

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

**MEZANŞİMAL KÖK HÜCRENİN, DENEYSEL SİYATİK SİNİR**  
**HASARINDA KULLANIMININ ELEKTROFİZYOLOJİK VE**  
**HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ**  
**Dr. Ercan YARAR**

**Samsun 2012**

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

**MEZANŞİMAL KÖK HÜCRENİN, DENEYSEL SİYATİK SİNİR  
HASARINDA KULLANIMININ ELEKTROFİZYOLOJİK VE  
HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ**  
**Dr. Ercan YARAR**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Doç.Dr.Cengiz ÇOKLUK**  
**Samsun 2012**

## TEŞEKKÜR

Ondokuzmayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı'nda bulunduğum süre içinde uzmanlık eğitimime ve hayata hazırlanmama katkısı olan tüm değerli hocalarıma;

Bu zorlu maratonda her zaman desteğini aldığım Dr.Adnan ALTUN, Dr.Eyüp GENÇ ve diğer asistan arkadaşlarıma;

Eğitim sürecinin servis ve ameliyathane aşamalarında birlikte çalıştığım tüm hemşire ve personel arkadaşlara;

Ekibimizin bir parçası olan değerli ameliyathane hemşiremiz Tülay ACAR YILMAZ'a;

PYO.TIP.1904.11.035 numaralı projemizin başlatılması ve idame ettirilmesi için gerekli her türlü teçhizatı sağlayan Ondokuz Mayıs Üniversitesi Proje Yönetim Ofisi'nin Bilimsel Araştırma Projesi Destek Fonu'na;

Sadece bu süreçte değil, hayatın her aşamasında desteğini esirgemeyen annem, babam ve abime;

İlk defa geldiğim Karadeniz'de en büyük destekçilerim olan Ayşen Annem, İrfan Babam ve kardeşim Oğuz'a;

Ve elbette her zaman tüm sıkıntıları beraber göğüslediğimiz eşim Fulya ve oğlum CAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**Dr.Ercan YARAR**

# İÇİNDEKİLER

<b>KISALTMALAR</b> .....	<b>II</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b> .....	<b>III</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	<b>IV</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>V</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>VI</b>
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2.GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>2</b>
2.1.PERİFERİK SİNİR SİSTEMİ .....	2
2.1.1.Periferik Sinir Sistemi Embriyolojisi .....	2
2.1.2.Periferik Sinir Sistemi Anatomisi .....	3
2.2.PERİFERİK SİNİR YARALANMALARI VE FİZYOLOGİSİ .....	8
2.2.1.Periferik Sinir Yaralanma Tipleri .....	8
2.2.2.Periferik Sinir Yaralanmalarının Sınıflandırılması .....	9
2.2.3.Periferik Sinir Yaralanmalarının Fizyopatolojisi (dejenerasyon-rejenerasyon).....	13
2.3.PERİFERİK SİNİR SİSTEMİ CERRAHİSİ.....	19
2.3.1.Periferik Sinir Sistemi Cerrahisinde Tarihçe .....	19
2.3.2.Periferik Sinir Yaralanmalarında Cerrahi Tedavi Seçenekleri ve Zamanlama.....	20
2.4.KÖK HÜCRE KAVRAMI .....	28
2.4.1.Kök Hücre Türleri .....	28
2.4.2.Mezanşimal Kök Hücre.....	29
2.4.3.Mezanşimal Kök Hücrelerin Klinik Kullanım Açısından Avantajları.....	30
2.4.4.Mezanşimal Kök Hücrelerin Klinikte Kullanım Alanları.....	30
<b>3.MATERYAL VE METOD</b> .....	<b>33</b>
3.1.MEZANŞİMAL KÖK HÜCRE ELDESİ .....	33
3.2.DENEK SEÇİMİ .....	35
3.3.DENEYİN UYGULANMASI: .....	35
3.4.ELEKTROFİZYOLOJİK TESTLER: .....	37
3.4.1.Sinir İletim Hızı Ölçümü: .....	37
3.4.2.EMG Ölçümü: .....	38
3.5.HİSTOPATOLOJİK İNCELEMELER: .....	40
3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ: .....	40
<b>4.BULGULAR</b> .....	<b>41</b>
4.1.ELEKTROFİZYOLOJİK BULGULAR .....	41
4.1.1.EMG Bulguları.....	41
4.1.2.Sinir İletim Hızı Bulguları .....	47
4.2.HİSTOPATOLOJİK BULGULAR .....	52
<b>5.TARTIŞMA</b> .....	<b>57</b>
<b>6.SONUÇ</b> .....	<b>62</b>
<b>7.KAYNAKLAR</b> .....	<b>63</b>

## KISALTMALAR

PSS:	periferik sinir sistemi
MÖ:	milattan önce
MS:	milattan sonra
BMP:	bone morphogenic protein
HNF:	hepatic nuclear factor
PS:	periferik sinir
MKH:	mezanşimal kök hücre
HLA:	human leukocyte antigen
GVHH:	greft versus host hastalığı
CM:	santimetre
RNA:	ribonükleik asit
NGF:	sinir büyüme faktörü
CNF:	silier nörotrofik faktör
IGF:	insülin benzeri büyüme faktörü
BDNF:	beyin kökenli nörotrofik faktör
IL:	interlökin
C4:	dördüncü servikal sinir
EMG:	elektromyelografi
mm:	milimetre
cm:	santimetre
mg:	miligram
ml:	mililitre
cc:	cubic centimetre(santimetre küp)
g:	gram
l:	litre
u:	ünite
µl:	mikrolitre
FBS:	fetal bovine serum
HKH:	hematopoetik kök hücre
MKH:	mezanşimal kök hücre
Ms:	milisaniye
Mv:	milivolt
m/sn:	metre/saniye

## TABLO LİSTESİ

### Sayfa No

<b>Tablo I:</b> Sinir yaralanmalarında Seddon ve Sunderland sınıflamaları Ve klinik seyir	12
<b>Tablo II:</b> Ortalama EMG hızları	41
<b>Tablo III:</b> Ortalama p-p arası mesafe değerleri	43
<b>Tablo IV:</b> Ortalama P-Max değerleri	44
<b>Tablo V:</b> Ortalama sinir ileti hızları	47
<b>Tablo VI:</b> Sinir bileşik aksiyon potansiyeli	49
<b>Tablo VII:</b> Elektrofizyolojik karşılaştırma sonuçları	51
<b>Tablo VIII:</b> Wallerian dejenerasyon skorlaması	52
<b>Tablo IX:</b> Wallerian dejenerasyon oranları	52
<b>Tablo X:</b> Skar oluşumu skorlaması	54
<b>Tablo XI:</b> Skar oluşum oranları	54
<b>Tablo XII:</b> Nöroma oluşma skorlaması	56
<b>Tablo XIII:</b> Nöroma oluşma oranları	56

## ŞEKİL LİSTESİ

	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Şekil 1:</b> Periferik sinir şematik görünümü	3
<b>Şekil 2:</b> Periferik sinir oluşumu şematik görünümü	5
<b>Şekil 3:</b> Lumbosakral pleksus	7
<b>Şekil 4:</b> Sinir yaralanmasında Sunderland sınıflandırması	12
<b>Şekil 5:</b> Epinöral sütür tekniği	22
<b>Şekil 6:</b> Fasiküler sütürler	22
<b>Şekil 7:</b> Tsuge funiküler askı sütür tekniği	23
<b>Şekil 8:</b> Uyutulmuş, traş edilmiş, cerrahiye hazır rat	36
<b>Şekil 9:</b> Musculus biceps femoris ekarte edilmiş;siyatik sinir görünüyor	36
<b>Şekil 10:</b> Siyatik sinirin mikromakasla tam kat kesilmesi sonrası görünümü	37
<b>Şekil 11:</b> Uç-uca anastomoz sonrası görünüm	37
<b>Şekil 12:</b> Sinir ileti hızı ölçümü	38
<b>Şekil 13:</b> EMG ölçümü	39
<b>Şekil 14:</b> EMG kaydındaki parametreler	39
<b>Şekil 15:</b> EMG hızlarını karşılaştıran grafik	42
<b>Şekil 16:</b> Kontrol Grubu EMG hızı ölçümü	42
<b>Şekil 17:</b> Ortalama p-p arası mesafeyi gösteren grafik	44
<b>Şekil 18:</b> Ortalama P-Max değerlerini gösteren grafik,	45
<b>Şekil 19:</b> Kök Hücre Grubu Pmax ölçümü büyütülmüş görüntüsü	46
<b>Şekil 20:</b> Kök Hücre Grubu p-p mesafesi ölçümü büyütülmüş görüntüsü	46
<b>Şekil 21:</b> Sinir ileti hızlarını karşılaştıran grafik	47
<b>Şekil 22:</b> Kök Hücre Grubunda sinir ileti hızı ölçümü	48
<b>Şekil 23:</b> Kök Hücre Grubunda sinir ileti hızı ölçümü büyütülmüş görüntüsü	48
<b>Şekil 24:</b> Sinir bileşik aksiyon potansiyelini gösteren grafik	50
<b>Şekil 25:</b> Işık mikroskopunda Toludin Mavisi ile boyanma sonrası Wallerian dejenerasyonun görünümü: <b>A:</b> orta derecede Wallerian dejenerasyon (200 x büyütme) ; <b>B:</b> hafif derecede Wallerian dejenerasyon (200 x büyütme)	53
<b>Şekil 26:</b> Işık mikroskopunda hematoksilen-eozin ile boyanma sonrası skar oluşumunun görünümü: <b>A:</b> hafif derecede skar oluşumu (100 x büyütme); <b>B:</b> orta derecede skar oluşumu (10 x büyütme)	55

## ÖZET

### MEZANŞİMAL KÖK HÜCRENİN, DENEYSEL SİYATİK SİNİR HASARINDA KULLANIMININ ELEKTROFİZYOLOJİK VE HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİ

**Dr. Ercan YARAR, Beyin ve Sinir Cerrahisi Uzmanlık Tezi**

**Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, 2012**

Bu çalışmanın amacı, deneysel siyatik sinir hasarında mezanşimal kök hücre kullanımının fonksiyonel ve histopatolojik etkilerini incelemektir. Çalışmada, toplam 32 adet, dişi, Sprague-Dawley cinsi rat kullanıldı. Sekiz rat, elektrofizyolojik çalışmalarda referans olması amacıyla siyatik sinirde hasar oluşturulmadan, sadece normal sinir kayıtları alınması için kullanıldı (Kontrol Grubu). Deneysel aşamasında ise toplam 24 adet rat kullanıldı. On iki ratta, siyatik sinir tam kat kesisi sonrası kök hücre uygulanmadan (Sham Grubu); 12 ratta ise siyatik sinir tam kat kesisi sonrası kök hücre uygulanarak (Kök Hücre Grubu) anastomoz yapıldı. Deneklerde sol femura paralel 3 cm'lik insizyon yapılarak, uyluk fleksör ve ekstansör grup kasları arasından diseksiyonla derinleştirilerek siyatik sinire ulaşıldı. Sham Grubundaki 12 ratın siyatik siniri mikromakasla kesildikten sonra 8/0 prolenele uç uca anastomoz yapıldı ve anastomoz hattına surgicel ve biogluce uygulandı. Kök Hücre Grubunda da siyatik sinir kesisi sonrası uç uca anastomoz yapıldı, sonra anastomoz hattına mezanşimal kök hücre uygulandı ve ardından kök hücreyi ortamda tutmak için biogluce ve surgicel uygulandı. Çalışmadan 8 hafta sonra tüm deneklerde elektrofizyolojik çalışmalar yapıldı ve ardından denekler dekapite edildikten sonra siyatik sinirleri, anastomoz hattını içerecek şekilde çıkarıldı, patolojik incelemeler için formole kondu. EMG hızı ve sinir ileti hızları ile histopatolojik olarak Wallerian dejenerasyon, nöroma oluşumu ve skar oluşumu incelendi. Histopatolojik olarak Sham Grubu ve Kök Hücre Grubu arasında anlamlı fark saptanmadı. Sinir ileti hızları, Kök Hücre Grubu ile Sham Grubu arasında ANOVA testi ile karşılaştırıldı ve  $p=0,001$  olarak saptandı. Kök Hücre Grubunda, Sham Grubuna göre sinir ileti hızlarında anlamlı fark saptandı. Çalışmamızın, mezanşimal kök hücrenin, sinir ileti hızını arttırarak fonksiyonel rejenerasyonu iyileştirdiğinin saptanması yönünden literatüre katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Mezanşimal kök hücre, siyatik sinir hasarı, sinir ileti hızı.



