

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI**

**RATLARDA DENEYSEL SİYATİK SİNİR TAM KAT
KESİSİNDE SENTETİK VASKÜLER GREFT VE KÖK HÜCRE
UYGULAMASININ NÖRAL DOKU İYİLEŞMESİ ÜZERİNE
ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. ALİ YILMAZ

DANIŞMAN

PROF. DR. BAYRAM ÇIRAK

DENİZLİ-2012

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI**

**RATLARDA DENEYSEL SİYATİK SİNİR TAM KAT
KESİSİNDE SENTETİK VASKÜLER GREFT VE KÖK HÜCRE
UYGULAMASININ NÖRAL DOKU İYİLEŞMESİ ÜZERİNE
ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. ALİ YILMAZ

DANIŞMAN

PROF. DR. BAYRAM ÇIRAK


DENİZLİ-2012

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. M. Erdal COŞKUN/ Doç. Dr. Bayram ÇIRAK danışmanlığında Dr. Ali Yılmaz tarafından yapılan “Ratlarda Deneysel Siyatik Sinir Tam Kat Kesisinde Sentetik Vasküler Greft ve Kök Hücre Uygulamasının Nöral Doku İyileşmesi Üzerine Etkileri” başlıklı tez çalışması 09.03/2012 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

Prof. Dr. Bayram ÇIRAK



ÜYE

Prof. Dr. M. Erdal Coşkun



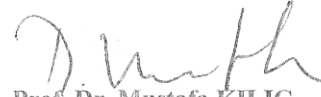
ÜYE

Doç. Dr. Feridun ACAR



Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

09.03/2012



Prof. Dr. Mustafa KILIÇ

Pamukkale Üniversitesi

Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yapılabilmesinde büyük katkıları olan, fikir aőamasından itibaren her basamakta bilimsel ve teknik bilgilerinden faydalandığım, tez danışmanlarım Sayın Prof. Dr. Bayram ırak ve Prof. Dr. Mehmet Erdal Coşkun'a sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Aynı zamanda, tez çalıőmalarım sırasında, değerli gürüşlerini ve hoşgürülerini esirgemeyen Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Feridun Acar'a, asistanlığımın ilk yıllarında beraber çalışma őansını yakaladığım sayın Prof. Dr. Kadir Tahta ve Prof. Dr. Tuncer Süzer'e, EMG konusunda yardımını esirgemeyen Nöroloji ABD Öğretim üyelerine, Kök Hücre elde edilmesinde ve elektron mikroskobisinde emeği geçen Histoloji ve Embiryoloji ABD Öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Gülçin Abban ve Gazi Üniversitesi Histoloji ve Embiryoloji ABD. Öğretim üyelerine, çalışmanın gerçekleőtirildięi Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakóltesi Laboratuar Hayvanları Yetiőtirme ve Deneysel Araştırma Merkezinin tüm çalıőanlarına ve desteklerini her zaman hissettiğim tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Dr. Ali YILMAZ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ONAY SAYFASI.....	III
TEŞEKKÜR.....	IV
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	V
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLOLAR DİZİNİ.....	X
ÖZET.....	XI
SUMMARY.....	XIII
GİRİŞ.....	1
PERİFERİK SİNİR SİSTEMİ ANATOMİSİ.....	2
PERİFERİK SİNİR SİSTEMİ MİKROVASKÜLER ANATOMİSİ.....	7
PERİFERİK SİNİR SİSTEMİ YARALANMALARI.....	8
PERİFERİK SİNİR SİSTEMİ CERRAHİSİ.....	11
Tarihçe	11
Onarım Teknikleri.....	12
Sinir dejenerasyon ve rejenerasyonu	14
KÖK HÜCRE TERAPİSİ.....	17
Kök Hücre Çeşitleri ve Kaynakları.....	17
Embriyolojik Kök Hücreler.....	17
GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	18
KÖK HÜCRE.....	18
Yenidoğan Umbilikal kordon kanının alınması.....	18
Kordon Kanından CD34+ Kök Hücre Elde Edilmesi.....	19
Elde Edilen Kök Hücrelerin Sayımı.....	20

SİYATİK SİNİR ANATOMİSİ.....	21
SENTETİK VASKÜLER GREFTLER.....	22
ÇALIŞMA GRUPLARI.....	22
CERRAHİ TEKNİK.....	23
DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ.....	26
ELEKTRON MİKROSKOBİSİ.....	26
ELEKTROMYELOGRAFİK DEĞERLENDİRME.....	27
İSTATİKSEL ANALİZ.....	29
BULGULAR.....	29
EMG BULGULARI.....	42
ELEKTRON MİKROSKOBİSİ BULGULARI	44
TARTIŞMA.....	36
SONUÇLAR.....	45
KAYNAKLAR.....	46

ŞEKİL DİZİNİ

	SAYF
	A NO
<i>Şekil 1: Omurilik ve Periferik Sinir Gövdesi</i>	2
<i>Şekil 2: Periferik Sinir Yapısal Anatomisi</i>	4
<i>Şekil 3: Normal Periferik Sinir Anatomisi</i>	5
<i>Şekil 4: Sinir Kılıfları</i>	6
<i>Şekil 5: Periferik Sinirlerin Mikrovasküler Dolaşımı</i>	7
<i>Şekil 6: Periferik Sinir Yaralanmalarının Sınıflandırılması</i>	11
<i>Şekil 7: Sinir Dejenerasyon ve Rejenerasyonu</i>	15
<i>Şekil 8: Umbilikal Kordon Kanının Santrifüjü Sonrası Oluşan Bulutsu Kısım</i>	19
<i>Şekil 9: Hücre Sayımı Öncesi Elde Edilen CD34+ Kök Hücrelerinin Biriktirilmesi</i>	20
<i>Şekil 10: Pozitif Seleksiyon ile Seçilen Hücrelerin Işık Mikroskopunda Sayılması</i>	20
<i>Şekil 11: Sıçan Siyatik Sinir Anatomisi</i>	21
<i>Şekil 12: Siyatik Sinir Disseksiyonu A)Cilt İnsizyonu Planlanması ve Cerrahi Alan Temizliği B)Biceps Femoris Kasının Künt Disseksiyonu ile Sinirin Ortaya Konması</i>	24
<i>Şekil 13: Siyatik Sinir Disseksiyonu ve Çevre Dokulardan Serbestleştirilmesi</i>	24
<i>Şekil 14: Siyatik Sinir Tam Kat Kesisi</i>	25
<i>Şekil 15: Siyatik Sinir Kesi Bölgesini Tam Olarak Kapatacak Şekilde Kesi Bölgesinin Sentetik Vasküler Greft ile Kapatılması</i>	25
<i>Şekil 16: Siyatik Sinir Tam Kat Kesisine Sentetik Vasküler Greft ve Kök Hücre Uygulanması</i>	26
<i>Şekil 17: EMG Cihazı</i>	27
<i>Şekil 18: EMG Yapılan Bir Denek ve Elektrodlar</i>	28
<i>Şekil 19: EMG Şeması</i>	29
<i>Şekil 20: Kontrol Grubu Deneklerde Alınan Siyatik Sinirden Bir Görünüm</i>	32
<i>Şekil 21: Kesi Yarası Oluşturulup Tedavi Uygulanmayan Gruptan Görünüm</i>	32
<i>Şekil 22: Kesi Yarası Oluşturulup Tedavi Uygulanmayan Gruptan Görünüm</i>	33
<i>Şekil 23: Kesi Yarası Oluşturulup Vasküler Greft Uygulanan Gruptan Görünüm</i>	34
<i>Şekil 24: Kesi Yarası Oluşturulup Vasküler Greft ve Kordon Kanı Kökenli Kök Hücreleri(CD34+) Verilen Gruptan Görünüm</i>	35

TABLULAR DİZİNİ

	Sayfa
	No
Tablo 1: Grup içinde sağlam taraf ve dejenere tarafın karşılaştırılması	30
TABLO 2: Üç grubun latans değerlerinin karşılaştırılması	30
TABLO 3: Üç grubun amplütüt değerlerinin karşılaştırılması	31
TABLO 4: Sağlam taraf amplütüt değerinin gruplar arasında karşılaştırılması	31

ÖZET

Ratlarda Deneysel Siyatik Sinir Tam Kat Kesisinde Sentetik Vasküler Greft ve Kök Hücre Uygulamasının Nöral Doku İyileşmesi Üzerine Etkileri

Dr Ali Yılmaz

Periferik sinir yaralanmalarının sebepleri ve tedavi şekilleri hakkında çok sayıda deneysel çalışma yapılmış ve yapılmaktadır. Ne yazık ki sinir yaralanması halen çok önemli bir sağlık ve sosyoekonomik sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Biz bu çalışmamızda sentetik vasküler greft ve insan kordon kanından elde edilmiş kök hücreyi birlikte kullanarak bu soruna alternatif bir tedavi geliştirmeyi amaçladık.

Çalışmamızda 21 adet Wistar tipi dişi sıçan kullanıldı. Ketamin anestezisi kullanıldı ve tüm gruplarda sağ arka extremite de çalışıldı. Grup 1 de sağ siyatik sinire tam kat kesi yapıldı. Grup 2 de sağ siyatik sinire tam kat kesi yapıldı ve kesi bölgesi sentetik vasküler greft ile sarıldı. Grup 3 de sağ siyatik sinire tam kat kesi yapıldı kesi bölgesi kök hücre uygulanmış vasküler greft ile sarıldı.

Postoperatif 12 hafta sonunda deneklere EMG yapıldı. EMG sonucunda sağlam taraf ve dejenere tarafta amplütüt değerleri karşılaştırıldığında; sağlam taraf amplütüt değerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunurken, dejenere taraf amplütüt değerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Daha sonra her üç grubunda kesi bölgesi tekrar açılarak siyatik sinirler kesi alanı ortada olacak şekilde çıkarıldı ve elektron mikroskopisi yapıldı. sonuçlarına bakıldığında kök hücre uygulanan grupta hem akson hem de myelin klif dejenerasyonunu önlediği görüldü.

Bu çalışmada ilk kez periferik sinir rejenerasyonunda sentetik vasküler greft ve kordon kanı kökenli Cd34+ kullanılmıştır. Elektron mikroskopik olarak incelen dokularda Cd34 hücreler kesi yarası oluşturulan grupta hem akson hem de myelin klif dejenerasyonunu önlediği gösterilmiştir. Sinir dokusunun kontrole yakın bir

görünüm sergilediği ve hasarın oldukça aza indiği izlenmiştir. Bu iyileştirici etkinin mekanizması bilinmemekle birlikte ileri çalışmalarda moleküler teknikler yardımıyla açıklığa kavuşturulacaktır.

Anahtar Kelimeler: Siyatik Sinir ,Vasküler Greft,Kök Hücre

SUMMARY

The Effects of Synthetic Vascular Graft and Stem Cell Application to Neuronal Tissue Recovery of Experimental Full Layer Cut of Sciatic Nerve

Dr.Ali Yilmaz

There are many trials concerning peripheral nerve damage causes and treatment options. Unfortunately, nerve damage is still a major problem regarding health, social and economic issues. On this study, we used vascular graft and human cord blood derived stem cells to find an alternative treatment solution to this problem.

We used 21 female Wistar rats on our study. They were anesthetized with ketamine and we studied right hind limbs. On Group 1, we did a full layer cut on the right sciatic nerve. On Group 2, we did a full layer cut on the right sciatic nerve, and we covered synthetic vascular graft on cut area. On Group 3, we did a full layer cut on right sciatic nerve, and we covered the area with stem cell applied vascular graft.

At the end of postoperative 12 weeks, we performed EMG on the rats. When we compared healthy and degenerated areas as a result of EMG, we found significant amplitude differences between the groups on healthy areas whereas there was no significant difference on degenerated areas between the groups. Then we re-opened the operated area again to reveal the sciatic nerve cut area, and we performed electron microscope evaluation. On the stem cell group, we observed that both the axon and the myelin sheet prevented degeneration.

This study is a first on using synthetic vascular graft and cord blood derived CD34+ cells in peripheral nerve degeneration. On the tissues that were examined with electron microscope, we observed that CD34+ cells prevented both axonal and myelin sheath degeneration. Nerve tissue showed similar results to the control group, and the damage was minimal. This recovery effect mechanism is not fully understood, further studies with the help of molecular techniques should be done addressing this issues.

Key Words: Sciatic Nerve, Vascular Graft, Stem Cell

GİRİŞ

Gallen (129-199) tarafından ilk olarak tanımlanan merkezi sinir sisteminden, medulla spinalisteki motor nöronlara, dorsal gangliyonlardaki duyu nöronlara ve sempatik gangliyonlardaki sempatik nöronlara uzanan ve gövdelerinde aksonal uzantılardan oluşan ve sonlandıkları hedef organa göre motor, duyu veya otonomik fonksiyonları olan yapılara periferik sinir sistemi adı verilir (1).

Günümüzde periferik sinir hasarının en sık nedeni travmalardır (2). Yaralanmalar sonrası tedavideki ana amaç, sinir bütünlüğünü tekrar sağlayarak iletimin geri dönüşünü ve kaybolan motor veya duyu fonksiyonları yeniden kazanmaktır. Travma, infeksiyon, iskemik olaylar gibi nedenler sonucu oluşan periferik sinir hasarının cerrahisinde temel prensip, hasarlı alanda skar ve fibrotik dokunun eksize edilmesi ve sinir uçları karşılıklı getirilerek anastomoz edilmesidir. Sonuçta fonksiyonların maksimum düzeyde geri dönüşünü elde etmek için aksonların uygun doğrultuda distale yönlendirmeleri gerekmektedir. Tedavide planlanan yaralanma sonrasında sinir uçları arasında defekt ve gerginlik olmadan bir araya getirilerek primer onarıma olanak sağlamaktadır. Primer onarımın mümkün olduğu durumlarda bile, onarım bölgesinde gelişen fibrozis ve rejenerasyonun epinöriyum dışına çıkmasıyla meydana gelen nöroma oluşumu, rejenerasyonu olumsuz yönde etkileyebilir ve fonksiyonların dönüşü yeterli düzeyde olamayabilir (3).

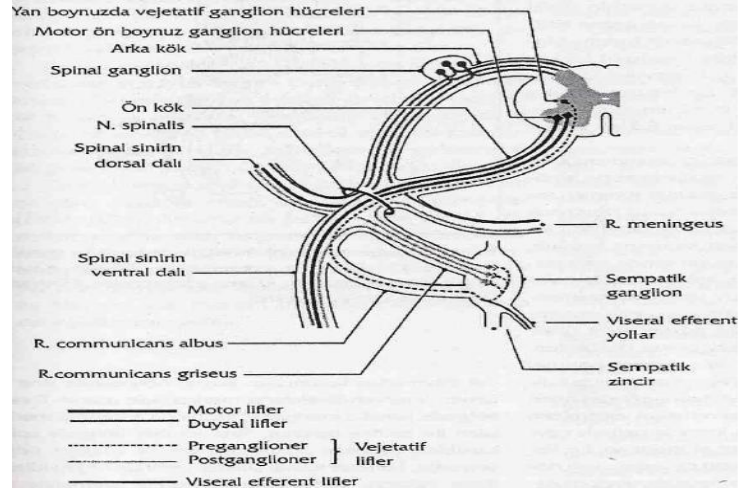
Teknolojideki gelişimin getirdiği aletlerin yaygın kullanımı ile artan periferik sinirleri etkileyen kazalara paralel olarak oluşan bu hasarları gidermek için sayısız çalışma yapılmıştır. Başarıyı arttırmak için teknik yöntemler üzerinde yoğunlaşmış ve farklı onarım teknikleri (4,5,6) ve farklı dikiş materyelleri tanımlanmış (7,8) onarım alanına manyetik alan (9,10), lazer(11), radyasyon(12) veya hiperbarik oksijen uygulaması (13) gibi yöntemler denenmiş; sistemik olarak kullanılan bir çok ilaç veya hormonun (14,15,16) bu alandaki etkisi araştırılmıştır. Benzer şekilde onarım hattındaki kesik sinir uçlarının epinöral tüp (17,18), arter (19), ven (20), faysa

(21), omentum (22), prezerve dura (23), pseudosinovya (24) ve kollajen film (25) gibi non-sentetik materyaller ile sarılması ya da bu amaçla polietilen ve laktat polimerleri (26), tantalyum ve kauçuk (27), silikon (28) gibi materyaller kullanılması denenmiş, fakat rutin klinik uygulamaya geçememiştir. Üzerinde çalışılan bir diğer konu da, aynı amaçla anastomoz sonrası onarım hattına topikal ve sistemik olarak uygulanan tedaviler ile ilgilidir. Tiraoid hormon (29), insan amnion sıvısı (30), hyalüronik asit (31,32), aprotinin (33), trombosit zengin plazma (34), mitomisin C (35), eritropotein (36,37,38,39,40,41,42,43,44), birçok büyüme ve bunlardan biri olan sinir büyüme faktörü (NGF) gibi nörotrofik faktörler (45,46) ve sitokinler (46) bu kapsamda kullanılan maddelerden bazılarıdır.

Biz çalışmamızda hücre esaslı tedavi amaçladık. Hücre esaslı tedavinin amacı hasar gören hücre doku veya organın hasarını tamir etmek ve işlevini tekrar kazandırmaktır. Bu amacı gerçekleştirmek için işlevini tekrar kazanmasına yetecek sayıda ve kalitede özellikleri belirlenmiş insan kordon kanından elde edilmiş kök hücreleri kullandık. Kök hücrenin sadece lezyon oluşturulan sinir dokusuna etki etmesi için lezyon alanını sentetik vasküler greft ile sardık.

PERİFERİK SİNİR SİSTEMİ ANATOMİSİ

Hedef organlara santral sinir sisteminden (SSS) uyarılar taşıyan böylece motor, duyu ve anatomik fonksiyonların düzenlenmesinde görev alan yapıya Periferik Sinir Sistemi (PSS) diyoruz. Ön ve arka spinal köklerin birleşmesinden oluşan periferik sinirler duyu ve motor lifler içerir (şekil 1). Motor, duyu ve otonom olmak üzere üç tip periferik sinir bulunur. Motor sinirlerin hücre gövdeleri medulla spinalisin ön boynuzunda, duyu sinirlerinin hücre ve gövdeleri ise dorsal spinal arka kökler içerisindedir. Otonom sinir sistemine ait nöronlar santral sinir sistemi içinde ve dışında bulunan, nükleus ve ganglionlarda toplanmışlardır.



Şekil 1: Spinal sinir kökleri ve dallarının şematik resmi (Mumenthaler M, Stöhr M, Müler-Vahl H: Spinal Sinir Kök Lezyonlarında Klinik: Periferik Sinir Lezyonları ve Radiküler Sendromlar. 8. Baskı. Börü ÜT (Çeviri Editörü) Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul 2005, S: 113)

Nöronların hücre gövdelerine 'soma' veya 'perikaryon' denir. Hücre gövdesi sinir liflerinin beslenmesini, korunmasını ve devamlılığını sağlayan, kısaca nöronun metabolik ve genetik merkezi olan temel fonksiyonel ünitesidir. Nöronun hücre gövdesi nükleus, nükleus ve protein sentezinden sorumlu apparatus olan Nissle cisimciklerini (ribozomlu=granüllü endoplazmik redikulum) içerir (52). Sitoplazma içerisinde bulunan diğer önemli bir yapı da, dendrit ve aksonların sonlarına kadar uzanan nörofibrillerdir, nörotübül ve nörofilamentlerden oluşur. Metabolitlerin taşınmasında, hücre şeklinin korunması ve desteklenmesinde nörofibriller görev alır (51).

Nöronun bilgi alıcısı olan bölgeleri dendritler ve hücre gövdeleridir. Dendritler, nöronlar arasındaki bağlantının sağlanmasından ve çevreden gelen uyarıların hücre gövdesine iletilmesinden sorumludur. Aksonlar daha uzun ve tek uzantılar olup daha sonra kollara ayrılır ve primer görevi sinirsel uyarıyı periferdeki kas dokusuna aksiyon potansiyeli olarak iletmektir. Aksonlar sıklıkla düzgün konturlu ve üniformdur, aksonların ortalama çapları 1-24 µm arasında değişir, uzunlukları 50 µm'den birkaç metreye kadar uzayabilir. Uzantılarının sayısı, uzunluk ve şekle göre nöronlar; unipolar, bipolar ve multipolar olmak üzere üç grup olarak bulunurlar (51).

Nöronlar 3 temel bölgeye ayrılır: Hücre gövdesi dentritik bölge, Akson, "aksolemma" denilen plazma membranı ile çevrilmiştir ve hücre sitoplazması

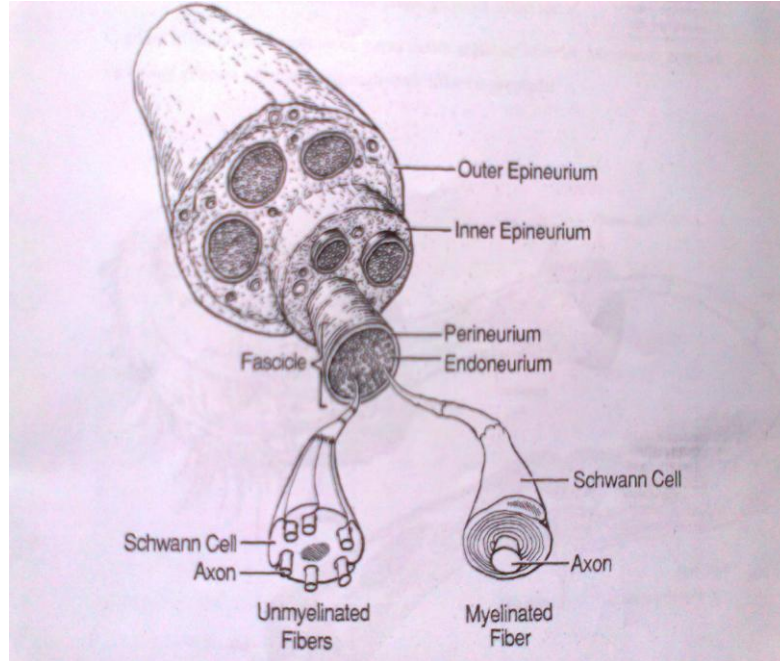
aksonda “aksoplazma” adını alır. Aksonlarda Nissl cisimcikleri bulunmaz, sitoplazma çeşitli proteinler ve nörofilamentler ile mikrotübülleri içerir, bu filament ve tübüller içeren hücre iskeleti “cystokeleton” akson boyunca uzanır. Aksonlar yan dallar verebilir ve bu dallar diğer dendrit, akson ya da perikaryonlar ile sinaps yapar. “Teledendria” olarak adlandırılan bu dallanmalar hücre gövdesine yakın kısımlarda görülmez (51).

