bağlı olarak, etkiler asenkron iletimden iletim bloğuna kadar değişerek kas güçsüzlüğüne neden olabilir. Bir sonraki seviye, sinirin bağ dokularının sürekliliğini korurken fokal demiyelinizasyona ek olarak aksonlara doğrudan hasar içeren aksonotmezistir. En şiddetli yaralanma şekli, aksonların ve bağ dokusu katmanlarının tam bir kesiti olan ve sinirin tamamen kesilmesine neden olan nörotmezis olarak isimlendirilir. (13)

Sunderland daha sonra bağ dokularındaki hasarın derecesini ayırt etmek için bu sınıflandırmayı genişletmiştir. Sınıflandırma şemasında derece I ve derece V, sırasıyla Seddon'un nöropraksisi ve nörotmezisine karşılık gelmiştir. Bununla birlikte II ile IV dereceleri, artan miktarlarda bağ dokusu hasarı ile birlikte aksonotmezis formlarıdır. Derece II'de, bağ dokusunda herhangi bir hasar olmadan akson hasarı gözlenir. Derece III endonöryumdaki hasarı içerir ve derece IV perinöryumdaki hasarı içerir (Şekil 3). (14) Derece VI lezyon daha sonra Mackinnon ve Dellon tarafından, kullanımı yaygın olarak kabul edilmemesine rağmen, hasarlı bir sinir boyunca derece III ile V yaralanmalarının kombinasyonlarını belirtmek için tanıtılmıştır. (15) Sinirleri dejeneratif olmayan veya dejeneratif olarak sınıflandırarak bu şemayı basitleştirme girişimleri Thomas ve Holdroff tarafından 1993'te önerilmiştir ancak bu basitleştirmenin klinik önemi hala sorgulanmaktadır. (16)

Tablo 2: Seddon ve Sunderland'in sinir hasarı sınıflandırmaları

Seddon	Sunderland	Hasar Mekanizması
Nöropraksi	Derece I	Fokal segmental demyelinizasyon
Aksonotmezis	Derece II	Akson hasarlı, endonöryum intakt
Aksonotmezis	Derece III	Akson ve endonöryum hasarlı, perinöryum intakt
Aksonotmezis	Derece IV	Akson, endonöryum ve perinöryum hasarlı, epinöryum intakt
Nörotmezis	Derece V	Komplet transeksiyon
	Derece VI (MacKinnon ve Dellon)	Sinir boyunca değişik derecelerde hasar



Şekil 3: Sunderland Sınıflandırması'na göre sinir hasarı modelleri

2.2.1. Kompresyon Yaralanmaları

Kompresyon yaralanmaları her zaman yaygın olarak kullanılan sınıflandırma şemaları tarafından sınıflandırılmayabilir. Bununla birlikte, periferik sinir kompresyonlarının çoğunluğunun genel nöropraksi sınıfına veya derece I sinir yaralanmalarına girdiğine ve genellikle sinirlerin dar anatomik açıklıklardan geçtiği yerlerde meydana geldiğine inanılmaktadır. (15) Üst ekstremitelerde kompresyon yaralanmalarının en sık görüldüğü yerler karpal tünel ve kübital tüneldir. Derece I sinir

yaralanmasında beklendiği gibi, kompresyon yaralanmaları, aksonal ve bağ dokusu hasarı olmaksızın kompresyon bölgesinde fokal demiyelinizasyon ile tanımlanır. Kompresyonlar doğada akut veya kronik olabilir. (16) Akut kompresyonlar, radyal mononöropatide görüldüğü gibi, genellikle kısa süreli bir dış basıdan sonra edinilir ve tipik olarak geçici parestezi, uyuşukluk ve bilekte düşme ile kendini gösterir. Akut olarak sıkıştırılmış sinirin tamamen iyileşmesi haftalar hatta yıllar alabilir. Buna karşılık, karpal tünel sendromu gibi kronik kompresyonlar, uygun müdahale olmaksızın devam eden, giderek kötüleşen durumlardır. Semptomlar parestezi ve distalde uyuşma şikayetleriyle başlayabilir; ancak akut kompresyonların aksine, daha sonraki aşamalarda aksonal hasarın derecesine bağlı olarak sıklıkla zamanla kas güçsüzlüğü ve kas erimesine doğru ilerler. (17)

2.2.2. Ezilme Ve Transeksiyon Yaralanmaları

Ezilme yaralanmaları, Seddon veya Sunderland tarafından tanımlanan sınıflardan herhangi birini temsil edebilen birçok farklı derecelerde sinirsel hasara neden olabilir. Ayrıca bu yaralanmaların çoğu Dellon ve meslektaşları tarafından önerilen türden karışık yaralanmaları temsil etmektedir. (18,19)

Ezilme yaralanmaları tipik olarak künt bir nesne kaynaklı olarak sinirin akut travmatik kompresyonuyla meydana gelir ve bu da sinirin tam bir transeksiyonu ile sonuçlanmaz. (19) Buna karşılık, nörotmezis veya derece V sinir yaralanmaları olarak da bilinen transeksiyon yaralanmalarında, genellikle bir bıçak, ateşli silah, cam parçası ve benzerlerinden kaynaklanan bir hasar nedeniyle sinirin tamamen kesilmesi söz konusudur. Balistik yaralanmalar özel bir durumdur. Merminin geçişinden sonra dokuda hareket eden şok dalgasından sinirin hem kesilmesini hem de ezilmesini birleştirme eğilimindedir ki bu sinir üzerinde hem yırtıcı hem de sıkıştırıcı bir etkiye sahiptir. (20)

2.3. SİNİR İYİLEŞME MEKANİZMALARI

Bir uç organ denervasyona uğradığında, reinnervasyon, sağlam aksonların kollateral filizlenmesi veya hasarlı aksonun rejenerasyonu olmak üzere 2 şekilde gerçekleşebilir. Aksonların %20 ile %30'unun hasar gördüğü yaralanmalarda, iyileşmenin birincil mekanizması kollateral filizlenmedir. (21) Bu filizlenme

yaralanmadan sonraki ilk 4 gün içinde başlar ve iyileşme gerçekleşene kadar yaklaşık 3-6 ay devam eder. (22) Beklenebileceği gibi, motor ünite boyutunda bir artış gözlenir ve innerve edilen kaslardaki hipertrofi, kasın diğer bölümlerinin başlangıçtaki denervasyonunu telafi etmeye çalışır. (23) Bununla birlikte, zamanla, innervasyonu olmayan lifler küçüldükçe ve kalan kas lifleri genişleme yeteneğini geride bıraktıkça kas, sonunda atrofiye uğrar. Sonunda bir hedef organı innerve eden gerçek sinir sayısından daha fazla aksonal dal vardır. Hedef uç organdan nörotrofik faktörleri alamayan dallar bir budama sürecinden geçer ve dejenere olurlar. (24)

Bir sinir içindeki akson popülasyonunun %90'ından fazlasını etkileyen yaralanmalarda aksonal rejenerasyon, iyileşmenin birincil yoludur. (38) Tam iyileşmeyi sağlamak için, sinirin 3 ana süreçten geçmesi gerekir; wallerian dejenerasyon (distal güdüğün temizlenmesi süreci), aksonal rejenerasyon ve uç organ reinnervasyonu. Bu süreçlerden herhangi birinin başarısızlığı, periferik sinir yaralanması olan hastalarda yaygın olarak gözlenen zayıf fonksiyonel sonuca katkıda bulunabilir. (25)

2.3.1. Wallerian Dejenerasyon

Travmatik hasara neden olan aksonlar, aksonal büyüme ve reinnervasyon için elverişli bir mikro çevre yaratmak adına Wallerian dejenerasyona uğrar. (38) Bu süreç, aksonal hasarın hücre zarı bütünlüğünün kaybı ve aksonal hücre iskeletinin parçalanması gibi tipik belirteçleri meydana geldiğinde yaralanmadan sonraki ilk hafta içinde gerçekleşir. Başlangıçta, retrograd ve anterograd aksonal transportun devam etmesi nedeniyle hasarlı nöronun proksimal ve distal ucunda şişme meydana gelir. (26)

2.3.2. Distal Uç Değişiklikleri

Kopmuş sinirin distal ucundaki aksonal değişiklikler, sinir kütüğünün bozulmasına yol açar. Bu fazın ayırt edici özelliği, hücre iskeletinin granüler parçalanmasıdır. (27) Bu, hücre dışı iyonların, özellikle kalsiyum ve sodyumun ani girişinin ardından, Schwann hücrelerinden ayrıntılı sinyaller kullanılarak makrofajların alınmasını sağlayan apoptoz benzeri bir dizi olaydan sonra meydana gelir. (28) Distal sinir kütüğünün, transeksiyondan saatler sonra aksiyon potansiyeli iletebildiği gösterilmiştir. Bu, izole sinir-kas preparatlarında sinaptik iletimi ve kas

fonksiyonunu incelemek için kullanılır. (29,30) Kesilmiş tibial sinirlerde, BDNF (beyin kaynaklı nörotrofik faktör) mRNA'sı ve GDNF (glial hücre kaynaklı nörotrofik faktör) üretiminin arttığı, distal güdüklerde ise nörotrofin-3 (NT-3) ve siliyer nörotrofik faktörün üretiminin azaldığı bulunmuştur. Kronik olarak denerve distal sinir kütükleri, yaralanmadan 6 ay sonra bu değişiklikleri sürdürür. (31)

2.3.3. Proksimal Uç Değişiklikleri

Proksimal güdükteki değişiklikler, yaralanmanın konumuna ve ciddiyetine göre değişir. Proksimal güdük bozulması sınırlıdır ve tipik olarak sadece Ranvier'in ilk düğümüne ilerler. Ancak yaralanma bölgesi nöronal gövdeye yakınsa apoptoz meydana gelebilir. (32) Şiddetli yaralanmalarda, sinirin proksimal kısmında kromatoliz meydana gelir. Bu işlem sırasında, GAP-43, tubulin ve aktin gibi büyüme ile ilişkili proteinlerin üretimleri artarken nörofilamentlerin üretimleri azalır. (33) Isı şoku proteini-27 (HSP-27) gibi endojen nöroprotektanlar, hasarlı nöronun hayatta kalmasını desteklemek için salgılanırlar. (34, 35) Akson sonunda hedef organa ulaştığında ve nöronal olgunlaşma gerektiğinde, nöronun gen ekspresyonu rejeneratif bir durumdan bakım durumuna geri dönecektir. (36, 37)

2.3.4. Aksonal Rejenerasyon

Nöronun genetik ekspresyonundaki rejeneratif duruma geçiş wallerian dejenerasyon olaylarıyla eşzamanlı olarak meydana gelse de, aksonal rejenerasyonun kendisi wallerian dejenerasyon tamamlandıktan sonra başlar. (38) Proksimal tomurcuğun distal ucunda, kalsiyumun oluşumunu teşvik etmede rol oynadığı bilinen bir büyüme konisi oluşur. (39) Yaralanmadan saatler sonra, büyüme konisi mikro çevreyi örneklemek için filapodia gönderir. Uzak sinir kütüğüne giderken, filopodia başlangıçta rastgele yönlendirilir, ancak aktin ve miyozin ekspresyonu hücre gövdesi içinde artırıldığında yön kazanır. (40,41)

Büyüme konisinin hareketliliği, zarında belirli reseptörlerin varlığına bağlıdır. Nörotropizm olarak bilinen temas aracılı veya kimyasal yollarla çekilebilir veya itilebilir. (42,43) Yönlendirme moleküllerinin örnekleri semaforinler, ephrinler, netrinler ve yarıklardır. Collapsin-1 gibi engelleyici kılavuz moleküller, büyüme konisi çökmesini destekler. BDNF gibi nörotrofinler, sinir rejenerasyonunu

destekleyen büyüme konilerinin duyarlılığını azaltır. (44) Proksimal segmentlerin 2-3 mm/gün artış görebildiği nöron boyunca rejenerasyon hızı, lokasyona bağlı olarak değişebilirken, daha distal segmentler 1-2 mm/gün hızında ilerleyebilir.