**ABSTRACT**

**ELECTROPHYSIOLOGICAL AND HISTOPATHOLOGICAL EFFECTS OF  
USAGE OF MESENCHYMAL STEM CELL ON EXPERIMENTAL SCIATIC  
NERVE INJURY**

**Dr. Ercan YARAR, Thesis in Neurosurgery**  
**Ondokuz Mayıs University, Samsun, 2012**

The aim of this study was to research the functional and histopathological effects of mesenchymal stem cell usage on experimental sciatic nerve injury. In this study we used totally 32, female Sprague-Dawley rats. Eight rats were used to be a reference for electrophysiological measurements and used for normal nerve records and didn't go under sciatic nerve injury (Control Group). For experiments, 24 rats were used. Twelve rats' sciatic nerve were cut and anastomosis was applied without stem cell (Shame Group). The next 12 rats' sciatic nerve were cut and anastomosis was applied with stem cell (Stem Cell Group). Sciatic nerves of rats in shame and Stem Cell Group were exposed between flexor and extensor group muscles after a 3 cm skin incision parallel to left femur of rats. In Shame Group, 12 rats' sciatic nerves were cut by microscissors and end to end anastomosis was applied by 8/0 prolene suture and then surgical and bioglue were applied to anastomosis line. In Stem Cell Group, sciatic nerves were cut by microscissors and end to end anastomosis was applied by 8/0 prolene suture and then mesenchymal stem cell was applied to anastomosis line before surgical and bioglue. Bioglue and surgical were applied for keeping stem cell on anastomosis line. After 8 weeks from operation, all rats were used for electrophysiological measurements. After that, rats were decapitated and sciatic nerves were excised as including anastomosis area and were put in formalin for pathological researches. EMG velocity, nerve conduction velocity and as histopathological parameters neuroma formation, Wallerian degeneration and scar formation were evaluated. There was not a significant difference between shame and Stem Cell Group for histopathological parameters. Nerve conduction velocities were compared by ANOVA test in shame and Stem Cell Groups and p value was 0,001. There was a significant increase in nerve conduction velocity in Stem Cell Group according to Shame Group. Usage of mesenchymal stem cell increased nerve conduction velocity and caused a functional regeneration; so our study can contribute to literature by this result.

**Key words:** Mesenchymal stem cell, sciatic nerve injury, nerve conduction velocity.

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Periferik sinir hasarı, sık görülen ve çoğunlukla inkomplet ya da non-fonksiyonel iyileşme ile sonuçlanan bir durumdur (4). Fonksiyonel iyileşme olabilmesi için proksimal ve distal uç arasında fazla mesafe olmadan düzgün bir şekilde karşılıklı gelmesi gerekmektedir (5). Periferik sinir yaralanmasında halen geçerli olan altın standart tedavi, mümkünse periferik sinir uçlarının primer dikilerek onarılmasıdır (7, 72, 73). Bu durum sıklıkla mümkün olmamaktadır. Bu nedenle ağır yaralanmalarda otogreftlerle tedavi altın standart olarak kabul edilmektedir (100). Ancak donör olan alandaki denervasyon, skar ve nöroma oluşumu gibi istenmeyen sonuçlar nedeni ile yeni tedavi modalitelerine yönelilmeye başlanmıştır (6). Özellikle santral sinir sisteminden farklı olarak periferik sinirlerin kısmi rejenerasyon yeteneğinin olması nedeni ile tam kat kesilerde uç uca yapılan anastomoz, rejenerasyonun hızlanmasına yol açmaktadır.

Progenitör hücreler ve kök hücrelerin santral sinir sisteminde iskemik inme ve çeşitli nörodejeneratif hastalıklar sonrasında kullanılması son yıllarda üzerinde sıkça durulan ve yaygın araştırmalar yapılan bir konudur ve öne sürülen hipotezlerde implante edilen hücrelerin kayıp nöronların yerine geçebileceği ve rejenerasyon esnasında trofik destek verebileceği öne sürülmüştür (1-3). Son yıllarda ise kök hücrelerin periferik sinir hasarında kullanımı üzerinde durulmaya başlanmıştır.

Biz de çalışmamızda, ratlarda tam kat siyatik sinir kesisi oluşturduktan sonra uç uca anastomoz tekniğini, tek başına ve mezanşimal kök hücre ile kombine ederek uyguladık ve uyguladığımız kök hücrenin rejenerasyona etkisi olup olmadığını, histopatolojik ve elektrofizyolojik olarak Kontrol Grubuyla karşılaştırarak tespit etmeyi amaçladık.

## **2.GENEL BİLGİLER**

### **2.1.Periferik Sinir Sistemi**

#### **2.1.1.Periferik Sinir Sistemi Embriyolojisi**

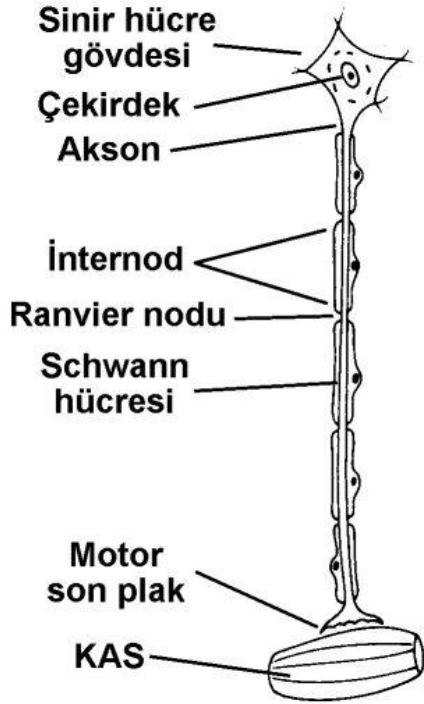
Embriyonik gelişim sürecinde ektoderm tabakası organizmadaki değişik birçok yapıya farklanır. Ektoderm tabakasından farklı olan en kompleks ve ilginç yapı ise sinir sistemidir. Sinir sisteminin gelişiminde indüksiyon, proliferasyon, pattern oluşumu, hücrelerarası ilişki, hücre göçü, hücre farklılaşması gibi birçok gelişimsel olay rol oynar (14).

Gastrülasyon döneminde dorsal ektoderm BMP-4 salgılayarak dorsal ektodermin nöral dokuları oluşturmasını engellemektedir. Ancak intrauterin gelişmenin 3. haftasında HNF-3b etkisi ile notokordu oluşturan hücreler nöral indükleyici moleküller olan noggin ve kordini salgılamaya başlarlar. Noggin ve kordin, BMP-4'ün inhibitör etkisini bloke ederek yüzey ektoderminin uyarılmasını sağlarlar. Notokordun bu indükleyici etkisi ile yüzey ektoderm hücreleri çoğalarak, uzun kalın bir bant şeklinde nöral plağı oluştururlar. Notokordun uzamasıyla uzamaya ve genişlemeye devam eden nöral plak 18'inci günde invajine olarak nöral kıvrımların arasında nöral oluğu oluşturur. Üçüncü haftanın sonunda nöral kıvrımlar birbirlerine doğru uzanarak birleşmeye başlarlar ve nöral tüpü oluştururlar. Nöral tüpün oluşumu genler, ekstrinsik faktörler ve mekanik faktörleri de kapsayan bir süreçtir. Bir grup gen nöral tüpün kranyal/kaudal polaritesini belirlerken, bir grup gen ve sinyal molekülü ise dorsal/lateral polariteyi belirleyerek sinir sisteminin doğru yönde gelişimini düzenlemektedir. Gelişimin ilerlemesiyle nöral tüp yüzey ektoderminden ayrılır. Nöral tüpün oluşumu sırasında bazı nöroektodermal hücreler yüzey epitelinden ayrılırlar. Nöral tüp için spesifik olan hücre yüzey moleküllerinin kaybıyla birlikte komşu hücrelerle de bağlantılarını kaybederek nöral tüp ile yüzey ektodermi arasında yassı düzensiz bir kitle olan nöral kristayı oluştururlar. Çeşitli yönlere doğru göç eden nöral krista hücreleri mezenşim içinde dağılırlar ve çeşitli hücre ve dokulara farklılandıktan sonra hücre adezyon moleküllerini yeniden eksprese etmeye başlarlar. Nöral krista hücreleri sinir sistemi ile ilgili olarak spinal arka kök gangliyonlarını, bazı kranyal sinirlerin (V, VII, IX ve X) gangliyonlarını, periferik sinirlerin kılıflarını ve meningeal zarları oluştururlar. Nöral

tüp merkezi sinir sistemine farklıırken, nöral krsta hücreleri ise periferik sinir sistemi ve otonomik sinir sisteminin büyük kısmını oluşturur (14).

### 2.1.2.Periferik Sinir Sistemi Anatomisi

Sinir uyarıları, periferden merkezi sinir sistemine veya merkezi sinir sisteminden perifere, periferik sinirler aracılığı ile taşınır. Bir PS, bir veya daha fazla akson demetinden oluşmuştur. Orta büyüklükteki bir sinir,bazıları miyelinsiz, bazıları ise farklı kalınlıktaki miyelin kılıfları ile çevrenmiş binlerce sinir lifini kapsar. Miyelinli bir sinir lifinde, merkezde yerleşmiş bir akson miyelin kılıfı ile çevrenmiştir. Yalıtkanlığı sağlayan miyelin Schwann hüresinin bir parçasıdır. Schwann hücrelerinin yüzey membranları aksonun çevresine spiral şekilde sarılmıştır. Böylece miyelin lameller tabakalar halinde yerleşmiştir. Schwann kılıfları ve içerdikleri miyelin, 1-2 mm aralıkla, Ranvier düğümü denilen halka şeklindeki yapılarla kesintiye uğrarlar. Ranvier düğümleri, aksiyon potansiyellerinin sıçrayarak ilerlemesine ve böylece uyarının hızlı bir şekilde ilerlemesine yardımcı olurlar. Miyelin kılıfları kalınlaştıkça sinir lifi iletimi de hızlanmaktadır (15).



Şekil 1: Periferik sinir şematik görünümü.

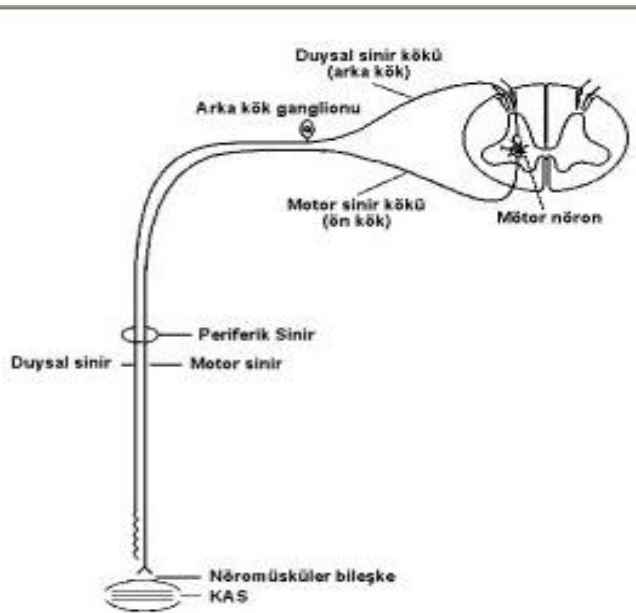
Schwann hücrelerinin protoplazmik membranları, miyelinli ve miyelinsiz tüm sinir liflerini kaplamıştır. Endonöryum, Schwann hücrelerini kaplayan bağ dokusudur. Burada kollajen lifler longitudinal olarak yerleşmişlerdir. Birkaç sinir lifi grubunu yani fasikülleri saran bağ dokusuna perinöryum denilmektedir. Perinöryum, longitudinal uzanımlı ince kollajen lifler içermektedir. Perinöryum hafif derecede interstisyel basınç nedeni ile çevresel bir gerginlik altındadır. Bu da travma sırasında iç basıncının artarak sinir liflerinin bu bölgelerden çıkmasına neden olabilir. Sinirin gerilmelere karşı olan direncinin önemli bir kısmını perinöryum sağlamaktadır. Gerilme ile perinöryum kopmadan önce sinir liflerinin kopma olasılığı çok azdır. Tam bir siniri saran bağ dokusu tabakası ise epinöryum olarak adlandırılır. Epinöryum, gevşek areolar bağ dokusudur. Longitudinal yerleşimli kollajen lifleri içerir. Perinöryuma komşu olan bölgelerde elastik lifler de bulunur. Eklem bölgelerinden geçerken kalınlaşır. İçerdiği yağ hücreleri travmaya karşı koruyucudur. Bu tabakanın fibroblastlardan zengin olması travma sonrası sinirin elastikiyetinin azalmasına yol açmaktadır. Epinöral damarlar geniş arteriollerdir ve endonöryumdaki kapiller yapılarla anastomozları vardır. Bu bağ dokusu katları, siniri zedelenmelere karşı koruduğu gibi sinir liflerini besleyen damarları da içermektedir (15-23).