Miyelin, merkezi sinir sisteminde oligodendrositler, periferik sinir sisteminde ise Schwann hücreleri (SC) tarafından yapılır. Miyelinli ya da miyelinsiz olabilir sinir lifleri, her sinir lifinde aksonlar mutlaka uç uca dizilmiş Schwann hücreleri ile sarılmışlardır. Miyelinli liflerde her akson tek bir SC tarafından sarılırken, miyelinsiz liflerde bir SC birden fazla aksonu çevreleyebilmektedir (**Şekil 2**). SC’lerinden üretilen ve temel olarak ekstraselüler matriks proteinlerinden (kollojen tip IV ve laminin) oluşan bir bazal membran sinir lifini çevrelemektedir ve bu yapının rejenerasyon için önemi büyüktür (53). SC akson çevresindeki alanda iyon dengesinin sağlanmasına, nörotransmitterlerin dağılımına ve aksolomma boyunca sodyum kanallarının yerleşimine katkıda bulunan hücrelerdir. SC’leri akson çevresinde konantrik karakterde proteofosfolipid bir tabaka olan miyelin kılıfını hazırlar.

Miyelin esas olarak santral sinir sisteminde oligodendrositlerin, periferik sinir sisteminde ise Schwann hücrelerinin plazma membranlarından oluşmaktadır. Gestasyonun 12-18. haftalarında miyelin kılıfı gelişimi başlamakta ve doğum sonrasında da devam etmektedir.

Miyelin içeriği diğer plazma membranlarına benzemekle birlikte, içeriği nedeniyle diğerlerinden farklıdır. %75 lipit ve %25 proteinden meydana gelmektedir. Miyelin içerdiği lipitlerin %20-30’unu oluşturan kolesterol multilameller yapının stabilizasyonunu sağlamaktadır. İçeriğindeki diğer lipitler ise glikolipit yapısında olan galaktoserebrosid, sülfatid ve gangliosidlerdir. PSS’nin miyelin yapısı ile SSS’in miyelini arasında da fark vardır. Periferik miyelin dokusunda santraldekine göre sfingomiyelin, kolin ve gliserofosfatid oranı daha fazla, galaktosererozid oranı

ise daha azdır. PSS %20-30'unu oluşturan proteinler, çoğunlukla glikoprotein yapısındadır. Po PMP22, MAG, epitelyal kadherin ve periaksin baskın olarak bulunan glikoproteinlerdir (54).



Şekil 2: Periferik sinir yapısal anatomisi. Periferik sinir kılıfları endöryum, perinoryum ve epinöryum. Myelinli ve myelinsiz sinir liflerinin periferik sinir sisteminde karışık yer almasının şematik görünümü (from Terzis J.K.& Smith K.L. The Peripheral Nerve Structure, Function and Reconstruction .New York :Raven Press,1990)

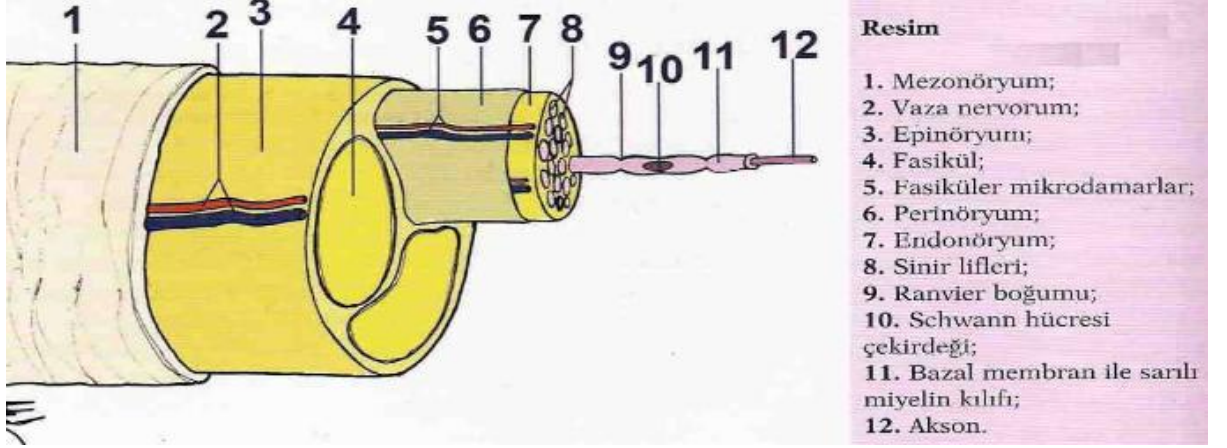
Bir sinirin miyelinli olması, aksiyon potansiyelinin iletim hızını artırır. Nöronların, büyük çaplı somatik sinir liflerinin hemen hepsi miyelinli iken, 1 µm'den küçük aksonlar genellikle miyelinsizdir. Memelilerde dorsal spinal köklerin ve kutanöz sinirlerin yaklaşık %75'i, kas liflerin %50'si ve postganlionik otonomik liflerin tamamına yakını miyelinsizdir.

İletim hızları ve çaplarına göre sinir lifleri üç gruba ayrılırlar. Bu lifler;

A grubu lifler, miyelinli somatik afferent ve efferent liflerden oluşur.

B grubu lifler ise miyelinli otonomik pregangliyonik lifleri içerir.

C grubu lifler, en ince çaplı ve en yavaş iletim sağlayan liflerdir. Miyelinsiz somatik ve viseral afferent lifler ile postgangliyonik lifler bu gruptadır.



Şekil 3: Normal periferik sinir anatomisi (Bayramiçli M:Sinirde mikro cerrahi çalışması, Deneysel mikro cerrahi çalışması. 1. baskı Argos İstanbul 2005 sayfa 340)

Miyelinli liflerde, akson boyunca dizilmiş SC'leri arasında miyelin kılıfı olmayan 1µm alanlar mevcuttur (**Şekil 3**). Miyelin kılıf boyunca iletilen impluslar "Ranvier düğümü" adı verilen bu alanlarda bir sıçrama (saltatorik iletim) yaparak bir sonraki miyelin kılıfa geçerler. Saltatorik ileti şeklinin önemli sonuçları vardır, birincisi myelin, uyarı iletisi için gereken enerjiyi düşünür ve ikincisi artmış akım hızı oluşur.

İki Ranvier düğümü arasında kalan ve aksonun tek bir Schwann hücresi ile temasta olduğu bölgeye ise "internod" adı verilir. Internodal mesafe sinir lifinin çapıyla orantılı olarak 150 µm ile 1500 µm arasında değişir. Sinir elemanları Ranvier düğümlerine gelen akımı artırıcı yapıdadır. Bu bölgede bulunan mitokondri gibi enerji üreten hücre elemanlarının sayısı normal alanlara oranla 5 kat fazladır (55).

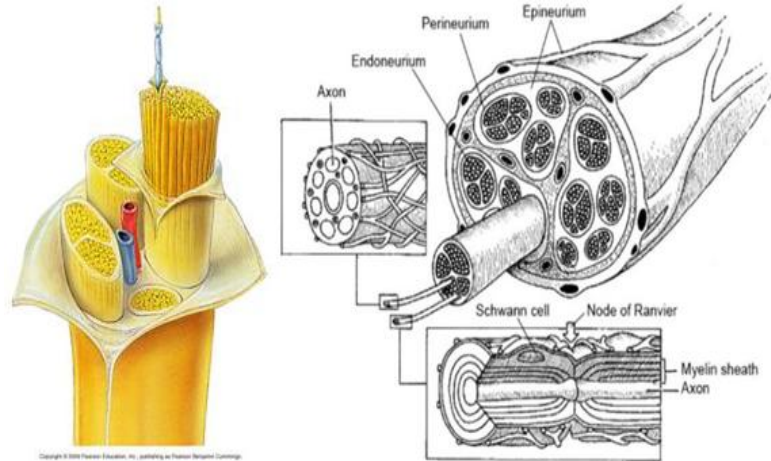
Sinir lifleri bağ doku tabakası ile çevrelenmişlerdir. Bu bağ doku sinirin kesit alanının %25-85 kadarını oluşturmaktadır. Bu oran sinire ve yer aldığı bölgeye göre değişmekte örneğin eklem bölgelerindeki bu oran artmaktadır. PSS'de sinirler üç ayrı destek bağ doku tabakası ile evrelenmişlerdir (**Şekil 4**). Sinir lifleri, dıştan en içe doğru epinöryum, perinöryum ve endonöryum adı verilen bağ dokuları ile çevrelenmektedir.

En içte mezoderm kaynaklı "endonöryum" bulunur. Endonöryum mukopolisakkarit temel madde içerisinde yer alan kollajen ve retiküler lifler,

fibroblastlar, makrofajlar, mast hücreleri ve kapiller sistemden oluşan bir bağ dokudur; buna karşın eletsin içermemektedir.

Birkaç sinir lifinin bir araya gelerek oluşturduğu yapıya fasikül denilmektedir. Fasikül mekanik olarak sağlam, dens bir lameller tabaka olan “perinöryum” ile sarılmıştır. Perinöryum içinde SC ile sarılı aksonlar ve onlarında etrafını saran bağ dokusu endonöryum yer alır.

Perinöryum, yassı perinöral hücreler tarafından oluşturulmuş olan çok katlı bir tabakadır ve travmalara karşı bir bariyer görevi görerek endonöral boşluğu korur (56,57). Perinöryum kan-sinir bariyerinden sorumlu olan yapıdır.



Şekil 4 : Sinir kılıfları (nevre anatomy A.D.A.M ANATOMi 2009)

En dış tabakada sinir kılıflarını saran bağ dokusu ise “epinöryum” adını almaktadır. Bu epinöryumun bağ dokusu kollajen tip I ve III, fibroblastlar ve değişen oranlarda yağ dokusundan meydana gelmiştir. Fasikülleri ekstremite hareketleri sırasında travmalardan korumak epinöryumun görevidir. Özellikle eklem bölgelerinde daha kalın yapıya sahiptirler. Sinirin tipi, seviyesi ve bireylere göre epinöryumun kalınlığı farklılık gösterir (23).

Epinöryumun kalınlığı toplam sinir kesit alanının %35-75’i arasında değişen bu kalınlıktadır ve distale gittikçe azalmaktadır. Fonksiyonel olarak iki tabakadan oluşan epinöryumun dışta yer alan tabakası “ Eksternal (epifasküler) epinöryum”

fasiküller üzerinden kolaylıkla ayrılabilen ve paranöryum olarak bilinen bağ dokusu yapısında bir kılıftır. “İnternal (interfasküler) epinöryum” olarak adlandırılan **bu** tabaka fasiküllerin etrafını tek tek sararak fasikülleri gevşekçe bir arada tutar ve daha derin tabakasıdır (23).

Periferik sinirler fasiküler yapılarına göre üç ana gruba ayrılırlar

1.Monofasiküler yapı: Birçok sinir lifi içeren tek bir fasikül bulunur

2.Oligofasiküler yapı: Birkaç büyük fasikülden oluşan sinirdir

3.Polifasiküler yapı: Çok sayıda fasikül mevcuttur. Fasiküller gruplar halinde veya grup oluşturmaksızın bir arada bulunabilirler

PERİFERİK SİNİR MİKROVASKÜLER ANATOMİSİ

Periferik sinirler epinöryum ve endonöryum tabakalarında bulunan vasküler sistemleri kullanarak; birbirleriyle ileri derecede bağlantıları olan ve uyarı iletimi ve aksonal transport için gerekli olan enerjiyi sağlamaktadır (58).

Başlıca iki sistem periferik sinirlerin vaskülarizasyonundan sorumludur:

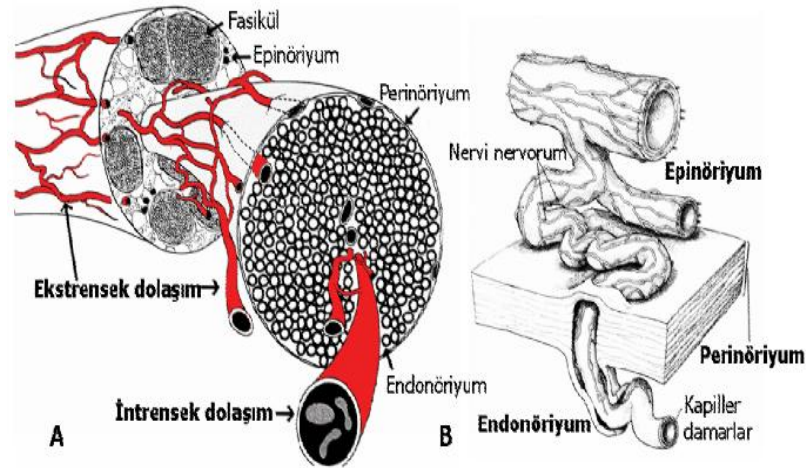
- Ekstresek sistem ve
- İnterensek sistem (**Şekil 5**)

İnterensek sistem, epinöryum, perinöryum ve endonöryum içerisinde yer alan vasküler pleksuslardan meydana gelmektedir. İki sistem arasındaki denge ve kompanzatuvar mekanizmalar siniri vasküler dolaşım problemlerine karşı korumaktadır.

Ekstresek sistem, gevşek adventisyal dokuyla kaplı sinir dış yüzeyi içerisinde bulunan damarlardan oluşmaktadır. Bu damarlara vasa nervorum adı verilir, mezonöryum denilen gevşek bir kılıf içerisinde uzanan sinirlere yandaş olarak seyreden damarlardan gelen besleyici dalcıklardır.

Mezonöryum, kan damarlarını ve epinöryumu çevreleyen ayrı, gevşek bir kılıf olarak tanımlanmış olmasına rağmen, ayrı yapı olmayıp bir diseksiyon kalıntısı olabileceği de ileri sürülmüştür (59).

Mezonöryum içerisinde longitudinal olarak uzanan damarlar, mezonöryumu delerek intrensek sistem ile bağlantılar yaparlar.



Şekil 5: Periferik sinirlerin mikrovasküler dolaşımı. Periferik sinirde ekstrinsek (epinöral) ve intrinsek (perinöral ve endonöral) vasküler sistem. Farklı kompartmanlar arası artmış anastomozlar görülmekte, fakat diğer sistemden bağımsız çalıştığı görülmekte. Endonöryuma bir perinöral kol ile taşındığı görülmekte. Venöz sistem içermez (from Myers RR: Morphology of the peripheral nervous system and its relationship to neuropathic pain: Anesthesia: Biologic Foundations. Yaksh TL, Lynch III C, Zapol WM, Maze M, Biebuyck JF, Saidman LJ (Eds) Lippincott-Raven, Philadelphia 1998, S: 490-491)

Epinöryumun içerisinde uzanan epinöral damarlar. Her fasikül veya fasikül demetine besleyici dallar gönderirken aynı zamanda değişik seviyelerde perinöral vasküler pleksus ile de anastomozlar yapmaktadır.

Perinöral damarlar uzunlamasına seyrederken birçok alanda oblik olarak perinöryumun iç tabakasını delerek endonöral aralığa geçerler ve bu damarların perinöryumun iç tabakasını delerek endonöral vasküler pleksusu oluştururlar. Endonöral vasküler pleksustaki kapiller 6-10 µm çapındadır, kas lifleri içerisindeki 3-6 µm kapiller ile kıyaslandığında oldukça geniştir. Bu kapillerin sıkı endotelyal bağlantıları, kan-sinir bariyerinin korunmasında önemlidirler. Endonöral vasküler yatak, fasiküler boyunca devamlı bir anastomotik ağ oluşturmaktadır ve bu sayede sabit bir fasiküler kan akımı sağlamaktadır (60).

Perinöryumun dolaşımı daha dış tabakalarında geçerli olan sempatik inervasyonla dengelenirken, endonöral alandaki dolaşım, perinöryumun aksine lokal perfüzyon basıncı ile dengede tutulmaktadır (61). Bu vasküler sistemler periferik sinirler içerisinde longitudinal olarak uzanım gösterirken aynı zamanda sinüzoidal bir yapıya da sahiptirler. Bu sinüzoidal yapı, vasküler sistemin gerilme tarzı travmalarda hasar görmesini engellemektedir (61).

Venöz sistem içermezler ama lenfatik sistem vardır. Bilinen klasik bir lenfatik sistem bulunmasa da, perinöryumun dışında endonöryumun içinde lenfatiklere benzer taşıma görevi yapan kanalların varlığı bilinmekle birlikte bunların epinöral alandaki gerçek lenfatiklerle bağlantılı olmadığı düşünülmektedir.

PERİFERİK SİNİR YARALANMALARI

Periferik sinir yaralanmalarının nedenleri genel hatları ile bilinmektedir. Sinir yaralanmasına neden olan etkinin keskin, künt, soyucu veya basıcı olması, bu etkinin süresi ve şiddeti, bir de sinir hasarına sinir defektinin eşlik edip etmemesi önemli faktörlerdir. Meydana gelen sinir zedelenmesi yaralanmanın mekanizmasının yanında, hastanın yaşı ve mevcut yapısal hastalıkları gibi birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle travmayı tanımlayıp uygun tedavilerin seçileceği iki tip sınıflandırma vardır.

İlk sınıflandırma Cohen tarafından 1941 yılında yapılmıştır ve daha sonra bu sınıflandırma 1947 yılında Seddon tarafından popüler hale getirilmiştir. Seddon sinir hasarını nöropraksi, aksonotmezis ve nörotmezis olarak üç gruba ayırmıştır (23).

Nöropraksi: Geçici olarak periferik sinirde fonksiyon kaybı olarak tanımlanmıştır. Lokal olarak iletimin azaldığı ya da tam olarak kesildiği yaralanmanın en hafif şeklidir. Wallerian dejenerasyon yoktur. Motor fonksiyon tutulumu duyu fonksiyonlarının tutulumundan daha fazladır. Nöropraksinin, direk mekanik bası, vasküler olaya ikincil iskemi, metabolik yetersizlik ve sinirde demiyonilizasyona yol açan hastalıklar ve toksinlerden kaynaklandığı deneysel ve klinik gözlemlerle belirlenmiştir. Ayrıca klinikte geçici bası, gerilme ve künt travma

nöropraksiye neden olabilmektedir. Çoğunlukla cerrahi bir lezyon değildir ve sinir ortalama 6-8 hafta içerisinde tam olarak normal hale döner. Sırasıyla travmadan sonra motor, proprioepsiyon, dokunma, sıcaklık duyusu, ağrı duyusu ve sempatik fonksiyon etkilenir iyileşme genellikle bu sıralamanın tersi şeklinde olur.

Aksonotmezis: Periferik sinirde bir alanda sadece miyelin kılıf ve akson devamlılığında bir kesilme mevcuttur. SC'lerinin hücrelerinin bazal membranı, endonörium, perinörium sağlamdır. Aksonotmezis de yaralanma sonrasında şayet hücre ölmez ise, lezyon seviyesinin distal ucunda Wallerian dejenerasyon ve proksimal ucunda aksonal tomurcuklanma görülür (62). Burada endonöral doku ve bazal membran SC'leri için kılavuz tüp görevi görerek onların yeni kolonlar oluşturacak şekilde prolifer olmalarını sağlar. Bütünlük sadece bağ ile korunduğu için aksonun proksimalden distale ilerlemesi kolaydır. Genellikle prognoz iyidir ve fonksiyonların geri dönüşü tamdır. İyileşme süresi hastanın yaşına, hedef adele yada duysal son organ gibi uç organların innerve ve rejenere olma zamanına, lezyonlar arasındaki mesafeye rejenerasyon hızına bağlı olarak değişmektedir. Rejenerasyonun ilerlemesi duyu lifleri boyunca Tinel bulgusunun ortaya konması ile takip edilir. Rejenerasyon 1-2 mm/gün hızla ilerlemesine rağmen, iyileşme süresi uzadığında kaslarda denervasyon atrofi gelişebilmektedir.

Nörotmezis: Sinirin devamlılığının tamamen kesintiye uğradığı en şiddetli periferik sinir yaralanmasıdır ve cerrahi onarım yapılmazsa genellikle bir fonksiyonel gelişme beklenmez. Bu tür hasardan sonra lezyonun distalinde denervasyon ve tüm fonksiyonlarda kayıp ortaya çıkmaktadır. Etiyolojik faktör sinirde tam kat bir kesi olabileceği gibi, iletimi tamamen engelleyen bir tümör veya skar dokusu da olabilir. Cerrahi onarım yapılmaması durumunda proksimal uçtaki aksonal rejenerasyon nöroma oluşumuna neden olacaktır.

1951 yılında Sunderland periferik sinir yaralanmalarını beş derecede değerlendiren yeni bir sınıflandırma önermiştir (**Şekil 6**).

1.derece hasar: Seddon sınıflandırmasında karşılığı nöropraksiye eşdeğerdedir. Bu tip hasarda, sinir dokusunun bütünlüğü devam etmektedir. Travma alanındaki sinir segmentinde iletim kaybı söz konusudur ve aksonlar, sinir kılıfı yapıları intaktır. Sadece elektrofizyolojik olarak tespit edilebilen bu iletim bloğu lezyon alanında sınırlıdır ve distalde iletim normaldir. Duyu ve motor kayıp gözlenir, kayıp motor fonksiyonlarda daha fazladır. Klinikte turnike kullanımı gibi lokal basınç yaratan durumlar ve kompresyon nöropatilerin erken dönemlerinde ortaya çıkan sinir hasarı bu grupta incelenmektedir. 6-8 hafta içinde aksonal iletim tam olarak düzelir.

2.derece hasar: Seddon'un sınıflamasındaki aksonotmeziye eşdeğerdir. Aksonun bütüncülüğü kesintiye uğramıştır ve sinir kılıfı yapıları sağlam olmakla birlikte, distal segmentte Wallerian dejenerasyon gelişir. SC kılıfı sağlam olduğundan prognozu iyidir. Ancak iyileşme 1.derece hasara oranla uzun süre alır.

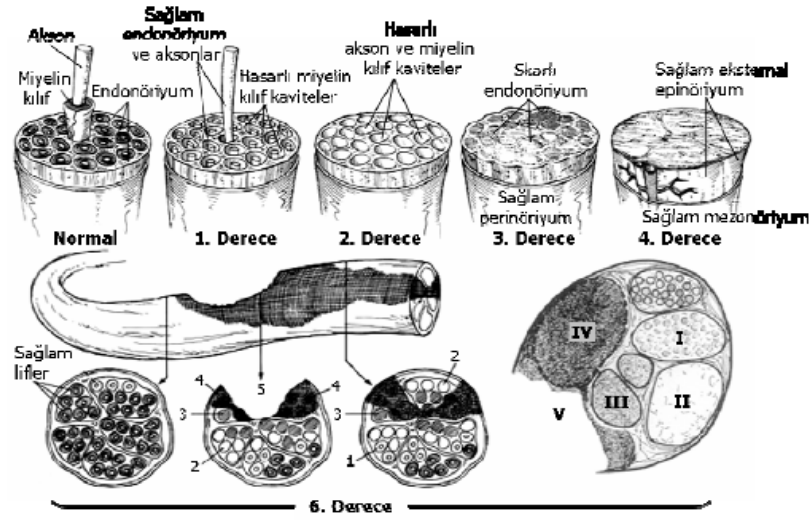
3.derece hasar: SC bazal laminası, endonörium ve aksonda harabiyeti vardır ve epinörium ve perinörium sağlamdır. Fasiküler yapı korunmuştur. Distalde Wallerian dejenerasyon izlenir. Endonörium ve Schwann hücre kılıfının hasarlı olması nedeniyle iyileşme tam olmaz. Rejenerasyon sırasında nöroma oluşması veya motor lifler ile duyuşal liflerin karışması sık görülen bir sorundur. Genellikle işlevsiz bir nöroma ile iyileşen üçüncü derece yaralanmaların ikinci derece yaralanmalardan klinik farkı, çok uzun sürede iyileşmesi nedeniyle motor fonksiyon yetersizliği ve duyularda dezoryantasyondur. Bu tür yaralanmalar Seddon sınıflandırmasındaki aksonotmezis ve nörotmezisin karışımı olarak da kabul edilebilir. İlimli bir üçüncü derece lezyon söz konusu olduğunda intrafasiküler alanda minimal bir fibrozis ve önemli derecede rejenerasyon gözlenecektir, bu da aksonotmezise karşılık gelmektedir. Buna karşın şiddetli bir üçüncü derece hasar, rejenerasyonu engelleyen fibrozise neden olacağından nörotmezis olarak kabul edilebilir.