Büyüme konisinin yolu, yara dokusu tarafından bozulabilir ve büyüme konileri, yolunu temizlemek için proteazları ve plazminojen aktivatörlerini serbest bırakır. Bu aynı zamanda, yolunu engelleyen nöronal olmayan hücrelerden herhangi bir hücre-hücre veya hücre-matris etkileşimlerini temizlemek içindir. (38)

Schwann hücreleri, aksonal rejenerasyonu teşvik etmede önemli bir rol oynar çünkü rejenerasyonu teşvik etmek adına nöronun gen ekspresyon profilini değiştirmek için genellikle tirozin kinaz reseptörleri ile etkileşime giren nörotrofik faktörlerin ana kaynağıdır. Bu mesaj retrograd taşıma yoluyla iletilir. (45) NGF, sağlıklı sinirlerde düşük düzeyde ekspresyona sahiptir ancak yaralanma sırasında Schwann hücrelerince salgılanır. Ayrıca Schwann hücreleri, büyüyen aksona tropizm sağlamak için Büngner bantlarını kaplar. Apoptoz önleme mekanizmaları aracılığıyla hücre sağkalımını iyileştirmekten, nöronlarda ve Schwann hücrelerinde yenileyici faktörleri teşvik etmeye kadar birçok nörotrofik faktör keşfedilmiştir. (46) Schwann hücreleri, fibronektin ve laminin gibi hücre dışı matrise dahil edilen nörit teşvik edici faktörler de üretir. Büyüme konileri, bu proteinleri endonöral tüplerin bazal laminasına yapışmak için kullanır. (47)

Sızan makrofajlar, miyelini fagosite ettikten sonra, aynı zamanda, Schwann hücrelerinde NGF ekspresyonunu indükleyen ve Schwann hücrelerinde NGF-reseptör (NGF-R) yoğunluğunu artıran IL-1'in salgılanması yoluyla sinir rejenerasyonunu destekler. Bu ileri besleme mekanizması, Schwann hücre proliferasyonunu daha fazla tetiklemek için mitojenlerin salgılanmasına yol açar. (48) Bununla birlikte, makrofajlar ayrıca siyatik sinirleri kesilmiş farelerde bir implantasyon tüpü ile uygulandığında miyelinli ve miyelinsiz aksonların yeniden büyümesini azaltan IL-1 reseptör antagonisti salgılar. (49)

Büyüme konisi endonöral tüpe ulaştığında, uç organa ulaşma şansı daha yüksektir. İşlevsel bağlantı tamamlanmadan önce olgunlaşma gerçekleşmelidir. Olgunlaşma süreci, remiyelinizasyon, akson genişlemeleri ve son olarak fonksiyonel yeniden innervasyonu içerir. (48) Aksonal büyüme esnasında, Schwann hücre

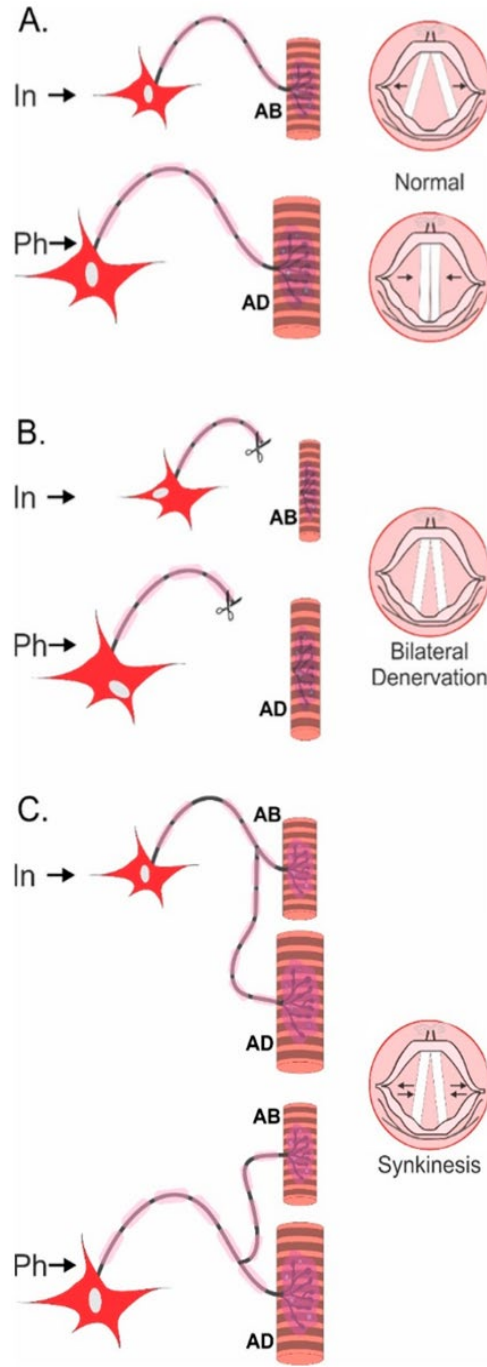
fenotipinin miyelinsizden miyelinliye değişimini destekleyen ATP ve asetilkolin üretilmekte ve ortama salınmaktadır. (50)

2.3.5. Uç Organ Reinnervasyonu

Uygun yollar için motor ve duyu sinirlerinin özgüllüğüne rağmen, denerve kasların yeniden innervasyonu paterni, rejenere motor sinir liflerinin, onları innerve ettikleri kas liflerine geri götüren uygun motor yolları önceden “bulma” konusundaki başarısızlığını ortaya koymaktadır. (7) Sinir yaralanmalarının cerrahi onarımından sonra görülen uzun vadeli fonksiyonel defisitlerin ana nedeni bu yanlış yönlendirilmedir. Bu yanlış yönlendirmenin bir örneği, bilekte kesilmiş bir ulnar sinirin cerrahi onarımından sonra hastalarda gösterilen denervasyonlu el kaslarının rastgele yeniden innervasyonu ve bunun sonucunda ince hareketlerin kaybıyla birlikte antagonistik kasların birlikte kasılmasıdır. (48) Başka bir örnek, rejenere laringeal sinirlerin yanlış yönlendirilmesidir ve sıklıkla ses tellerinin addüktör ve abdüktör kaslarında belirgin bir felçe yol açar ve bu da hastaların konuşma yeteneğini kaybetmesine neden olabilmektedir. (Şekil 4) (51)

Transeksiyon yaralanmalarından sonra sinir onarımı bölgesinde boş endonöral tüplere rastgele giren yenilenen liflerin ve bunun sonucunda liflerin farklı denerve kaslara, hatta fizyolojik olarak antagonist kaslara yanlış yönlendirilmesi görülebilir. (50) Motor ve duysal nöronlar, nörotrofik faktörler duysal ve motor endonöral tüplerde Schwann hücreleri tarafından farklı şekilde eksprese edildikten sonra, aksonlarını uygun olmayan kanallara rejenere edebilir. (51)

Sinir yaralanmalarından ve kasların reinnervasyonundan sonra sergilenen nöromüsküler plastisite etkileyicidir ve aynı sinir-kas etkileşimi ilkelerinin çoğu gözlemlenir. (51) Bununla birlikte, transeksiyon yaralanmalarından sonra yenilenen sinir liflerinin önemli ölçüde yanlış yönlendirilmesi nedeniyle ince hareketleri düzeltmek yetersiz olabilir. Ek olarak, kas reinnervasyonundaki önemli gecikme, aksotomize edilmiş motor nöronların rejeneratif kapasitesini ve distal sinir kütüklerinde denerve Schwann hücreleri tarafından sağlanan büyüme desteğini ciddi şekilde tehlikeye atar. (52)



Şekil 4: Larenks denervasyonunda doğru/hatalı reinnervasyon illüstrasyonları

Bu sebeplerden ötürü hasara uğramış sınır lifleri mümkün olduğunca hızlı ve doğru bir şekilde onarılmalı, proksimal veya distal uçtaki herhangi bir sebepten ötürü epinöral onarım sağlanamıyorsa alternatif onarım planları devreye sokulmalıdır.

2.4. SİNİR ONARIM ALTERNATİFLERİ

Yıllar boyunca periferik sinir onarımına odaklanan çeşitli teknikler tanımlanmıştır. Genel olarak, sütürler mümkün olduğu kadar az, ancak sürekli olarak doğru bir oryantasyon sağlamak için gerektiği kadar çok olmalıdır. (53) Düşük kaliteli sütür ipliklerinin daha fazla yabancı cisim reaksiyonu oluşturması nedeniyle sütür materyalinin kalitesi çok önemlidir. Ayrıca, cerrahi gözlükler ve/veya cerrahi mikroskop kullanılması zorunludur. Periferik sinirler için en sık kullanılan üç mikro dikiş tekniği epinöral, fasiküler ve epipernöral dikiştir. (Tablo 3) (54)

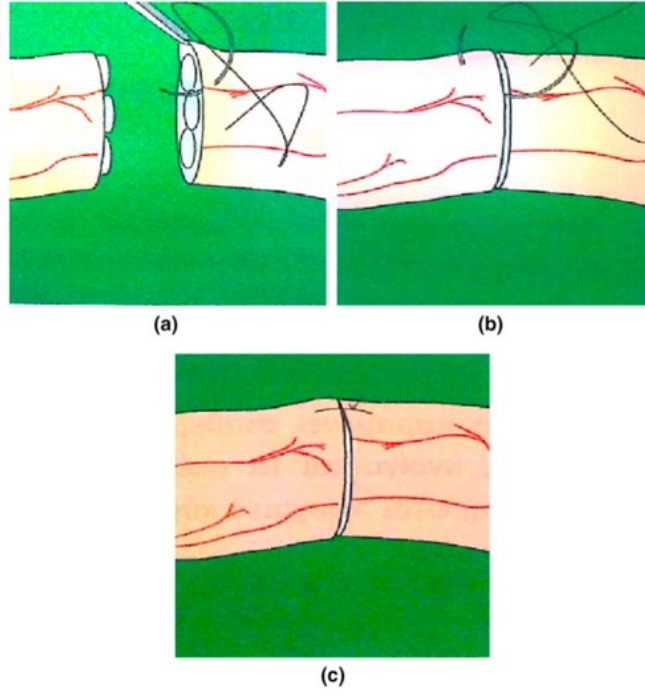
Tablo 3: Sinir onarım teknikleri

Onarım Çeşitleri	Avantajlar	Dezavantajlar
Epinöral Onarım	Kolay, minimal cerrahi girişim, daha az sütür ipliği kullanımı	Yenilenen sinir liflerinin yanlış yönlendirilmesi
Fasiküler Onarım	Yenilenen sinir hücrelerinin daha iyi yönlendirilmesi	Zor, daha uzun operasyon süresi, daha fazla doku reaksiyonu
Epipernöral Onarım	Epinöral onarımdan daha iyi yönlendirme	Fasiküler onarımdan daha zor

2.4.1. Direkt Onarım Çeşitleri

2.4.1.1. Epinöral Onarım

Fasiküler hizalama için kılavuz olarak epinöral kan damarlarının kullanıldığı periferik sinirlerin uçtan uca dikilmesidir. Her iki uçta da dikişler epinöryumdan geçer. (Şekil 5) Bu tekniğin en önemli avantajı, sinir fasikülleri yoluyla minimal cerrahi müdahaledir. Fasiküler sinir onarımından daha kolaydır ve daha az dikiş ipliği kullanılır. (55, 56) Ancak onarılan sinir lifleri yanlış hizalanabilir ve bunun sonucunda proksimalden distale iletim akışı bozulabilir. (53)