Bir periferik sinir, sinir lifleri, gangliyonlar ve duysal veya motor son plaklardan oluşur. Duysal (afferent) lifler, periferden son plaklar (reseptör) tarafından alınan duyuları beyin-omurilik sistemine iletirler. Motor (efferent) lifler ise beyin-omurilik sisteminden çıkarak kaslara (somatomotor) veya organlara (viseromotor) giderler. Duysal ve motor liflerin somatik olanları kemik, iskelet kasları ve deri ile ilgili olup, genel vücut duyusu olarak bilinir. Viseral olanları ise iç organlar, damarlar ve müköz zarlarla ilgilidir (15).

Omuriliğin anterolateral olduğundan çıkan ve posterolateral olduğundan giren sinir lifleri vertebral kanal içinde intervertebral foramende birleşerek ön tarafta ön kök (motor), arka tarafta ise arka kök (duysal) denilen spinal sinir köklerini oluştururlar. Tüm spinal sinirler, omurilik ile olan bağlantılarını ön ve arka kökler aracılığı ile sağlarlar. Omuriliği anterolateral oluktan terk eden ön kök lifleri omuriliğin ön ve yan kolonlarında bulunan motor nöronların uzantılarıdır. Bunlar motor liflerin yanında sempatik ve parasempatik lifleri de taşımaktadır. Duysal kök olan arka kök ise yine üzerinde bulunan spinal gangliyon (duysal ganglion) çıkan ve posterolateral oluktan omuriliğe giren liflerin

uzantılarıdır. Eklem kapsülü, kas, kas kirişi, deri gibi yapılardan duysal önce spinal gangliona gelir ve buradan çıkan santral uzantılar omuriliğe duyu getirirler. Farklı duysal reseptörlerden uyarıları taşıyan sinir lifleri periferik sinir içinde karışık olarak bulunur. Spinal sinir gangliona yaklaşırken lifler özel fonksiyonlarına göre gruplara ayrılırlar ve arka kök içindeki belli konumlarını alırlar. En kalın miyelin kılıflarına sahip olan sinir lifleri kökün en medialine yerleşir. Bu lifler derin duysuları (propriyosepsiyon) taşır. En lateral lifler ise hemen hemen miyelinsiz olanlardır ve ağrı-ısı uyarılarını iletirler. Redlich-Obersteiner Bölgesi olarak da bilinen arka kök giriş bölgesinde, bütün duysal lifler geçici olarak miyelin kılıflarını yitirirler. Periferik sinirin özelliği olan Schwann hücreleri kaybolur ve yerini oligodendrositlere bırakır (15).

Spinal ganglion genellikle intervertebral foramende bulunur. Birinci ve ikinci servikal ganglionlar atlas ve aksisin arkusları üzerinde, sakral bölge ganglionları vertebral kanal içinde bulunurken, koksigeal spinal ganglionlar ise dura mater içinde bulunurlar. Spinal ganglionun hemen dışında birleşen ön ve arka kökler spinal siniri oluştururlar. Spinal sinirin başladığı yerden isim aldığı yere kadar olan bölümüne ise trunkus (kök) denilmektedir. Bu kökler pia ve araknoid tarafından sarılırlar ve spinal sinirin dura materi deldiği yere kadar uzanırlar. Dura mater ise vertebral kanal dışında spinal sinirin perinöryumu olarak devam eder (15).



Şekil 2: Periferik sinir oluşumu şematik görünümü.

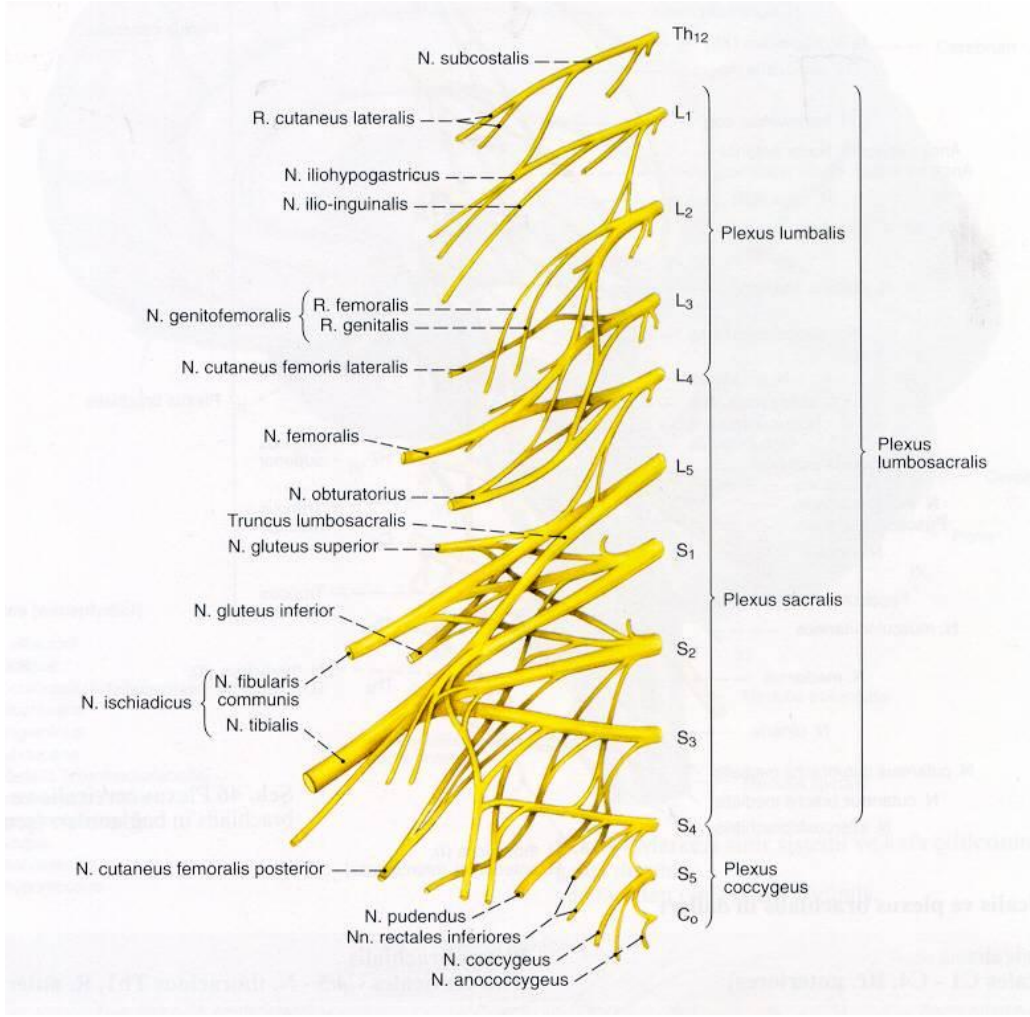
Omuriliğin 33 adet segmenti olmasına karşılık koksigeal segmentin son ikisi rudimenter olduğu için 31 çift spinal sinir vardır. Bunlardan 8'i servikal, 12'si torakal, 5'i lomber, 5'i sakral ve 1'i de koksigealdır (15).

İntumesensia servikalis denen ve omuriliğin genişlediği C4-T1 seviyesinden brakial pleksusun; intumesensia lumbalis denen L2-3 arasındaki genişlemeden ise lumbosakral pleksusun kökleri çıkmaktadır (15).

### **2.1.2.1.Sakral Pleksus ve Siyatik Sinir Anatomisi**

Sakral pleksusun birçok dalı olmakla birlikte iki ana siniri siyatik sinir ve pudental sinirdir. Sakral pleksus küçük pelvisin arka duvarında ve sakrumun iki yan tarafında ve önde bulunmaktadır. Bu pleksus, L4'ten küçük bir bölüm olmak üzere L5, S1, S2, S3 spinal sinirlerinin ön dallarının tümü ve yine S4 spinal sinirinin de bir bölümünün birlikteliği ile oluşmaktadır. Sakral pleksus üçgen şeklindedir ve sakrum üzerine oturmuştur. Sakrumun ön yüzünde görülen priformis kasının başlangıç yeri, öndeki sakral foramenlerin olduğu bölgenin işareti olacaktır (15).

Siyatik sinir, insan vücudunun en büyük ve en geniş siniridir. Sakral pleksusun devamı görünümündedir.L4'ten gelen küçük bir dal, L5, S1 ,S2 ve S3 spinal sinirlerinin ön dallarının priformis kasının ön yüzünde birleşmesi ile oluşur. Buradan sonra bu kasın altından büyük siyatik foramenden aşağıya doğru ilerler ve gluteal bölgeye ulaşır. Gluteus maksimus kasının ön tarafında bulunur. Siyatik sinir, uyluğun arka tarafının yani bacağına fleksiyon yaptıran kaslar ile bacak ve ayak kaslarının tümünün motor innervasyonunu sağlar. Bacak derisinin büyük kısmı ile ayak derisinin tümünün innervasyonu yine bu sinir tarafından gerçekleştirilmektedir.



Şekil 3: Lumbosakral pleksus (sobotta cilt 1).

### 2.1.2.2. Sıçanda LumboSakral Pleksus ve Sıçan Siyatik Sinir Anatomisi

#### Spinal sinirler:

Sıçanlarda spinal sinirler 8 servikal, 13 torasik, 6 lomber, 4 sakral ve 3 kaudal olmak üzere toplam 34 çifttir. Bu sinirlerin ventral bölümlerinden servikalde, brakialde ve lumbosakralde pleksuslar oluşur. Dorsal bölümlerinden ise deri ve deri altı dokuların innervasyonunu sağlayan dorsal ve lateral kutanöz dallar çıkar (71).

#### Lumbosakral pleksus:

Lumbosakral pleksus altı lomber ve ilk sakral spinal sinirin birleşmesiyle oluşur.



Sık olarak, 13. torakal spinal sinirden gelen komunikan dal ilk lomber sinire bağlanarak bu birleşime katılır. Pleksusun lomber ağırlıklı bölümü lomber vertebraların transvers proseslerinin önünde yer alan psoas kasının içinde bulunur. İntervertebral foramenlerden çıkan sinirler sempatik sistemle bağlantılar yaptıktan sonra psoas kasının içinde birleşerek dalları oluşturur (71).

4, 5 ve 6. lomber spinal sinirler birinci sakralden gelen dalların katılımıyla kalın bir lumbosakral trunkus ve daha aşağıdaki sakral sinirlerin de katılımıyla pudental pleksusları oluşturur. Lumbosakral pleksus pudentalden araya giren süperior gluteal arter ile ayrıldıktan sonra pelvis minörde siyatik sinir olarak devam eder. Pudental ve siyatik sinirler iskiyum dorsalindeki olukta, kuyruk köküne kadar birlikte seyredip siyatik çentikte siyatik sinir uyluğa geçer, pudental sinir ise pelvis içinde ve daha derin planda kalır. Siyatik sinir pelvis içinde gluteus medius, gluteus profundus ve tensor fascia lata kaslarını innerve eden superior gluteal siniri ve bunun hemen arkasında da piriformis, obturator internus ve superior gemellus kaslarını innerve eden inferior gluteal sinir dalını verir. Siyatik sinir insisurayı çaprazlayarak uyluğa geçerken önde kaudal yönde ilerleyip siyatik çıkıntı seviyesinde dallanarak bu bölge derisine dağılan posterior kutanöz sinir dalını verir. Bunun hemen altında ise süperfisyal gluteus kasını innerve eden nervus gluteus inferior dalı siyatik sinirden ayrılır. Uyluğun yukarı bölümünde siyatik sinir iki ana dalı olan tibial ve ortak peroneal sinirlere ayrılarak sonlanır (71).

## **2.2.Periferik Sinir Yaralanmaları ve Fizyopatolojisi**

### **2.2.1.Periferik Sinir Yaralanma Tipleri**

**a)Gerilmeye bağlı yaralanmalar:** En sık karşılaşılan tiptir. Traksiyon kuvveti, sinirin gerilme kapasitesinin üzerinde olursa yaralanma oluşur. Bu tip yaralanmalar izole sinir lezyonu şeklinde olabileceği gibi, ekstremitte kırıkları ile birlikte de olabilir (27).

**b)Bıçak ve benzeri kesici cisimlerle olan sinir laserasyonu:** Bazı serilerde bu tip yaralanmaların periferik sinir yaralanmaları içinde %30 oranında olduğu bildirilmiştir (28). Sinirin komplet olarak kesilmesine neden olabileceği gibi, çoğunlukla bir miktar sinir dokusu devamlılığını korur.