4.derece hasar: Epinörium sağlamdır diğer tüm tabakaların devamlılığı bozulmuştur. Sinir gövdesinin bütünlüğünü fiziksel olarak devam etmekle birlikte skar dokusunun yarattığı blok rejenerasyonu engeller ve yaralanma seviyesinde

nöroma (solid skar dokusu) oluşumuna neden olur. Spontan iyileşme görülebilmesine rağmen tedavi uygulanmadığında fonksiyonel dönüş nadiren gerçekleşir. Dördüncü derece yaralanmalar mevcut segmentin cerrahi olarak eksizyonunu ve uygun olarak sinir onarımını gerektirmektedir.

5.derece hasar: Seddon'un sınıflamasındaki nörotmezise eşdeğerdir ve epinöral bütünlük bozulmuştur. Çoğunlukla penetran travmalar sonrasında görülür ve sinir devamlılığı tam olarak kesintiye uğramıştır. Ayrılan sinir uçları ayrı kalabilecekleri gibi fibroblastlar, SC'leri ve rejenere aksonlardan oluşan skar köprüsü ile birleşebilirler. Proksimal nöroma ve distal soğan oluşumuna yol açan skar, rejenerasyon için en büyük engeldir. Rezeksiyon ve sinir onarımı ile tam iyileşme, akson kaybı ve yanlış yönelimli aksonlar nedeniyle yetersizdir. İyileşme için cerrahi tedavi şarttır.

6.derece hasar: Mackinnon bu sınıflandırmaya 6.derece sinir hasarı adı altında bir ekleme yapmıştır (63). Sinir boyunca değişik seviyelerde ve farklı derecelerde sinir hasarlarının bir arada bulunması söz konusudur. Bu tip yaralanmada özellikle ezici tipte yaralanmalarda ortaya çıkmaktadır. Tedavisinde intranöral nöroliz ile sağlam fasiküllere zarar vermeden 4. ve 5. derecede hasarlı fasiküllerin cerrahi onarımı gerekmektedir.



Şekil 6: Periferik sinir yaralanmalarının sınıflandırılması (Myckatyn TM., Mackinnon SE., Microsurgical repair of peripheral nerves and nerve grafts. Grabb Plastic Surgery, 6th edition, eds:Aston SJ, Beasley RW, Thorne CHM., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia (2007). P:73)

PERİFERİK SİNİR CERRAHİSİ

Tarihçe

Periferik sinir sistemine ait ilk veriler Hippocrates'e (MÖ 460-370) kadar uzanmaktadır, fakat sinir kesilerinin duysal ve motor kayba yol açtığını ilk olarak bildiren Galen (MS 130-200) olmuştur (64). Periferik sinirlerin dikilmesi ile ilgili ilk kayıtlar ise P. Aegineta (7.yy), William'a (13.yy) aittir (23). Kesilmiş bir sinirde, sinir uçlarının karşılıklı olarak onarımı ilk kez Ferrara (1608) tarafından gerçekleştirilmiştir (1). Ondokuzuncu yüzyılın sonlarına doğru bugünkü bilgilerle bağdaşmayan çeşitli sinir onarım teknikleri tanımlanmış, ancak bunlar kullanıma girmemiştir. Kayıtlara geçen ilk başarılı sinir onarımı ise 1847 yılında Paget tarafından gerçekleştirilmiştir (23). Sinir defektlerini sinir greftleri ile onarma fikri ilk kez Philippeaux ve Vulpian tarafından ortaya atılmış, ilk klinik uygulama ise 1878 yılında Albert tarafından yapılmıştır. Bu konuda ilk başarılı sonuç ancak 20. yüzyılın başlarında Mayo Robson tarafından yayınlanmıştır (1).

Birinci ve ikinci dünya savaşları nedeniyle 20. yüzyılın başlarında sinir onarımlarındaki başarı oranı artmaya başlamış büyük gelişmeler kaydedilmiştir. 1963 yılında operasyon mikroskoplarının kullanıma girmesi de sinir cerrahisi açısından

önemli bir dönüm noktası olmuştur (65). Mikrocerrahi tekniklerin gelişmesi ile birlikte sinir cerrahisinde gözlenen önemli ilerlemelerden birisi de, 1967 yılında Bora tarafından gerçekleştirilen perinöral onarımın keşfidir (66).

Onarım Teknikleri

Onarımın hedefi, fonksiyonel ileti ünitesi olan fasiküllerde devamlılığının sağlanması için bu yapıların cerrahi olarak doğru konumlarda karşılıklı getirilmesi, yani sinir uçlarının 'koaptasyonu'dur (67,68).

Hasarlı sinirin onarımı için en uygun zaman yaralanmadan sonraki mümkün olan en erken dönemdir. Erken dönemde fasiküler dizilimin ve epinöral damarların, proksimal ve distal uçların doğru olarak karşı karşıya getirilmesinde yol gösterici etkileri vardır. Ayrıca yaralanma sonrası erken dönemde gerginlik minimaldir. Daha geç dönemlerde ise proksimal ve distal sinir segmentlerinde retraksiyon ve sinir uçlarında skar dokusu gelişir. Bu dönemde onarım sırasında genellikle gerginlik söz konusudur. Ek olarak, zaman geçtikçe hedef organlarda atrofiler gelişmeye başlar ve geri dönüşü olmayan kas hücre kayıpları olur. Denervasyon süresinin 18-24 aya kadar uzadığı durumlarda kas dokusunda geri dönüşümsüz değişiklikler geliştiği ve sinir onarımı sağlansa bile motor fonksiyonların geri dönmediği bilinmektedir (69). Buna karşın duyu organlarının denervasyona daha dirençli olduğu bildirilmiştir (70). Periferik sinir cerrahisi, sinir devamlılığını restore etmek ve sinirin rejenerasyonu ve fonksiyonel düzelmeyi optimal düzeyde oluşturabilmek amacıyla yapılmalı ve planlanmalıdır. Çünkü rejenerasyonda iki anahtar faktör önemli rol oynar;

- *Devamlılık* (rejenerasyonu teşvik etmek için bir rehber görevi görür) ve
- *Uygun diziliş* (duyusal lifler uygun duyu hedeflere, motor lifler uygun kaslara yönlendirilir)

Sinir onarım metodları; direkt onarım (nörorafi) ve greft ile onarım tekniği olarak ikiye ayrılır. Direkt onarım ise; epinöral onarım, grup fasiküler onarım ve fasiküler onarım olarak ayrılır. Greft ile onarım, hastanın kendisinden alınan (otojen) duyu sinir segmentleri ile yapılır.

a. Epinöral Onarım: En sık kullanılan onarım tekniğidir. Epinöryumu uçuca suture ederek yapılan nörorafi tekniğidir. Dikiş proksimal ve distal uçlardaki epinöryumdan geçer Sinir uçlarının uygun pozisyonda karşı karşıya gelmesini sağlamak için longitudinal seyreden kan damarları fasiküler karşılıklı getirilmeye çalışılır (69).

Kalın sinirlerde 8/0, ince sinirlerde 9/0 veya 10/0 dikişler tercih edilir. Dikiş materyali olarak emilen ya da emilmeyen dikişler kullanılabilir. Kullanılan dikiş ipliğinin iğnesi de yuvarlak tercih edilmelidir. Dikiş sayısı sinir uçlarını yaklaştıracak ve gerginlik yaratmayacak şekilde. Mümkün olan en az sayıda olmalı ve fasiküler dikiş aralarından çıkmamalıdır.

Epinöral onarımın kısa sürmesi ve basit olması en önemli avantajlarıdır. Ayrıca cerrahi müdahale sırasında sinir içi yapılara ek zarar verilmez ve sinir içerisinde reaksiyona neden olabilecek dikiş materyali kullanılmaz. Yöntemin en önemli dezavantajı ise, eş fasiküllerin her zaman karşılıklı gelememesidir. Ufak bir gerginlik bile fasiküller arasında açıklık oluşmasına neden olabilir. Yapılan araştırmalar fasiküler arasında açıklık, üst-üste binme ve katlanma olmasının başarısızlığa yol açtığını göstermektedir.

b. Perinöral (Fasiküler) Onarım: Perinöral onarım ilk kez 1967 yılında Bora tarafından tanımlanmış olan bir tekniktir (66). Optimal eşlemeyi sağlayabilmek için proksimal ve distal sinir uçlarındaki eş fasiküllerin birbirlerine dikilmesi amaçlanır. Fasiküller onarımda her fasikülün 2-4 adet dikiş ile tutturulması genellikle yeterli olmaktadır ve bu sayede fasiküllerin hatalı yönlenebilmesi engellenebilmektedir.

Tekniğin en önemli ve zor yönü fasiküllerin uygun eşlerini saptamaktır. Bunun için de sinirin fasiküler dağılımını bilmek gerekmektedir. Yaralanmadan

sonraki ilk 72 saatte yapılan ameliyatlarda, intraoperatif elektrodiagnostik yöntemler ile fasiküler dağılımı tanımlamak mümkün olabilmektedir. Duyusal liflerin hatalı fasiküler onarımına bağlı olarak oluşacak fonksiyon kayıpları kortikal yeniden tanımlama ile önlenmektedir. Ancak motor aksonların duyuşal aksonlara veya interfasiküler epinöryuma yönelmesi durumunda fonksiyon kaybı kaçınılmaz olmaktadır.

Eksternal epinöryum onarımı cerrahi sırasında tansiyonu azaltmada faydalı olabilir. İnternal epinöryuma gerekli olan en az sayıda (genellikle iki) sütür konur. Tek tek fasikül tamiri için fasiküllerin izolasyonu gereklidir. Buradaki sinir tamiri de fasiküler grup onarımdaki cerrahi prosedür ile aynı özelliktedir. Fasiküler onarım perinöryuma konan 10/o naylon sütürler aracılığıyla gerçekleşir.

Fasiküler onarımın avantajı sağlam fasiküllere dokunulmadan, sadece hasarlanan fasiküllerin onarımına imkan verebilmesidir (selektif onarım) (60).

Perinöral dikiş tekniğinin en önemli dezavantajı, sinir içine konuluan dikiş materyalinin yarattığı yabancı cisim reaksiyonu ve ek disekyonlar sonucu artan intranöral fibrozis riskidir. Ayrıca bu dönem yöntem diğerlerine nazaran daha fazla zaman almaktadır. Yapılan çalışmalar epinöral ve perinöral dikiş tekniklerinin birbirlerine bariz bir üstünlüğünün olmadığını göstermiştir (67,70).

“Grup fasiküler onarım” terimi ise fasiküllerin gruplar halinde karşılıklı olarak dikilmesi için kullanılan bir terimdir.

c. Epiperinöral Onarım: Her iki yöntemin birleşimi olan bu teknik, 1964 yılında Edshage tarafından tanımlanmıştır. Teknik olarak epinöral dikiş tekniğine benzemekle beraber, dikişler karşılıklı olarak perinöral tabakadan da geçirilmektedir. Epinöral dikişlerin ise hem aşırı intranöral diseksiyon, hem de içerdeki materyalleri nedeniyle fazla skar oluşumuna yol açtıkları düşüncesinden ortaya çıkmıştır. Buna rağmen intranöral travma riski yüksektir.

d. Diğer Yöntemler: Periferik sinir yaralanmalarının cerrahi onarımında kullanılan dikiş materyalleri ve cerrahi manipülasyon sırasındaki travmaya ikincil gelişen fibrozis, dikiş kullanılmadan yapılacak olan onarım yöntemleri üzerinde bir arayışa neden olmuştur.

Lazer; bu yöntemlerden biridir. Bu yöntemde eksik sinir uçları yaklaştırılarak iki tespit dikişi konulduktan sonra, lazer ışınları ile uçlar birbirine tespit edilir. Anastomoz sağlandıktan sonra tespit dikişleri alınabilir. Bu yöntemin, aksonların tüp dışına çıkmasını önlediği belirtilmektedir, ancak ne ölçüde tensil kuvvet sağladığı tartışmalıdır (71).

Fibrin yapıştırıcı da sinir onarımında kullanılan bir biyomateryaldir. Bu konuda yapılan deneysel çalışmalar iki adet dikiş konulduktan sonra fibrin yapıştırıcı kullanılmasının daha uygun olduğunu göstermektedir (72).

Ancak onarım bölgesinde inflamatuvar reaksiyonu arttırması ve yeterli tensil kuvvet sağlayamaması gibi dezavantajları bulunmaktadır. Menovsky tarafından rat siyatik siniri üzerinde yapılan bir çalışmada laser, fibrin yapıştırıcı ve epinöral dikiş teknikleri birbirlerinden üstün olmadıkları gösterilmiştir(73).

Sinir anastomozu için siyanoakrilat kullanılmasının da dikişle yapılan onarımına nazaran bir üstünlüğünün olmadığı, hatta materyalin histotoksitesinin ve uzun dönemde gelişen skar dokusunun önemli derecede dezavantaj yarattığı bildirilmiştir.

Sinir Dejenerasyonu ve Rejenerasyonu

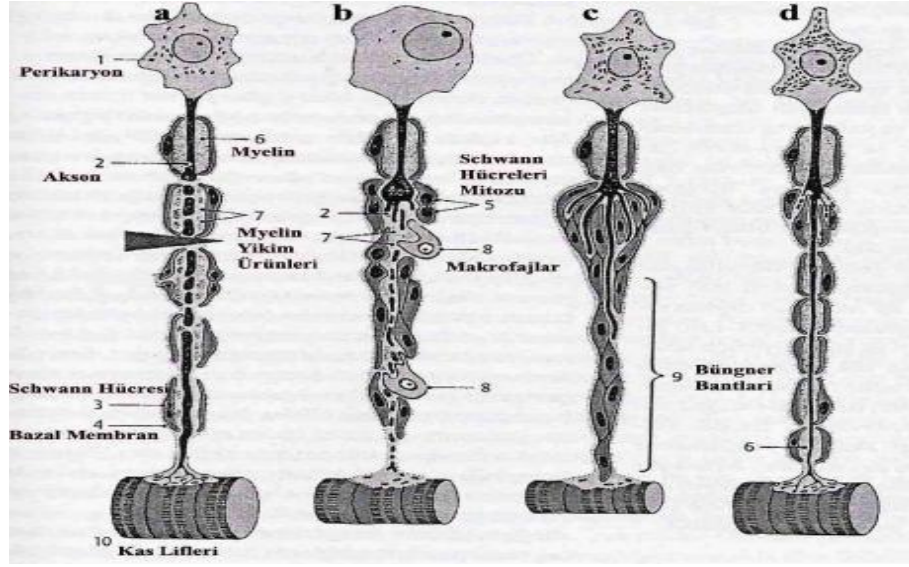
Periferik sinir yaralanmalarında, hücre gövdesinde de değişiklikler meydana gelir, beklendiği gibi yaralanmanın proksimalinde ve distalinde bir takım yapısal ve işlevsel değişiklikler ortaya çıkar (**Şekil 7**).

Travmada, aksonal yaralanmayı takiben sinir hücresinde meydana gelen değişiklikler “kromatoliz” olarak tanımlanmaktadır. Takip eden süreçte hücre

gövdesinde oluşan tipik yanıt, hücre hacminin artması, hücre çekirdeğinin periferde doğru yer değiştirmesi ve sitoplazmadaki bazofilik materyalin ortadan kalkmasıdır. Protein sentezinin hücre içerisinde arttığını gösteren bu bulgu, RNA konsantrasyonunun artmasına bağlıdır. Hücrede nükleik asitlerin ve lipidlerin sentezi için gerekli olan glikoz-6-fosfat dehidrojenaz enzim aktivitesinde de artış gözlenir ve protein sentezindeki artış, *iyileşme* ve *rejenerasyona* hazırlık yönünde olmaktadır. Yine nörofilaman ve mikrotübüler yapıdaki proteinlerin, aktin, tübülün ve peripherin'in sentezi artarken; transport fonksiyonu için gerekli proteinlerin sentezi azalmaktadır. Travmaya bağlı meydana gelen reaksiyonun şiddeti, lezyonun yerleşim yerine ve tipine göre farklılık göstermektedir. Eğer yaralanma hücre gövdesine çok yakın ise, lezyon hücre ölümüne neden olabilir (60).

Travma seviyesinin proksimaline bakıldığında, bu bölgedeki aksonlarda birkaç internodal segment boyunca ilerleyebilen bir dejenerasyon olduğu görülür. Meydana gelen bu olaya “retrograd dejenerasyon” adı verilir bu segmentte endonöryum boş bir tüp haline gelir. Takip eden birkaç gün içerisinde, bu segmentte distale doğru ilerleyen terminal ve kollateral aksonal tomurcuklanmalar meydana gelir. Aksonal kollateral tomurcuklar aksonun sağlam olduğu bölgedeki Ranvier düğümlerinden köken alırken, terminal tomurcuklar ise zedelene aksonun proksimal ucundan rejenerasyon konisi şeklinde gelişmektedir. Oluşan rejenerasyon üniteleri, çok sayıda miyelinsiz akson demetlerinden oluşmaktadır. Proksimal güdükteki kesik akson uçları, mini fasiküler halinde gruplar oluştururlar ve buna “kompartman fenomeni” denir (60).

Rejenere olan aksonal tomurcukların uç kısımlarına ise “büyüme konisi” adı verilir. Büyüme konisinin büyüme ve gelişme için gerekli çok sayıda veziküller içerdiği bilinmektedir. Büyüme konisi, sivri uç şeklinde (filopodia) veya membrandan geçecek şekilde (lamellopodia) hareket edebilir (74).



Şekil 7: Sinir dejenerasyonu ve rejenerasyonu a) Akson ve miyelin yıkımı b) Schwann hücre poliferasyonu c) Aksonal tomurcuklanma ve Büngner bantlarının oluşumu d) Matürasyon (Mumenthaler M, Störh M, Müler-Valh H: Periferik Sinir Sisteminin Düzenleme İlkeleri ve Gelişimi: Periferik Sinir Lezyonları ve Radiküler Sendromlar. 8. Baskı. Börü ÜT (Çeviri Editörü) Nobel tip kitapçevleri, İstanbul,2005, s:15)

SC kolonları ve SC bazal laminası, büyüme ve hareketin etkin bir biçimde gerçekleşmesi için uygun bir ortam sağlar.

“Wallerian dejenerasyon” ise, distal sinir segmentindeki aksonlarda ve miyelin kılıfta meydana gelen hücresel olaydır. August Waller isimli araştırmacı tarafından 1950’de tanımlanan dejenerasyon, hücre gövdesi ile distal sinir segmenti arasındaki bağlantının kaybolmasına bağlı olarak gelişen sürecin yapısal ve fonksiyonel bütünlük kaybı ile karakterizedir. Makrofajlar ve SC’leri bu alandaki akson ve miyelin kılıfı fagosite ederler. Nörofilamentöz yapılar ve mikrotübüller gibi hücre iskeletini oluşturan yapılar granüler ve amorf yapılar haline dönüşürler.

Aksonlar içerisinde artan Ca^{2+} konsantrasyonunun, dejenerasyon sürecini başlatan mekanizma olduğu düşünülmektedir. Normalde akson ile endonöral ortam arasındaki kalsiyum konsantrasyonu farkı, aktif kalsiyum pompası sayesinde dengede tutulmaktadır ve hücre içindeki düşük kalsiyum seviyesi korunmaktadır. Buna rağmen aksonal hasar oluştuğunda artan hücre içi kalsiyum, proteazların aktivasyonuna yol açarak akson içerisinde proteolizi başlatmaktadır.

Dejenerasyon sürecinde aksonun internodal bölgesinde segmental miyelin kaybı ortaya çıkmaktadır. Parçalanmış miyelin SC'leri tarafından yapılır, daha sonra makrofajlar tarafından fagosite edilerek ortamdan uzaklaştırılmaktadır.

SC'leri de yaralanmayı takip eden bu dejenerasyondan etkilenmektedirler ve sinir rejenerasyonunda önemli bir yer tutarlar. Aksonotomi sonrası SC'si nükleusu daha yuvarlak ve belirgin bir görünüm kazanırken, sitoplazma nispeten daha saydam bir hal almaktadır. Travmadan sonraki ilk 24 saatte SC'si proliferasyonu başlar ve proliferasyon alan SC'leri "Büngner Bantları" adı verilen longitudinal dizilimler gösterirler. Bu hücreler aksonal tomurcukları içine alarak, gelişen rejenerasyon alanlarının çevresinde bir miyelin kılıf meydana getirirler(75).

Aksonlar için fiziksel bir konduit oluşturmaları yanında, aksonal gelişmeyi destekleyen ekstrasellüler proteinleri salgılamak görevinde üstlenmişlerdir.

Yaralanma sonrası proksimal ve distal sinir güdükleri arasında gerçekleşen kimyasal ve hücreler arası reaksiyonlar, sinir rejenerasyonunun kalitesi açısından çok önemlidir. Yaralanma erken fazında, bu mesafede eksudasyon, hücre proliferasyonu ve kollajen depolanması olmaktadır. Bu alanda kan hücreleri ve makrofajları içeren eksuda, aralığı doldurarak fibrin pıhtı oluşumunu sağlamaktadır. Takip eden günlerde de kapillerin ve epinöral kökenli fibroblastların bu aralığa göçü gözlenir ve burada rol alan fibroblastların proliferasyon olmaları oldukça uzun zaman alır. Kollajen depolanması proliferasyon alan fibroblast ve SC'leri tarafından gerçekleştirilmektedir. Yapılan endonöral kollajen, oluşacak olan yeni miyelin kılıfın bazal membranını oluşturmak üzere şekillenir(76).