Şekil 5: Epinöral onarım tekniği modeli

2.4.1.2. Fasiküler Onarım

Periferik sinirlerin dikilmesi için fasiküler yöntem ilk olarak Sunderland (56) ve Hakstian (57) tarafından tanıtılmıştır. Buradaki fikir, yanlış hizalanma olasılığını en aza indirmek için iki fasikülün dikilmesidir. Daha uzun operasyon süresi ve sütür bölgesinde daha fazla doku reaksiyonu ile epinöral sütürasyona kıyasla daha zorlu bir teknik içerir. Bu tekniğin bir alternatifi, fibrozisin derecesini en aza indiren multipl fasiküllü (örneğin ulnar sinir) sinirlerde onarımı kolaylaştırabilen grup fasiküler süturdur. (53)

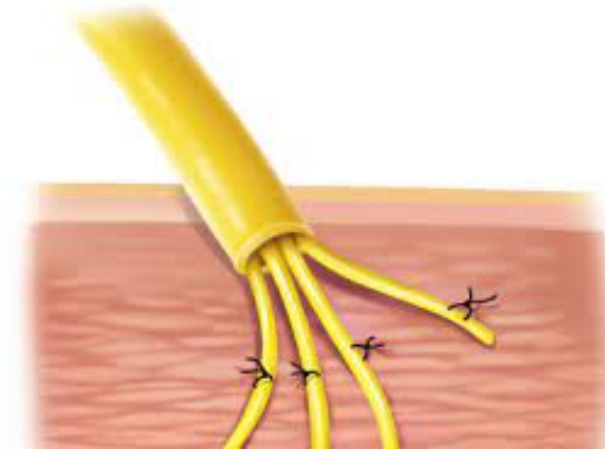
2.4.1.3. Epiperinöral Onarım

Nadir durumlarda epiperinöral dikiş tekniği kullanılabilir. Bu teknik, iğnenin aynı anda epinöryum ve yakındaki fasikül grubunun perinöryumundan geçtiği kombine bir teknikten oluşur. Bu teknik, sinir onarımından sonra daha iyi rehberlik sağlayarak fasiküler grupların daha iyi birleştirilmesini sağlar. (58)

2.4.2. Nörotizasyon

Nörotizasyon, periferik sinirler kas içine girdiğinde ortaya çıkan rejeneratif anatomik ve fizyolojik fenomeni tanımlar. (Şekil 6) (59) Nörotizasyon ilk defa Hacker tarafından, pediyatrik bir olguda 11. kraniyal sinirin proksimal ucunun servikal pleksusun motor dalı ile beraber paralitik trapezius kasına implant edilmesiyle tanıtılmıştır. (60)

Nörotizasyonu araştıran hayvan çalışmaları, motor fonksiyonun başarılı bir şekilde geri kazanıldığını bildirmesine rağmen, nörotizasyon yalnızca çoğu rekonstrüktif cerrah için deneysel ilgi alanı olmaya devam etmektedir. (61, 62, 63) Bu, nörotizasyonun motor uç plaklarda nöromüsküler reinnervasyonu sağlamak için yetersiz olduğu önermesine dayanmaktadır. (64) Bu nedenle, bu prosedürün fonksiyonel değeri tartışmalıdır ve sinir rekonstrüksiyonunda ilk tercih değildir.



Şekil 6: Periferik motor fasiküller nörotizasyon modeli

Nörotizasyonun ana endikasyonu, nöral koaptasyon için herhangi bir distal sinir kütüğünün bulunmadığı ve nöromüsküler kavşak (NMJ) seviyesinde sinir veya kas kaybının olduğu klinik durumdur. (65) Nörotizasyon, sinirin NMJ civarında hala mevcut olduğu, ancak kısmi avülsiyonun bir sonucu olarak fibrotik dejenerasyona uğradığı bazı durumlarda rekonstrüksiyon için tercih edilen yöntemdir. Ayrıca, uçtan uca sinir veya greft cerrahisine uygun olmayan (örn., kasa doğrudan travma veya tümörlerin cerrahi olarak çıkarılmasını takiben), hala trofik olan kas denervasyonu koşullarında endikedir. (59)

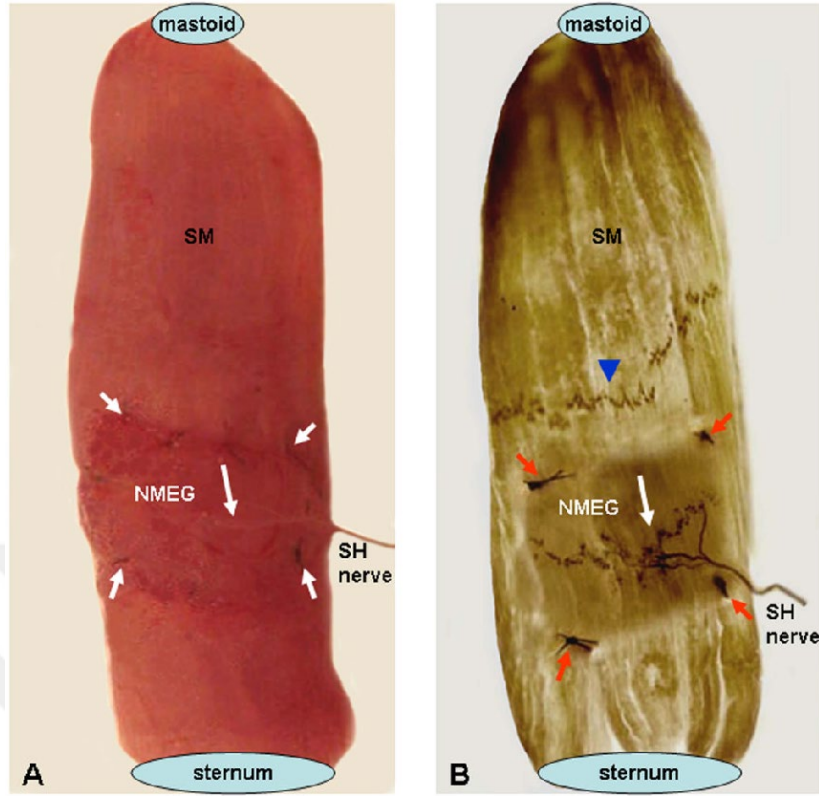
Nörotizasyon, üst ve alt ekstremitenin tüm kaslarında yapılabilir. Brunelli'ye göre, (66) en iyi sonuçlar, kasların nöral kısmının avülsiyonundan sonra bacak ekstansörlerinin doğrudan nörotizasyonunda elde edilir. Bununla birlikte, klinik olarak başarılı reinnervasyon raporları mevcuttur. (67)

Elektromiyografide fibrilasyon olmayan uzun denervasyon süreli olgularda nörotizasyon endike değildir. (65) Ayrıca, önemli kas rezeksiyonu olan veya etkili bir fonksiyon için yetersiz kas kütlesi olan durumlarda kontrendikedir. Sinir yaralanma bölgesinde geniş skar, kas devaskularizasyonu, ileri yaş ve mobilize edilecek eklem şiddetli sertliği durumlarında nörotizasyon uygun değildir. (66)

2.4.3. NMEG Transferi

Kas reinnervasyonu için NMEG prosedürünün geliştirilmesi, komşu bir donör kasından bir NMEG transfer edilerek felçli bir kasın yeniden innerve edilebileceği fikrine dayanmaktadır. Bir sinir dalı ve harcanabilir bir kası innerve eden terminalleri olan sağlıklı bir uç plak bandı, motor fonksiyonunu geri kazandırmak için fonksiyonel olarak daha önemli bir sinirsiz kasa nakledilebilir. Bir dizi kantitatif analizden elde edilen birkaç kanıt dizisi, NMEG prosedürünün fonksiyonel iyileşmeyi (kontrolün %67'si) teşvik etmekle sonuçlandığını göstermiştir. Ancak, tüm kas reinnervasyonu ve tam fonksiyonel iyileşme sağlanamamıştır. Hedef distal kas liflerinin yaklaşık üçte birinin ameliyattan 3 ay sonra reinnerve edilmediği bulunmuştur. Bu bulgular, kısmi kas reinnervasyonunun eksik fonksiyonel iyileşmeden sorumlu olabileceğini düşündürmektedir. (6)

Şekil 7'de sıçanlarda deneysel olarak sternokleidomastoid kas üzerine sternohyoid kas üzerinden alınan bir NMEG transferi görülmektedir.



Şekil 7: Sıçanda sternokleidomastoid kas üzerine sternohyoid kastan yapılan NMEG transferinin ıslak ve boyalı görünümleri

2.4.4. Periferik Sinir Defektlerinin Yönetimi

Periferik sinir hasarlarında; proksimal ve distal uçların devamlılık göstermediği ve arada sinir dokusu kaybı (gap) olduğu durumlarda sinir otogreftleri, sinir konduitleri, sinir allogreftleri ve sinir transferleri gibi farklı tedavi seçenekleri uygulanabilir. (54)

Sinir otogreftleri, organizmanın kendi sinirlerinden birinin feda edilerek donör olarak kullanıldığı ve oluşan gapin doldurulduğu bir yöntemdir. (55)

Sinir transferleri, özellikle üst seviye sinir yaralanmaları sonrası motor alana uzak bölgede yaralanma sonrası sinirin iyileşme süresinin uzun olduğu vakalarda çalışan kasların sinirlerinin çalışmayan kasların sinirlerine aktarılmasıdır. (56)

Sinir konduitleri, rejenere olan aksonların çevre mikroortamından izole edilip aksonal yenilenmeyi hızlandıran materyallerdir. Konduit materyalleri saf bi şekilde kullanılabildiği gibi, içerisine büyüme faktörü, hücre ya da fiberler yerleştirilerek de kullanılabılır. (54)

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. DENEY HAYVANLARI

Çalışmamızda 18 adet, erkek, Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar yaklaşık 10 haftalık iken T.C. Yeditepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 2021/06-6 karar numarası ile etik kurul onayı alınmasını takiben temin edilmiştir. Deney hayvanları, çalışmamız süresince 12 saat aydınlık/karanlık sıklıta tutulmuştur. Standart sıçan yemleri ile beslenip suya sürekli ulaşimleri sağlanmıştır. Sıçanların takip edildiği odanın sıcaklığı yaklaşık 20-22 derece, nem oranı %40 olarak tutulmuştur. Oda filtrasyonunda sorun yaşanmamış olup bulaş engellenmiştir. Çalışmamıza başlamamızdan 2 hafta öncesi itibariyle sıçanlar gözlenmiş olup herhangi bir problem tespit edilmemesiyle birlikte çalışmaya başlanmıştır. Sıçanlar 3'erli gruplar halinde toplamda 6 kafes olacak şekilde takip edilmiştir.

3.2. DENEY GRUPLARININ SINIFLANDIRMASI

Deney hayvanları, önce 6'şarlı şekilde A, B ve C olmak üzere 3 gruba rastgele ayrıldıktan sonra her grup kendi içerisinde yine rastgele 3'erli A1, A2, B1, B2, C1, C2 olmak üzere alt gruplara ayrıldı. Yapılan fizik muayenelerinde deneye engel bir durum olmadığı görölmesini takiben çalışmaya başlandı.