**c)Kompresyon yaralanmaları:** Sinirde ayrılma ve kopmanın olmadığı radial

sinirin kompresyonunun olduğu cumartesi gecesi paralizisi ve tuzak nöropatilerini içerir. Bu tür yaralanmalarda iki patolojik mekanizma rol alır; mekanik kompresyon ve iskemi. 1930 yılında yapılan bir çalışmada, kısa süreli turnike uygulanmasında oluşan iskemi ve kompresyonun fizyolojik sinir iletiminde bloğa neden olmadığı gösterilmiştir (29). Tam olarak kısa süreli iskeminin bloğa neden olmadığı belirlenmiştir, fakat uzun miyelinli liflerin kısa miyelinsiz liflere göre iskemiden daha fazla etkilendiği görülmüştür. Hava ile şişirilebilir manşetlerle yapılan deneysel çalışmalar, sinirdeki dejeneratif değişikliklerin komprese edilen alanın kenarlarında oluştuğunu, iskeminin en ciddi olduğu manşetin merkezinde ise oluşmadığını göstermiştir (30).

**d) Diğer:** Ezilme, travma, kimyasal irritasyon, yanıklar ve ateşli silah yaralanmaları.

### **2.2.2.Periferik Sinir Yaralanmalarının Sınıflandırılması**

Periferik sinir yaralanmasının şiddeti veya derecelendirmesi yaralanmaya sebep olan gücün büyüklüğü ve süresi ile ilişkilidir. Periferik sinir yaralanmalarında yapısal hasarın boyutunun değerlendirildiği, altta yatan travma mekanizmasının tanımlandığı, fonksiyonel sonucun önceden bilindiği ve uygun tedavi planının oluşturulduğu 2 tip sınıflama vardır:

**a) Seddon sınıflaması:** Seddon sinir hasarını, şiddetine göre üç kategoriye ayırmıştır (31). Bunlar;

1. **Nöropraksi:** Aksonal bütünlük bozulmaksızın sinir segmentindeki iletimin azalması veya tam olarak kesilmesidir. Gerçek bir dejenerasyonun olmadığı en hafif dereceli sinir yaralanmasıdır. Wallerian dejenerasyon yoktur. Sinir iletimi lezyonun proksimal ve distalinde korunmuştur ancak ileti lezyondan karşıya geçememektedir. Nöropraksi, direk mekanik bası, vasküler olaya ikincil iskemi, metabolik yetersizlik ve sinirde demiyelinizasyona yol açan hastalıklar ve toksinlerden kaynaklanmaktadır. Metabolik yetersizlik düzeltilir ve remiyelinizasyon sağlanır ise ileti yeniden sağlanmış olmaktadır. Nöropraksik yaralanmalar genellikle geri döner. Tam iyileşme günler ve haftalar içerisinde oluşmaktadır. Bu yaralanmalarda motor, propriosepsiyon,

dokunma, sıcaklık duyusu, ağrı duyusu ve sempatik fonksiyon sırasıyla travmadan etkilenir. İyileşme genellikle bu sıralamanın tersi şeklinde olur (33).

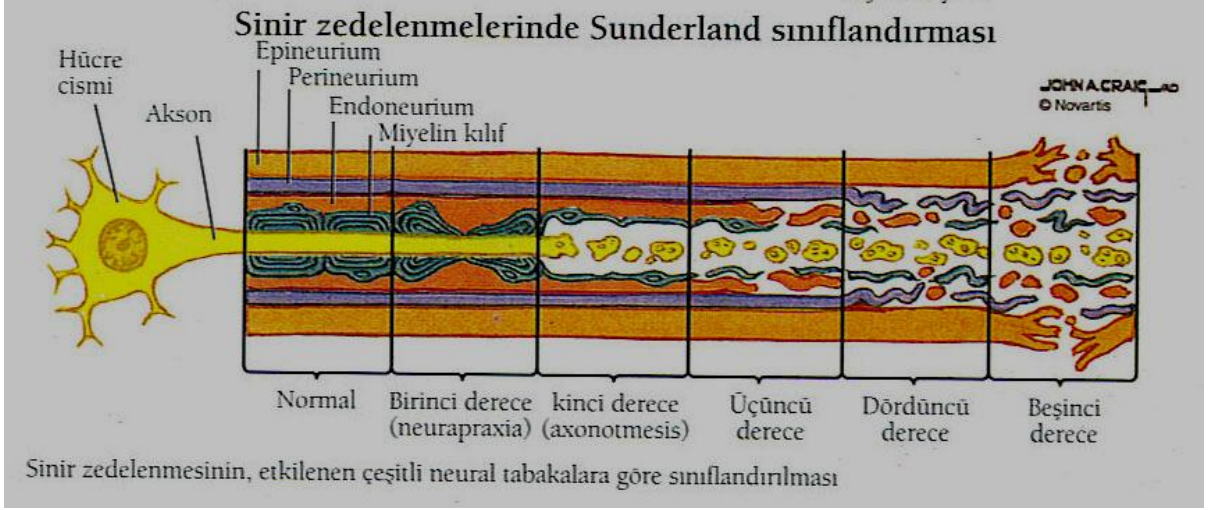
2. **Aksonotmezis:** Aksonal rejenerasyonu destekleyen çevre konnektif dokunun korunduğu, aksonların kesildiği, Wallerian dejenerasyonun olduğu, iyileşmenin tam olduğu ve nöropraksiye göre daha şiddetli derecede periferik sinir yaralanmasıdır. Aksonlarda distal Wallerian dejenerasyon oluşuktan sonra distaldeki sinirin direkt olarak elektrikle uyarılması sinir ileti ve adale uyarımına yol açmayacaktır. Travma yerine distal sinir iletimi travma sonrası 24-72 saat içinde kaybolmakta ve motor, duyu ve sempatik fonksiyonların tamamını içermektedir. Konnektif doku ağının korunması sonucu gelişen aksonal rejenerasyon aracılığıyla iyileşme sağlanmaktadır. Schwann hücreleri çoğalmakta ve rejenere olan aksonlar boyunca longitudinal kanallar (Bungner bandları) oluşturmaktadır. Aksonotmezis gelişen yaralanmalarda iyileşme, genellikle ay ve aylar içerisinde oluşmaktadır. İyileşmenin zamanlaması ve derecesi, retrograd aksonal kaybın boyutu ve hedef adaleler ve/veya duysal son organların yeniden innerve ve rejenere olma zamanı gibi birkaç faktöre bağlıdır. Rejenerasyonun ilerlemesi duyu lifleri boyunca tinnel bulgusunun ortaya konulması ile anlaşılmaktadır (33).

3. **Nörotmezis:** Sinirin akson, myelin ve konnektif dokusunun parçalanması ile karakterize en şiddetli periferik sinir yaralanmasıdır. Bu nedenle rejenerasyon aracılığıyla iyileşme gerçekleşmez. Bu derece yaralanmalar sinirin eksternal bütünlüğünün korunduğu sinir içi fibrozisle aksonal rejenerasyonun engellendiği yaralanmaları ve devamlılığı tam olarak kaybolan yaralanmaları içermektedir. Aksonal rejenerasyonda sinirin devamlılığının yeniden sağlamak için skar dokusunun cerrahi olarak kaldırılması gereklidir (33).

b) **Sunderland sınıflaması:** Sinir yaralanmalarını 5 dereceye ayıran bu sınıflandırmada (32);

1. **I. ve II. derece yaralanma**, Seddon sınıflamasındaki **nöropraksi ve aksonotmezise** karşılık gelmektedir. **Nörotmezis** şeklinde tanımlanan yaralanmada konnektif doku ağının parçalanması temel alınarak **üçüncü, dördüncü ve beşinci derece yaralanma** geliştirilmiştir (33).
2. **III. derece yaralanma**, endonöral tabaka ve Schwann hücrelerinin bazal laminası ile birlikte akson harabiyetini içermektedir. Perinörium sağlamdır ve bu nedenle sinirin fasiküler yapısı korunmaktadır. Wallerian dejenerasyon gözlenmekte ancak retrograd dejenerasyon çok şiddetlidir. Eşlik eden kanama, ödem ve iskemi sonucu gelişen interfasiküler fibrozis aksonal rejenerasyon için bir engel oluşturduğu için iyileşme tam değildir. Rejenere aksonlar kendi orjinal fasikülleri ile çevrili ancak kendi endonöral tabakaları içinde değildir. Yanlış yönde tehlikeli bir iyileşmeye yol açar. Tinnel bulgusu fonksiyonel iyileşmenin takibinde güvenilir değildir. **III. derece yaralanma** sonrası iyileşme belirgin olarak gecikmiştir.
3. **IV. derece yaralanma**, perinöriumdaki yaralanmayı ve böylece parçalanmış fasikülleri tanımlamaktadır. Bu yaralanmada sinir gövdesinin bütünlüğü korunmuştur ancak solid skar dokusu (nöroma) oluşumu giderek artan düzeylerde dir. Retrograd dejenerasyon üçüncü derece yaralanmadan daha şiddetlidir ve çok az sayıda rejenere akson bulunur. Çok az sayıda akson uygun sonlanma göstermektedir. Fonksiyonel iyileşme var ise de oldukça sınırlıdır. Dördüncü derece yaralanmalar mevcut segmentin cerrahi olarak eksizyonunu ve uygun olarak sinir onarımını gerektirmektedir.
4. **V. derece yaralanmada** epinöral bütünlük ve devamlılık bozulmuştur ve **nörotmezise** karşılık gelmektedir. Ayrılan sinir uçları ayrı kalabilecekleri gibi fibroblastlar, Schwann hücreleri 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. Olumlu yönde iyileşme şansı belirgin olarak uygun cerrahi onarımla artmaktadır (33).

5. **VI. derece yaralanma**, farklı derecede yaralanmaların kombinasyonunun temsil edildiği yaralanma tipi, Mackinnon ve Dellon tarafından ileri sürülmüştür (34).



**Şekil 4:** Sinir yaralanmasında Sunderland sınıflandırması.

**Tablo I:** Sinir yaralanmalarında Seddon ve Sunderland sınıflamaları ve klinik seyir (35).

Sunderland	Seddon	Tanım	Tinel Bulgusu	Distal ilerleme	İyileşme şekli	İyileşme oranı	Cerrahi
Birinci	Nöropraksi	Demiyelinizasyon, haftalar içinde restorasyon	-	Hızlı	Tam	Hızlı (günler-12 hafta)	Yok
İkinci	Aksonotmezis	Akson kesilmesi, rejenerasyon ve tam iyileşme	+	Yavaş	Tam	Yavaş (3 cm/ay)	Yok
Üçüncü		Akson ve endonörium kopması, düzensiz rejenerasyon	+	Yavaş	Değişir	Yavaş (3 cm/ay)	Değişir
Dördüncü		Akson, endonörium ve perinörium kopması, epinörium sağlam, rejenerasyon yok	+	-	Yok	Yok	Evet
Beşinci	Nörotmezis	Tam sinir kesisi	+	-	Yok	Yok	Evet
Altıncı	Nöroma-incontinuity	Yukarıdakilerin karışımı	Yaralanmaya bağlı olarak fasikülden fasiküle değişir				

### **2.2.3.Periferik Sinir Yaralanmalarının Fizyopatolojisi (dejenerasyon-rejenerasyon)**

Travmatik bir sinir hasarından sonra, morfolojik ve metabolik değişiklikleri de kapsayan birçok fizyopatolojik hadise meydana gelir. Bu değişiklikler sinir hücresinde ve hasarın distali ve proksimalindeki aksonlarda meydana gelir. Aynı zamanda kas, duyu reseptörleri ve serebral kortekste de değişiklikler meydana gelmektedir (27).

Sinir liflerinde rejenerasyon başlamadan önce seri halde bir dizi dejeneratif olaylar oluşur ki bunlardan bir kısmı rejenerasyon sürecini de başlatır. Rejenerasyonun başarısı, sinirde oluşan ilk hasarın şiddeti ve sonrasında olan dejeneratif değişikliklere bağlıdır. Gerçek bir dejenerasyon ve rejenerasyonun olmadığı, sadece iletimin geçici olarak kesildiği birinci derecedeki hasarda çok az bir patolojik değişiklik vardır ya da hiç yoktur, ikinci derecede olan sinir hasarında, hasarın olduğu noktada ve proksimalinde az da olsa histolojik değişiklikler olur, ancak hasarın distalinde Wallerian dejenerasyon olarak bilinen kalsiyuma bağlı dejenerasyon oluşur (36).

Wallerian dejenerasyonda ilk olarak oluşan histopatolojik değişiklik, yaralanmadan sonraki saatler içinde oluşan aksonlarda ve myelinlerdeki fiziksel parçalanmadır. Yapısal olarak tüm nörotübulus ve nörofilamanlarda düzensizlik oluşur ve aksonların kenarları genişlemiş kabarcıklar gibi düzensiz bir hal alır. Yaralanmadan 48 ile 96 saat sonra aksonal devamlılık kaybolur ve impuls iletiminin devamı olanaksız hale gelir. Miyelinlerin parçalanması, yavaş bir şekilde çoğunlukla aksonlardaki hasardan hemen sonraki 36 ile 48 saat sonra oluşur (27).