Kemotaksis ve nörotrofik faktörler tüm bu aşamalarda önemli rol oynamaktadır. Cajal 1905 yılında, distal sinir segmentindeki bazı maddelerin rejenerasyon alan sinir liflerini kendilerine yönlendirdiği gözlemlenmiştir. Bu olay "Nörotropizm" olarak adlandırılır sorumlu olan faktörler, proliferasyon alan SC'leri tarafından sentezlenen ve hücreler arası adezyon molekülleri (CAM) olarak adlandırılan bir takım moleküllerdir. Moleküllerden bilinen en belli başlıları L1, N-CAM

(nöral hücre adezyon molekülü), N-caderin ve Po proteindir. Bu moleküllerden N-caderin dışında kalanlar, rejenere aksonlar ile SC kolonları arasındaki temasın sağlanmasından sorumludur. N-caderin ise SC'leri üzerinde düzenleyici etki gösterir ve aksonlar ile Schwann hücreleri arasında temas kurulmasını sağlar. Ayrıca N-caderin'in sinir hücre kültürleri üzerindeki etkisini inceleyen deneysel çalışmalar, bu maddenin rejenere olan aksonlarda büyümeyi hızlandırıcı etkisi olduğunu da ortaya koymuştur(76).

Schwann hücreleri tarafından üretilen bazal membran ise, tip IV kollajen matriks içerisinde laminin gibi çok güçlü bir adezyon molekülü içermektedir. Bu hücrel adezyon moleküllerinin tümünün sentezi, özellikle dejenerasyon sırasında oluşan demiyelizasyon evresinde artmaktadır(77).

KÖK HÜCRE TERAPİSİ

Canlı vücudunda çok uzun süre bölünerek kendisini yenileyen ve aynı zamanda vücudun ihtiyacına göre farklılaşarak doku hücrelerine dönüşen hücre tipine kök hücre denir. Bir hücreyi kök hücre olarak tanımlamak için beş temel özelliğe sahip olması gerekir;

- 1)Uzun zaman dilimleri boyunca bölünebilme ve yenilenebilme yeteneğinin olması
- 2)Özelleşmemiş olması
- 3)Kök hücreden elde edilen yavru hücre özelleşmiş hücrelere kaynaklık edebilmesi (farklılaşma)
- 4)Hasar gören alıcıya nakil sonrasında kaynak dokuyu işlevsel olarak tekrardan çoğaltabilmesi
- 5)İn vivo ortamda doku hasarının olmadığı durumlarda bile farklılaşmış kuşaklara katkı sağlaması (84).

Kök Hücre Çeşitleri ve Kaynakları

Kök hücreleri esas olarak iki farklı kaynaktan elde edilirler; Embriyonik gelişim sürecinin erken dönemlerinde blastosistin iç hücre kitlesinden elde edilen embriyonik kök hücreler ve embriyonik olmayan kaynaklardan elde edilen kök hücreler (81).

Embriyonik Kök Hücreler

Embriyonik kök hücreler erken dönemdeki memeli embriyosundaki kök hücrelerden elde edilen ve invitro ortamda sınırsız ve farklılaşmamış çoğalma kapasitesine sahip pluripotent hücrelerdir. İlk olarak 1981 yılında 3,5 günlük blastosistlerin iç hücre kitlesinden sürekli olarak çoğalan fare embriyonik kök hücreleri elde edildi. Daha sonra 1988 yılında Thomson ve arkadaşları insan embriyonik kök hücre serilerinden yüksek düzeyde telomeraz aktivitesi eksprese ettiler ve her üç germ tabakasına ait türevleri oluşturma potansiyellerini sürdürdüler. Elde edilen embriyonik kök hücre serileri ciddi kombine bağışıklık yetmezliği olan 4 haftalık erkek farelere enjekte edildikten 7-8 hf sonra teratoma oluşturduğu gözlemlendi. Bu teratomlarda bağırsak epiteli (endoderm), kıkırdak, kemik, düz kas (mezoderm) ve sinir epiteli, embriyonik ganglion hücreleri vardı. Bunlara bağlı olarak Thomson ve arkadaşları embriyonik kök hücrelerinin mutlak özelliklerini üç maddede sıraladılar:

- 1) Bu hücrelerin preimplantasyon evresinde embriyondan elde edilme özelliği
- 2) Uzun dönemde farklılaşmadan çoğalabilme özelliği
- 3) Uzun dönemler boyunca kültürde tutulduktan sonra bile her üç germ tabakasının türevlerini oluşturabilme potansiyeli özelliği.

İnsan embriyonik kök hücrelerinin en önemli potansiyel kullanım sahası hücrelerin ve dokuların üretilmesidir. Kemiricilerdeki diyabet, parkinson, miyokart enfarkti, omurilik zedelenmesi gibi hastalık modellerini tedavi etmek için bu kök hücrelerinin kullanımına ilişkin artık geniş çaplı görüş birliği mevcuttur. Oliver Brüstle ve arkadaşlarının yaptığı çalışma, embriyonik kök hücre kaynaklı nöral prekürsörlerin fetal sıçanın ventriküllerine implante edilmesi sonrası transplante

edilen hücrelerin intraventricüler nöroepitelyal yapıları oluşturdukları ve oligodendrosit, astrosit ve nöronlara farklılaştığını gösterdi.

İnsan embriyosunun hücre kaynağı olarak kullanılması ve terapötik klonlama çalışmaları etik ve yasal açıdan tartışmalara neden olduğu için bilim adamları alternatif kök hücre kaynaklarına yönelmiştir (81).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

KÖK HÜCRE

Yenidoğan Umbilikal Kordon Kanının Alınması

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine doğum amaçlı yatırılan bir gebeye ve eşine doğum öncesi göbek bağı kesildikten sonra bebeği ve plsentaya arasında bulunan kordon bağından, yapacağımız tıbbi araştırma nedeniyle kan alınacağı ve bu alınan kanın deneysel kafa travması yapılan sıçanlarda kullanılacağı, yapılacak bu işlemin doğum sonrasında bebeğe ve kendisine herhangi bir zararı olmayacağı, alınan kan örneğinin başka bir çalışma ya da herhangi bir amaçla kullanılmayacağı anlatılıp gönüllü onam formu alındı. Onamın alınmasını takiben, gebenin doğumu sonrası bebeğin göbek kordonu kesilip plsentaya yakın olan kısmından heparinize edilmiş 20 cc lik enjektör yardımıyla umbilikal venden yaklaşık 50 cc umbilikal kordon kanı alındı.

Kordon Kanından CD34+ Kök Hücre Elde Edilmesi

Alınmış olan kordon kanı soğuk zincirde Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarı'na getirildikten sonra umbilikal kordon kanından CD34+ hematopoetik kök hücre elde edilmesi yedi basamakta gerçekleştirildi.

1.BASAMAK: 5 ml kordon kanı direk olarak 5ml *ficolle* yayılarak 3000 rpm de 20 dk süreyle santrifüj edildi. Santrifüj sonrası ficolle plazma arasında kalan bulut kısım (**Şekil 8**) 5 ml kapasiteli 12X75 ml boyutundaki *polystyrene* içeren tüpe toplandı (Falcon 5ml, Becton Dickinson, Catalog 352058).



Şekil-8: Umbilikal kordon kanının santrifüjü sonrası oluşan bulutsu kısım

2.BASAMAK: Tüpe konulan hücre süspansiyonu üzerine steril otomatik pipet ile her 1ml hücre için 100 mikrolitre insan CD34+ seleksiyon kokteyli ilave edildi (Easysep Human CD34+ Selection Coctail, StemCell Technologies, Catalog number 18056). İyiçe karıştırılmış olan karışım oda ısısında 15 dk süre ile inkübe edildi.

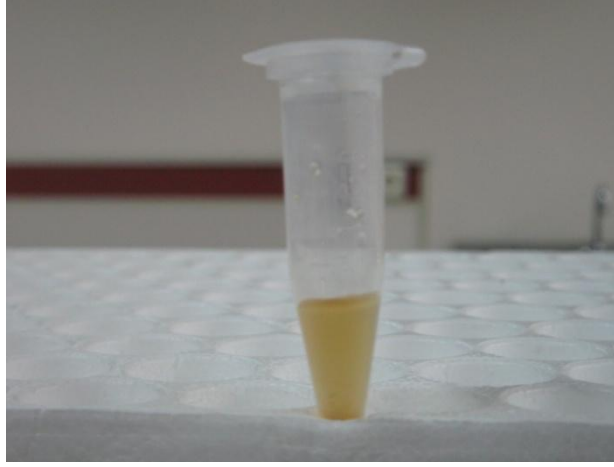
3.BASAMAK: Hücre-monoklonal antikor karışımı üzerine magnetik nanopartiküler (EasySep Magnetik Nanoparticles 1ml, StemCell Tecnologies, Catalog number 18056) steril otomatik pipet ile her 1ml hücre için 50 mikrolitre ilave edildi ve karışım iyice karıştırılarak oda ısısında on dakika süre ile inkübe edildi.

4.BASAMAK: Tüp içindeki miks süspansiyon *recomend medium* ile 2.5 ml tamamlanarak karışım steril bir pipet ile yukarı aşağı doğru hareketlendirilerek karıştırıldı. StemCell Tecnologies, Catalog number 18000) içerisine yerleştirilerek beş dakika süreyle bekletildi.

5.BASAMAK: Tüp magnetin içerisinden çıkarılmadan süpernatant kısım bir kerede atıldı. Böylece tüpte yalnızca seleksiyonu istenen hücreler kaldı. Bu işlem 3-4 sn'de yapıldı. Daha sonra tüp ve mıknatıs tekrar düz pozisyona getirildi.

6.BASAMAK: Tüp miknatıstan çıkarıldı ve 2,5 ml kültür medium ilave edildi. Elde edilen karışım pipetle 3-4 kez karıştırıldı. Tüp miknatısa tekrar kondu ve 5 dakika süreyle beklendi.

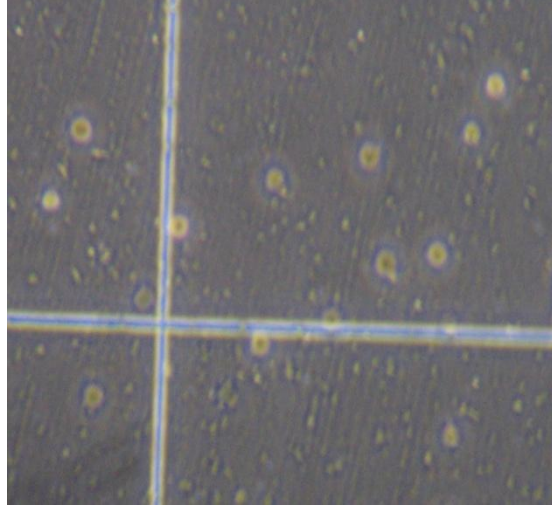
7.BASAMAK: 4., 5., 6. basamaklar tekrar edildi ve 5. basamak bir kez daha tekrar edildi. Böylece tüpte kalan hücreler en az iki kez kültür solüsyonu ile yıkanarak uygun hücre süspansiyonu elde edildi. Bu işlem sonrası pozitif seleksiyonla elde edilmiş hücreler kullanıma hazırlanmış oldular. (**Şekil 9**)



Şekil -9: Hücre sayımı öncesi elde edilen CD34+ kök hücrelerinin biriktirilmesi

Elde Edilen CD34+ Kök Hücrelerin Sayımı

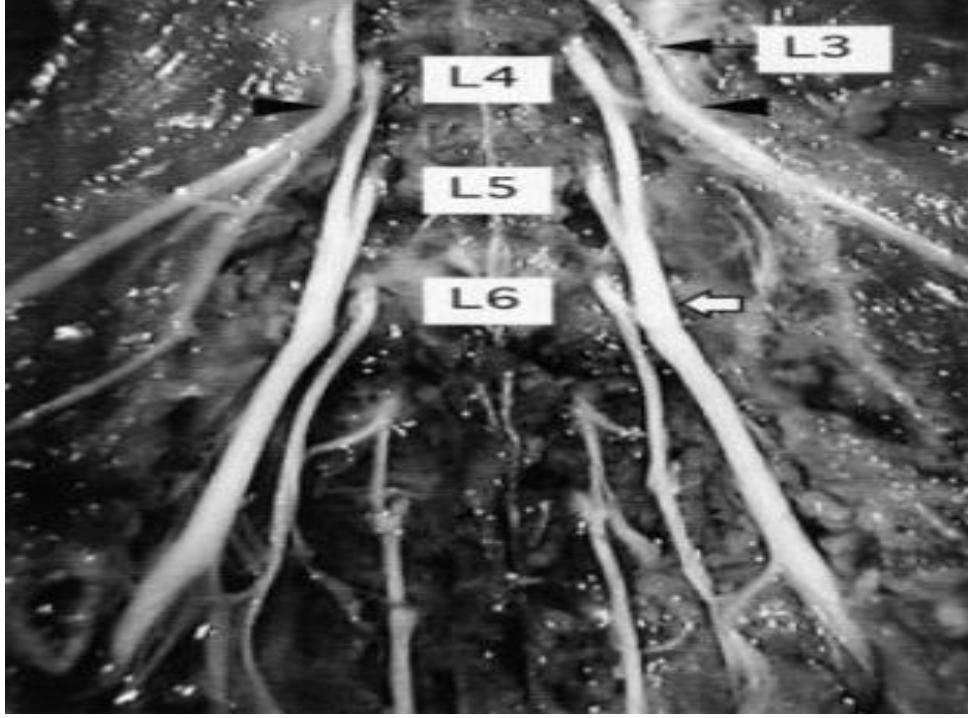
Pozitif seleksiyon ile seçilmiş olan hücreler tripan blue ile muamele edilerek ışık mikroskobu altında hemostometri ile sayıldı. Hücre süspansiyonunun 2 mikrolitresinde 3×10^4 hücre olduğu gözlemlendi. (**Şekil-10**)



Şekil-10:Pozitif seleksiyon ile seçilen hücrelerin ışık mikroskopunda sayılması

SİYATİK SİNİR ANATOMİSİ

Deneysel periferik sinir çalışmalarında daima kullanılan siyatik sinir L₄, L₅, L₆ ve S₁ gelen spinal sinirlerin oluşturduğu lumbo-sakral trunkustan çıkar ve sıçanlardaki en kalın periferik sinirdir. Medulla spinalisten çıkan ve siyatiğe dahil olan lifler değişkenlik göstermekle birlikte sıklıkla L₅, L₆ ve S₁ kaynaklanan liflerin birleşmesinden oluşmaktadır. Siyatik sinir pelvis içerisinde adını alıp, iskiyumun dorsal kenarı ile kuyruk sokumu arasındaki derin olukta ilerler ve siyatik çentikten çıktıktan sonra piriform kasın ventralinde seyrederek. Arka bacak kaslarının çoğunu inerve eden siyatik sinirin ana gövdesi piriform kas seviyesinin 1-2 mm aşağısında kuadratus femoris kasının üzerinden ilerleyerek abduktor femoris fasyasının üzerinde oblik olarak bacağı doğru iner. Siyatiğin ana gövdesiyle birlikte çıkan ince bir dalcık piriformis seviyesinde ventrale doğru kuadratus femorisin altından geçer, biceps femoris, semitendinöz ve semimembranöz kaslarının motor inervasyonunu sağlar. Siyatik sinir, diz eklemi seviyesinin yaklaşık yarım santimetre üzerinde ventrale doğru seyreden kalın tibial sinir ve dorsale doğru seyreden ince peroneal (fibular) sinir dallarına ayrılır. (**Şekil 11**)



Şekil 11: Rat siyatik sinirinin önden görünüşü. L₄ ve L₅ birleşip siyatik siniri oluşturmakta ve bu yapıya L₆ in ve bir dal vermektedir beyaz ok) J Peripher nervous system 2000:5 19-21

Siyatikten ayrılan peroneal sinir daha aşağıya doğru gastrokinemiusun lateral karnını ve derin parmak fleksörlerini çaprazlayıp önce daha ince olan peroneus longus dalını verir ve daha sonra yüzeysel ve derin peroneal sinir dallarına ayrılarak sonlanır. Bu dallardan yüzeysel olan peroneus longus ve brevis kaslarını ve parmak ekstansörlerini inerve edip, ayak sırtı ve parmaklarının bir bölümünün duyusunu sağlar; ve derin dal tibialis anterior ve uzun parmak ekstansörleri inerve ederek ikinci parmak arası bölgeye ulaşır.

Ventrale doğru uzanan tibial sinir ise, ilk dalı olan sural siniri, ayrım noktasının 1-2 mm proksimalinde popliteaya girmeden hemen önce gastroknemiusun iki başı arasında verir ve plantaris, soleus, gastrokinemiuslar, fleksör hallusis longus, fleksör digitorum longus ve tibialis posteriorları inerve eder. Dallardan hemen sonra ayak bileğinin üzerinde lateral ve medial plantar sinirlere ayrılarak sonlanır.

SENTETİK VASKÜLER GREFTLER

Vasküler cerrahi 1940'lı yılların son zamanlarında hızlı bir gelişme dönemine girmiş ve bu dönemden yüzyılın sonuna kadar en popüler çağını yaşamaya

başlamıştır. Vasküler cerrahinin önde gelen isimlerinden 'Henry Haimovici' bu döneme vasküler cerrahinin 'altın çağı' ismini vermiş ve bu gelişim dönemini konvansiyonel vasküler cerrahi prosedürler ve endovasküler revaskülarizasyonun yeni teknikleri olarak iki ana başlık altında sınıflandırmıştır (82). Konvansiyonel vasküler cerrahi 1785'de John Hunter'in anevrizmayı proksimalden ligate etmesi ile başlamıştır (82). Daha sonra 19. yüzyılın sonlarına doğru Dörfler'in ve 1901-1910 yılları arasında Alexis Carrel'in vasküler anastomozlar ve sütür teknikleri üzerinde yaptığı deneysel çalışmalar vasküler cerrahideki gelişimi hızlandırmıştır (83,84).

Vasküler cerrahide greft kullanımı ilk defa 1913'de Pringle'in 2 hastaya ven grefti kullandığını rapor etmesi ile başlamıştır (85). Tüm bu gelişmelere rağmen vasküler cerrahinin hızlı ilerleme gösterme dönemi bypass prosedürü ve prostetik greftlerin kullanıma girmesi ile başlamıştır ve son 40-50 yıldır prostetik vasküler greft üretim teknolojisindeki hızlı ilerlemelerden sonra en verimli dönemine girmiştir. Prostetik greft cinsi olarak halen en sık kullanılan malzeme cinsi Dacron ve Polytetrafluoroethylene (PTFE) greftlerdir.

Bu çalışmamızda PTFE greft seçminde etkili olan temel sebepler, trigeminal nevralji gibi mikrovasküler dekompresyon ameliyatlarında beyin cerrahlarınca kullanılması ve litaretür taranması sırasında bu greftle yapılan bizim çalışma modelinin bulunamamış olmasıdır.

ÇALIŞMA GRUPLARI

Çalışma, ağırlıkları 210±30 gram arasında değişen 21 adet Wistar tipi dişi sıçan kullanılarak gerçekleştirildi.

3 gruba ayrılan deneklerin 1 grubuna sağ siyatik sinir kesisi 2. gruba sağ siyatik sinir kesisi ve kesi bölgesinin sentetik vasküler greft ile sarılması 3 gruba sağ siyatik sinire kesi yapılarak kesi bölgesinin altından sentetik vasküler greft geçirilip lezyon bölgesine kök hücre uygulandıktan sonra greft sarılması işlemleri uygulandı. Tüm gruplarda ratların sol siyatik sinirleri kontrol amaçlı korundu.

Cerrahi işlemler 50 mg/kg Ketamine-HCL (Alfamine®-im) ve 9 mg/kg Ksilazin HCL (Rompun®-im) karışımı ile sağlanan anestezi altında gerçekleştirildi.

Cerrahi girişim sağlamak amacı ile hayvanlara özel tespit tahtaları üzerinde uygun pozisyonlar verildi ve işlemler operasyon mikroskobu (107 Series, Seiler Instrument, St. Louis, Missouri) kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm gruplarda sağ arka ekstremitte çalışma için kullanıldı, ameliyat yapılmayan sol arka ekstremitte ise kontrol olarak korundu.

Tüm cerrahi girişimler aynı cerrah tarafından ve standart mikrocerrahi yöntemleri kullanılarak gerçekleştirildi. Cerrahi işlemler siyatik sinir üzerinde gerçekleştirildi.

Hayvanlar postoperatif dönemde standart laboratuvar şartlarında, uzman veteriner kontrolünde, 7'şerli gruplar halinde kafeslerde izlendi, yem ve su ihtiyaçları düzenli olarak karşılandı. Günlük bakımları sırasında insizyon bölgelerine povidone iyot ile pansuman yapıldı. Cerrahi tamamlandıktan sonra ötenazi intrakardiyak enjeksiyonla yapıldı.

Cerrahi işlemler 21 adet sıçanda 3 farklı grup oluşturularak gerçekleştirildi.

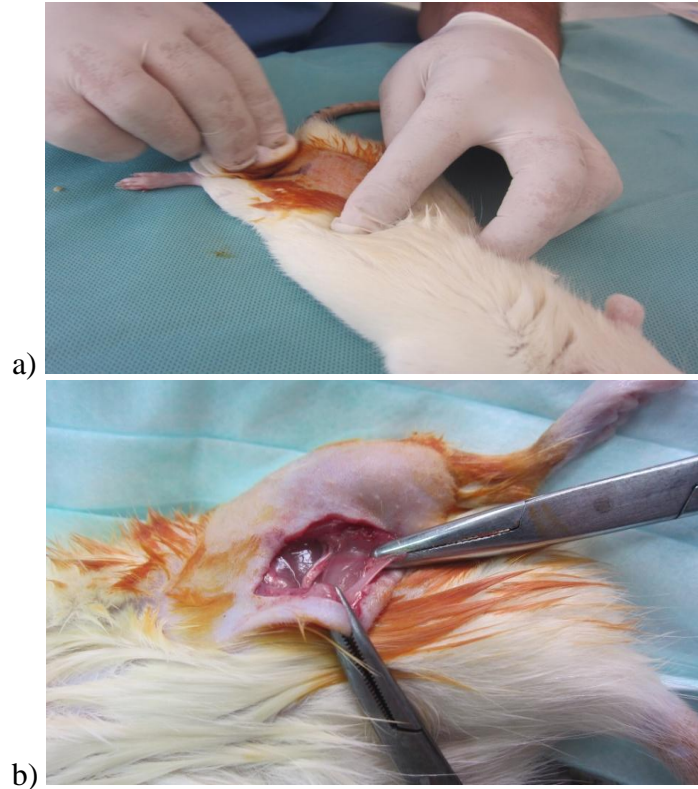
Grup I : Kontrol grubu (n=7) siyatik sinir tam kat kesisi

Grup II: Deney grubu (n=7) siyatik sinir tam kat kesisi ve lezyon bölgesinin sentetik vasküler greft ile sarılması

Grup III: Deney grubu (n=7) siyatik sinir tam kat kesisine 2 mikrolitresinde 3×10^4 hücre olan umlikal kanından elde edilmiş kök hücre uygulaması ve lezyon etrafının sentetik vasküler greft ile sarılması

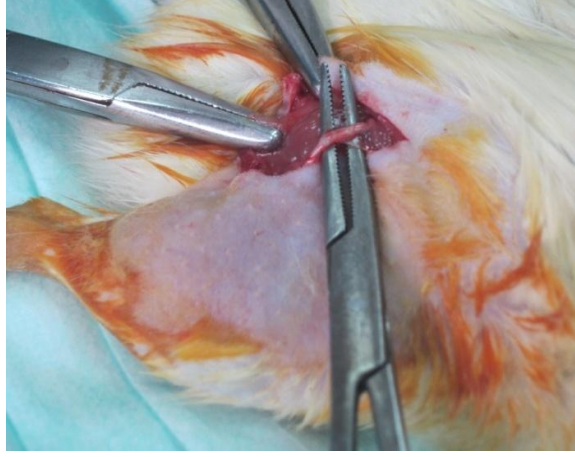
CERRAHİ TEKNİK

Cerrahi yapılacak gruplarda yer alan deneklere 60-100 mgr /kg Ketamine-HCL (Alfamine-im) ve 5 mg/kg Ksilazine HCL (Rompun*im) karışımı ile anestezi uygulandı.