3.3. ÇALIŞMA AKIŞ PLANI VE SÜREÇ

Çalışmamızın 0. gününde 6 gruptaki 18 sıçanın tamamının sağ uyluk posterior bölgeleri traşlanarak %10 povidon iyot solüsyonu ile temizlendi. Sıçanlara veteriner hekimler tarafından genel anestezi (Rompun %2, Bayer, 25 ml ve Keta-Control, Doğa İlaç, 25 ml) verildikten sonra, hazırlanan mavi fonlu platformda uyluk altına destek amaçlı 5 ml enjektör gövdesi yerleştirilerek ışık mikroskopi (Zeiss, Stemi 305) (Şekil 8) altında sağ uyluk posteriordan yaklaşımla vertikal cilt insizyonu yapıldı. (Şekil 9) Gluteus maximus ve biceps femoris kasları arasından transvers ve biceps femoris posterolateralinden vertikal disseksiyonlarla her sıçanda aynı olacak şekilde kas flepleri eleve edildi. (Şekil 10)

Gastroknemius kası medial başının anteromedial seviyesinde siyatik sinir ve nervus peroneus, nervus tibialis ve nervus suralis dalları identifiye edildi. (Şekil 11) Çalışma boyunca bütün sıçanlarda nervus peroneus ve nervus suralis dalları korundu.



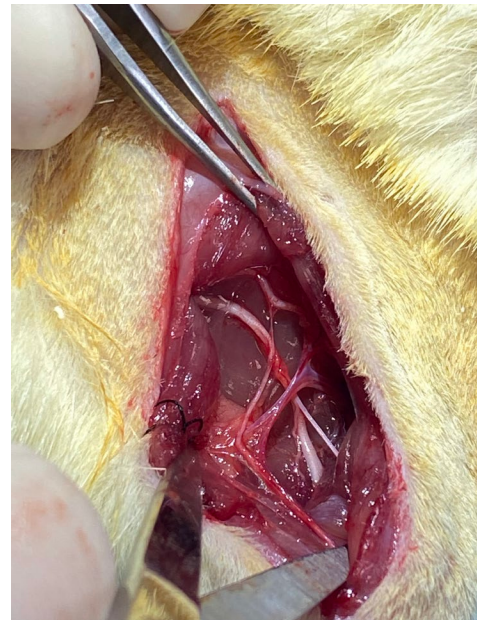
Şekil 8: Çalışmada kullanılan mikroskop ve masa düzeni



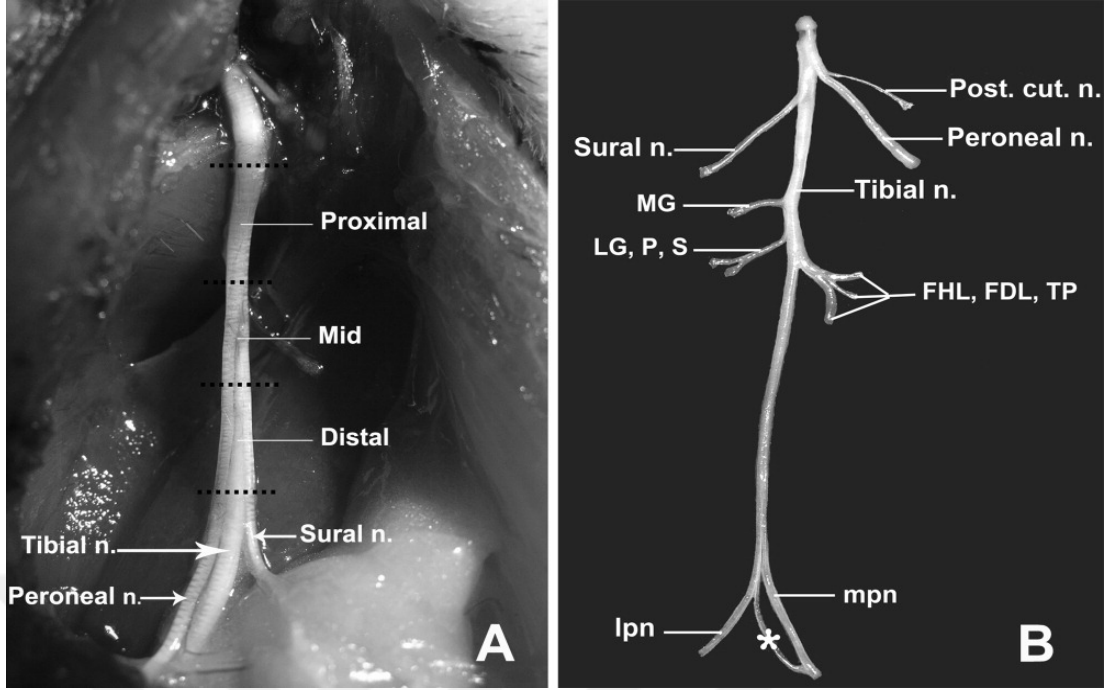
Şekil 9: Yapılan cilt insizyonu ve pozisyonlama



Şekil 10: Kas fleplerinin kaldırılması



Şekil 11: Siyatik sinir ve dallarının anatomik görünümü

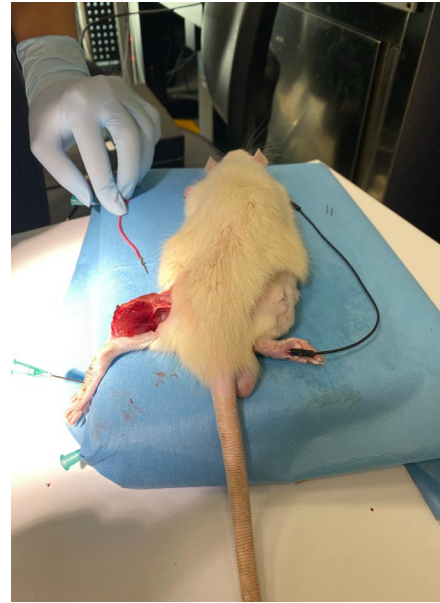


Şekil 12: Sıçan siyatik sinir ve dallarının anatomik görünümü

Sıçanların medial ve lateral gastroknemius kaslarını innerve eden nervus tibialis motor dalları, karşı uylukta stimulus izolatörü yardımıyla (World Precision Instruments, A385 Stimulus Isolator) identifiye edildi. (Şekil 13/14)



Şekil 13: Çalışmada kullanılan stimulus izolatörü

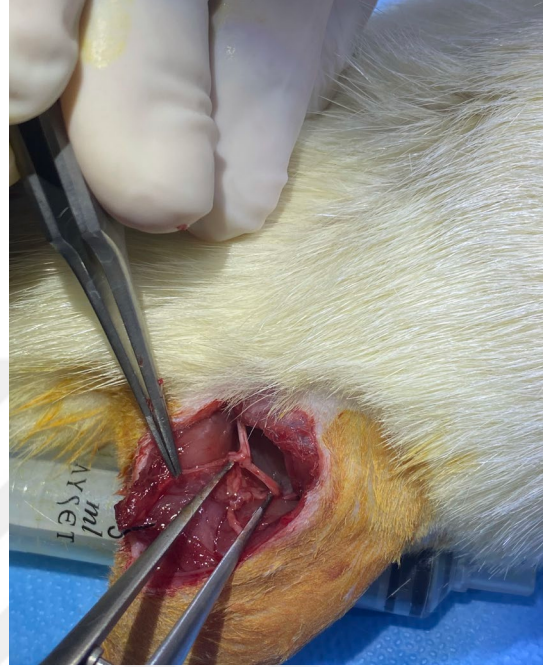


Şekil 14: Stimulus izolatörünün tibial sinir motor dalı üzerinde kullanımı

A1 ve A2 grubundaki sıçanların sağ gastroknemius medial ve lateral başlarına giden nervus tibialis motor dalları, proksimalde 3 mm'lik sinir ucu bırakılacak şekilde kesilerek 10/0 naylon iğne ile epinöral teknikte onarıldı. (Şekil 15/16)



Şekil 15: Gastrokinemius medial başına giden tibial sinir motor dalının epinöral teknikte onarımı



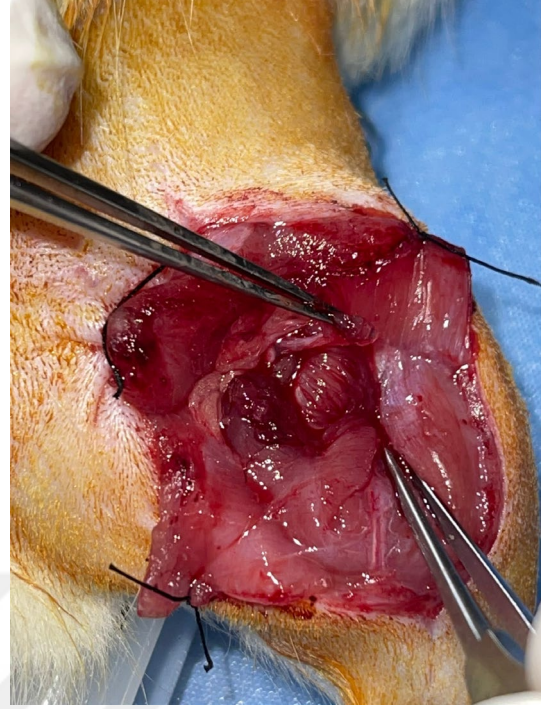
Şekil 16: Gastrokinemius lateral başına giden tibial sinir motor dalının epinöral teknikte onarımı

B1 ve B2 grubundaki sıçanların sağ gastroknemius medial ve lateral başlarına giden nervus tibialis motor dalları, proksimalde 3 mm'lik sinir ucu bırakılacak şekilde kesildi. Gastroknemius kasları üzerinde 6x6 mm çapında epimisyum eksizyonunu takiben sinir proksimalleri 10/0 naylon iğne ile kasa epinöral sütunlarla nörotize edildi. (Şekil 17)

C1 ve C2 grubundaki sıçanların sağ gastroknemius medial ve lateral başlarına giden nervus tibialis motor dalları, kasa girdikleri kısımlara dek disseke edildi. Gastroknemius kasları üzerinde sinirin kasa girdiği kısımda stimulus izolatörü ile tanımlanmış 6x6x2 mm çapında NMEG eksizyonunu takiben, eksizyon alanlarının komşu bölgelerinde 6x6x2 mm kas eksize edildi. Kas eksizyonu yapılan kısımlara NMEG, 10/0 naylon iğne ile transfer edildi. (Şekil 18)



Şekil 17: Gastrokinemius medial başına giden tibial sinir motor dalının nörotizasyonu



Şekil 18: Gastrokinemius lateral başına giden tibial sinir motor dalının transfer edilen kas-sinir son plak grefti (NMEG)

İlk günkü muayene ve yapılan işlemleri takiben sıçanlar gruplandırılarak gözlemlenmek üzere odalarına alındı. 90 gün boyunca sıçanlara günlük olarak değerlendirme yapıldı ve muayenelerinde olağan dışı bir patoloji ile karşılaşılmadı. Çalışmanın 90. gününe kadar ekstra bir müdahale uygulanmaksızın sıçanların takibine devam edildi.