Schwann hücreleri Wallerian dejenerasyonda kilit rol oynar. Yaralanmadan sonraki 24 saat içinde aktive olurlar. Nükleus ve sitoplazmalarında genişleme ve mitoz hızlarında artış olur. Bu hücreler, dejenerasyon ve onarım sürecine yardım eden bir çok molekülün gen düzenlemesini kontrol eden hücreleri oluşturmak için hızla bölünür. Schwann hücrelerinin ilk baştaki rolü, dejenere olan akson ve miyelinlerin temizlenmesi ve bunların makrofajlara geçişlerine yardım etmektir. Makrofajlar primer olarak hemopoetik akstan hasarın olduğu bölgeye toplanırlar ve geçirgenliği artmış olan kapiller duvarından hasarlı

bölgeye geçerler. Daha sonra Schwann hücreleri ve makrofajlar 1 hafta ile birkaç ay boyunca fagositoz ve hasarlı bölgeyi temizlemek için birlikte çalışırlar (27).

Endonöral yapısal hücreler, travmadan sonraki iki hafta içerisinde süregelen bu değişikliklerde merkezi rol oynamak için önemli ölçüde çoğalırlar. Bunlar kapiller geçirgenliği arttıran ve makrofajların göçünü sağlayan histamin ve serotonin salgırlar. Başlangıçta yaralanmaya cevap olarak endonöral tüplerde şişme olur, ancak ilk iki haftadan sonra boyutça küçülürler. 5 ila 8 hafta sonra genellikle dejeneratif süreç tamamlanır ve geriye kalanlar endonörum kılıfı içindeki Schwann hücrelerinden oluşan sinir fibrilleri kalıntılarıdır (27).

Üçüncü derecede hasarlarda, en önemli şey travmanın lokal reaksiyonu tetiklemesidir. Bu tür interfaziküler hasarlanmalar, elastik endonörumundan dolayı gergin sinir fibrillerindeki retraksiyonu kapsar. Lokal damarsal yaralanmalar güçlü inflamatuvar yanıtı tetikleyen kanama ve ödeme neden olurlar. Fibroblastlar proliferer olurlar ve hasarlanan kısımda fuziform bir şişkinlik oluşturan yoğun fibröz skar dokusuna neden olurlar. İnterfaziküler skar dokusu tüm sinir boyunca gelişir ve kesintiye uğramadan sürekli genişler. Sıklıkla perinöral skar dokularıyla da sinir dokusu yapışıktır (27).

Gelişen dejeneratif süreç ve fizyopatolojik değişiklikler sinirin yaralanma bölgesinin proksimalinde ve distalinde ayrı ayrı incelenebilir (37).

### **Distal Segment**

Hasarlanan segmentin distalinde, ikinci derecede hasarlarda gözlenenlere benzer şekilde Wallerian dejenerasyon sırasıyla oluşur. Önemli bir farklılık, uzun dönemde denervasyon için endonöral tüpler kaldıklarından dolayı interfaziküler hasar aksomal rejenerasyonu bozar. Denervasyon sırasında endonöral tüpler küçülürler. Bu işlem sürecinde yaklaşık olarak yaralanmadan 3 ile 4 ay sonra bu küçülme maksimum olur. Schwann hücrelerinin dış kısmındaki membrana kollajen depo edilmesine bağlı, düzenli ve giderek artan şekilde endonöral kılıfta kalınlaşma olur. Eğer endonöral tüpler rejenerer aksom içermezse, ilerleyici ve düzenli bir şekilde fibröz dokular sonunda tüpleri tıkar (27).

Ciddi yaralanmalarda, Wallerian dejenerasyonun geç dönemlerinde endonöral tüplerin çökmesini ifade eden Schwann hücre yığınları mikroskopik olarak görülebilir.

Schwann hücre dizileri Brüngner bandı olarak bilinirler ve reinervasyon sırasında aksonların yeniden filizlenmelerine önemli bir kılavuz oluştururlar. Bu bantlar Schwann hücrelerinin aksonların yeniden büyümesi üzerine olan ikincil etkisinin erken göstergesidir (27).

Dördüncü ve beşinci derecedeki hasarlarda, travmaya bağlı güçlü lokal reaksiyon göze çarpar. Fasiküllerde olduğu gibi endonöral tüpler bozulurlar ve aksonlarla Schwann hücreleri daha fazla sınırlanırlar. Aynı zamanda epinörum hasarlanır ve 24 saat içinde reaktif epinöral fibroblastlar yaralanan uçlarda ortaya çıkar. Bunlar proliferatif Schwann hücreleri ve peri-endonöral fibroblastlarla birlikte. En fazla hücre çoğalması ilk hafta içinde pik yapar ve uzamış dönemde devam eder. Hafif düzeydeki yaralanmalarda anlatıldığı gibi, mast hücrelerinin degranülasyonu sonucu kapiller geçirgenlik artar, bunu ödem ve makrofaj infiltrasyonu izler. Bu cevabın büyüklüğü, sinir dokusu ve çevresindeki dokuların yaralanma şiddeti ile orantılıdır (27).

Dördüncü ve beşinci derecedeki hasarlarda sinir uçları, Schwann hücreleri, kapillerler, fibroblastlar, makrofajlar ve kollagen liflerinin karışımından oluşan şişkin bir doku içerirler. Rejenere olan aksonlar bu kalınlaşmış kısma kadar proksimal uçtan gelişerek gelirler, ancak buraya geldiklerinde daha fazla ileriye doğru büyümelerine müsaade etmeyen bir bariyerle karşılaşılırlar. Bir çok akson ya bu skar dokusu içinde sarmal yapı oluşturup kalırlar, ya proksimale dönüp proksimal segmente ilerlerler, ya da etraf dokulara doğru uzanırlar. Bir kısım rejenere olan akson distal uca ulaşabilir. Bu başarı bir çok faktöre bağlıdır. Yaralanmanın şiddeti, skar dokusu formasyonunun genişliği ve yaralanan uca aksonların ulaşmasının gecikmesi bu faktörlerden sayılabilir. Üçüncü derece hasarlarda, endonöral tüpler uzun süre boş kalır, daha sonra gelişen fibröz doku burayı kaplar ve en sonunda tüp içeriğini tamamen doldurur (27).

### **Proksimal Segment ve Hücre Gövdesi**

Hasarlı bölgenin proksimal tarafındaki sinir hücre gövdesindeki ve sinir fibrillerindeki değişiklikler, yaralı segmentin hücre gövdesine yakınlığına ve yaralanmanın şiddetine bağlıdır. Schwann hücreleri yaralanma bölgesinin yanında proksimal segment boyunca azalır ve aksonlar ile miyelinlerin çapı görülebilecek düzeyde küçülür. Bu



proksimal hücre azalması ya çok az olabilir ya da azalma geriye hücre gövdesine doğru yayılabilir. Eğer hücre gövdesi gerçekten dejenere olduysa ki ciddi yaralanmalarda olabilir, proksimal segmentin tamamı Wallerian dejenerasyona uğrar ve fagosite edilir (27).

Özellikle fonksiyonel bağlantı kopmuş olan son organla yeniden bağlantı oluşmazsa yaralanmanın belirgin bulgularından biri olan proksimal segment aksonlarının çaplarında küçülme oluşur. Buna bağlı olarak sinir iletim hızı azalır. Rejenerasyon döneminde aksonal çapta artış olur, ancak hiçbir zaman hasarlanmadan önceki boyutlarına erişmez. İyileşme döneminde, aksonlarla hücre gövdelerinin iyileşmesi kesinlikle birbirine bağımlıdır. Fonksiyonel periferik bağlantı olmadan hiçbir zaman hücre gövdesi tamamen iyileşmezken, aksonların çapının büyüklüğü hücre gövdesinin iyileşmesine bağlıdır (27).

Aksonal yaralanmayı takip eden ilk 6 saat içinde sinir hücresinde değişiklikler meydana gelmeye başlar. Hücrenin kendisi, çekirdek ve çekirdekçik büyür. Hücrenin periferine ve Nissl granüllerine hücre göçü olur, endoplazmik retikulum pürtüklü bir yapıya döner, daha sonra parçalanıp yayılır. Bu olaylar zincirine kromatolizis denir. Hasar görmüş aksonun tamiri için gerekli olan aksonal yapısal komponentlerin üretimi için gerekli olan nörotransmitterler, hücrenin metabolik fonksiyonunca sağlanır. Bu süreç artmış RNA, protein komponentleri, lipidler, glikoz 6-fosfat dehidrogenaz ve hidrolitik enzimlerce sağlanır (38, 39). Eşzamanlı olarak perinöral glial hücrelerin etkili proliferatif cevabı olur ki çoğu zaman kromatolizisin bir işareti olarak bilinir. Glial hücre gelişimi muhtemel iyileşme evresinde siniri korumak için, etkilenmiş sinir ve kesilmiş sinaptik bağlantıya doğru gelişir (27).

Şiddetli yaralanmalardan sonra hücre yaşamını sürdüremez. Aksonotmezisi takiben gelişen dorsal kök ganglion nöronlarında hücre ölüm insidensi %20 ile % 50 arasındadır (40). Yaralanma duysal ve kranial sinirleri içeriyorsa ve aksonotmezis proksimalde oluşuyorsa sıklıkla hücre ölümü olur. Nöronal hücre ölümlerini içeren yaralanmanın bu süreci tam olarak anlaşılmamıştır, ancak yaralanma bölgesinin mikroçevresinin içindeki şartların, bu süreçte önemli olduğuna inanılmaktadır. Cajal'ın periferik sinirlerle santral sinir sistemi nöronları arasındaki farkın sinirin yapısından ziyade çevresinin farklı olmasından kaynaklandığını öne sürdüğünden beri, 1900'lü yılların başından itibaren periferik sinirlerin rejenerasyon kapasitesine etkili olan mikroçevresel yapı incelenmiştir.

Bu tarihten itibaren yapılan araştırmalar, santral sinir sistemi nöronun periferik çevrede bir rejenerasyon kapasitesine sahip olduğunu, ancak periferik sinirin santral çevrede rejenerasyon kapasitesini kaybettiğini göstermiştir (41, 42). Moleküler çalışmalar yapan yazarlar, yaralanmadan sonra hücrelerin yaşamını sürdürmelerinde Schwann hücrelerinin önemli rol oynadığını göstermişlerdir (27).

Yaralanma bölgesinde nörotrofik ve nörotropik değişiklikler de meydana gelir. Nörotrofizm yeni aksonun gelişimi ve matürasyonu için salgılanan faktörlerle, nörotropizm ise belli bir hedefe doğru ilerleyen aksonun büyümesi ve rehberliği ile ilgilidir. Nörotropik değişiklikler, sinir büyüme faktörü (NGF), silier nörotrofik faktör (CNF), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), beyin kökenli nörotrofik faktör (BDNF) ve nörotrofin 3-4 artışına bağlı olur. Diğer taraftan makrofajlar da aksonların gelişmesini provoke eden interlökin-1 (IL-1) ve IGF gibi sitokinler salgırlar. IL-1 NGF üretimini tetikler. Bu hasarlı duyu sinirinin rejenerasyonunu kolaylaştırır (27). Bu olay aynı zamanda Taniuchi'nin bulmuş olduğu, distal Schwann hücrelerinden artmış NGF reseptör ekspresyonu ile de olur (43-47).

Nörotrofik etkiler ise periferik sinir kökleri ve denerve kasa bağlı oluşur. Mac Kinnon, rejenere olan sinirin, kas veya tendon boyunca gitmek yerine distal sinir kökleri boyunca uzamayı tercih ettiğini göstermiştir (48). Yine benzer şekilde araştırmacılar, proksimal peroneal bir sinir kökünün, arka tibial distal sinir kökü yerine, kendi distaline doğru büyümeyi tercih ettiğini göstermiştir (49). Brushart yapmış olduğu birkaç çalışmada, proksimal ve distal kökler arasında bir aralık mevcutsa ya da kılıfsızsa, motor aksonlar tercihen bu tip motor hedefleri reinerve ettiğini göstermiştir (50, 51).

Eğer ki büyümüş lif yeterli nörotropik rehberliği almaz veya hedef end organa ulaşmada yetersiz kalırsa bu durumda lokal bir nöroma oluşması söz konusu olacaktır. Bir çok nöroma asemptomatiktir, ancak bazıları ağrılı olabilir, özellikle de skar dokusu ile komprese olduklarında ağrılıdırlar. Nöromalar daha çok amputasyon gibi ciddi sinir hasarlarında görülürler (52).