Şekil 12: Siyatik sinir disseksiyonu a) cilt insizyonu planlanması ve cerrahi alan temizliği b) biceps femoris kasının künt disseksiyonu ile sinirin ortaya konması

Operasyon alanı olan gluteal ve uyluk bölgesi traş edildikten sonra prone pozisyonda ayakları tespit edildi ve povidon iodine ile cerrahi alan temizliği yapıldı. İnsizyon sağ alt ekstremitede kalça eklemini izleyecek şekilde oblik olarak yapıldı cilt ekarte edilerek biceps femoris kasına ulaşıldı, ardından kas dokusu künt disseksiyonla açılarak siyatik sinire ulaşıldı. (Şekil 12 a-b ,13)



Şekil 13: Siyatik sinir diseksiyonu ve çevre dokulardan serbestleştirilmesi

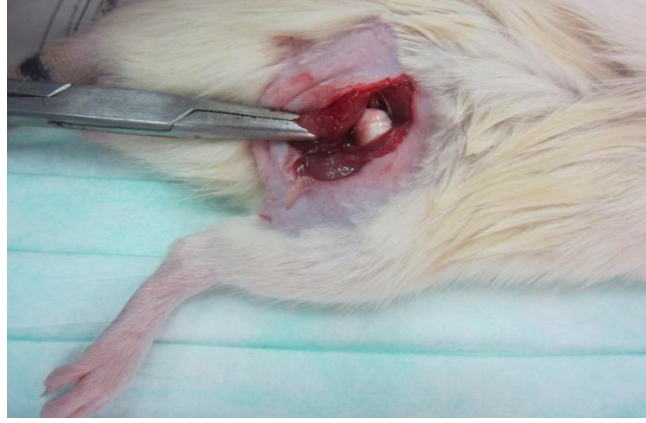
Daha sonra diseksiyon makası yardımıyla siyatik çentikten popliteal alandaki dallanma bölgelerine kadar siyatik sinir çevre dokulardan disseke edildi. Biceps femoris semitendinöz ve semi membranöz kaslarını inerve eden motor dallar diseksiyon esnasında korundu. Tüm gruplarda siyatik sinir aynı yöntemle serbestleştirildi.

Grup 1 kontrol grubu (n=7). Bu grupta siyatik sinir disseke edildikten sonra koaptasyon seviyesi olarak belirlenen tibial ve peroneal sinirlerin ayırım noktasının 1 cm proksimalinden keskin bir mikro makas yardımıyla tam kat kesildi ve ek bir işlem uygulanmadı. (**Şekil 14**)



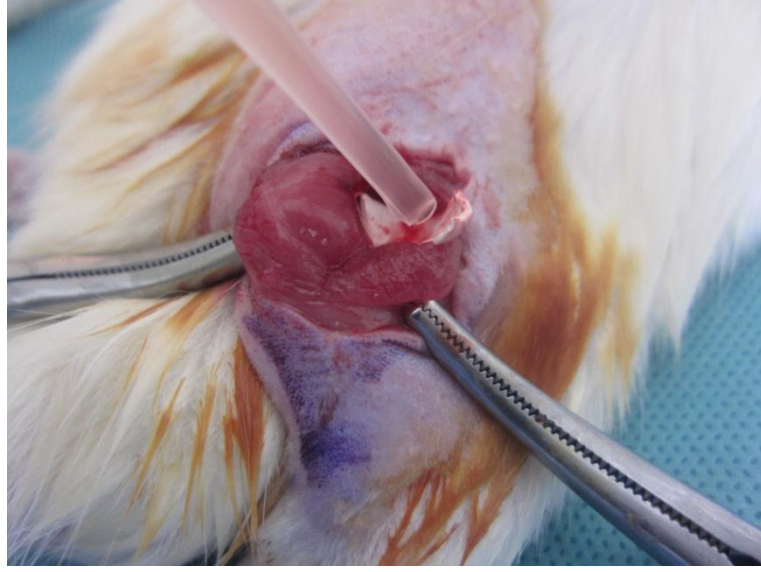
Şekil 14: Siyatik sinir tam kat kesisi

Grup 2 deney grubu (n=7). Bu grupta siyatik sinir disseke edildikten sonra koaptasyon seviyesi olarak belirlenen tibial ve peroneal sinirlerin ayırım noktasının 1 cm proksimalinden keskin bir mikro makas yardımıyla tam kat kesildi ve lezyon alanı senteteik vasküler greft ile sarıldı. (**Şekil 15**)



Şekil 15: Siyatik sinir kesi bölgesini tam olarak kapatacak şekilde kesi bölgesinin sentetik vasküler greft ile kapatılması

Grup 3 deney grubu (n=7). Bu grupta siyatik sinir disseke edildikten sonra koaptasyon seviyesi olarak belirlenen tibial ve peroneal sinirlerin ayırım noktasının 1 cm proksimalinden keskin bir mikro makas yardımıyla tam kat kesildi ve lezyon alanına senteteik vasküler greft ve 2 mikrolitresinde 3×10^4 hücre olan umlikal kanından elde edilmiş kök hücre uygulaması işlemi yapıldı. (**Şekil 16**)



Şekil 16: Siyatik sinir tam kat kesisine sentetik vasküler greft ve kök hücre uygulaması

Tüm deneklere sinirlerle ilgili işlemler yapıldıktan sonra kaslar 5/0 vicrly cilt ise 4/0 ipek kullanılarak suture edildi insizyon alanına povidone iyot ile pansuman yapılarak uygun koşullarda vücut ısıları korunarak anesteziden uyanmaları beklendi.

DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ

ELEKTRON MİKROSKOBİSİ YÖNTEMİ

Elektron mikroskopik değerlendirme için alınan sinir doku parçaları Millonig fosfat tamponu ile hazırlanmış % 5'lik gluteraldehit solüsyonunda 1 saat bekletildikten sonra üzerinde birkaç damla gluteraldehit olan dışı mumuyla kaplı petri üzerinde jilet yardımıyla 1 mm³ lük parçalara ayrıldı. Doku parçaları tekrar gluteraldehit solüsyonuna alınarak 3 saat kadar tespit edildi. Böylece dokular toplam 4 saat tespit edilmiş oldu. Daha sonra dokular Millonig fosfat tamponunda 10 dk çalkalandı. Dokular ikinci kez Millonig fosfat tamponuna alındıktan sonra aynı tampon içerisinde bir gece bekletildi. Ertesi gün dokular Millonig fosfat tamponu ile hazırlanmış %1 lik osmium tetraoksit solüsyonu ile ikinci defa tespit edildi ve yine fosfat tamponu ile iki kez 10'ar dk yıkandı. Dokular daha sonra aşağıdaki sıraya göre dehidrate edildi:

- % 50 Etil alkolde + 4 °C'de 15 dakika
- % 70 Etil alkolde + 4 °C'de 15 dakika
- % 86 Etil alkolde + 4 °C'de 15 dakika
- % 96 Etil alkolde + 4 °C'de 15 dakika
- % 100 Etil alkolde + 4 °C'de 15 dakika
- % 100 Etil alkolde + 4 °C'de 15 dakika

Buraya kadar olan işlemler buzdolabında + 4 °C'de gerçekleştirildi. Daha sonra aşağıdaki işlemler oda ısısında gerçekleştirildi :

- %100 Etil alkolde 15 dakika
- Propilen oksitte 15 dakika
- Propilen oksitte 15 dakika

Dehidrate edilen doku parçaları daha sonra aşağıdaki solüsyonlar içerisinde immerse edildi :

- Propilen oksit + gömme materyali 30 dakika
- Propilen oksit + gömme materyali 30 dakika

Bu işlemlerden sonra doku parçaları içerisinde yeni hazırlanmış gömme materyali (rezin) bulunan tüplere alındı ve bir gece süreyle rotatorda karıştırıldı.

Gömme Materyali:

- Araldit CY 212 20 ml
- Sertleştirici HY 964 20 ml
- Hızlandırıcı DY 064 0.6 ml
- Plastikleştirici – Dibütil Fitalat 1 ml

Ertesi gün doku parçaları taze hazırlanmış gömme materyali kullanılarak 00 polietilen kapsüllere gömüldü ve 60 °C etüvde 48 saat süreyle polimerize edildi. Daha sonra elde edilen bloklar etüvden çıkarılarak soğumaya bırakıldı. Bloklardan Reichert Ultracut S ultramikrotomu ile 500 A° kalınlığında kesitler alındı. Kesitler 200-300 gözenekli bakır gridlere toplandı ve % 70'lik etil alkolde doymuş uranil asetat ve Reynolds'un kurşun sitrat solüsyonları ile boyandı. Boyanan kesitler Zeiss E.M. 10 B elektron mikroskobu ile incelendi. Mikrograflar Dupont filmleri ile çekildi. Resimler fohar ve fortezo kâğıtlarına basıldı.

ELEKTROMYELOGRAFİK DEĞERLENDİRME

Postoperatif 8. haftada tüm sıçanlar elektrofizyolojik değerlendirmeye alındılar. Elektrofizyolojik değerlendirme Teca Medelec Premiere Plus cihazı yardımıyla yapıldı. (**Şekil 17**)



Şekil 17: Elektronöromiyografi işlemi için kullanılan ENMG cihazı

Elektrotlar klasik olarak göbük-tendon kuralı gereği aktif elektrod deneklerin gastroknemius kasına referans elektrod ise aşil tendonunun üzerine gelecek şekilde yerleştireildi. Elektrotların sabitlenmesinde standart bant kullanıldı. (Şekil 18)

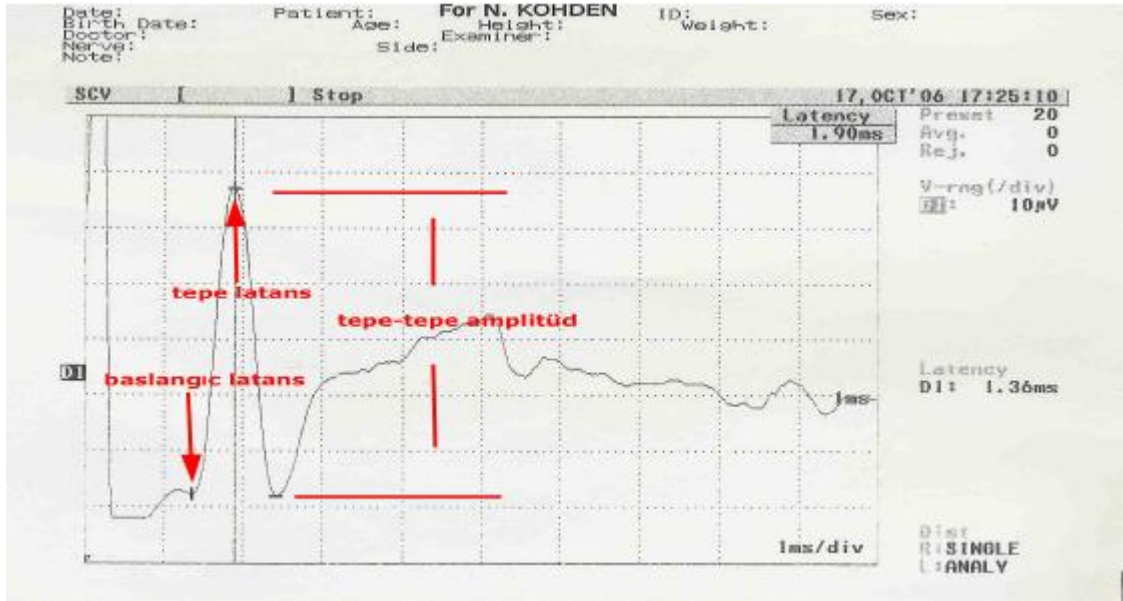


Şekil 18: EMG yapılan bir denek ve elektrotlar

Değerlendirmeye alınan hayvanlarda anestezi, kas içi enjeksiyonları etkileyebileceği göz önüne alınarak intraperitoneal yoldan verilen 50 mg/kg Ketamine-HCl (Alfamine®) ile sağlandı. Đlk cerrahi işleme benzer şekilde siyatik sinir çevre dokulardan serbestleştirildi ve koaptasyon hattı bulundu. Sinir gövdesi

ekspozure yapılan cerrahi alandan monopolar Teflon elektrodlarla direkt olarak uyarıldı. Uyarım sırasında aktif ve referans uyarı elektrodlarının arası 10 mm olarak standardize edildi. Uyarım noktaları olarak sinirin onarım hattı ortada kalacak şekilde mümkün olan en distal ve proksimal noktalar seçildi. Proksimal ve distal uyarım noktaları arasındaki mesafe kaliper ile ölçüldü. Uyarım için 0.1 msn süreli supramaksimal kare akım kullanıldı. Uyarımdan sonra izoelektrik çizgiden ilk sapmanın başladığı nokta başlangıç latansı [milisaniye (msn)], aksiyon potansiyelinin tepe noktası tepe latansı [milisaniye (msn)], pozitif ve negatif en yüksek tepeler arası ise amplitüd [mikrovolt (μV)] olarak işaretlendi. (Şekil 19) Test öncesinde yüzeysel kayıt noktalarının sıcaklığı infrared Thermaderm cihazı ile ölçüldü. 31 °C den daha soğuk bulunan ekstremiteler lamba ile ısıtıldı.

ENMG ölçümlerini yapan kişiler deneklerin hangi gruba ait olduklarını bilmiyorlardı. Önce distalden daha sonra proksimalden uyarılıp kayıtlanan birleşik kas aksiyon potansiyelleri üst üste çakıştırılarak proksimal ve distal noktalar arasında aksiyon potansiyelinin iletim hızı, birleşik kas aksiyon potansiyelinde olan tepe-tepe amplitüd ve alan değişiklikleri hesaplandı. Deney uygulanan sağ ve sağlam olan kontrol sol bacaklardaki değerler deneysel bacak / kontrol bacak oranları hesaplanarak istatistiksel olarak karşılaştırıldı.



Şekil 19: Elektronöromiyografi kaydında değerlendirilen parametreler.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Tüm istatistiksel analiz için SPSS for Windows (version 13.00) bilgisayar paket programı kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistiksel bilgiler ortalama \pm Standart Sapma ($X \pm SD$) şeklinde verilmiştir. Tüm istatistiklerde p değeri $p \leq 0.05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğuna One- Sample Kolmogorov- Smirnov Testi ile karar verilmiştir. Bütün verilerin normal dağılıma uygun olduğu tespit edilmiştir. Bunun için grup içerisinde verilerin karşılaştırılması amacı ile Paired- Samples T Testi uygulanmıştır. Gruplar arasında verileri karşılaştırmak için One Way Anova Testi kullanılmıştır ve anlamlı bulunan değerlerde anlamlılığı yaratan grubu belirlemek amacıyla post hoc test olarak Tukey Testi kullanılmıştır.

BULGULAR

EMG BULGULARI

GRUPLAR	X ± Ss	T	p*
Siyatik Kesi Grubu			
Sağlam taraf latans değeri	1.33 ± 0.55	2.34	0.057
Dejenere taraf latans değeri	1.22 ± 0.94		
Sağlam taraf amplülüt değeri	23.14 ± 7.92	-1.99	0.093
Dejenere taraf amplülüt değeri	26.42 ± 7.11		
Vasküler Greft Grubu			
Sağlam taraf latans değeri	1.49 ± 0.26	2.60	0.041*
Dejenere taraf latans değeri	1.20 ± 0.67		
Sağlam taraf amplülüt değeri	16.14 ± 5.08	-2.52	0.045*
Dejenere taraf amplülüt değeri	25.85 ± 7.33		
Kök Hücre Grubu			
Sağlam taraf latans değeri	1.55 ± 0.20	3.65	0.011*
Dejenere taraf latans değeri	1.22 ± 0.04		
Sağlam taraf amplülüt değeri	12.28 ± 9.06	-2.95	0.025*
Dejenere taraf amplülüt değeri	26.28 ± 7.06		

* Paired- Samples T Testi

Tablo 1: Grup içinde sağlam taraf ve dejenere tarafın karşılaştırılması

Gruplar	Sağlam taraf latans değeri			Dejenere taraf latans değeri		
	X ± Ss	F	P*	X ± Ss	F	P*
Siyatik Kesi Grubu	1.33 ± 0.55	2.461	0.114	1.22 ± 0.94	0.256	0.777
Vasküler Greft Grubu	1.49 ± 0.26			1.20 ± 0.67		
Vasküler Greft Grubu	1.55 ± 0.20			1.22 ± 0.04		

Oneway Anova Testi

Tablo 2: Üç grubun latans değerlerinin karşılaştırılması

Her üç grupta (Siyatik Kesi Grubu, Vasküler Greft Grubu ve Vasküler Greft Grubu) sağlam taraf ve dejenere taraf latans değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Gruplar	Sağlam taraf amplütüt değeri			Dejenere taraf amplütüt değeri		
	X ± Ss	F	P*	X ± Ss	f	*p
Siyatik Kesi Grubu	23.14± 7.92	3.723	0.044*	26.42 ± 7.11	0.012	0.988
Vasküler Greft Grubu	16.14 ± 5.08			25.85 ± 7.33		
Kök Hücre Grubu	12.28 ± 9.06			26.28 ± 7.06		

* Oneway Anova Testi

Tablo 3: Üç grubun amplütüt değerlerinin karşılaştırılması

Her üç grupta (Siyatik Kesi Grubu, Vasküler Greft Grubu ve Vasküler Greft ve Kök Hücre Grubu) sağlam taraf ve dejenere tarafta amplütüt değerleri karşılaştırıldığında; sağlam taraf amplütüt değerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunurken, dejenere taraf amplütüt değerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Gruplar	Ortalama	P*
	Farkı	
Syatik kesi grubu- Vasküler greft grubu	7.000	0.220
Syatik kesi grubu- Kök hücre grubu	10.85	0.038*
Vasküler greft grubu- Kök hücre grubu	-3.85	0.613

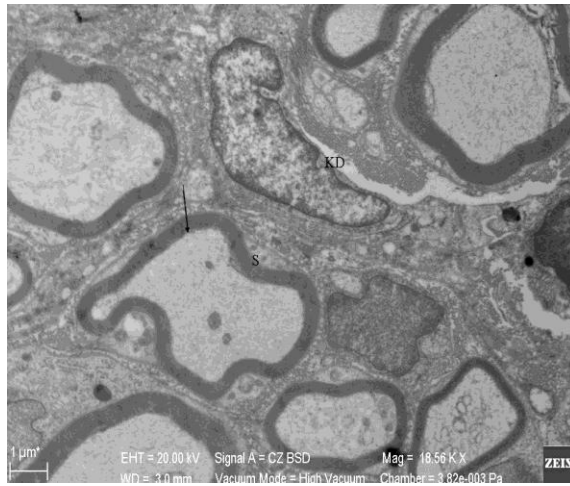
*
Tukey
testi

Tablo 4: Sağlam taraf amplütüt değerinin gruplar arasında karşılaştırılması

Sağlam taraf amplütüt değerinde anlamlılığı yaratan grubu test etmek için post hoc test olarak yapılan Tukey testinde sağlam taraf amplütüt değerinde anlamlılığı yaratan grup olarak kök hücre grubu bulunmuştur.

ELEKTRON MİKROSKOBİSİ BULGULARI

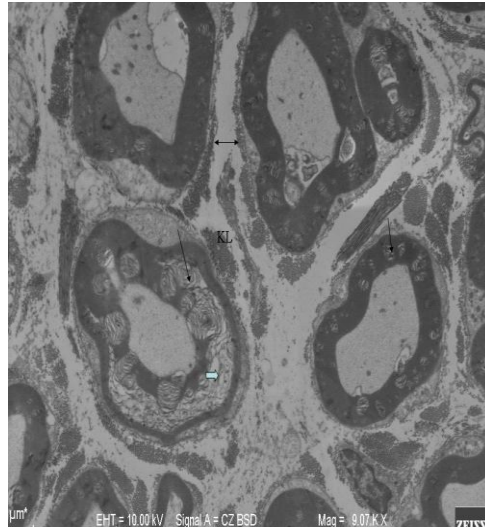
Kontrol grubunda akson, meyelin kılıf normal görünümdeydi. Akson yakınındaki damar ve endotel de normal yapısında izlendi. (Şekil 20)



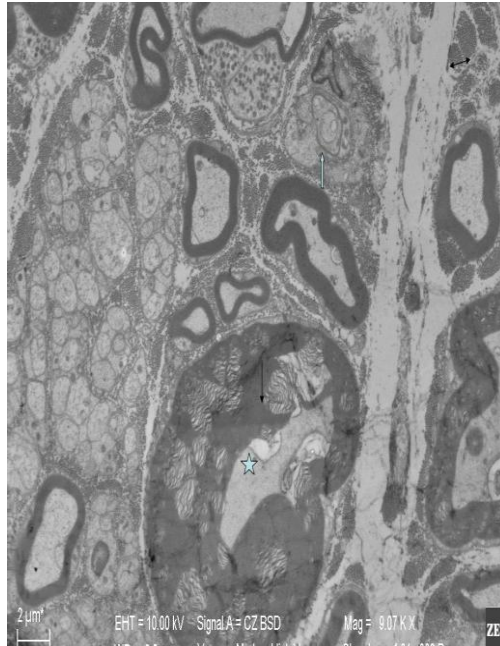
Şekil 20: Kontrol grubu deneklerde alınan siatik sinirden bir görünüm. Ok; miyelin kılıf, KD: kan damarı , S; enine kesit sinir.