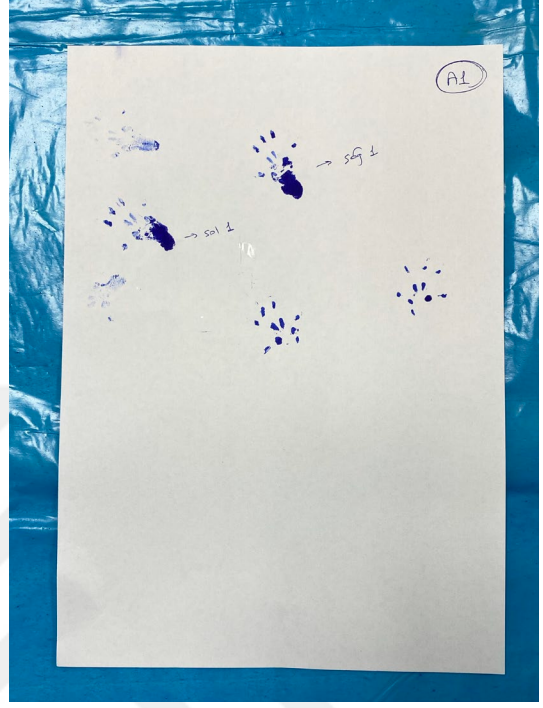
3.4. YÜRÜME TESTİNİN UYGULANMASI

Çalışmanın 90. gününde A, B ve C grubundaki sıçanlara yürüyüş testi yapılmak üzere kontrol amaçlı sol ve enjeksiyon yapılan sağ arka bacakları mürekkep ile boyandı. Takiben 90 cm uzunluğunda ve 60 cm genişliğinde, düz, beyaz, lekesiz ve pürüzsüz kağıt zemin hazırlandı ve zemin stabil olacak şekilde düzenek tabanına sabitlendi.

A, B ve C grubundaki sıçanlar sırası ile yürüyüş testine tabi tutuldu (Şekil 19). Yürüyüş testi yapılan sıçanların arka ayaklarının işaretlediği kağıt zeminler fotoğraflandı (Şekil 20).



Şekil 19: Sıçanların yürüme düzeneği
üzerinde görüntülemesi



Şekil 20: Sıçan ayak izlerinin
görüntülemesi

Sıçanların yürüyüş yaptıkları beyaz zeminler fotoğraflandıktan sonra A, B ve C grupları olarak sınıflandırıldı. Enjeksiyon yapılan sağ arka ve kontrol amaçlı takip edilen sol arka pençe yüzeylerinde topuk-3. parmak, 2-4. parmak ve 1-5. parmak mesafeleri ölçüldü, not alındı ve alt grupların ortalamaları alınarak de Medinaceli kuramına uygun sabitlerle (68) tibial fonksiyon indeksleri değerlendirilerek tablo haline getirildi. (Tablo 4)

Tablo 4: Sıçanların ölçülen tibial fonksiyon indeksleri (TFI)

Gruplar	EPL	NPL	ETS	NTS	EIT	NIT	TFI
ayak A1	37	38	25	28	19	21	-23,35
ayak A2	41,5	35	26	28	11	14,5	-34,17
ayak A3	35	30	27	30	20	20	-25,44
ayak A4	38	39	26,5	29	21	22,5	-19,89
ayak A5	35	24	25,5	26	17	16,5	-26,48
ayak A6	35	36	27	26	12,5	14,5	-10,04
A grubu ortalama	36,92	33,67	26,17	27,83	16,75	18,17	-23,23
ayak B1	40	37	27	29	19	17	-13,65
ayak B2	39	40	28	28	17	18	-10,40
ayak B3	43	35	26	28	16,5	14,5	-18,47
ayak B4	40	36	25	26	18	18	-16,95
ayak B5	39,5	37	26	29	16,5	17	-23,45
ayak B6	38,5	39	29	27	14,5	16,5	-6,12
B grubu ortalama	40,00	37,33	26,83	27,83	16,92	16,83	-14,84
ayak C1	40	36	21	23	18	19	-24,41
ayak C2	37,5	36	25	26	14	16	-20,07
ayak C3	42	40	19	27	8	16	-64,39
ayak C4	44	37	24	29	15,5	18	-40,17
ayak C5	36	36	26,5	27,5	18	16	-6,90
ayak C6	42,5	37,5	19	28	13	16	-55,87
C grubu ortalama	40,33	37,08	22,42	26,75	14,42	16,83	-35,30

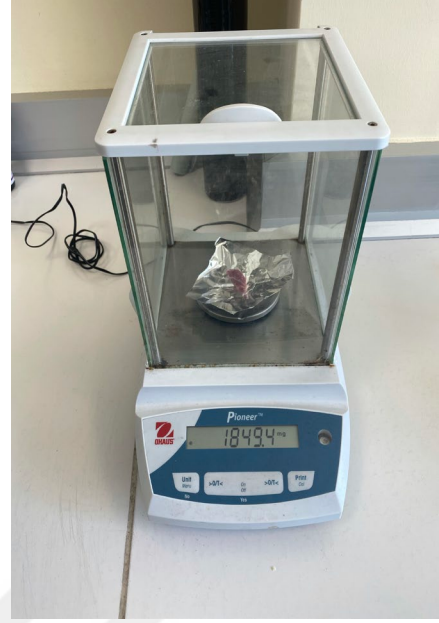
3.5. GASTROKİNEMİUS KAS AĞIRLIKLARININ ÖLÇÜLMESİ

Yürüme testlerini takiben sıçanlar CO₂ tankına alınarak her birine yüksek doz CO₂ verildi ve işlem sonrası servikal dislokasyon yapılarak sıçanlar sakrifiye edildi. Tek bir cerrah tarafından ve her biri mikroskop altında olmak üzere, tüm deney gruplarındaki sıçanların sağ gastrokinemius kasları uygun disseksiyonlarla eksize edildi. (Şekil 21)

Eksize edilen kaslar, yaş ağırlıkları ölçülmek üzere hassas terazide (Ohaus, Pioneer), hassasiyetin sağlanabilmesi adına tabana 3x3 cm genişliğinde alüminyum folyo yerleştirilerek tartıldı. (Şekil 22) Sıçanların sağ gastrokinemius kas ağırlıkları miligram cinsinden ölçüldü, not alındı ve tablo haline getirildi. (Tablo 5)



Şekil 21: Eksize edilen gastroknemius kası



Şekil 22: Gastroknemius kasının yaş ağırlığının hassas terazide ölçülmesi

3.6. GASTROKİNEMİUS KAS GERİMLERİNİN ÖLÇÜLMESİ

Ağırlık ölçümleri sonrasında spesimenler, T.C. Yeditepe Üniversitesi Makine Mühendisliği Bölümü'nden alınan yazılı izinler doğrultusunda, Makine Mühendisliği Bölümü Laboratuvarı'na götürüldü. Burada yer alan gerim makinesi (Instron, 3382) (Şekil 23) tarafından, kasları tutabilmesi adına gerim kollarına birer adet klemp yerleştirilerek, bütün kaslara standart mesafelerden (gerim kolu uzaklıkları kraniyalde ve kaudalde 10 cm, her bir kas için 3 cm gerim aralığı) ve saniye başına standart miktarlarda (5 mm/dk) gerim uygulandı (Şekil 24) ve her bir kasın kraniyokaudal aksta tamamen birbirinden ayrışana dek uygulanan maksimum gerim kuvvetleri, gerim makinesinin bağlı olduğu bilgisayardaki yazılım (Instron, Bluehill Universal Software) aracılığıyla (Şekil 25) Newton cinsinden ölçüldü, not edildi ve tablo haline getirildi. (Tablo 6)

Ölçümleri takiben, ekstrakte edilen kaslar histolojik inceleme amaçlı hazırlandı. Çalışmamızın Yeditepe Üniversitesi kısmı tamamlanmış olup dokuların histolojik incelenmeleri amaçlı T.C. Marmara Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı'na Nakli yapıldı.



Şekil 23: Çalışmada kullanılan gerim makinesi



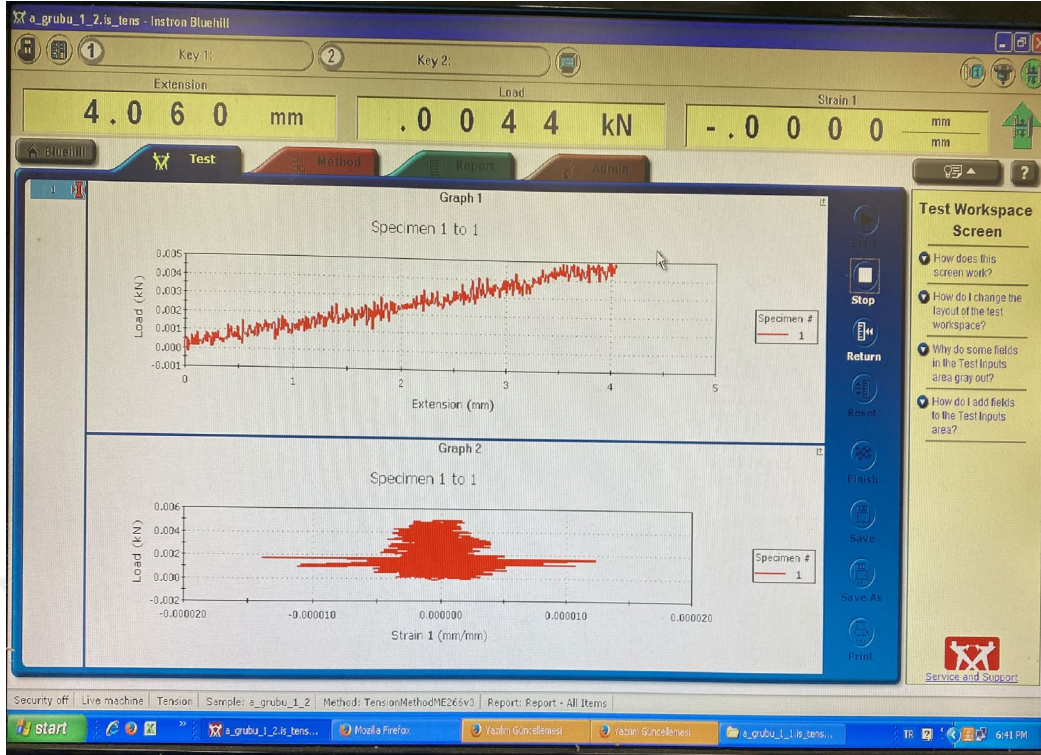
Şekil 24: Gastrokinemius kasına gerim uygulamasının görüntülemesi

Tablo 5: Sıçanların ölçülen gastrokinemius kas ağırlıkları

Gruplar	Kas ağırlığı (mg)
ayak A1	1.849,40
ayak A2	2.248,90
ayak A3	2.160,40
ayak A4	2.016,20
ayak A5	2.499,10
ayak A6	2.348,80
A grubu ortalama	2.187,13
ayak B1	2.092,70
ayak B2	1.717,30
ayak B3	2.061,80
ayak B4	1.658,20
ayak B5	1.712,30
ayak B6	1.525,30
B grubu ortalama	1.794,60
ayak C1	599,10
ayak C2	1.235,00
ayak C3	1.613,40
ayak C4	2.024,50
ayak C5	1.271,30
ayak C6	802,70
C grubu ortalama	1.257,67

Tablo 6: Sıçanların ölçülen gastrokinemius kas gerimleri

Gruplar	Kas gerimi (N)
ayak A1	9,19
ayak A2	13,46
ayak A3	9,52
ayak A4	6,80
ayak A5	7,48
ayak A6	11,73
A grubu ortalama	9,69
ayak B1	4,80
ayak B2	5,90
ayak B3	17,95
ayak B4	6,88
ayak B5	3,38
ayak B6	5,02
B grubu ortalama	7,32
ayak C1	9,14
ayak C2	14,10
ayak C3	5,61
ayak C4	8,45
ayak C5	5,96
ayak C6	20,18
C grubu ortalama	10,57



Şekil 25: Gastrokinemius kasına gerim uygulaması esnasında entegre bilgisayardaki yazılımın ölçümleri