Periferik sinir hasarının santral sinir sisteminde duyu ve motor korteks üzerinde de önemli sonuçları vardır. Aksonal yaralanma, sinir tamiri ve reinervasyona cevap olarak, somatosensoryel korteks reorganizasyona gider. Periferik rejenerasyon kortikal devrelerde

reaktivasyona neden olmakta, bu da kortikal nöronların duysal inputu değerlendirme kapasitelerini korumalarını sağlamaktadır (27). Sanes, primer motor korteksteki fonksiyonel reorganizasyonun sinir kesilmesine cevap olarak oluştuğunu göstermiştir (53, 54).

## **2.3.Periferik Sinir Sistemi Cerrahisi**

### **2.3.1.Periferik Sinir Sistemi Cerrahisinde Tarihçe**

PSS'nin varlığı yazılı olarak MÖ 460-370 yıllarında ilk Hipokrat tarafından tarif edilmiştir (8). Pergamon'lu Galen MS 130-200 yıllarında periferik sinirin kesilmesiyle duyu ve güç kaybı olduğunu göstermiş, tendon ile sinirin farklı iki yapı olduğunu tanımlamıştır (9). 1776'da Cruikshank ve 1795'te Haighton hayvan çalışmalarında rejenere olan sinirlerde parsiyel fonksiyonel iyileşme olabileceğini göstermişlerdir (10, 11). Aegina'lı Paulus 625-690 yıllarında sinirleri yapıştırma tekniğini tarif etmiş, daha sonra sinirlerin dikilebileceğini 850-932 yıllarında Rhazes ve Avicenna, 980-1037 yıllarında Ali Abu İbn-i Sina ve 1608 yılında İtalyan Ferrara bildirmiştir (12). Guglielmo da Salicento (1210-1280) sinir yaralanmalarının cerrahi tedavisinde öncülük yapmış, sinir uçlarının etraflarındaki dokulardan dikilerek yaklaştırılabileceğini tarif etmiştir. 19. Yüzyıla kadar bu çalışmalarda yapılan tedavi ve cerrahiler sonucunda sinirde rejenerasyon sağlanmamış ve bildirilmemiştir.

İnsanda ilk sinir tamirini yapanlardan birisi Baudens olup 1836 yılında median ve ulnar siniri sütüre etmiştir. 1847 yılında Sir James Paget 11 yaşında bir çocukta median sinir laserasyonunu primer olarak sütüre etmiş ve komplet iyileşme sağladığını bildirmiştir. 1854 yılında von Langenbeck ve Hueter sinir tamirinden sonra iyi sonuç aldıklarını yayınlamışlardır. 1873'te Hueter halen sinir tamirinde standart teknik olarak kabul edilen epinöral sütür tekniği ile uç uca anastomoz tekniğini başarıyla uygulamış ve tarif etmiştir. 1978 yılında Albert, ampute bacadan veya başka bir hastadan alınan sinir grefti ile median sinir tamirini yapmış, ancak sonuçlar yeterince başarılı olmamıştır. Bundan yirmi yıl sonra Tornau primer ve sekonder olarak tamir edilmiş 212 sinir lezyonu serisini yayınlamıştır. 1917'de fasiküler sinir tekniği Langley ve Hashimoto tarafından tarif edilmiştir. 1954 yılında Seddon otogreft kullanarak tedavi ettiği geniş bir seri yayınlamıştır. Özellikle operasyon mikroskopunun kullanıma girmesiyle sinir tamirinde mikroskopun avantajları bildirilmiş, 20. yüzyılın son dönemlerinde sinir tamiri, nörofizyoloji, nöral anatomi, sinir rejenerasyonu ve aksonal rejenerasyona etki eden faktörler konusunda birçok deneysel

araştırma yapılmıştır. I. ve II. Dünya savaşları periferik sinir cerrahisinin gelişmesinde en güçlü etken olmuşlardır. Savaş döneminde birçok periferik sinir yaralanmasına cerrahi tedavi uygulanmış ve iyi sonuçlar alınmıştır (13).

### **2.3.2.Periferik Sinir Yaralanmalarında Cerrahi Tedavi Seçenekleri ve Zamanlama**

Periferik sinir yaralanmalarının cerrahi tedavisini planlamadan önce hastanın ayrıntılı anamnezi alınmalı ve fizik muayenesi yapılmalıdır. Cerrahi müdahale sıklıkla Sunderland III, IV ve V. derecedeki lezyonlarda yapılır (13).

Cerrahi tedavi seçenekleri direk onarım ve greftle onarım olarak sınıflandırılabilir.

**I) Direkt onarım:** Sinirin ortaya konmasında keskin disseksiyon tercih edilmelidir. Proksimal ve distalde normal sinir dokusu ortaya konduktan sonra lezyon bölgesine doğru ilerlenmelidir. Sadece yeni ve temiz kesici alet yaralanmalarında küçük insizyonla ameliyat yapılması önerilebilir. Sinir yaralanma bölgesine gelindiğinde çepeçevre dokulardan serbestleştirilmelidir. Bu aşamada operasyon mikroskobu çok yararlı olacaktır.

Lezyon bölgesinde sinir ortaya konduktan sonra özellikle gerilme ya da basıya bağlı yaralanmalarda bütünlük bozulmamışsa, çevre dokulara olan yapışıklıklar ortadan kaldırılarak eksternal nörolizis yapılır. Bunu takiben sinir incelendiğinde, normal görünüyorsa ameliyat sonlandırılır. Ulnar sinirin dirsekte seyirinde olduğu gibi eklem bölgesinde çevrilerek uzatılması planlanabilir. Eğer sinir hala sert ve kalın görülüyorsa fibrozis var demektir (58). Kronik yaralanmalarda, ağır interfasiküler konstriksiyon bulguları olduğunda ya da spesifik motor lif kaybı ve atrofi varlığında internal nörolizis de denen hasarlı internal epinöriyuma yapışmış olan fasiküllerin serbestleştirilmesi, çok hassas bir şekilde yapılmalıdır (55-57). Sinirin normal görüldüğü bir yerden uzunlamasına epineurium açılarak siniri sıkıştıran fibrotik tabaka gevşetilir. Bu durumda genellikle fasiküller belirgin şekilde rahatlayacaktır. Gerekirse sinirin diğer tarafında da aynı işlem yapılabilir. Epinörotomi yeterli olmuyorsa fasiküller arası epinöryum da fibrotik demektir. Nöroma oluşumu saptanırsa nöromanın ağırlığına bağlı olarak köprüleşmiş fasiküllerin bir

kısmı ya da tamamı rezeke edilebilir ve oluşan defekt greftle onarılır. Fibrotik dokular yeterli rahatlama sağlanıncaya kadar uzaklaştırılmalıdır. Gereğinden fazla eksplorasyon fasiküllerin kanlanması ve fasiküller arası bağlantıları olumsuz etkileyecektir. Fasikül içi anatomiye en ufak müdahalenin fibrozis oluşturacağı ve bu işlemin dikkatli bir kar zarar hesabı yapıldıktan sonra gerçekleştirilmesi gerektiği unutulmamalıdır. Bu yaklaşıma rağmen sağlıklı fasiküler yapı ortaya konamıyorsa, nöroliz işlemi rezeksiyon işlemine dönüşür ve bu yapıların onarımına gereksinim duyulur (58).

Sinir bütünlüğünün olmadığı durumlarda karşı karşıya getirilen uçlarda gerilimsiz onarım yapılması önem taşımaktadır. Eğer gerilim varsa değişen derecelerde fibrotik reaksiyon oluşumuna ve yararsız rejenerasyon aktivitesine neden olacaktır. Gerilimin bir yandan sinir iyileşmesine doğrudan mekanik etkisi diğer yandan iskemi oluşturucu etkisi oluşacaktır. Sinirin uzatılarak onarılması iskemik hasara bağlı yırtılma ile sonuçlanabilir (58). Periferik sinirler iskemiye kaslara göre daha az hassastır ancak yine de sinirde % 8 kadar bir uzatılma, kan akımının azalmasına, %10-15 kadar uzatılma ise sinirin tüm kan akımının durmasına neden olabilir. 8 saatten uzun süren iskemi ise aksonal hasara ve sonuçta nekroza yol açar (59, 60).

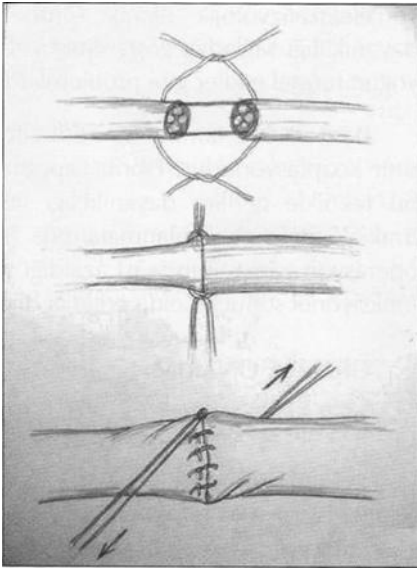
Belirgin geriliminin oluşmadığı, nisbeten temiz kesilmiş sinirler için primer onarım geçerli bir seçenektir. Eğer yapılan debridman sonucunda sinir uçları arasında 2-2.5 santimetre kadar bir açıklık kalırsa greft kullanımı düşünülmelidir. Bu kural tüm sinir onarım onarım durumlarında geçerlidir. Oluşacak gerilimin ne kadar kabul edilebilir olduğuna ameliyat sırasında karar vermek en doğrusudur.

Median sinir gibi fleksör yüzeylerde bulunan sinirler için, eklemlerin fleksiyonu ile sinir yatağının yaklaşık %15 kadar kısaltılması, sinirin distalde ve proksimalde aşırı serbestleştirilmesi gibi yöntemler kullanılmaktaysa da bunlar iyileşme süresini uzatır. Uzun segment boyunca sinirin çevre dokulardan serbestleştirilmesi sinirin vaskülarizasyonunu bozabilir. Fleksiyonda yapılan cerrahiden sonra 3-6 hafta içinde aşamalı olarak nötral pozisyonuna getirme yöntemi de rejenere olan aksonlar üzerinde ağır gerilme hasarı oluşturabilir. Bu nedenle ekstansiyonda onarım yapmak tercih edilmelidir (58).

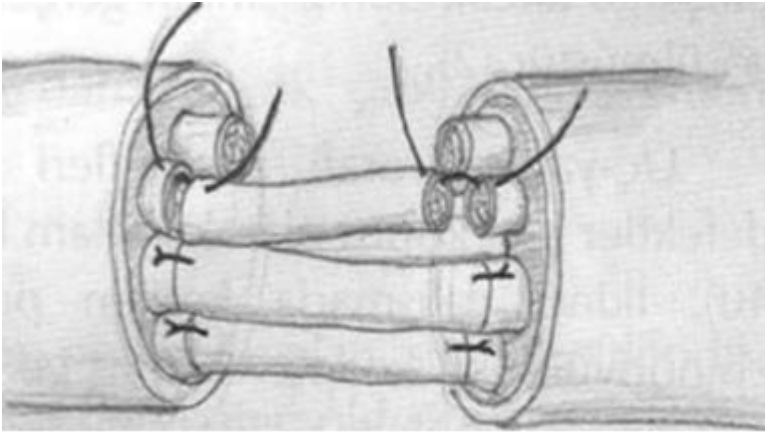
Yaranın kirliliği sinirlerin onarımını engelleyebilir. Ayrıca ezilme tipi yaralanmalarda hasarlı ve hasarsız sinirlerin ayırımı tam yapılamayabilir. Bu gibi

durumlarda ilk debridman sırasında sinirler işaretlenir ve onarım geciktirilebilir.

Epinöral veya fasiküler koaptasyon yani karşı karşıya onarım sağlanırken 8-0 ya da 10/0 monofilaman atravmatik sutureler kullanılır. İlk sutureler 180 derece karşılıklı yerleştirilir ve ara sutureler arka taraftan başlanarak seri olarak ikiye bölme yoluyla konulur. Karşılaştırmada hiç gerilim olmadığı düşünülüyorsa az miktarda suture yerleştirilmelidir. Yerleştirilen suture sayısı sinirin çapına bağlıdır. Suture sayısı arttıkça gerilme de artacağından fasikül içeriğini ortaya çıkartmamaya özen gösterilmelidir. Küçük fasiküller için uçları bir araya getirmede tek suture yeterli olabilir (Şekil 5, 6), (58).