Kesi yarası yapılan ve tedavi edilmeyen grupta akson ve miyelin kılıf dejenerasyon belirgindi. Myelinli sinir liflerinin çoğunda akson ile miyelin kılıf arasında bütünlük kaybolmuş boşluklar oluşmuştu. Bazı sinir liflerinde miyelin

kılıfın normalden daha kalın olduğu izlenirken bazılarında ise bu kılıfın oldukça incelendiği dikkati çaktı. Kalın myelinli sinir liflerinde lifler arası alanda ödem oldukça fazlalaşmış myelin kılıfın yer yer açılıklar meydana gelmişti. Dejenere sinir liflerinde myelin kılıf normal paralel dizilimini kaybetmiş bazı alanlarda lameler tarzda şekil almıştı. Bazı bölgelerde myelinsiz sinir lifleri belirgin olarak izlendi. Aksonlar arasında enine ve boyuna kesitlerde izlenen kollajen lifler bağdokundaki artışı göstermekteydi. (Şekil 21,22)

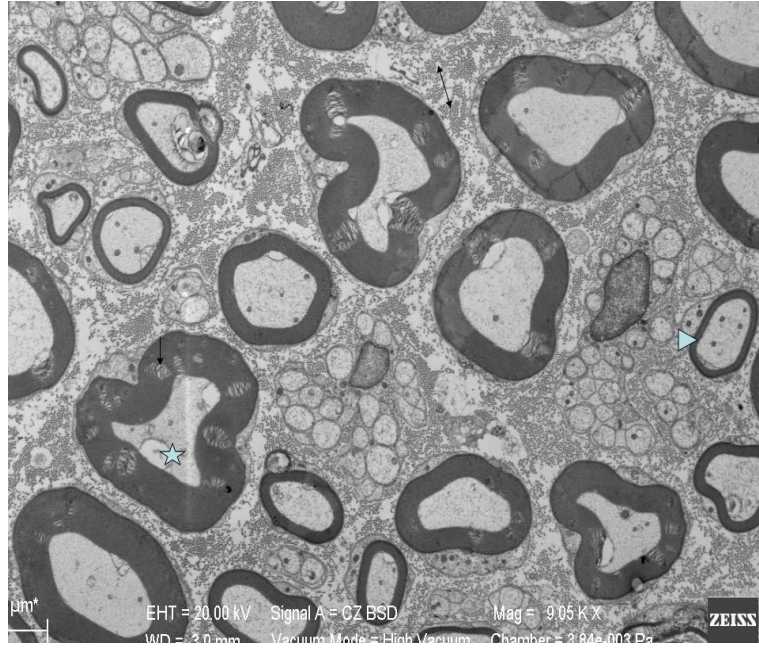


Şekil 21: Kesi yarısı oluşturulup tedavi uygulanmayan gruptan görünüm. Ok; miyelin kılıftaki anormal görünüm, kalın ok; miyelin kılıftaki açılmalar, yıldız; astrosit, çift başlı ok; enine kesitte kollajen fibriller.



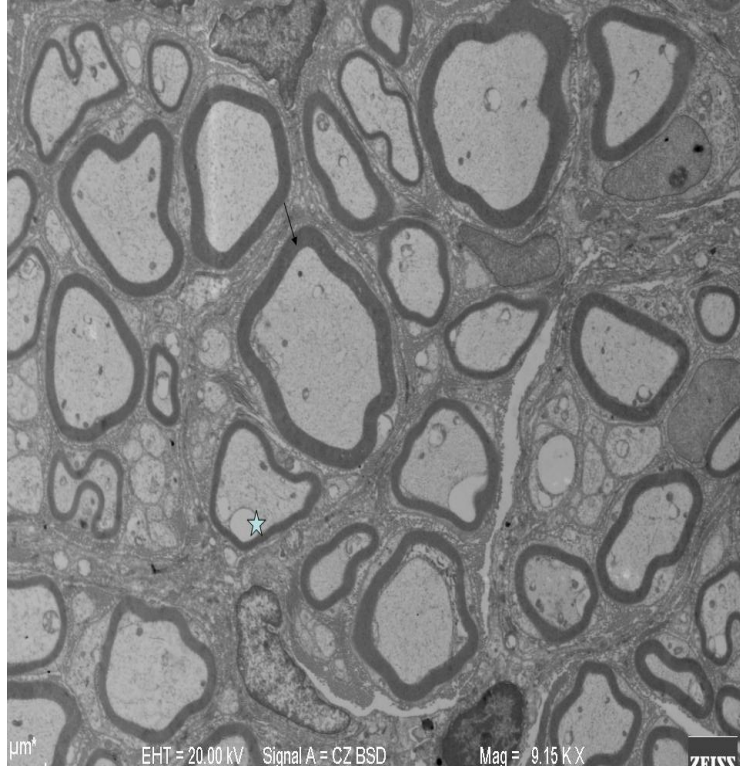
Şekil 22: Kesi yarısı oluşturulup tedavi uygulanmayan gruptan görünüm. Ok; miyelin kılıftaki anormal görünüm, kalın ok; myelinsiz astrosit, yıldız; astrosit, çift başlı ok; enine kesitte kollajen fibriller.

Kesi yarası oluşturulup vasküler greft uygulanan grupta myelin kılıfta ve aksonlarda dejenerasyonun devam ettiğini ancak tedavi edilmeyen gruba göre oldukça azaldığı izlendi. Tedavi edilmeyen grupta izlenen myelin kılıf arasındaki açıklıkların bu grupta azaldığı ve aynı zamanda yine tedavi edilmeyen grupta izlenen kalın myelin kılıflı sinir liflerinin bu grupta izlenmediği görüldü. Bununla birlikte bağ dokusu lifleri ve demyelinize sinir lifleri bu grupta da dikkati çekmekteydi ancak göreceli olarak azaldıkları izlendi. (Şekil 23)



Şekil 23: Kesi yarası oluşturulup vasküler greft uygulanan grup. Ok; miyelin kılıftaki anormal görünüm, yıldız; astrosit, çift başlı ok; enine kesitte kollajen fibriller.

Kesi yarası oluşturulup vasküler greft ve kordon kanı kökenli CD34+ uygulanan grupta genel görünüm sadece vasküler greft uygulanan gruba karşın oldukça iyiydi. Bu grupta myelinli kılıf arasında izlenen açıklıklar kaybolmuştu. Sinir lifleri normal yapısına yakın görünümdeydi. Bağ dokusu lifleri çok azdı. Bu grupta da ince myelin kılıflı sınır lifleri ve demyelinize sinir lifleri varlığını sürdürmekteydi. Bazı liflerde aksonal dejenerasyon azda olsa devam etmekteydi ancak normale en yakın görünüm bu grupta izlendi. (Şekil 24)



Şekil 24: Kesi yarısı oluşturulup vasküler greft ve kordon kanı kökenli kök hücreleri (CD34+) verilen. Ok; miyelin kılıf, yıldız; astrosit

TARTIŞMA

İnsanların yaşamlarına tarih boyunca birçok teknolojik cihazlar girmiş ve bu cihazlar insan yaşamını kolaylaştırmıştır. Ne yazık ki bu cihazlarla beraber kazalarda ciddi artışlar olmuştur. Hayatımıza giren her cihaz yeni bir bilgi ve beceri isteyen kullanım şekline ihtiyaç duymaktadır. Bu cihazların kullanım hataları insan yaşamında ciddi morbitiditeye neden olmakta ve bunun önemli bir kısmını da periferik sinir yaralanmaları oluşturmaktadır.

Periferik sinir yaralanmaları ciddi araştırma konusu olmuş ve bu konuda tedavinin zamanı, tedavi şekli, tedavide kullanılması gereken materyaller gibi sayısız çalışma ele alınmıştır. Son 50 yıl içerisinde ciddi aşamalar elde edilmiş olmasına rağmen halen alınacak çok yol bulunmaktadır.

Periferik sinir yaralanmalarının tedavisindeki altın standart sinir uçlarının primer olarak koapte edilmesidir. Primer onarım için bütün cerrahi prosedürler yerine getirilse dahi nöral hücre ölümü, cerrahi alanda gelişen epinöral skar, denervasyona bağlı son organ atrofisi gibi nedenlerle başarısızlık oluşabilmektedir.

Yapılan çalışmalarda hasar sonrası sinir tamirinde zamanlama (primere karşı sekonder) sorusu; sinir hücresi içindeki metabolik değişikliklere göre cevaplanabilmektedir. Sinir hasarı sonrası sinir hücresi içinde optimal metabolik potansiyelin iki haftadan üç haftaya kadar uzadığını düşündürmektedir (86). Bununla birlikte klinik hiçbir bilgi primer gecikmiş onarımın, primer erken onarıma göre avantajlı olduğunu göstermemiştir (86).

Urabe ve ark.'nın kesiye uğrayan periferik sinir tamirinin zamanlaması için oluşturulan modellerine göre; rejenerasyon üzerine en iyi sonuçların sinir kesisi sonrası 1. ve 3. gün tamir edilen sıçanlarda görüldüğü bildirilmiştir. 1.gün suture edilen sıçanlarda, 3.gün suture edilen gruba göre daha az epinöral skar dokusu görülmüştür. 3.gün suture edilen grupta, 2.operasyonda kesiye uğratılan sinir etrafında olan adezyon nedeniyle siniri disseke edip, fresh uçların bulunması esnasında mikroskopi

altında disseksiyon yapılsada sinirin etkilendiği düşünölmektedir. Yapılan manöplasyonlar sonucu zaten var olan inflamatuvar yanıtın tekrar tetiklenerek, skar formasyonunun 1.gün sütünasyon grubuna göre 3.gün sütün grubunda daha fazla geliştiği saptanmıştır (87).

Lo ve ark. aksotomize nöronların apopitozis ile öldüklerinde karakteristik morfolojik değişikle beraber DNA fragmantasyonun gerçekteştiğini göstermişlerdir (88).

Fuminori ve ark. rejenere olmuş çok sayıda akson bulunmasına rağmen hedef organın uygun olmaması nedeniyle, miyelizasyonun akson hedef organına ulaşmadan meydana geldiğini, akson çapı değerinin ise sinirin kaynaklandığı yere bağlı olduğunu belirtmişlerdir (89). Bu nedenlere bağlı olarak akson ve lif çapı değerlerinin aksonal matürasyon ile alakalı olduğu, akson sayısı değerinin anlamlı olabilmesi için fonksiyonel değerlendirmede altın standart olarak kabul edilen SFİ ile kolere olması gerektiği vurgulanmıştır. Bu parametrenin fonksiyon ile ilişkili olabilmesi için uygun hedef organ ve santral sinir sistemi ile integrasyonuna ihtiyaç vardır (89).

Nachemson ve ark. bildirdiğine göre Abaercrombie ve ark., kesiye uğramış sinirin distalinde artan kollojen formasyonu ve miyelofibrozisin, denerve olmuş sinirde geç sinir onarımındaki kötü sonuçların nedeni olduğu düşünmektedir. Kesi olan bölgede dikkate değer ölçüde hem intra hem de ekstra nöral fibrozis görölmektedir. Kilinik deneyimlerde sekonder vakalarda fibrotik sinir segmentinin, sinir uçlarının görölüp fasiküler paternin identifiye edilene kadar hasar görmüş bölgeden diseke edilmesi gerekmektedir (100).

Sonraki günlerde ise kesilen sinirlerin uçlarının identifiye edilmesi, siniri çevreleyen dokularda oluşan skar dokusu nedeniyle güçleşmektedir. 10.günden sonra sinir uçlarının bulunup sütün edilmesi ile sinirde gerginlik, hem tamir bölgesinde hem de sinir gövdesinde dolaşım bozukluğuna ve/veya aynı zamanda sütünasyon sonrası gerginlik nedeniyle iki sinir ucunun ayrılmasına yol açmaktadır (87).

Uç-uca anastomozun gerilimsiz olmasının aksonal aktivite üzerindeki önemi ve olumlu etkileri çalışmalarda kanıtlanmıştır (90). Sinir kesisi sonrası 14-28.günler arasında ve sonrasında ise sinir grefti gerekmektedir (90). Fakat sinir greftinin; rejenerasyon olan aksonun iki sütür hattını geçmesi gerekliliği, donör ve alıcı arasında fasiküler paternin değişiklik göstermesi, operasyon süresi, skar dokusu riski, sensoriyal kayıp veya donörde nöroma formasyonu gibi potansiyel dezavantajlarının olması nedeniyle mutlaka her sinir hasarında kullanılması önerilmemekte ve sinirler arası boşluk küçükse (6-9mm) primer sütürasyon önerilmektedir (91).

Sinirde defekt 3 cm veya daha fazla ise ya da 8/0 numaralı suture materyali ile konan sütürler sinir sonlanmalarını bir arada tutamıyorsa greft ile onarım endikasyonu vardır (92). Dijital sinir onarımında ise metakarpofalangeal eklemi 60 derece fleksiyonda ve interfalangeal eklemleri tam ekstansiyonda iken 10/0 ile atılan sütürler sinir sonlanmalarını bir arada tutamıyorsa defekt olduğu kabul edilir ve greft endikasyonu konur (93). Periferik sinir defektlerinin rekonstrüksiyonunda fonksiyonların iyileşmesi çok sayıda lokal ve sistemik faktöre bağlıdır (94). Ne yazık ki, cerrahi tekniğe dikkat ederek çok az miktarda önemli negatif faktör minimize edilebilir. Cerrah temelde minimal invaziv ve uygun cerrahi teknikle onarım sürecini desteklemeli sinir dokusunun doğal kimyasal ve hücrel proseslerinin düzenli işlerliğini sağlamalıdır (95).

Sunderland ve Ray ideal sinir grefti şartlarını şöyle belirtmişlerdir; (96)

1. İnterfasiküler konnektif doku az olmalı,
2. Fasiküller ayrı ve birbirine paralel olmalı veya interfasiküler bağlantılar az olmalı,
3. Kabul edilebilir bir lokalizasyonda olmalı,
4. Uzun dal vermeyen bir segment olmalı,
5. Aksonlar büyük kalibreli olmalı,
6. Uzunluğu boyunca büyük çapta olmalı,

7. Duyu donör alanında duyu defekti minimal olmalı ve bası yüzeylelerinde skar bırakmamalı.

Sinir grefti çeşitleri ise; trunkal sinir greftleri, kablo sinir greftleri, pediküllü sinir greftleri, grup fasiküller sinir greftleri, fasiküler sinir greftleri, serbest vaskülarize sinir greftleri şeklinde sınıflandırılabilir (96).

Klinik uygulamada en sık kullanılan otojen sinir grefti sural sinirdir. Longitudinal bir insizyon ya da küçük transvers insizyonlarla 40 cm'ye kadar greft alınabileceği bildirilmiştir (97). Postoperatif dönemde ayak lateralinde hipostezi ortaya çıkar. Ayrıca sinir donör sahasında oluşan nöroma da sık rastlanan bir morbiditedir. Ön-koldaki duyu sinirleri de greft materyali olarak kullanılabilirler (99). Medial antebrakial kutanöz sinirden 10 cm, lateral antebrakial kutanöz sinirden 20 cm 'ye kadar sinir grefti elde edilebilir (98,99). Ancak bu sinirlerin greft olarak alınmasından sonra önkol radial ve ulnar tarafında, bazen tenar bölgeye de yayılabilen duyu kaybı ortaya çıkar. Bu durum, özellikle median sinir kesisinin de eşlik ettiği vakalarda istenmeyen bir durumdur. Defektin boyutu ve greftin fasiküler yapısı, kullanılacak greft seçeneklerini kısıtlayabilir. Greftin çapı arttıkça perfüzyon ve revaskülarizasyon oranı azalır, greft nekrozu riski artar (97,98,99). Greft nekrozu riski ve donör saha morbiditesi, tekniğin kullanımını sınırlayan faktörlerdir.

Bizim bu çalışmamızda klinik olarak defektli kabul edilip greft endikasyonu konulan vakaların onarımında kullanılacak yeni bir yaklaşım geliştirmek amacıyla sentetik vasküler greft ve kök hücre bir arada kullanıldı

Çeşitli kaynaklardan elde edilen kök hücrelerle çeşitli doku hasarlarına yönelik çalışmalar ülkemiz dahil dünyanın birçok ülkesinde son derece yoğun ve hızlı bir biçimde devam etmektedir. Yakın bir gelecek için, bugün için tedavi seçeneği bulamadığımız çeşitli hastalıkların sağaltımında kök hücrelerinin kullanımı umut verici görülmektedir. Bu hastalık gruplarından sinir bilimlerinin alanında bulunan ve ilk sıralarında yer alan omurilik-sinir hasarları, beyin-damar hastalıkları,

inmeler, Alzheimer, Parkinson, multipl skleroz, sara hastalığı gibi çeşitli rahatsızlıkların kök hücre uygulanarak tedavi edilebileceği öngörülmektedir (81).

Fakat kök hücre tedavisin klinik kullanımından önce üstesinden gelinmesi gereken önemli sorunlar vardır. Bu sorunları sıralayacak olursak;

1. İstenilen hücre türünü yeterli sayıda ve saf bir şekilde elde etmek
2. Özgün bir patolojiyi düzeltmek için hangi kök hücre tipinin nasıl çoğalacağına anlaşılması
3. Hücre tabanlı tedavilerin değerlendirilmesi amacıyla bazı modellerin geliştirilmesi kök hücrelerin isabetli bir şekilde takip edilmesini, farklılaşmaların değerlendirilmesini ve bunların söz konusu işlevler üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi için uygun fizyolojik noktaların ve belirteçlerin seçilmesini gerektirmektedir
4. Hücre tabanlı tedavilerde, istenmeyen durumlarda tedavinin sonlandırılması gerekmektedir
5. İnsan embriyonik kök hücrelerinin geniş ölçekli saklanması, bunların besleyici hücrelere gerek duymadan çoğaltılabilmeleri
6. Embriyonik kök hücre serilerinin, zaman içerisinde ortaya çıkabilecek mutasyonlardan etkilenip etkilenmeyeceğinin tesbit edilmesi
7. Tümör oluşumu
8. Nakledilen hücrelerin bağışık reddini engellemeye yönelik stratejilerin geliştirilmesi (81). Tüm bu konular için çalışmalar devam etmektedir.

Bizim çalışmamızda umlikal kordon kanından elde edilen kök hücre kullanılmıştır fakat etik ve yasal olarak tartışmalara neden olmaktadır bu nedenle bilim adamları alternatif kök hücre kaynaklarına yönlendirmiştir (81).

Bir doku ya da organdaki farklılaşmış hücreler arasındaki farklılaşmamış hücreler olup, kendisini yenileyebilen ve bulunduğu doku, organın özelleşmiş hücre tipine dönüşebilen hücrelerdir. Yaşayan organizmada bu hücrelerin asıl görevi buldukları dokuyu tamir etmek ve dokunun devamlılığını sağlamaktır. Özellikle hematopoietik kök hücrelerinin farklı embriyonik kökenli hücrelere kaynaklık edebileceğinin ortaya çıkmasıyla erişkin kök hücrelerine yönelik araştırmalar büyük ivme kazanmıştır (81,102,103,104).

Hematopoietik kök hücreler erişkin insanlardan izole edilebilen az sayıdaki kök hücrelerden biridir. Esas olarak kemik iliğinde yerleşik olan hematopoietik kök hücreleri normalde fetüsün karaciğerinde, dalağında, göbek kordonunda, plasentada ve erişkin periferik kanında bulunurlar. Bazı çalışmalarda retroviral işaretleme yöntemi kullanılarak tek bir hematopoietik kök hücrenin in vitro ortamda mezodermal, nöroektodermal, endodermal hücre serilerine farklılaştığı gösterilmiştir. Özellikle sinir sisteminde bu hücrelerin nöronlara ve glial hücrelere farklılaşabildiği gösterilmiştir. Priller ve arkadaşlarının yaptığı bir retroviral aracılıklı çalışmada hematopoietik kök hücreleri alıcı farelere naklettikten 4 hafta sonra verici kaynaklı tamamen gelişmiş serebellar purkinje nöronları kaydedilmiştir. Bu sonuçlar gelecekte travmada, enfarkta ve nörodejeneratif hastalıkların ilerlemesinin engellenmesi için hematopoietik kök hücrelerinin kullanılabilirliğini göstermektedir (81).

Kemik iliği kök hücreleri: Bu hücreler son 30-40 yılın konusunu oluşturmuş olup önceleri başta lösemiler olmak üzere çeşitli hastalık durumlarında kan sistemini tekrar elde etmek amacıyla yapıldı. Bu gün ise; solit organ tümörlerinde, doğumsal genetik hastalıklarda ve edinsel kan hastalıklarında kullanılmaktadır. Kemik iliği hücrelerinin sadece kan hücrelerine dönüşmediği kas, beyin, karaciğer ve böbrek hücrelerine dönüşebildiği gösterilmiştir. Günümüzde büyük ve karışık bir hücre grubu içinde az sayıda bulunabilen kök hücrelerin tanınması için floresanla aktive hücre ayırma yöntemi ortaya konmuş olup, insan hematopoietik kök hücreleri için tanımlanmış ve klinik çalışmalarda temel olarak kullanılan CD34+ belirteçidir (81) .

Periferik kan kök hücreleri: Özellikle aferez tekniklerindeki gelişmeler ve hematopoietik büyüme faktörlerinin, mobilizasyon tekniklerine girmesiyle periferal kandaki kök hücrelerinin oranını arttırmak ve yeteri kadar kök hücre elde etmek mümkün hale geldiği için klinik nakillerde kullanılan hematopoietik hücrelerin birincil kaynakları arasına periferal kan kök hücreleri girmiştir. Genel anestezi riskinin olmaması, invaziv işlem gerektirmemesi, morbiditenin düşük olması bu grup kök hücre kaynaklarını cazip hale getirmiştir (81) .

Göbek kordonu kök hücreleri: 1980 yılının başlarında bilim adamları göbek kordon kanında da kemik iliğindeki benzer hücrelerin bulunduğunu fark etmeleri ile birlikte belirli hastalıkların tedavisinde bu hücrelerin kullanılabileceği fikrini ortaya atmış ve 1988 yılından beri tedavi amacıyla kullanılmaya başlanmıştır. Bu hücreler ile ilgili yapılmış çalışmalar, kemik iliği hücrelerine oranla 10 kat kuvvetli olduğunu ve laboratuvar şartlarında 100 katına çıkarılabildiklerini raporlamışlardır. Aynı zamanda kordon kanındaki hücrelerin olgunlaşmamış ve bağışıklık yönünden zayıf olması nedeniyle hücrelerin nakil sırasında GVH (Graft Versus Host) reaksiyonunu tetikleme olasılığı düşüktür. Kordon kanından elde edilen kök hücrelerin kullanıldığı hastalıklar arasında Fanconi aplastik anemisi, lösemi, meme kanseri, aplastik anemi sayılabilir (81).