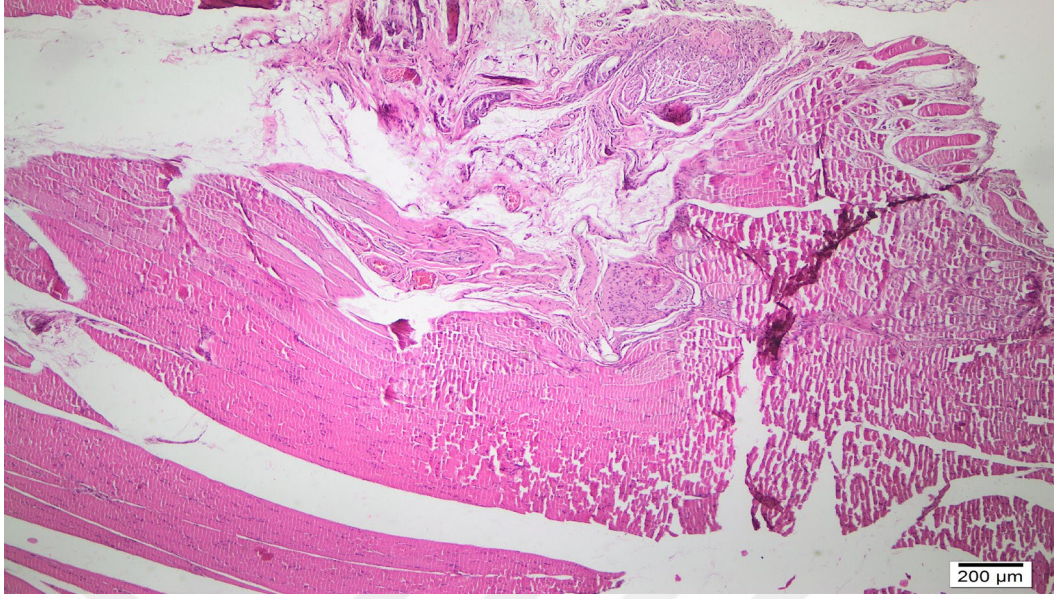
3.7. KASLARIN HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRMESİ

A, B ve C gruplarındaki deney hayvanlarından alınan gastrokinemius kas dokusu örnekleri, %10'luk formalin içerisinde 24 saat korundu. Takiben preparatlar hematoksilin&eoizin (H&E) ve gold klorid boyalarıyla boyanarak ışık mikroskopu altında incelendi ve elde edilen kas-sinir bileşkesi görüntüleri 50, 100 ve 200 μm boyutlarında fotoğraflandı. (Şekil 26/27/28/29) Mikroskop altında büyük büyütme alanında (200 μm) görülen toplam kas lifi sayıları sayıldı, not edildi ve tablo haline getirildi. (Tablo 7)

Çalışmamızda kullanılan histolojik boyaların uygulama protokolleri ile ilgili bilgiler aşağıda verilmiştir.

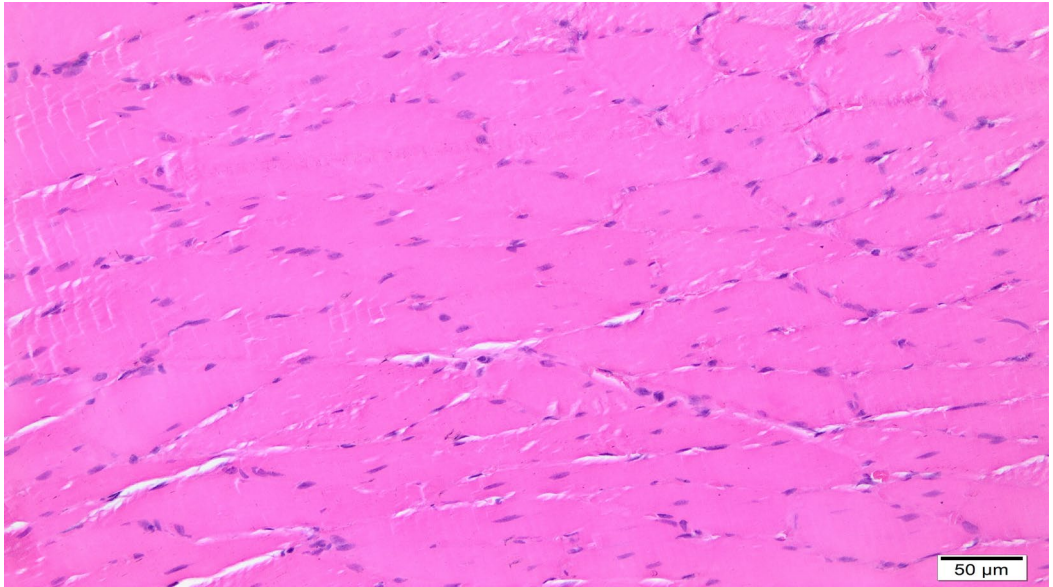
Hematoksilin&eoizin boyama protokolü aşağıdaki gibidir;

- Deparafinizasyon (Ksilen kullanılarak parafinin uzaklaştırılması)
- Dehidrasyon (Etanol ile suyun uzaklaştırılması)
- Hematoksilin solüsyonu uygulaması
- Distile su ile yıkama



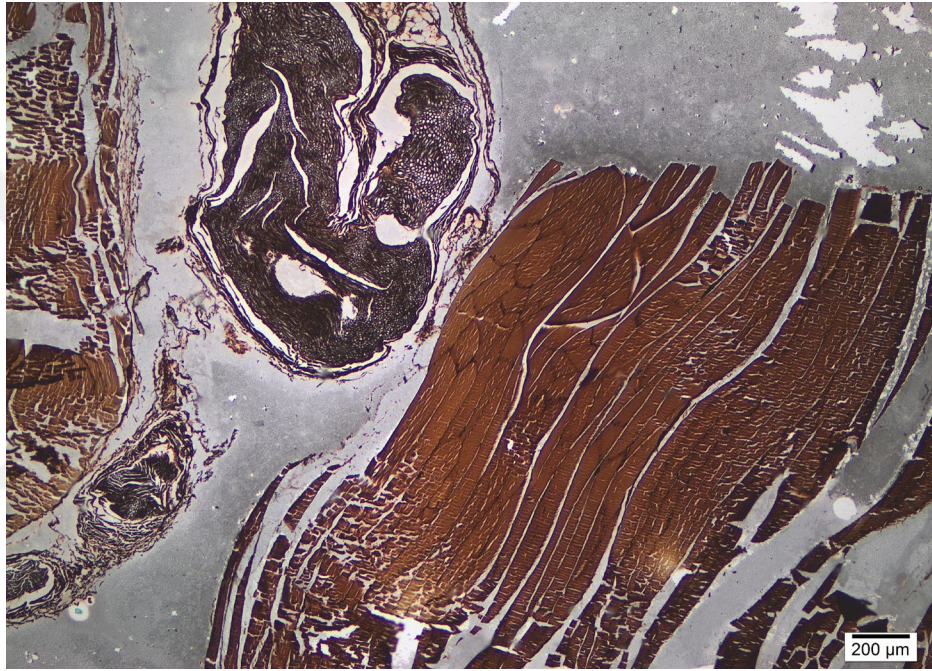
Şekil 26: Kas-sinir kavşağının H&E boyasıyla boyanmasından elde edilen mikroskop görüntüsü

- Asit alkol uygulaması
- Distile su ile yıkama
- Eozin solüsyonu uygulaması
- Dehidrasyon (Etanol ile suyun uzaklaştırılması)



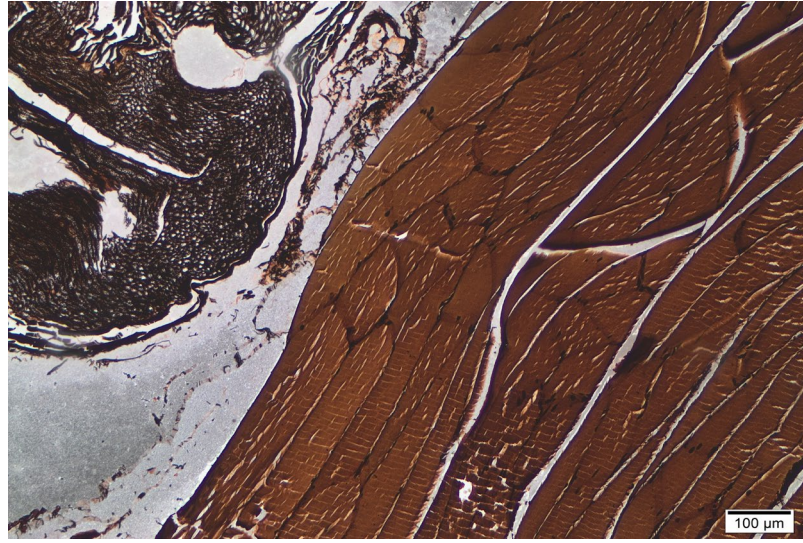
Şekil 27: Kas-sinir kavşağının gold klorid boyasıyla boyanmasından elde edilen mikroskop görüntüsü

- Ksilen ile şeffaf hale getirme
 - Sentetik reçine (Entellan) kullanılarak lamelle kapama
- Gold klorid boyama protokolü aşağıdaki gibidir;
- Deparafinizasyon (Ksilen kullanılarak parafinin uzaklaştırılması)
 - Dehidrasyon (Etanol ile suyun uzaklaştırılması)
 - Hexamethylenetetramine solitun, gümüş nitrat ve sodyum borat bileşenlerinin distile su ile karıştırılması



Şekil 28: Kas-sinir kavşağının gold klorid boyasıyla boyanmasından elde edilen mikroskop görüntüsü

- İnkübasyon (60 °C)
- Soğutma
- Gold klorid uygulaması
- İnkübasyon (60 °C)
- Soğutma
- Duru su ile yıkama
- Sodyum tiyosülfat uygulaması
- Islak kapama



Şekil 29: Kas-sinir kavşağının gold klorid boyasıyla boyanmasından elde edilen mikroskop görüntüsü

Tablo 7: Sıçanların büyük büyütme alanında (200 μm) görülen kas lifi sayıları

Gruplar	BBA kas lifi sayısı
ayak A1	60,00
ayak A2	50,00
ayak A3	58,00
ayak A4	49,00
ayak A5	62,00
ayak A6	47,00
A grubu ortalama	54,33
ayak B1	113,00
ayak B2	50,00
ayak B3	47,00
ayak B4	51,00
ayak B5	56,00
ayak B6	51,00
B grubu ortalama	61,33
ayak C1	53,00
ayak C2	47,00
ayak C3	59,00
ayak C4	51,00
ayak C5	55,00
ayak C6	57,00
C grubu ortalama	53,67

3.8. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Çalışma sonucunda elde edilen veriler değerlendirilerek bütün parametreler istatistiksel olarak tablo haline getirilmiştir. Tablodaki verilerde istatistiksel anlamlılık belirteci olarak p-değerleri vurgulanmıştır. P-değeri<0,05 olması durumunda veriler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Aradaki farklar için non-parametrik Mann Whitney U testi kullanılmıştır. İstatistiksel paket olarak Python SciPy 1.2.1 paketi kullanılmıştır.