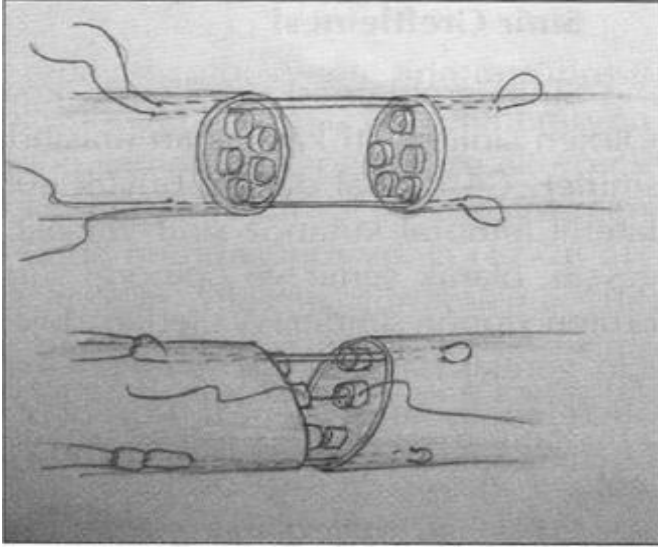
Şekil 5: Epinöral suture tekniği (58).



Şekil 6: Fasiküler sutureler (58).

Onarım sırasında fibrin yapıştırıcı kullanımı düşünülüyorsa, yapıştırıcıların gerime dirençli olmadığı akılda tutulmalıdır.

Koaptasyonda defekti en aza indirmek için funiküler askı sütürü tekniğini geliştirilmiştir (Şekil 7). Gerginliği simetrik olarak dağıtmak için sinir çapının 1.5-2 katı mesafeden epinöral destek sütürleri önerilmektedir (61). Bu sütürler gerginlik yapmadan koaptasyon gerekliliğini ortadan kaldırmaz fakat gerginliği tamirin kesit alanına dağıtır.



**Şekil 7:** Tsuge funiküler askı sütür tekniği (61).

Epinöral ve fasiküler tamir arasındaki tartışma halen tam olarak çözülmüş değildir. Bu iki tamir tekniğini karşılaştıran bir çalışmada anlamlı fark saptanmamıştır (62). Karşılaştırmalı veriler yeterli olmadığından birçok kişi motor ve duysal liflerin belirgin ve ayırt edilebilir olduğu hallerde fasiküler tamirin teorik avantajından yana tavır almaktadır (63, 64).

Basit sütürle tamire en ciddi alternatif fibrin yapıştırıcı ve benzerleriyle elde edilen sinir koaptasyonudur. Fibrin yapıştırıcı etkinliği halen tartışmalı olsa da bazı çalışmalar bu teknikle gerilim dayanıklılığı ve rejenerasyonun azalmadığı yönündedir (65, 66). Brakial pleksus yaralanmalarında fibrin yapıştırıcıyla yapılan klinik bir çalışmada operasyon zamanının %30 azaldığı ve alışılmış sütürle koaptasyona göre biraz daha iyi fonksiyonel sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir (67).



## II) Greftle onarım:

- a. **Uç-Yan Nörorafı:** Uç-yan nörorafı tekniğinin prensibi distaldeki sinirin komşu sağlam bir sinire rejenerasyon oluşturmak üzere uç-yan koaptasyonudur. Amaç proksimal güdüğün uygun olmadığı durumda standart sinir greftlemeye bir alternatif oluşturmaktır. Bu teknikle rejenere olan aksonların kaynağı ve donör end-organ inervasyonuna etkisi gibi sorunlar ortaya çıkmıştır. Gerçekten sağlam sinirden aksonlar distaldeki hasarlı sinire yürümeye başladıkça sağlam sinirde geçici bir donör son-organ inervasyon kaybı oluştuğu ancak donör sinirin gerçek donör kas atrofisi oluşmadan bunu kompanse ettiği görülmüştür (68).
- b. **Sinir Greftlemesi:** Sinir greftlemesi gerilimsiz koaptasyon elde etmenin vazgeçilmez yöntemidir. Otojen sinir grefti kaynakları arasında sural sinir, medial ve lateral antebrakial kutanöz sinirler, C4 duysal dalları, büyük auriküler sinir, terminal posterior interosseöz sinir ve lateral femoral kutanöz sinir yer alır. Greftler donör ve alıcı hazırlanan sinirler arasına gevşek olarak serilir ve epinöral sütürler gergin olmayan koaptasyonu sağlar. Tüm bu otojen donör sinirler Wallerian dejenerasyona gider fakat geriye aksonal rejenerasyon için gerekli bağ dokusu iskeletini bırakır. Greftlerin damarlanması çevredeki Schwann hücrelerinin anjiyogenezi, fibroblast büyüme faktörü ve nöral büyüme faktörü gibi büyüme faktörlerinin desteğiyle olur.

Sural sinir tipik olarak çok az uzun dönem kalıcı morbiditeyle 30-40 cm kadar greft verir. Medial ve lateral antebrakial kutanöz sinirler 10 cm kadar greft verir, ulnar ve median sinir tamirinde faydalıdır. Lateral antebrakial sinirin ön ve arka bölümleri vardır, ulnar ve median sinir hasarında çok kıymetli duysal kapasite sağlayabilir. Alınması gerekse bile, lateral antebrakial kutanöz sinirin distal duyu alanı aynı zamanda yüzeysel duysal radial sinirle innerve olur. Ters olarak yüzeysel duysal radial sinirin alınması da düşünülebilir (30). C4 duysal dalı ve büyük auriküler sinir de primer brakial pleksus tamiri söz konusu olduğunda faydalı olabilir. Bu duysal sinirler

proksimal brakial pleksusa yakınlığı nedeniyle kolaylıkla çıkartılabilir (9). Distal digital sinir greftleri için terminal posterior interosseöz sinir sıklıkla kullanılır (38). Daha proksimal greftlerde sural ve antebrakial kutanöz sinirler gibi daha büyük çaplı sinir greftleri gerekebilir (10).

- c. **Vaskülarize Sinir Greftleri** : Vaskülarize sinir greftleri ayırt edilebilir vasküler pedikülü olan sinir greftleridir. Sıklıkla sural veya ulnar sinir kaynaklı bu greftler ağır cilt defektinin olduğu, az kanlanan yerlerde ve büyük defekt varlığında önerilir (6, 22, 28). Bir uzun dönem çalışmada üst ekstremité vaskülarize sinir greftlemesi yapılan olgularda sinir büyüme hızı neredeyse maksimal hız olan 1,5mm/gün olarak bildirilmiştir (32).
- d. **Allogreftler**: Allogreftler FK506 ve monoklonal antikor tedavisi gibi yeni immünsüpresif rejimlerin gelişimi, allogreft selülaritesi ve antijenitesindeki azalma ve rejenerasyon potansiyelini arttıran doku mühendisliği tekniklerinin kullanımı ile otogreftlere alternatif olarak yakın takibe alınmıştır (9). Rekonstrüksiyon için sinir grefti ihtiyacı mevcut otojen kaynakları aşan yedi hasta ile yapılan bir klinik çalışmada immünsüpresyonla (12-26 ay) altı hastada belirgin duysal ve değişen oranlarda motor iyileşme görülmüştür. Bir hastada tedaviye rağmen greft reddi gelişmiştir. İmmünsüpresyon allogreftin, sinir rejenerasyonu selülar ve matriks köprüsü ihtiyacının kalmadığı noktaya gelene kadar bir doku kanalı oluşturmasını sağlar ve bu noktada greftin fonksiyonel iyileşmesine etki etmeden immünsüpresyon kesilebilir (18). İmmünsüpresyon sistemik yan etkileri nedeniyle belli bir süreyle sınırlandırılmalıdır. Halen gelişmekte olan CD4'e karşı monoklonal antikor kullanımı gibi lokal immünolojik kontrol yöntemleri sistemik immünsüpresyon tedavilerini uzaklaştırmada ümit vaat etmektedir (7). Seçilmiş hastalarda anatomik greft ihtiyacının otojen olarak karşılanamadığı durumlarda allogreft kullanımı faydalı olabilmektedir.
- e. **Sinir Tüpleri**: Otojen greft alımı, duysal sinir kaybı ve cerrahi işlemin kendisinden kaynaklanan bir morbiditeye sahiptir. Bu yüzden otojen greftlere alternatif olarak ven greftleri, amniyon tüpleri gibi diğer otojen tüpler, silikon

ve poliglikolik tüpler gibi alloplastik tüpler ve doku mühendisliği ürünü olan matriks, çatı ve sitokin içeren ürünler denenmiştir.

Ven greftleri otojen olmanın teorik avantajına sahip olsalar da yine kaçınılmaz olan donör alan morbiditesiyle birlikte dirler. 3 cm ve daha kısa greftlemelerde sonuçlar geleneksel greftleme ile eşit olsa da daha uzun defektler ven greftiyle güvenilir şekilde kapatılamaz (3, 31).

Amniyon tüpleri de bir diğer allogreft kaynağıdır. Konsept çalışmalarda belirgin sinir rejenerasyonun özellikle 1 cm'ye kadar olan defektlerde daha iyi olduğu gösterilmiştir (24, 28). Alternatif sinir kanallarını sınırlamada deepitelize amniyon matriks örtüsü geliştirilmiştir (23).

Erken deneysel modeller sinir tüpü yapımında ağırlıklı olarak silikon üzerine yoğunlaşmıştı (14, 36). Bunun nedeni rejenerasyon sırasında tüp matriksi içinde sinir büyüme faktörü ve diğer rejeneratif sitokinlerin bulunabilmesiydi (5). Silikon tüp kullanımının avantajı proksimal ve distal uçlar arasında istenen şekilde bir boşluk oluşturulabilmesi ve dejenere olan donör greft fasiküler yapısına ve fibrozise bağlı olumsuz faktörlerin etkisi olmaksızın nörotropik ve nörotrofik sürecin doğal rejenerasyona izin vermesidir. Bu hipotez kısa (3-4 cm) defektlerin olduğu prospektif randomize bir çalışma ile test edilmiş ve primer tamirle tüp karşılaştırılmıştır. Erken dönem takipler tübülizasyon grubunda biraz ilerlemiş dokunma duyusu ile birlikte benzer sonuçlar ortaya koymuştur (15).

Deneysel sinir tüpleri yapımında ekstraselüler matriks içerikleri (kollajen, laminin, fironektin) gibi biodegradable materyaller ve sentetik varyantlar (polilaktik asit, poliglikolik asit, biodegradable poliüretanlar ve fosfazenler) kullanılmıştır (8-12). Kollajen poliglikolik asit tüpleri standart greftlemeyle karşılaştıran bir erken dönem çalışmanın sonuçları fonksiyonel olarak eşit fakat otogreftlerde daha geniş akson çapı geliştiği yönünde olmuştur (29). Bir dekad sonra dijital sinir rekonstrüksiyonunda biodegradable tüplerin kullanımı ile ilgili ilk prospektif randomize klinik çalışma büyük (8 mm ya da daha fazla) defektlerde poliglikolik asit tüplerin otojen greftlerden;

küçük (4 mm ya da daha küçük) ise sinir tüpü ile rekonstrüksiyonun primer tamirden daha iyi hareketli iki nokta diskriminasyonu oluşturduğunu göstermiştir (37).

Benzer klinik çalışmalar ve artan deneysel araştırmaların ışığında biodegradable sinir tüplerinin gelişimi kesinlikle hızlanacaktır. Bu sistemleri daha iyiye götürmenin parametreleri arasında tüplerin doku, maliyet, geçirgenlik ve antijenitesinin düzenlenmesi, içlerine çözünebilir nörotropik ve nörotrofik faktörlerin eklenmesi ile büyüme hızının artırılması, Schwann hücreleri ve matrisin olası yapısal desteğinin sağlanması gelmektedir (8).

## **2.4.Kök Hücre Kavramı**

Kök hücre, bölünerek kendini yenileyebilen ve kan, karaciğer, kas ve sinir dokusu gibi özelleşmiş görevler üstlenen dokuları oluşturabilecek biçimde farklılaşabilen hücrelerdir. Bu hücreleri diğerlerinden ayıran başlıca iki özellik yenilenebilme ve farklılaşabilme yetenekleridir. Okarma ve arkadaşları, tekli hücrelerden elde edilen embriyonik kök hücre serilerinin 300–400 döngü boyunca çoğalabildiklerini göstermiştir (26). Sonuç olarak, meydana gelen hücreler özelleşmemişlerdi ve bu nedenle hücrelerin uzun dönemde kendilerini yenileyebilme yeteneklerine sahip oldukları bildirildi (25).

Hücrelerin bölünme kapasitelerini kromozomların uç kısmında bulunan ve “telomer“ denilen DNA zincirleri belirler. Telomerler ne kadar uzunsa hücreler o kadar çok bölünebilir. Telomerlerin de uzun kalmasını sağlayan “telomeraz enzimi ” dir. Bir hücrede telomeraz enzimi ne kadar aktif ise telomer uzunluğu da o kadar korunabilir. Kök hücrelerinde de çok aktif telomeraz enzim aktivitesi vardır. Bu nedenle kök hücreler bu kadar çok bölünebilir. Kök hücreler, birden fazla hücre tipine farklılaşabilirler. Farklılaşma kabiliyetlerine göre totipotent, pluripotent ve multipotent hücreler olmak üzere üç grupta incelenirler (25).