Erişkinlerde mezenkimal kök hücre için en iyi kaynak kemik iliğidir. Kemik iliğini incelediğimizde iki ayrı sistemden oluştuğunu görmekteyiz; 1) Hematopoietik doku 2) Stroma. Kemik iliği hücreleri kültür kaplarında kültüre edildiklerinde hızla plastik kültür kabına yapışan hücrelerin kemik iliği stromal hücreleri olduğu, yapışmayan hücrelerin hematopoietik hücreler olduğu 1966'lı yıllardan beri bilinmektedir. Önceleri kemik iliği stromal hücrelerin, özellikle mezenkimal kök hücreler hematopoezi indüklemek amacıyla kullanıma girerken daha sonraları invivo ve invitro çalışmalarla aralarında kas, sinir, kemik, kalp, böbrek gibi hematopoetik olmayan dokuların parankimal hücrelerine farklılaştığı gösterilmiştir. İlk kez fetal buzağı serumu içeren kemik iliğinin ortama yayılması sonrasında kemik hücrelerine ve adipositlere farklılaşan ve fibroblastlara benzeyen yapışkan hücre kolonilerinin geliştiğini gösteren Fridenshtein tarafından tanımlandı. Sonraki çalışmalar bu

hücreleri multipotent kök hücre kaynağı olarak belirledi ve bu bağlamda hücreleri temsilen birçok isimlendirme kullanıldı. Son olarak bu hücreler “multipotent erişkin progenitör hücreler” olarak isimlendirildi. Mezenkimal kök hücrelerin çeşitli merkezi sinir sistemi hastalıklarında nakillerden sonra beyin dokusunda nöral farklılaşmaya karşın, bazı teropatik moleküller de üreterek yararlı etkilerinin olduğu izlenmiştir (81).

Mezenkimal kök hücreler için ana kaynak kemik iliği olmakla birlikte birçok dokudan izole edilebileceği bilinmektedir. Bu dokuların başlıcaları; kas, kemik, kıkırdak, tendon, yağ, fetal kemik iliği, karaciğer, kordon kanı ve matriksi, damar ve periferel kan dokularıdır (81).

Mezenkimal kök hücreler için diğer bir kaynak Wharton jeli olup, bu göbek kordonundaki müköz bir bağ dokusudur. Wharton jelini ilkel kök hücre kaynağı olarak görmenin nedeni embriyogenezde primordial germ ve hematopoitik kök hücrelerinin embriyon ve fetüsteki hedef dokuları oluşturmak amacıyla vitellüs kesesinden bu bölge aracılığıyla göç etmeleridir. Kültür ortamında bu hücreler uyarıldıklarında birkaç saat içinde nörit benzeri çıkıntılara sahip yuvarlak hücre gövdelerinin oluştuğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda bu hücrelerin NSE (Nöron Spesifik Enolaz) eksprese ettiği görülmüştür. Wharton jelinden elde edilen çok sayıda hücre olması, kolay elde edilebilmesi, kültür ortamlarında uzun süre yaşaması, etik yönden tartışmalı olmaması bu kaynağı cazip hale getirmektedir (81).

Son yıllarda, erişkin insan ve hayvanların beyin, kas, deri, sindirim sistemi, kornea, retina, diş, karaciğer ve pankreas gibi diğer organlarındaki ve yağ dokularındaki, kök hücrelere ilişkin olarak yayınlanan raporlar vücudun kendi dokularını yenileyebilme kabiliyeti konusuna yeni bir ışık tutmuştur. Erişkin dokularındaki kök hücrelerin varlığı niye bazı organların diğerlerine göre daha fazla yenilenebilme kabiliyetlerinin olduğuna ilişkin uzun zamandır çözülemeyen bulmacaya potansiyel çözümler üretmek için bir ilk adım önermektedir. Erişkin kök hücrelerini çeşitli tedavilerde kullanma fikri bazı nedenlerle gündeme gelmiştir. Bunlardan birincisi; bu hücrelerin bazı hücre tiplerini içeren özgün bir dokuya

kaynaklık etmesidir. İkincisi; bazı hücre tiplerinin hasarlı dokuya ya da farklı bölgelere göç etmesidir. Üçüncü olarak; bu hücrelerin nakil sonrası diğer hücreleri hareketlendiren büyüme unsurlarını salgılamalarıdır. Örnek olarak sinir kök hücreleri kemirgen beynindeki tümörün bulunduğu bölgelere göç ederler. Bunun yanında nöral kök hücrelerin, nöron, astrosit, oligodendrositlere; adipoz dokudan elde edilen kök hücrelerin nöron ve glial öncül hücrelere; dış pulpasından elde edilen hücrelerin nöral benzeri hücrelere; nazal kök hücrelerin ve sklera kök hücrelerinin sinir hücrelerine farklılaştığı bilinmektedir (81).

Fetal kök hücreler spontan sonlanmış veya ebeveynlerin izniyle hekimlerce yasal ve sistemli olarak sonlandırılmış olan gebeliklerin sonucu fetüsten elde edilmektedir. Fetüsten elde edilen kök hücreler nöral kök hücreler, hematopoyetik kök hücreler, kardiyomyositler ve pankreas adacık öncül hücreleri ile sınırlıdır.

Fetal nöral kök hücre nakli ile ilgili yapılmış olan çalışmalar nakledilen hücrelerin hayvanların beyindeki normal sinyallere cevap verdiğini, hasarlı beyin hücrelerinin yerini aldıklarını ve yeni genlerle çoğaldıklarını göstermiştir. 2001 yılında Dr.Curt Freed ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada insan fetüsünden elde edilen dopaminerjik nöronları 40 parkinson hastasının putamenine bilateral olarak naklettiği ve klinik olarak olumlu sonuçlar alındığı bildirilmiştir (81).

Fetal karaciğer ve kan, hematopoyetik kök hücrelerinin zengin kaynağıdır. Fetal hücreleri içeren tedaviler kök hücre tedavi yöntemlerinin en fazla tartışılan kısmıdır.

Kadavradan elde edilen kemik iliği kök hücrelerinin allojenik transplantasyonlar için uygun olabileceğini savunanlar olmakla birlikte Frade Gage ve ekibi değişik yaşlarda ölmüş insan kadavralarından alınan 23 doku örneğinden nöron üretebildiklerini açıklamıştır. Araştırmacılar yeni hücrelerin çoğalma hızının ölen kişinin yaşıyla ters orantılı olduğunu bildirmişlerdir (81).

Periferik sinir patoloji ve takiplerinde elektromiyografi ile değerlendirilmesi çok önemli veriler elde edilen bir inceleme yöntemidir. Kas liflerinden geçen aksiyon potansiyelinin oluşturduğu elektrik sinyallerinin bir amplikatör aracılığı ile büyütülerek incelenmesi esasına dayanan bu yöntem, klinikte bir çok sinir ve kas hastalığının teşhis edilmesinde kullanılmaktadır. İnceleme sonucunda elde edilen temel değerler oluşturulan bileşik kas aksiyon potansiyelinin latans, amplitüd ve alan değerleridir. Bunlardan amplitüd, aktif kas liflerinin elektroda ulaşabilen depolarizasyon değeridir ve uyarılan en geniş motor ünite ile ilgili bilgi verir . Bu nedenle amplitüd değeri doğrudan aktif nöron sayısı ile ilişkilidir. Latans değeri ise uyarım ile kasılma potansiyelinin başlaması arasında geçen zamandır ve miyelinizasyon için önemli bir gösterge olarak kabul edilmektedir (101). Bileşik kas aksiyon potansiyelinin süresi ve amplitüdün çarpımı da, alan ölçümü olarak değerlendirilen bir diğer parametredir ve alan ölçümü geniş bir bölgede yayılmış olan liflerin aktivitesi hakkında bilgi verdiği için değerlidir. Bizim çalışmamızda her üç grupta (Siyatik Kesi Grubu, Vasküler Greft Grubu ve Vasküler Greft ve Kök Hücre Grubu) sağlam taraf ve dejenere tarafta amplitüt değerleri karşılaştırıldığında; sağlam taraf amplitüt değerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunurken, dejenere taraf amplitüt değerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Sağlam taraf amplitüt değerinde anlamlılığı yaratan grubu test etmek için post hoc test olarak yapılan Tukey Testinde sağlam taraf amplitüt değerinde anlamlılığı yaratan grup olarak kök hücre grubu bulunmuştur.

İnsan göbek kordonunda olgun hematopoetik progenitör hücre varlığı 1974 yılında Knudtzon tarafından gösterilmiştir. Yaklaşık on yıl sonra, Ogawa ve arkadaşları da Knudtzon'u destekleyen bir şekilde göbek kordonunda progenitör hemapoetik hücrelerin varlığını bildirmiştir (105). Ancak, 1989 yılına kadar göbek kordon kanı progenitör hücrelerin varlığının deneysel ve klinik çalışması yapılamamıştır. Broxmeyer ve arkadaşları 1989 yılında göbek kordon kanının hematopoetik kök / progenitör hücrelerden zengin bir kaynak olduğunu deneysel olarak göstermişlerdir. Aynı yıl, Gluckman ve arkadaşları ilk olarak hemapoetik hücre naklinde kemik iliği yerine göbek kordon kanını kullandıklarını bildirdiler

(106). Bu bildirimden sonra göbek kordonuna ilgi oldukça artmıştır. Pek çok hastada ve hastalıkta göbek kordon kanı transferi yapılmıştır (116,117). Kordon kanı daha çok çocuk hastalarda kullanılmıştır. Lenfoid ve myeloid lösemi, Fankoni anemisi, Aplastik anemi, Hunter sendromu, Wiskott-Aldrich sendromu, Beta-talesemi ve nöroblastoma gibi genetik ve hematolojik hastalıklarda göbek kordon kanı kullanılmaya başlanmıştır (107). Bu çalışmalar kordon kanı bankacılığının temellerini atmıştır.

Kordon kanı kök hücreleri yavaş bir hücre bölünme siklusuna sahiptir. Ancak büyüme faktörlerinden gelen sinyallere çabuk yanıt vererek hızlıca çoğalabilirler. Bu faktörler granulosit-makrofaj koloni uyaran faktör (GM-CSF), makrofaj uyaran faktör (M-CSF), Granulosit uyaran faktör (G-CSF), interlökin (IL-3), eritropoetin, trombopoetin, sitokinler, stem cell faktör ve Flt3- liganddır. Kordon kanı kök hücrelerin çoğalması ve yayılmasını araştıran çalışmalar oldukça sınırlı sayıdadır ve bu hücrelerin kendi kendilerini çoğaltma mekanizmaları aydınlatılamamıştır. Bazı araştırmalar kordon kanı kök hücrelerin kendi kendini çoğaltmasında embriyonik kök hücrelerde olduğu gibi Oct4, Sox-2 gibi hücre içi moleküllerin rol oynayabileceğini ileri sürmüşlerdir (108-109).

Son 5 yıldan daha fazla bir süreden beri insan kordon kanı kökenli kök hücreleri sinir rejenerasyonunda kullanılmaktadır. Hayvan deneyleri eğer bu hücreler iskemi başlangıcından 48 saat sonra uygulanırsa işlevsel geri dönüşün mümkün olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmalar kök hücrelerin nöronal ölümü azalttığını ancak anjiogenezisi ve nörogenezisi arttırdığını göstermektedir (110).

Deneysel inme modellerinde insan kordon kanı kök hücrelerini işlevi araştırılan bir çalışmada intavenöz veya intraperitoneal kordon kanı uygulamasının nörolojik motor fonksiyonlarındaki lezyonları geriletmediği bildirilmiştir (111). İlginç olarak bu iyileştirici etki yalnızca CD34+ hücrelerle değil aynı zamanda kordon kanı kökenli mezenşimal hücrelerde (118) ve hatta sadece mononükleer hücrelere de nakliyle elde edilebilmektedir.(113).

Kordon kanının iyileştirici etkisinin mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Bu konuyla ilgili çeşitli hipotezler vardır. İn vitro çalışmalar bu etkide çok sayıda sitokinlerin rol aldığını göstermiştir (119,120). Bu kemokinler monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1), intelökinlerden IL-6, IL-8,IL-10 ayrıca growth faktörlerde bu mekanizmada görev almaktadır bunlar, vasküler endoteyal faktör (VEGF), beyin kökenli nötrofik faktör (BDNF), platellat growth faktör (PDGF) (121,122). Kesin olmamakla birlikte bu faktörlerin beyinde mikro çevreyi etkilidiği ve inflamasyon benzeri hareket ederek hücre ölümünü azaltıp anjiogenezisi artırıyor olabileceği düşünülmektedir (110-112). Kordon kanı hücrelerin uygulanmasıyla CD45/CD11 (mikroglia/makrofaj) hücrelerinde anlamlı oranda azalma olmaktadır (123). Nöronal dejenerasyonda etkili olduğu düşünülen mikrogilia hücrelerinin azalması proinflamasyonda azalmasına neden olmaktadır (124).

Kök hücrelerin periferik sinir rejenerasyonuna etkisinde genel olarak diabet modelleri kullanılmıştır. Bilindiği üzere diabet sinirlerde ve vasküler sistemde hasar oluşturmaktadır. Naruse ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada kemik iliği kökenli mononükleer hücrelerin diabetik farelerde sinir rejenerasyonuna soğuk sonrası oluşan ağrılara etkisi incelenmiştir. Araştırmacılar tedavi edilen grupta kilo kaybı olmadığını, hiperglisemilerinde kontrol grubuna karşın anlamlı düzelme olduğunu, soğuk ağrılarında azalma olduğunu ve siyatik sinirlerde iletim hızında artma olduğunu bildirmişlerdir (114,115).

Bu çalışmada ilk kez periferik sinir rejenerasyonunda kordon kanı kökenli CD34+ kullanılmıştır. Elektron mikroskopik olarak incelenen dokularda CD34 hücreler kesi yarası oluşturulan grupta hem akson hem de myelin kılıf dejenerasyonunu önlediği gösterilmiştir. Sinir dokusunun kontrole yakın bir görünüm sergilediği ve hasarın oldukça aza indiği izlenmiştir. Bu iyileştirici etkinin mekanizması bilinmemekle birlikte ileri çalışmalarda moleküler teknikler yardımıyla açıklığa kavuşturulacaktır.

Kök hücrelerin tedavici edici etkilerinin klinikte kullanıma geçmesi için deneysel araştırmaların artmasına gereksinim vardır.

SONUÇLAR

Kök hücre ile ilgili birçok deneysel çalışma yapılmış ve yapılmaya devam edilmektedir. Bu çalışmalar klinik kullanıma öncülük etmektedir. Bizim çalışmamızda ilk kez sentetik greft ve umliyal kordon kanından elde edilmiş CD34+ kök hücre ilk kez sinir hasarının onarımında çalışılmıştır ve elde edilen bulgular;

Bu deneysel çalışmanın EMG sonuçlarında; Her üç grupta (Siyatik Kesi Grubu, Vasküler Greft Grubu ve Vasküler Greft Grubu) sağlam taraf ve dejenere tarafta amplitüt değerleri karşılaştırıldığında; sağlam taraf amplitüt değerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunurken, dejenere taraf amplitüt değerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Bizim deneysel çalışmamızın elektron mikroskopisi sonuçlarında ise kontrol grubunda akson, myelin kılıf normal görünümdeydi. Akson yakınındaki damar ve endotel de normal yapısında izlendi. Kesi yarası yapılan ve tedavi edilmeyen grupta akson ve myelin kılıf dejenerasyon belirgindi. Myelinli sinir liflerinin çoğunda akson ile myelin kılıf arasında bütünlük kaybolmuş boşluklar oluşmuştu. Bazı sinir liflerinde myelin kılıfın normalden daha kalın olduğu izlenirken bazılarında ise bu kılıfın oldukça incelendiği dikkati çekti. Kalın myelinli sinir liflerinde lifler arası alanda ödem oldukça fazlalaşmış myelin kılıfın yer yer açıklıklar meydana gelmişti. Dejenere sinir liflerinde myelin kılıf normal paralel dizilimini kaybetmiş bazı alanlarda lameller tarzda şekil almıştı. Bazı bölgelerde myelinsiz sinir lifleri belirgin olarak izlendi. Aksonlar arasında enine ve boyuna kesitlerde izlenen kollajen lifler bağdokundaki artışı göstermekteydi. Kesi yarası oluşturulup vasküler greft uygulanan grupta myelin kılıfta ve aksonlarda dejenerasyonun devam ettiğini ancak tedavi edilmeyen gruba göre oldukça azaldığı izlendi. Tedavi edilmeyen grupta izlenen myelin kılıf arasındaki açıklıkların bu grupta azaldığı ve aynı zamanda yine tedavi edilmeyen grupta izlenen kalın myelin kılıflı sinir liflerin bu grupta izlenmediği görüldü. Bununla birlikte bağ dokusu lifleri ve demyelinize sinir lifleri bu grupta da dikkati çekmekteydi ancak göreceli olarak azaldıkları izlendi. Kesi yarası oluşturulup vasküler greft ve kordon kanı kökenli CD34+ uygulanan grupta

genel görünüm sadece vasküler greft uygulanan gruba karşın oldukça iyiydi. Bu grupta myelinli kılıf arasında izlenen açıklıklar kaybolmuştu. Sinir lifleri normal yapısına yakın görünümdeydi. Bağ dokusu lifleri çok azdı. Bu grupta da ince myelin kılıflı sınır lifleri ve demyelinize sinir lifleri varlığını sürdürmekteydi. Bazı liflerde aksonal dejenerasyon azda olsa devam etmekteydi ancak normale en yakın görünüm bu grupta izlendi.

Bu çalışmada ilk kez periferik sinir rejenerasyonunda kordon kanı kökenli CD34+ kullanılmıştır. Elektron mikroskopik olarak incelenen dokularda CD34 hücreler kesi yarası oluşturulan grupta hem akson hem de myelin kılıf dejenerasyonunu önlediği gösterilmiştir. Sinir dokusunun kontrole yakın bir görünüm sergilediği ve hasarın oldukça aza indiği izlenmiştir. Bu iyileştirici etkinin mekanizması bilinmemekle birlikte ileri çalışmalarda moleküler teknikler yardımıyla açıklığa kavuşturulacaktır.

KAYNAKLAR

1) Periferik sinir lezyonlarına radiküler sendromlar Marco Mumenthaler, Manfred Stöhr, Hermann Müller-Vahl (2005)

2) Mackinnon SE., Dellon A.L, Hudson AR., Hunter DA., Nerve regeneration through a pseudosynovial sheath in a model. *Plast Reconstr Surg.*, 75, 833-41 (1985)

3) Brushart TM., Tarlov EC., Mesulam MM., Specificity of muscle reinnervation after epineural and individual fascicular suture of the rat sciatic nerve *J Hand Surg.*, 8, 248-53,(1983).

4) Kayıkcıoğlu A., Karamürsel S., demirci M., Erdem S., kecik A., A new epineural nerve repair technique with external metallic circle. *Surg Neurol.*, 62(5), 387- 92,(2004)

5) Levinthal R., Brown WJ., Rand RW., Comparison of fascicular, interfascicular and epineural suture techniques in the repair of simple nerve lacerations. *J Neurosurg.*, 47, 744-50,(1977).

6) Lolley RD., Bose WJ., Bastian F., Bassam b., Meyer FN., anderson LD., vein, silastic and polyglycolic acid fine mesh, a comparative study in peripheral nerve repair. *Ann Plast Surg.*, 35, 266-71 (1995). 108

7) Cham RB., Peimer CA., Howard CS., Walsh WP., Eckert BS., Absorbable versus nonabsorbable suture for microneurolysis. *J Hand Surg (Am).*, 9, 434-40,(1984).

8) Giddins GS., Wade PJ., Amis AA., Primary nerve repair, strength of repair with different gauges of nylon suture material. *J Hand Surg (Br).*, 14, 301-2,(1989).

9) Cordeiro PG., Seckel BR., miller CD., Gross PT., Wise RE.,Effect of a highintensity static magnetic nerve regeneration in the rat. *Plast Reconstr Surg.*83(2), 301-8.(1989).

10) Zienowicz RJ., Thomas BA., Kurtz WH., Orgel MG., A multivariate approach to peripheral nerve transection injury , the role of electromagnetic field therapy, *Reconstr Surg* ., 87, 1222-9(1991).

11) Menovsky T., Beek JF., Carbon dioxide laser-assisted nerve repair, effect of solder and suture material on nerve regeneration in rat sciatic nerve. *Microsurgery*, 23(2), 109-16,(2003).

12) Gorgulu A., uzal C., Doganay L., İmer M., Eliuz K., Cobanoglu S., The effect of low-dose external beam radiation on extraneural scarring after peripheral nerve surgery in rats. *Neurosurgery*.53(6), 1389-95, (2003).

13) Haapaniemi T., Nylander G., Kanje M., Dahlin L., Hyperbaric oxygen treatment enhances regeneration of the rat sciatic nerve . *Exp. Neurol* ., 149(2), 433-8.(1998).

14) Islamow RR., Hendricks WA., Jones RJ., Lyall GJ., Spanier NS., Murashov AK., 17Beta-estradiol stimulates regeneration of sciatic nerve in female mice. *Brain Res* ., 943(2), 283-6.(2002).

15) Hart AM., Tereghi G., Kellerth JO., Wiberg M., Sensory neuroprotection, mitochondrial preservation, and therapeutic potential of N-acetyl-cysteine after nerve injury. *Neuroscience*.125(1), 91-101,(2004).

16) Mattsson P., Aldskogius H., Svensson M., Nimodipine-induced improved survival rate of facial motor facial neurons following intracranial transection of the facial nerve in the adult rat. *J Neurosurg*.,90(4), 760-5,(1999).

17) Ayhan S., Yavuzer R., Latifoğlu O., Atabay K., Use of the turnover epineurial sheath tube for repair of peripheral nerve gaps. *J Reconstr Microsurg*., 16(5), 371-7, (2000).

18) Yavuzer R., Ayhan S., Latifoğlu O., Atabay K., Turnover epineurial sheath tube for primary repair of peripheral nerves. *Ann Plast Surg* ., 48(4). 392-400,(2002).

- 19) Wilgis EFS., Brushart TM., Nerve repair, Operative Hand Surgery, 3rd edition.ed:Green DO., Chyrchill Livingstone, New York,(1993). Pp:1315-40.
- 20) Lunberg G., Hasson HA., Nerve regeration through performed pseudosynovial tubes. A preliminary report of a new experimental model for studying the regeneration and reorganization capacity of peripheral nevre tissue. J Hand Surg ., 5, 35-8,(1980).
- 21) Lee S., deMacedo AR., chan E., Wolf P., Han K., Li SJ., Efficacy of polyglycolic acid microsutures in peripheral nevre anastomes in the rat.1. Epineural suture Microsurgery., 4, 120-3,(1983).
- 22) Castaneda F., Kinne RK., Omental graft improves funvntional recovery of transected peripheral nevre . Muscle Nerve , 26(4), 527-32.(2002).
- 23) Thomas PK., Berthold CH., Ochoa J., Microscopic anatomy of the peripheral nervus system, Peripheral Neuropathy.,3rd edition. ed: Dyck P., WB Saundeers, Philadelphia (1993). Pp:28-80.
- 24) Mackinnon SE., Dellon AL., Clinical nevre reconstruction with a bioabsorbable polyglycolic acid tube. *Plast Reconstr Surg.*, 85 , 419-24, (1990).
- 25) Terzis JK., SmithKL., Repair and grafting of the peripheral nevre, Plastic Surgery. Ed: Mc Charty JG., WB Saunders, Philadelphia (1990). Pp: 630-81.
- 26) Madison R., daSaliva CF., Dikkes P., Chiu TH., Sidman RL., Peripheral nevre regenarition with entubulation repair, comparison of biodegradable nevre vs. polyethylene tubes and effects of a laminin-containing gel. *Exp neurol.*, 95, 378-90, (1987).
- 27) Buehler MJ., Seaber AV., Urbainiak JR., The relationship of functional return to varying methods of nevre repair. *J Reconstr Microsurg.*, 6, 61-69, (1990).
- 28) Gibson KL., Daniloff DVM., Daniloff JK., Comparison of sciatic nervve regeneration thourgh silicone tubes and allografts. *Microsurgery.* 10, 126-9, (1989).