4. BULGULAR

4.1 BÜYÜK BÜYÜTME ALANINA DÜŞEN KAS LİFİ SAYILARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

A, B ve C grubundaki hayvanların gastrokinemius kaslarının histopatolojik preparatlarından elde edilen kesitlerinde, ışık mikroskobu altında her bir büyük büyütme alanında (200 μ m) rastgele sayılan gastrokinemius kas lifi ortalamaları birbirleriyle karşılaştırıldığında, gruplar arasında kas lifi sayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. (p-değerleri sırasıyla 0.500, 0.436 ve 0.314)

Tablo 8: Sıçanların büyük büyütme alanında (200 μ m) görülen kas lifi sayılarının istatistiksel analizi

	A Grubu	B Grubu	C Grubu
Ortalama	54,33	61,33	53,67
Std. Sapma	6,41	25,48	4,32
p-değerleri (Mann Whitney U testi)			
A Grubu	0,5		0,436
B Grubu			0,314

4.2. TİBİAL FONKSİYON İNDEKSLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

B grubundaki hayvanlarda ölçülen ortalama TFI değeri (-14,84), A grubu ve C grubundaki hayvanların ortalamalarından (-23,23 ve -35,3) istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde büyüktür. (p-değerleri sırasıyla 0,046 ve 0,033) A grubundaki hayvanlarda ölçülen ortalama TFI değeri (-23,23), C grubundaki hayvanların ortalamasından (-35,3) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde farklı değildir. (p-değeri 0,236)

Tablo 9: Sıçanların ölçülen tibial fonksiyon indekslerinin (TFI) analizi

	A Grubu	B Grubu	C Grubu
Ortalama	-23,23	-14,84	-35,3
Std. Sapma	8	6,15	22,14
p-değerleri (Mann Whitney U testi)			
A Grubu	0,046		0,236
B Grubu			0,033

4.3. GASTROKİNEMİUS KAS AĞIRLIKLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

C grubundaki hayvanlarda ölçülen ortalama kas ağırlığı (1257,67), A grubu ve B grubundaki hayvanların ortalamalarından (2187,13 ve 1794,6) istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde küçüktür. (p-değerleri sırasıyla 0,007 ve 0,023) B grubundaki hayvanlarda ölçülen ortalama kas ağırlığı (1794,6), A grubundaki hayvanların ortalamasından (2187,13) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde küçüktür. (p=0,015)

Tablo 10: Sıçanların ölçülen gastroknemius kas ağırlıklarının analizi

	A Grubu	B Grubu	C Grubu
Ortalama (mg)	2187,13	1794,6	1257,67
Std. Sapma	292,93	229,84	520,77
p-değerleri (Mann Whitney U testi)			
A Grubu	0,015		0,007
B Grubu			0,023

4.4. GASTROKİNEMİUS KAS GERİMLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

B grubundaki hayvanlarda ölçülen ortalama yük (7,32), A grubundaki hayvanların ortalamasından (9,7) istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde küçüktür. ($p=0,046$) B grubundaki hayvanlarda ölçülen ortalama yük (7,32), C grubundaki hayvanların ortalamasına (10,57) göre daha küçük bulunmuştur ve bu fark istatistiksel olarak %5 seviyesinde anlamlı olmasa da, $p=0,064$ olarak ölçülen bu fark anlamlı kabul edilebilir. A grubundaki hayvanlarda ölçülen ortalama yük (9,7), C grubundaki hayvanların ortalamasından (10,57) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde farklı değildir. ($p=0,405$)

Tablo 11: Sıçanların ölçülen gastrokinemius kas gerimlerinin analizi

	A Grubu	B Grubu	C Grubu
Ortalama (N)	9,7	7,32	10,57
Std. Sapma	2,53	5,34	5,61
p-değerleri (Mann Whitney U testi)			
A Grubu		0,046	0,405
B Grubu			0,064

5. TARTIŞMA

Periferik sinir hasarı, sıklıkla travma sonrasında karşılaşılabilen ve etkileri kronikleşebilen bir yaralanma çeşididir. Cerrahi sinir onarımlarından sonra sağlıklı bir nöral reinnervasyon ve tatmin edici fonksiyonel sonuçlar elde etmek her zaman olası değildir. (2) Kronik yaralanmalar ve gecikmiş sinir onarımları, reinnervasyon sürecinde hastanın ve cerrahın işini zorlaştırmaktadır. Ayrıca travmanın şiddetine ve biçimine bağlı olarak da kaliteli bir reinnervasyon her zaman mümkün olmayabilmektedir (3). Sinir hasarı sonrasında, yeterli sinir dokusu ve hasar bölgesinde ideal bir gerginlik mevcut ise ilk tercih edilen onarım yöntemi sıklıkla epinöral onarım olmaktadır. (53) Ancak her zaman uygun bir onarım alanı elde edilemeyebilir. Böyle durumlarda özellikle motor fonksiyonun korunabilmesi adına proksimal sinir ucunun, sinirin innerve ettiği motor kaslara direkt nörotizasyonu ile kısmi motor yanıt elde edilebildiğine dair araştırmalar mevcuttur. (67) Aynı şekilde özellikle son dönemde yapılan laboratuvar çalışmalarında, yeterli bir proksimal sinir ucu mevcut değilse; komşu kas grubunda feda edilebilir sinir-kas son plaklarının, travmaya uğrayan sinirin innerve ettiği motor kaslara transfer edilmesiyle yine kısmi motor yanıt elde edilebildiği gösterilmiştir. (6) Bu transferler ve direkt motor nörotizasyon seçeneklerinin kullanımı ile, hasara uğrayan sinir uygun olmayan rejenerasyonu ile hatalı reinnervasyonların da nispeten azalabileceği ve cerrahi sonrasında istenmeyen etkilerin görülme sıklığının azalabileceği de öne sürülmektedir. (51)

Çalışmamızda deney hayvanı olarak 18 adet yetişkin, erkek, Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanılmış olup A grubuna epinöral teknikle onarım, B grubuna direkt motor nörotizasyon ile onarım, C grubuna ise NMEG transferi ile onarım yapılmış olup sıçanlar sinir iyileşmesi açısından minimal ideal süre olarak değerlendirilen 90 gün sonra tekrar değerlendirilmiştir. A, B ve C grupları birbirleriyle kıyaslanmış olup nörotizasyon ve NMEG transferinin sıçanlarda oluşturduğu etkilerden yürüyüş testi ile tibial fonksiyon indeksleri, yaş gastrokinemius kas ağırlıklarının kıyaslanması, kaslara uygulanan maksimal gerim kuvvetleri ve histolojik preparatların değerlendirilmesi yapılmıştır.

Histolojik olarak çekirdek sayıları ve yerleşimleri ile poligonal kas fiberlerinin renkleri ve hacimleri değerlendirildi. Bu parametreler incelendiğinde preparatlar arasında farklı gruplarda anlamlı bir fark bulunmadığı saptandı. Tüm grup üyelerinin histolojik preparatlarında izlenen interstisyel ödem, sinir iyileşme sürecinde reinerve edilen kasların kısmi denervasyonuna bağlı atrofiyle ilişkilendirildi. Her 3 grupta büyük büyütme alanında izlenen kas lifi sayıları ve ortalamaları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi. Bunun, sinir hasarına bağlı erken dönemde oluşan kas atrofisinin onarım tekniklerinden bağımsız olarak meydana gelmesinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Sinir onarımı sonrası kaslarda rejenerasyon kapasitesinin sınırlı olması bu anlamda göz önüne alınabilir.

Sıçanların yürüme testleri ve arka pençe izlerinden ölçülen ayak izlerinden elde edilen veriler doğrultusunda yapılan tibial fonksiyon indeksi (TFI) ölçümlerinde; nörotizasyon ile onarım yapılan B grubunda, A ve C gruplarına kıyasla TFI'nin anlamlı ölçüde yüksek çıktığı tespit edilmiştir. A ve C grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Tibial fonksiyon indeksi, tibial sinir motor dalının işleyişinin değerlendirilmesini sağlar. Bu indeksin yüksekliği, tibial sinirin sağlıklı reinnervasyonu sonucunda motor fonksiyonların ne ölçüde korunduğu noktasında bize fikir oluşturmaktadır. (68) Literatürde bu indekse yönelik bilgiler mevcut olsa da, sinir hasarı modellerinin kıyaslandığı herhangi bir çalışmada değerlendirildiğine dair bir kanıt bulunamamıştır. Çalışmamızda elde ettiğimiz veri, direkt motor nörotizasyon ile onarım yapıldığında sinirin innerve ettiği kas grubundaki motor fonksiyonun epinöral onarıma göre daha iyi sonuçlar verebileceğini göstermektedir.

Sıçanların gastrokinemius kaslarının yaş ağırlıklarının değerlendirmelerine göre; epinöral onarım yapılan A grubundaki kasların yaş ağırlıkları, B ve C gruplarına göre anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Aynı şekilde nörotizasyon ile onarım yapılan B grubundaki kasların yaş ağırlıkları, C grubuna göre anlamlı ölçüde yüksektir. McGowan'ın yaptığı çalışmaya göre sinir hasarlarına bağlı kas denervasyonlarında, kas kütlesi azalır ve atrofi görülür. (17) Kasın ideal bir motor innervasyonu durumunda kütlesi korunacaktır. Çalışmamızda elde ettiğimiz veri bize göstermektedir ki; kas kütlesinin korunumu açısından en verimli tedavi seçeneği epinöral onarım gibi

görünse de, NMEG transferi ile kıyaslandığında direkt motor nörotizasyon ile onarımda daha yüksek kas kütlesi elde edilebilmektedir.

Sıçanların gastrokinemius kaslarına uygulanan gerim kuvvetlerine karşı dayanıklılıkları incelendiğinde; direkt motor nörotizasyon ile onarım yapılan B grubundaki maksimal yük değeri, A ve C gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük görülmüştür. Ancak NMEG transferi ile onarım yapılan C grubundaki kasların dayanabildikleri yük değeri ile epinöral onarım yapılan A grubundaki kasların dayanabildikleri yük değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Sobotka ve ark. yaptığı araştırmalarda (6) NMEG transferinin diğer sinir onarım modellerine alternatif oluşturabileceğine dair görüş belirtilmekte olsa da bizim çalışmamızda bu prosedürün uygulanması ile incelediğimiz herhangi bir değişkende diğer onarım modellerine göre anlamlı bir avantaj bulunamamıştır. Çalışmamızda elde ettiğimiz veriye göre; nörotizasyon ile onarım yapılan kas grubunun üzerine uygulanan yüke karşı dayanıklılığı azalmış olsa da, NMEG transferi ile onarım yapılan kas grubunun üzerine uygulanan yüke dayanıklılığı, standart onarım protokolü olan epinöral onarım ile benzerdir.

6. SONUÇ

Çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler bize göstermektedir ki; geleneksel onarım yöntemi olan primer nörorafi diğer seçeneklerle karşılaştırıldığında ilk tedavi seçeneği olma özelliğini korumaktadır. Özellikle ezilme ve transeksiyon yaralanmaları gibi epinöral onarımın mümkün olamayabileceği, travmatik sinir hasarı durumlarında; farklı parametrelerde NMEG transferine ve standart onarım protokolü olan epinöral onarıma karşı üstünlüğü olduğu görülen direkt motor nörotizasyonun bir tedavi alternatifi olarak umut vaad ettiğini; NMEG transferinin ise daha kapsamlı araştırmalara açık olduğunu düşünmekteyiz. Bu seçeneklerin özellikle endikasyonlar karşılandığında klinik kullanımlarının yaygınlaşabileceğini ve çalışmamızın rehberliğinde yeni araştırmalara konu olma potansiyeli taşıdığı görülmektedir.