29) Voinesco F., Glauser L., Kraftsik R., Barakat-Walter I.I, Local administration of thyroid hormones in silicone chamber increases regeneration of rat transected sciatic nerve. *Exp Neurol.*, 150(1), 69-81, (1998).

30) Ozgenel GY., Filiz G., Combined application of human amniotic membrane wrapping and hyaluronic acid injection in epineurectomized rat sciatic nerve. *J Reconstr Microsurg.*, 20(2), 153-7, (2004).

31) Ozgenel Gy., Effects of hyaluronic acid on peripheral nerve scarring and regeneration in rats. *Microsurgery*, 23(6), 575-81, (2003).

32) Wang KK., Nemeth IR., Seckel BR., Chakalis-Haley DP., Swann DA., Kuo JW., Bryan DJ., Cetrulo CL. Jr., Hyaluronic acid enhances peripheral nerve regeneration in vivo. *Microsurgery*, 18(4), 270-5, (1998).

33) Gorgulu A., Imer M., Simsek O., Sencer A., Kutlu K., Cobanoglu S., The effect of aprotinin on extraneural scarring in peripheral nerve surgery, an experimental study. *Acta Neurochir.*, 140(12), 1303-7, (1998).

34) Sarıgüney Y., Periferik sinir yaralanmalarının onarımında trombosit zengin plazma'nın sinir rejenerasyonu üzerine etkisi, (Uzmanlık Tezi), Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi,(2006)

35) Ilbay K., Etus V., Yildiz K., Ilbay G., Ceylan S., Topical application of mitomycin C prevents epineural scar formation in rats. *Neurosurg Rev.*, 28(2), 148-53, (2005).

36) Lykissas MG,Korompilias AV,Vekris MD , Kontogeorgakos VA , Batistatou AK, Mitsionis GI, Beris AE. Axonal regeneration stimulated by erythropoietin: an experimental study in rats. *J Neurosci Methods*. 2007 Aug 15; Pp:107-115

37) Lykissas MG,Sakellariou E.,Vekris MD,Kontogeorgakos VA,Batistatou AK,Mitsionis GI,Beris AE., Axonal regeneration stimulated by erythropoietin:an experimental study in rats *J.neurosci Methods*.2007aug 15;Pp107-115

38) Keswani S.c., Buldanlioğlu U., Fischer A., Reed N., Polley M., Liang H., Zhou C., Jack C., Leitz G.J., and Hoke A.; A Novel Endogenous Erythropoietin Mediated Pathway Prevents Axonal Degeneration ; *AnnNeurol* ; 2004; 56 : 815-826

39) Fumagalli F, Madaschi L, Brenna p, Caffino L, Marfia G, Di Giulio AM, Racagni G, Gorio A. Single exposure to erythropoietin modulates Nerve Growth Factor expression in the spinal cord following traumatic injury: Comparison with methylprednisolone. *Eur J Pharmacol.* 2008 Jan 6;578(1):19-27.

40) Campana WM, Myers RR. Exogenous erythropoietin protects against dorsal root ganglion apoptosis and pain following peripheral nerve injury. *Eur J Neurosci* 2003; 18:1497-506.

41) Campana WM, Myers RR. Erythropoietin and erythropoietin receptors in the peripheral nervous system: changes after nerve injury. *FASEB J* 2001;15:1804-6.

42) Tsai PT, Ohab JJ, Kertesz N, Groszer M, Matter C, Gao J, et al. A critical role of erythropoietin receptor in neurogenesis and post-stroke recovery. *J Neurosci* 2006;26:1269-74.

43) Li X, Gonias SL, Campana WM. Schwann cells Express erythropoietin receptor and represent a major target for Epo in peripheral nerve injury. *Glia* 2005;51:254-65.

44) Lohmeyer J.A., Essmann E., Richerson S.J., Hagel C., Egana J.t., Condurache A., Granske P., Schulz K., Mailänder P., Machens H.G., Use of erythropoietin as adjuvant therapy in nerve reconstruction. *Langenbecks Ann Surg.* 2008 Feb; 393:317-323

45) Frostick SP., Yin Q., Kemp GJ., Schwann cells, neurotropic factors, and peripheral nerve regeneration. *Microsurgery.*, 18(7), 397-405. (1998).

46) Gordon T., Sulaiman O., Boyd J.G., Experimental strategies to promote functional recovery after peripheral nerve injuries. *J Peripher Nerv Syst.* 2003 Dec;8(4):236-50.

47) Morhishita E., Masusa M., Nagao M., Yasuda Y., Sasaki R.: Erythropoietin receptor is expressed in rat hippocampal and cerebral cortical neurons and erythropoietin prevents in vitro glutamate-induced neuronal death, *Neuroscience*;105-116,1997.

48) Sadamoto Y., Sakanaka M., Sato T., Otsuka H., Sakaki K., Masuda S., Sasaki M., Erythropoietin prevents place navigation disability and cortical infarction in rats with permanent occlusion of the middle cerebral artery, *Biochemical and Biophysical Research Communications*; 253:26-32,1998.

49) Zaman K., Hall D., O'Donovan K., Lin K.L., Miller M.P., Marquis J.C., Baraban J.Y., Semenza G.L., Ratan R.R.: Protection from oxidative stress-induced apoptosis in cortical neuronal cultures by iron chelators is associated with enhanced DNA binding of hypoxia-inducible factor-1 and ATF-1/CREB and increased expression of glycolytic enzymes, p21 waf1/cip1 and erythropoietin, *J. Neurosci.*;19(22):9821-9830,1999.

50) Lipsic E., van der Meer P., Voors AA, Westwbrink BD, van den Heuvel AF, de Boer HC, van Zonneveld AJ, Schoemaker RG, van Gilst WH, Zijlstra F, van Veldhuisen DJ. A single bolus of a long-acting erythropoietin analogue darbepoetin alfa in patient with acute myocardial infarction: a randomized feasibility and safety study. *Cardiovasc Drugs Ther.*2006 Apr;20(2):135-41

51) Snell RS., *Clinical Neuroanatomy for Medical Students*. Second edition. Little Brown and Company, Boston (1999) Pp:47-75.

52) Waxman SG:Sinir Dokusu: Korrelatif Nöroanatomî. 24. Baskıdan çeviri. Yıldırım M(ed) Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Sti., İstanbul 2002, S:8-19

53) Dahlin LB., The biology of nerve injury and repair. *J Am Soc Hand.*, 4(3), 143-155,(2004).

54) Garbay B., Heape AM., Sargueil F., et al, Myelin synthesis in peripheral nervous system. *Prog Neurobiol.*, 61,267-304,(2000),

55) Lawrance HB., Cells and Tissue, Gray's Anatomy. 38th edition, ed: Williams PL., Churchill Livingstone, Edinburg(1995)Pp:17-90.

56) Lundborg G., The nerve trunk, Nerve injury and repair. Churchill Livingstone, NewYork,(1998). Pp:32-63.

57) Özmen S., Uç-yan sinir anastomozunda alıcı sinir distal ucunda epinörium rezeksiyonunun rejenerasyona etkisi.(Uzmanlık Tezi), Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi,(2002).

58) Hansson HA., Insulin-like growth factors and nerve regeneration. Ann N Y Acad Sci., 692, 161-71,(1993).

59) Brandt KE., Mackinnon SE., Microsurgical repair of peripheral nerves and nerve grafts. Grabb and Smith's Plastic Surgery, 5th edition, eds: Aston SJ, Beasley RW, Thorne CHM., Lippincott-Raven, Philadelphia(1997)P:79

60) Lundborg G., Dahlin LB., Structure and function of peripheral nerve, Operative Nerve Repair and Reconstruction. Ed: Gelberman RH. JB Lippincott, Philadelphia(1991). Pp:3-15.

61) Myers RR., Morphology of the peripheral nervous system and its relationship to neuropathic pain. Anesthesia , Biologic Foundations, eds: Yaksh TL., Lynch III C., Zapol WM., Maze M., Biebuyck JF., Saidman LJ., Lippincott Raven, Philadelphia, (1998). Pp: 483-514.

62) Seckle B., Enhancement of the peripheral nerve regeneration. Muscle Nerve, 13, 785-800,1990.

63) Mackinnon SE, New directions in peripheral nerve surgery. Ann Plast Surg., 22, 257, (1989).

64) Saleh MS., Lohn YS. KIM, Repair and grafting of the peripheral nerve, Plastic surgery, 2th edition, ed: Stephen J. Mathes. Saunders Elsevier, Philadelphia(2006) Pp:719-739. Lundborg El. The nerve trunk. Nerve injury and repair. Edinburg, Churchill Livingstone, NY.5:198,1988

- 65) Molander H, Engkvist O., Hungglund J., Nerve repair using a polyglactin tube and nerve graft, an experimental study in the rabbit. *Biomaterials*, 4, 276-80,(1983)
- 66) Bora FW., Peripheral nerve repair in cats. The fascicular stitch. *J Bone joint surg.* 49A,659.(1967)
- 67) Bayramiçli M., Sinirde mikrocerrahi çalışması, Deneysel Mikrocerrahi Temel Arastırma Doku ve organ Nakli Modelleri. Argos, İstanbul, (2005) Pp: 339-366.
- 68) Millesi H., Microsurgical repair of peripheral nerves ,*Plastic Surgery*, 4th edition. Eds: Smith JW., Aston Sj., Little Brown, Boston (1991). Pp: 1053-74.
- 69) Wilgis EFS., Nerve repair and grafting, *Operative Hand Surgery*, ed Green DP., Churchill Livingstone, New York, (1982). Pp:915-38.
- 70) Lundborg G., Nerve regeneration and repair, Areview. *Acta Orthop Scand.*, 58, 145-169, (1987).
- 71)Diano E., Peimer CA., Suturless methods of nerve repair. *Operative Nerve Repair and Reconstruction*. Ed: Gelberman RH, JB Lippincott, Philadelphia (1991). Pp:305-311.
- 72) Smahel J., Meyer VE., Bachem U., Glueing of peripheral nerves with fibrin ,experimental studies.*J Reconstr Microsurg.*, 3, 211-20,(1987).
- 73) Menovsky T., Beek JF., Laser, fibrin glue, or suture repair of peripheral nerves, a comparative functional, histological and morphometric study in the rat sciatic nevre. *J Neurosurg.*, 95(4),694*9,(2001).
- 74) Hare GMT., Evans PJ., Mackinnon SE., Best TJ., Bain JR., Sazala JP., Hunter DA., Walking tarct analysis, a long term assement of peripheral nevre recovery. *Plast Recontr Surg.*,89, 251-8,(1992).
- 75) Lundborg G., *Nerve Injury and Repair*, Churchill Livingtone,New york (1988).Pp:149-194.

76) Bixby JL., Zhang R., Purified N-cadherin is a potent substrate for the rapid induction of neurite outgrowth. *J Cell Biol.*, 110(4), 1253-60,(1990).

77) Maggi SP., Lowe JB., Mackinnon SE., Pathophysiology of the nerve injury. *Clin Plast Surg.*, 30, 109-26,(2003).

78) Yin Q., Kemp GJ., Frotick SP., Neurotrophins, neurons and peripheral nerve regeneration. *J Hand Surg[Br]*,23(4), 433-7,(1998).

79) Chen YS., Wang-Bennet LT., Coker NJ., Facial nerve regeneration in the silicone chamber, the influence of nerve growth factor. *Exp Neurol.*, 103(1), 52-60,(1989).

80) Santos X., Rodrigo J., Hontanilla B., Bilbao G., Local administration of neurotrophic growth factor in subcutaneous silicon chambers enhances the regeneration of the sensory component of the rat sciatic nerve. *Microsurgery*, 19(6), 275-80.(1999)

81) Karagöz E,Ovalı E,Kök Hücreler, Celepler Matbacılık. Trabzon 2004; 975-8053-53-1

82) Haimovici H. An historic overview of vascular surgery: Past record and new trends-a vision for the 1990s. In: Haimovici H, ed. *Vascular Surgery*. Massachusetts: Blackwell Science, 1996:1-7.

83) Dotter CT, Judkins MP. Transluminal treatment of arteriosclerotic obstruction. Description of a new technic and a preliminary report of its application 1964. *Radiology* 1989;172:904-20.

84) Kempczinski FR. Vascular conduits: An overview. In: Rutherford RB, ed. *Vascular Surgery*. Philadelphia: WB Saunders Company, 2000:527-31.

85) Pringle JH. Two cases of vein grafting for the maintenance of a direct arterial circulation. *Lancet* 1913;1:1975.

86) Urabe T, Zhao Q, Lundborg G, et al. Effects of delayed nerve repair on regeneration of rat sciatic nerve. *Restor Neurol and Neurosci* 9:1-5,1995

87) Terzis JK, Faibisoff B, Williams HB. The nerve gap.:suture under tension vs. graft. *Plast Reconstr Surg.*56(2):166-170,1975.

88) Fuminori K, John CF, Warren CB. Sciatic function index, nevre conduction tests, muscle contraction, and axon morphometry as indicators of regeneration. *Plast Reconstr Surg* 98(7):1264-1271,1996.

89) Lundborg G. 25 th Anniversary Presentation. A 25-Year perspective of peripheral nerve surgery: evolving neuroscientific concepts and clinical significance. *J Hand Surg* 25A(3):391-414, 2000

90) Sunderland RP, Brenner MJ, Singham J, et al. Effect of tension on nevre regeneration in rat sciatic nevre transection model. *Ann Plast Surg.* 53:382-387,2004

91) Nachemson AK, Lundborg G, Myrhage R, Kank F. Nevre regeneration and pharmacological suppression of the scar reaction at the suture site. *Scand J Plast Reconstr Surg* 19:255-260,1985

92) Hentz VR, Rosen JM, Xiao SJ, McGill KC, Abraham G: The nerve gap dilemma: A comparison of nerves repaired end to end under tension with nerve grafts in a primate model. *J Hand Surg.* 1993; 18A.417–25.

93) Wang WZ, Crain GM, Baylis W, Tsai TM. Outcome of digital nerve injuries in adults. *J Hand Surg* 1996; 21A: 138–43.

94) Amara, B., Medinacelli, L., Lane, G. B., and Merle, M.Functional assessment of misdirected axonal growth after nerve repair in the rat. *J. Reconstr. Microsurg.* 16: 563, 2000.

95) Seckel, B. R., Ryan, S. E., Gagne, R. G., et al. Targetspecific nerve regeneration through a nerve guide in the rat. *Plast. Reconstr. Surg.* 78:793, 1986.

96) Avcı G, Akan M, Yıldırım S. Sinir Onarımı ve Greftleme. *T Klin J Med Sci.* 2002; 22: 428–437.

97) Millesi H.Techniques for nerve grafting. *Hand Clin.* 2000; 16(1): 73–91

98) Tenny JR, Lewis RC: Digital nerve grafting for traumatic defects. use of the lateral antebrachial cutaneous nerve. *J Bone Joint Surg Am*. 1984;66: 1375–1379.

99) Nunley JA, Ugino MR, Goldner RD, et al: Use of the anterior branch of the medial antebrachial cutaneous nerve as a graft for the repair of defects of the digital nerve. *J Bone Joint Surg Am*, 1989; 71: 563–567.

100) Kurtz A.: Erythropoetin: Structure, function, origin, *Advances In nephrology*; 16:371-378,1987.

101) Küçükdeveci A. Türkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi cilt 1;2 Aralık 1998

102) Cuevas P, Carceller F, Garcia Gomez I, Yan M, Dujovny M. Bone Marrow Stromal Cell Implantation for Peripheral Nerve Repair. *Neuronal Res* 2004; 26: 230-32

103) Choi BH, Zhu JS, Kim BY, Huh JY, Lee HS, Jung JH. Transplantation of Cultured Bone Marrow Stromal Cells Improve Peripheral Nerve Regeneration. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2005; 34: 537-54

104) Sanchez- Ramos J, Song S, Cardoza-Pelaez F, Hazzi C. Adult Bone Marrow Stromal Cells Differentiate into Neuronal Cells in vitro. *Experimental Neurology* 2000;164: 247-56

105) Knudtzon, S. (1974) In vitro growth of granulocyte colonies from circulating cells in human cord blood. *Blood.*, 43:357-361.

106) Broxmeyer, H., Douglas, GW., Hango G., Cooper, S., Bard, J., English, D., Arny, M., Thomas, L. and Boyse, EA. (1989) Human Umbilical Cord Blood As A Potential Source of Transplantable Hematopoietic Stem/Progenitor Cells. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 86:3828–3832.

107) Gluckman, E., Wagner, J., Hows, J., Kernan, N., Bradley, B. and Broxmeyer, HE. (1993) Cord Blood Banking for Hematopoietic Stem Cell Transplantation: an International Cord Blood Transplant Registry. *Bone Marrow Transplant.*, 11:199-200.

108) Rubinstein, P., Dobrila, L., Rosenfield RE., Adamson, JW., Migliaccio, G., Migliaccio, AR., Taylor, PE. and Stevens, CE. (1995) Processing and Cryopreservation of Placental/Umbilical Cord Blood for Unrelated Bone Marrow Reconstitution. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 92:10119-10122.

109) Mayanı, H. and Lansdorp, PM. (1998) Biology of Human Umbilical Cord Blood-Derived Hematopoietic Stem/Progenitor Cells. *Stem Cells.*, 16:153-165.

110) Katja Rosenkranza, Carola Meierb,* Umbilical cord blood cell transplantation after brain ischemia—From recovery of function to cellular mechanisms. *Annals of Anatomy* 193 (2011) 371– 379

111) Chen, J., Sanberg, P.R., Li, Y., Wang, L., Lu, M., Willing, A.E., Sanchez-Ramos, J., Chopp, M., 2001. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces behavioral deficits after stroke in rats. *Stroke: A Journal of Cerebral Circulation* 32 (11), 2682–2688.

112) Liu, H.Y., Zhang, Q.J., Li, H.J., Han, Z.C., 2006. Effect of intracranial transplantation of CD34+ cells derived from human umbilical cord blood in rats with cerebral ischemia. *Chinese Medical Journal* 119 (20), 1744–1748. Locatelli, F., Rocha, V., Reed, W., Bernaudin, F., Ertem, M., Grafakos, S.,

113) Meier, C., Middelanis, J., Wasielewski, B., Neuhoff, S., Roth-Haerer, A., Gantert, M., Dinse, H.R., Dermietzel, R., Jensen, A., 2006. Spastic paresis after perinatal brain damage in rats is reduced by human cord blood mononuclear cells. *Pediatric Research* 59 (2), 244–249.

114) Pimentel-Coelho, P.M., Magalhaes, E.S., Lopes, L.M., Deazevedo, L.C., Santiago, M.F., Mendez-Otero, R., 2010. Human cord blood transplantation in a neonatal rat model of hypoxic–ischemic brain damage: functional outcome related to neuroprotection in the striatum. *Stem Cells and Development* 19 (3), 351–358.

115) Vendrame, M., Cassady, J., Newcomb, J., Butler, T., Pennypacker, K.R., Zigova, T., Sanberg, C.D., Sanberg, P.R., Willing, A.E., 2004. Infusion of human umbilical cord blood cells in a rat model of stroke dose-dependently rescues

behavioral deficits and reduces infarct volume. *Stroke: A Journal of Cerebral Circulation* 35 (10), 2390–2395.

116) Willing, A.E., Lixian, J., Milliken, M., Poulos, S., Zigova, T., Song, S., Hart, C., Sanchez-Ramos, J., Sanberg, P.R., 2003. Intravenous versus intrastriatal cord blood administration in a rodent model of stroke. *Journal of Neuroscience Research* 73 (3), 296–307.

117) Yasuhara, T., Hara, K., Maki, M., Xu, L., Yu, G., Ali, M.M., Masuda, T., Yu, S.J., Bae, E.K., Hayashi, T., Matsukawa, N., Kaneko, Y., Kuzmin-Nichols, N., Ellovitch, S., Cruz, E.L., Klasko, S.K., Sanberg, C.D., Sanberg, P.R., Borlongan, C.V., 2010. Mannitol facilitates neurotrophic factor upregulation and behavioral recovery in neonatal hypoxic–ischemic rats with human umbilical cord blood grafts. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 14 (4), 914–921. Yenari, M.A., Hemmen, T.M., 2010. Therapeutic hypothermia

118) Chung, D.J., Choi, C.B., Lee, S.H., Kang, E.H., Lee, J.H., Hwang, S.H., Han, H., Lee, J.H., Choe, B.Y., Lee, S.Y., Kim, H.Y., 2009. Intraarterially delivered human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in canine cerebral ischemia. *Journal of Neuroscience Research* 87 (16), 3554–3567.

119) Ding, D.C., Shyu, W.C., Chiang, M.F., Lin, S.Z., Chang, Y.C., Wang, H.J., Su, C.Y., Li, H., 2007. Enhancement of neuroplasticity through upregulation of beta1-integrin in human umbilical cord-derived stromal cell implanted stroke model. *Neurobiology of Disease* 27 (3), 339–353.

120) Xia, G., Hong, X., Chen, X., Lan, F., Zhang, G., Liao, L., 2010. Intracerebral transplantation of mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord blood alleviates hypoxic ischemic brain injury in rat neonates. *Journal of Perinatal Medicine* 38 (2), 215–221.

121) Neuhoff, S., Moers, J., Rieks, M., Grunwald, T., Jensen, A., Dermietzel, R., Meier, C., 2007. Proliferation, differentiation, and cytokine secretion of human umbilical cord blood-derived mononuclear cells in vitro. *Experimental Hematology* 35 (7), 1119–1131.

122) Newman, M.B., Willing, A.E., Manresa, J.J., Sanberg, C.D., Sanberg, P.R., 2006. Cytokines produced by cultured human umbilical cord blood (HUCB) cells: implications for brain repair. *Experimental Neurology* 199 (1), 201–208.

123) Vendrame, M., Gemma, C., de Mesquita, D., Collier, L., Bickford, P.C., Sanberg, C.D., Sanberg, P.R., Pennypacker, K.R., Willing, A.E., 2005. Anti-inflammatory effects of human cord blood cells in a rat model of stroke. *Stem Cells and Development* 14 (5), 595–604.

124) Streit, W.J., Walter, S.A., Pennell, N.A., 1999. Reactive microgliosis. *Progress in Neurobiology* 57 (6), 563–581.