7. KAYNAKLAR

- 1- Hill C, Riaz M, Mozzam A, Brennen MD (1998) A regional audit of hand and wrist injuries. A study of 4873 injuries. *J Hand Surg* 23(2):196–200
- 2- Noble J, Munro CA, Prasad VS, Midha R, Analysis of upper and lower extremity peripheral nerve injuries in a population of patients with multiple injuries. *J Trauma* 1998;45:116–122
- 3- Atkins S, Smith KG, Loescher AR, Boissonade FM, O’Kane S, Ferguson MWJ, Robinson PP, Scarring impedes regeneration at sites of peripheral nerve repair. *Neuroreport* 2006;17:1245–1249.
- 4- Rasulic L (2017) Current concept in adult peripheral nerve and brachial plexus surgery. *J Brachial Plexus Peripher Nerv Injury* 12(1):e7–e14
- 5- Noordin, S., Ahmed, M., Rehman, R., Ahmad, T., & Hashmi, P. (2008). Neuronal regeneration in denervated muscle following sensory and muscular neurotization. *Acta Orthopaedica*, 79(1), 126–133.
- 6- Sobotka, S., & Mu, L. (2015). Muscle reinnervation with nerve-muscle-endplate band grafting technique: correlation between force recovery and axonal regeneration. *Journal of Surgical Research*, 195(1), 144–151.
- 7- Menorca, R. M. G., Fussell, T. S., & Elfar, J. C. (2013). Nerve Physiology. *Hand Clinics*, 29(3), 317–330.
- 8- Wang, M. L., Rivlin, M., Graham, J. G., & Beredjiklian, P. K. (2018). Peripheral nerve injury, scarring, and recovery. *Connective Tissue Research*, 1–7.
- 9- Jobe MT, Martinez SF. Peripheral nerve injuries. In: Canale ST, Beaty JH, editors. *Campbell’s operative orthopaedics*. 12th edition. Philadelphia: Elsevier; 2013. p. 3063–5. Ch 62D.
- 10- Berde CB, Strichartz GR. Local anesthetics. In: Eriksson I, Fleisher LA, Wiener-Kronish JP, et al, editors. *Miller’s anesthesia*. 7th edition. Maryland Heights, MO: Churchill Livingstone, An Imprint of Elsevier; 2009.
- 11- Miner JR, Paris PM, Yealy DM. Pain management. In: Marx JA, Hockberger RS, Walls RM, et al, editors. *Mark Rosen’s emergency medicine*. 7th edition. 2010.
- 12- Rydevik B, Lundborg G. Permeability of intraneural microvessels and perineurium following acute, graded experimental nerve compression. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1977;11:179–87.
- 13- Seddon HJ. Three types of nerve injury. *Brain* 1943; 66:237.
- 14- Mackinnon SE, Dellon AL. *Surgery of the peripheral nerve*. New York: Thieme; 1988.
- 15- Sunderland S. A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. *Brain* 1951;74: 491–516.
- 16- Thomas PK, Holdorff B. Neuropathy due to physical agents. In: Dyck PJ, Thomas PK, Griffin JW, editors. *Peripheral neuropathy*. 3rd edition. Philadelphia: W.B. Saunders; 1993. p. 990.
- 17- McGowan A. The results of transposition of the ulnar nerve for traumatic ulnar neuritis. *J Bone Joint Surg Br* 1950;32B:293–301.

- 18- Dellon AL, Mackinnon SE, Seiler WA. Susceptibility of the diabetic nerve to chronic compression. *Ann Plast Surg* 1988;20:117–9.
- 19- Nishimura T, Hirata H, Tsujii M, et al. Pathomechanism of entrapment neuropathy in diabetic and nondiabetic rats reared in wire cages. *Histol Histopathol* 2008;23:157–66.
- 20- Tsao B, Boulis N, Bethoux F, et al. Trauma of the nervous system, peripheral nerve trauma. In: Daroff RB, Fenichel GM, Jankovic J, et al, editors. *Bradley's neurology in clinical practice*. 6th edition. 2012. p. 984–1001.
- 21- Zochodne DW, Levy D. Nitric oxide in damage, disease and repair of the peripheral nervous system. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2005;51:255–67.
- 22- Aguayo AJ, Peyronnard JM, Bray GM. A quantitative ultrastructural study of regeneration from isolated proximal stumps of transected unmyelinated nerves. *J Neuropathol Exp Neurol* 1973; 32:256–70.
- 23- Sanders FK, Young JZ. The influence of peripheral connection on the diameter of regenerating nerve fibers. *J Exp Biol* 1946;22:203–12.
- 24- Griffin JW, Hoffman PN. Degeneration and regeneration in the peripheral nervous system. In: Dyck PJ, Thomas P, editors. *Peripheral neuropathy*. Philadelphia: WB Saunders; 1993.
- 25- Campbell WW. Evaluation and management of peripheral nerve injury. Invited review. *Clin Neurophysiol* 2008;119:1951–65.
- 26- Lunn ER, Brown MC, Perry VH. The pattern of axonal degeneration in the peripheral nervous system varies with different types of lesion. *Neuroscience* 1990;35:157–65.
- 27- George R, Griffin JW. The proximo-distal spread of axonal degeneration in the dorsal columns of the rat. *J Neurocytol* 1994;23(11):657–67.
- 28- Miledi R, Slater CR. On the degeneration of rat neuromuscular junctions after nerve section. *J Physiol* 1970;207(2):507–28.
- 29- Jones R, Vrbova G. Two factors responsible for the development of denervation hypersensitivity. *J Physiol* 1974;236(3):517–38.
- 30- Charlton MP, Atwood HL. Modulation of transmitter release by intracellular sodium in squid giant synapse. *Brain Res* 1977;134(2):367–71.
- 31- Michalski B, Bain JR, Fahnstock M. Long-term changes in neurotrophic factor expression in distal nerve stump following denervation and reinnervation with motor or sensory nerve. *J Neurochem* 2008;105(4):1244–52.
- 32- Dieu T, Johnstone BR, Newgreen DF. Genes and nerves. *J Reconstr Microsurg* 2005;21:179–86.
- 33- Tetzlaff W, Bisby MA. Neurofilament elongation into regenerating facial nerve axons. *Neuroscience* 1989;29(3):659–66.
- 34- Tetzlaff W, Alexander SW, Miller FD, et al. Response of facial and rubrospinal neurons to axotomy: changes in mRNA expression for cytoskeletal proteins and GAP-43. *J Neurosci* 1991;11(8): 2528–44.
- 35- Fu SY, Gordon T. The cellular and molecular basis of peripheral nerve regeneration. *Mol Neurobiol* 1997;14(1–2):67–116.

- 36- Costigan M, Mannion RJ, Kendall G, et al. Heat shock protein 27: developmental regulation and expression after peripheral nerve injury. *J Neurosci* 2005;21:2051–62.
- 37- Lewis SE, Mannion RJ, White FA, et al. A role for HSP27 in sensory neuron survival. *J Neurosci* 1999;19(89):45–53.
- 38- Burnett MG, Zager EL. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. *Neurosurg Focus* 2004;16:1–7.
- 39- Dahlin LB. Nerve injury and repair: from molecule to man. In: Slutsky DJ, Hentz VR, editors. *Peripheral nerve surgery: practical applications in the upper extremity*. Philadelphia: Churchill Livingstone, Elsevier; 2006. p. 1–22.
- 40- Geraldo S, Gordon-Weeks PR. Cytoskeletal dynamics in growth-cone steering. *J Cell Sci* 2009; 122(20):3595–604.
- 41- Jin LQ, Zhang G, Jamison C Jr, et al. Axon regeneration in the absence of growth cones: acceleration by cyclic AMP. *J Comp Neurol* 2009;515(3): 295–312.
- 42- Marx J. Helping neurons find their way. *Science* 1995;268:971–3.
- 43- Goodman CS. Mechanisms and molecules that control growth cone guidance. *Annu Rev Neurosci* 1996;19:341–77.
- 44- Tuttle R, O’Leary DD. Neurotrophins rapidly modulate growth cone response to the axon guidance molecule, collapsin-1. *Mol Cell Neurosci* 1998;11:1–8.
- 45- Frostick SP, Yin Q. Schwann cells, neurotrophic factors, and peripheral nerve regeneration. *Microsurgery* 1998;18:397–405.
- 46- Pham K, Gupta R. Understanding the mechanisms of entrapment neuropathies. Review article. *Neurosurg Focus* 2009;26(2):E7.
- 47- Hall S. Axonal regeneration through acellular muscle grafts. *J Anat* 1997;190:57–71.
- 48- Davis JB, Stroobant P. Platelet-derived growth factors and fibroblast growth factors are mitogens for rat Schwann cells. *J Cell Biol* 1990; 110:1353–60.
- 49- Guenard V, Dinarello CA, Weston PJ, et al. Peripheral nerve regeneration is impeded by interleukin-1 receptor antagonist released from a polymeric guidance channel. *J Neurosci Res* 1991;29:396–400.
- 50- Vrbova G, Mehra N, Shanmuganathan H, et al. Chemical communication between regenerating motor axons and Schwann cells in the growth pathway. *Eur J Neurosci* 2009;30(3):366–75.
- 51- Gordon, T. (2020). Peripheral Nerve Regeneration and Muscle Reinnervation. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), 8652.
- 52- Panagopoulos GN, Megaloikonomos PD, Mavrogenis AF (2017) The present and future for peripheral nerve regeneration. *Orthopedics* 40(1):e141–e156.
- 53- Hirasawa Y (1996) Peripheral nerve suture. *J Orthop Sci* 39. 1(3):214–229.
- 54- Kline DG, Hudson AR, Bratton BR (1981) Experimental study of fascicular nerve repair with and without epineurial closure. *J Neurosurg* 54(4):513–520
- 55- Snyder C (1981) Epineurial repair. *Orthop Clin N Am* 12(2):267
- 56- Sunderland S (1968) Nerves and nerve injuries. E&S Livingstone Ltd, Edinburgh

- 57- Hakstian RW (1968) Funicular orientation by direct stimulation. An aid to peripheral nerve repair. J Bone Joint Surg Am Vol 50(6):1178–1186
- 58- Leung P-C, Gu Y, Ikuta Y (1995) Microsurgery in orthopaedic practice. World Scientific
- 59- Meals RA, Nelissen RG. The origin and meaning of ‘neurotization’. J Hand Surg Am 1995;20(1):144–146
- 60- Hacker V. Erfolgreich operativ behandelte cucullarislähmung. Wien Klin Wchnschr 1908;21(2):1314
- 61- Sorbie C, Porter TL. Reinnervation of paralysed muscles by direct motor nerve implantation. An experimental study in the dog. J Bone Joint Surg Br 1969;51(1):156–164
- 62- Park DM, Shon SK, Kim YJ. Direct muscle neurotization in rat soleus muscle. J Reconstr Microsurg 2000;16(5):379–383
- 63- Askar I, Sabuncuoglu BT, Yormuk E, Saray A. The fate of neurotization techniques on reinnervation after denervation of the gastrocnemius muscle: an experimental study. J Reconstr Micro- surg 2001;17(5):347–355, discussion 355–356
- 64- Dy CJ, Kitay A, Garg R, Kang L, Feinberg JH, Wolfe SW. Neurotization to innervate the deltoid and biceps: 3 cases. J Hand Surg Am 2013;38(2):237–240
- 65- Brunelli G, Monini L, Antonucci A, et al. Neurotizzazione in zona aneurale di muscoli denervati. Policlinico 1976;83:611–616
- 66- Wallace, R., & Konofaos, P. (2015). Basic Science of Muscle Neurotization: A Review. Journal of Reconstructive Microsurgery, 31(07), 481–486.
- 67- Becker M, Lassner F, Fansa H, Mawrin C, Pallua N. Refinements in nerve to muscle neurotization. Muscle Nerve 2002;26(3):362–366
- 68- De Medinaceli, L., Freed, W. J., & Wyatt, R. J. (1982). An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. Experimental Neurology, 77(3), 634–643.