### **2.4.1.Kök Hücre Türleri**

#### **a.Totipotent kök hücreler**

Her yönde farklılaşma ve farklı yönlere gidebilme yeteneğinde olan kök hücrelerdir. Zigot, vücuttaki tüm hücelere dönüşebilecek potansiyele sahip ilk embriyonel hücredir. Bu hücreye her şeyi yapabilen anlamına gelen “totipotent hücre” denir. Bu terim embriyonun 5. gününe kadar tüm blastomerleri için geçerlidir (erken embriyonik dönem). Bu hücrelerin her birinden ayrı birey elde edilebilir (25).

#### **b.Pluripotent Kök Hücreler**

Gebeliğin 5. gününde “blastosöl” şekillenir. Embriyo bu dönemde blastosist olarak tanımlanır. Blastosist 3 yapıyı içine alır: Trofoblast, Blastosöl, Nodus embriyonalis. Blastosist hücreler pluripotent kök hücreler olarak sınıflandırılabilir. Bu hücreler, vücuttaki bütün dokulara kaynaklık edebilir fakat yeni bir birey meydana getiremez (25).

### **c. Multipotent kök hücreler**

Fetal dönemde hücreler, biraz daha özelleşmiş erişkin kök hücrelerine dönüşür. Bu erişkin kök hücreleri de tipik olarak buldukları dokunun hücre tipini üretirler. Yani multipotent kök hücrelerin farklılaşması, daha sınırlı sayıda hücre dizesindedir. Bu tür hücrelere en iyi bilinen örnek, hematopoetik kök hücrelerdir (25).

#### **2.4.2. Mezaşimal Kök Hücre**

Mezaşimal kök hücreler (MKH), başta konnektif doku kökenli hücreleri (kemik, kıkırdak, yağ, tendon, stroma) olmak üzere birçok farklı doku hücrelerine (kalp, karaciğer, pankreas, sinir sistemi) farklılaşarak veya çözünür (solübl) faktörler sentezleyerek doku / organ rejenerasyonuna katkıda bulunması, in vitro ortamda kök hücre özelliklerini koruyarak kolaylıkla çoğaltılabilmesi, hematopoezi destekleyerek kemik iliği / kök hücre grefti reddini önlemesi, immünoşüpresif özellikleri nedeniyle, greft versus host hastalığının (GVHD) önlenmesi ve tedavisinde, otoimmün hastalık tedavisi, ayrıca gen aktarımı kolaylığı nedeniyle başta kalıtsal hastalıklar olmak üzere birçok klinik alanda uygulama potansiyeline sahiptir. Bu nedenle hekimler ve temel bilimciler arasında büyük ilgi uyandırmaktadır. Ayrıca, hücrelerin kullanımında HLA doku uyumu gerektirmemesi nedeniyle biyoteknoloji firmaları tarafından genel kullanıma açık universal MKH verici havuzları oluşturulmaktadır. Mezaşimal kök hücreler, yukarıda bahsedilen biyolojik özellikleri nedeniyle hasarlı organ tamiri için önemli bir potansiyel oluşturmaktadır. Bu hücrelerin yaygın kullanımını zorlaştıran en önemli faktör, dokularda çok az sayıda olmaları nedeniyle klinik kullanım için in vitro olarak çoğaltılmaları gereğidir. Araştırma amaçlı çoğaltılmaları kolaylıkla mümkün olduğu halde, klinik uygulamaya uygun MKH geliştirilmesi, uluslararası standartta hücresel tedavi alt yapısını gerektirmesi nedeniyle oldukça iddialı bir tedavi yaklaşımıdır. Tedaviye geçiş için, uygun altyapı, işleyiş, deneyim, kadro ve bütçenin temin edilmesi ve böyle bir yapının idamesini sağlayacak planlamalar yapılması gerekmektedir. 2000'li yılların başlarından itibaren klinik uygulamaları başlanmış olan MKH tedavileri, halen başlıca hematopoetik kök hücre transplantasyonu hastalarında olmak üzere kullanıma girmiş, dünyada 200'ün üzerinde hastaya bu tedavilerin uygulandığı bildirilmiştir. Hücresel tedaviler içinde MKH tedavileri, klinik kullanım için en avantajlı hücreler arasında yer almakla birlikte, özellikle ilerlemiş pasaj hücrelerinin

kullanımı ile sitogenetik bozukluk, hatta malignite riski bulundurabileceği de dikkate alınmalıdır (24).

### **2.4.3.Mezaşimal Kök Hücrelerin Klinik Kullanım Açısından Avantajları**

-Konnektif doku kökenli olmaları nedeniyle stromal destek sağlayarak ilgili doku hücrelerinin gelişimine ve fonksiyonuna katkı sağlamaları,

- Farklılaşma yeteneklerinin fazla olması;

a) Kendi köken aldığı konnektif doku hücreleri olan kas, yağ, kemik, kırık, stromal hücreler, tendon, ligament gibi

b) Diğer doku hücrelerine farklılaşma özelliği (transdiferansiasyon): Nöron, hepatik, pankreatik hücre gibi

- Hasarlı hücre ile füzyon yeteneği olması,

- Biyoaktif maddeler, çözünür faktörler (büyüme faktörleri, sitokin, kemokinler gibi) salgılayarak hasarlı hücre / doku tamirine katkı sağlaması,

- Migrasyon özellikleri sayesinde hasarlı dokuya ulaşabilmeleri,

- Immünesupresif / non-immünojenik özellikte olmaları (çoğunlukla): Bu özellikleri nedeniyle MKH klinik kullanımı için HLA doku uyumunun şart olmadığı, haplo-idantik, hatta tamamen HLA uyumsuz bireylerden bile MKH tedavilerinin mümkün olduğu,

- Anjiojenik, antiapoptotik, anti-inflamatuar özellikleri nedeniyle doku onarımına katkıları, Gen transferi kolaylığı ve dayanıklı olmaları nedeniyle gen tedavisi için uygun olmaları; bu nedenle kalıtsal hastalıklarda ve kanser tedavisinde kullanım potansiyeli bulunması, Enzimler (örn. Lizozomal enzim) salgılayarak kalıtsal hastalıklardaki enzim defektlerinin yerine konulabilme potansiyeli bulunması, hücre tedaviler içinde MKH'lerin öne çıkmasını sağlamaktadır (24).

### **2.4.4.Mezaşimal Kök Hücrelerin Klinikte Kullanım Alanları**

**Hematopoetik Kök Hücre Transplantasyonu:** Hematopoetik kök hücre transplantasyonunda MKH'lerin özellikle immünesupresif özelliklerinin ve stroma desteği sağlayıcı özelliklerinin önemli katkıları olduğu bilinmektedir. Yeni gelişen hematopoezin desteklenerek kemik iliği reddinin önlenmesi ve allojenik transplantede GVHD'nin önlenmesi veya tedavisinde MKH'lerin katkıları son yıllarda yapılan çalışmalarda

gösterilmiştir. Mezenkimal kök hücreler ile klinik deneyim, literatürde en fazla ve belki de en başarılı sonuçlar bu alanda (özellikle GVHH tedavisinde) olmuştur. Steroid ve diğer immünosupresif tedavilere refrakter ve mortalitesi çok yüksek olan ağır GVHH'da (Evre - 4) Avrupa'dan toplam 50'nin üzerinde hasta tedavi edildiği bildirilmiş ve bunlarda % 70'lere varan oranda cevap alınmıştır. Mezenkimal kök hücreler, HKHT'da engreftmanın desteklemesi ve GVHH'nin önlenmesi, tedavisi dışında doku rejenerasyonunu sağlamak amaçlı da kullanılmıştır (24).

**Otoimmün / İnflamatuvar Hastalıklar:** Multipl skleroz (MS), amyotrofik lateral skleroz (ALS) gibi hastalıklarda deneme veya deneysel araştırma kapsamında kullanılmaya başlanmış, güvenle verilebildiği, hastalık belirtilerinde yavaşlama sağlanabileceği bildirilmiştir. İnflamatuvar hastalıklardan Crohn hastalığında da aGVHH olan hastalar gibi iyileşmeler gözlenmesi, bu hastalık grubunda MKH tedavileri ile Faz III çalışmalarının başlamasına yol açmıştır (24).

**Rejeneratif Tıpta Kullanım:** Kök hücre tedavilerinde en büyük ilgi uyandıran rejeneratif tıp alanıdır. Tıbbın hemen her alanını kapsamaktadır. Ortopedide meniskus hasarı tamiri, osteoporoz tedavisinden diş hekimliğinde implantlar, kardiyojide myokard enfarktüsü, beyin ve sinir cerrahisinde spinal kord yaralanmaları, plastik cerrahide yanık tedavisine kadar çok geniş potansiyel kullanım alanı bulunan bu hücreler ile yeterince klinik deneyim kazanılmadan, hücre hazırlama metotlarının optimize edilmeden, özellikle de başka tedavi şansı bulunan hastalıklarda kullanımının potansiyel sakıncaları üzerinde durulmakta; bu nedenle bahsedilen alanlarda kullanımı konusunda rapor edilen çalışma sayıları son derece kısıtlı kalmaktadır. Hematopoetik kök hücre transplantı gibi günümüz koşullarında bile morbidite mortalitesi yüksek olan bir alanda sağlanan yararlar, MKH'lerin klinik uygulananın daha ziyade transplantasyon alanında yoğunlaşmasını sağlamıştır. Myokard enfarktında kullanımı ile ejeksiyon fraksiyonunda iyileşmeler elde edilmiş ve etkinlik hücrelerin transdiferansiasyonundan çok anjiogenez ve solubl faktörlerin etkisine bağlanmıştır. Nörolojik hastalıklardan immün aktivasyon, inflamasyonla giden hastalıklar, MS, ALS'de denenmekte olup, etkinlik çalışmaları sonlanmamıştır. Rejeneratif amaçlı olarak bu hücrelerin hepatik, pankreatik hasarda da rolleri üzerinde durulmakta ve ön klinik denemeler başlamış durumdadır. Son zamanlardaki



çalışmalar özellikle pulmoner problemlerin tedavisinde MKH'lerin potansiyel yararları üzeride durmaktadır. Lokal inflamasyon ile seyreden akciğer problemleri, pulmoner fibrozis, kronik obstrüktif akciğer hastalığı ve pulmoner hipertansiyonda MKH tedavileri gündeme gelmiştir (24).

**Pediatride Kullanım:** Progresif, kalıcı sistemik bozukluklarla seyreden, bilinen bir tedavi yöntemi olmayan, hematopoetik kök hücre transplantasyonu, enzim veya gen tedavisi adayı olan kalıtsal hastalıklar da MKH tedavilerinden yararlanacak hastalıklar içerisinde nde yer almaktadırlar. Hasta ağırlığına göre hücre dozu ayarlanması gereği nedeniyle çocuklarda, özellikle infantlar için hücre hazırlamada teknik kolaylıklar vardır. Uzun süren kültürlere gerek kalmadığı için, ileri pasajların riskleri ortadan kaldırılmış olmaktadır. Ayrıca kısa sürede gerekli hücre sayısına ulaşılması mümkün olduğundan, ekonomik yönden avantajlı olması beklenmektedir.

### **3.MATERYAL ve METOD**

Bu araştırmaya, Ondokuz Mayıs Üniversitesi etik kurul onayı alınarak başlanmıştır. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Proje Yönetim Ofisi'nin Bilimsel Araştırma Projesi kapsamında çalışmada kullanılan denekler, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilmiştir. Cerrahi işlemler, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde; kök hücre elde edilmesi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Genetik Ünitesi'nde; elektrofizyolojik alışmalar, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda; histopatolojik incelemeler, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tamamlanmıştır.

#### **3.1.Mezenşimal Kök Hücre Eldesi**

Deneklerde kullanılan mezenşimal kök hücre, 19 Mayıs Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Genetik ünitesinden temin edilmiştir.

Kök hücre elde edilmesi sırasındaki aşamalar aşağıdaki şekilde özetlenebilir:

Kemik iliği vericisi olarak 5 adet erkek Sprague-Dawley sıçan kullanıldı. Bu sıçanlardan eter inhalasyonu ile anestezi altında her birinden 8-10 ml olmak üzere eksternal intrakardiyak yol ile kan alındı. Alınan kanlar 4000 devir/dakika'da 10 dakika santrifüj edilerek otolog serum elde edildi. Eter inhalasyonuna devam edilerek öldürölen deney hayvanlarının femur, tibia ve humeruslarının medöller kavitelerinden yıkama yöntemi kullanılarak kemik iliği alındı. Bu işlem sırasında önceden heparinle yıkanmış dulbecco's modified eagle's medium-low glucose (DMEM-LG) ekilmiş insölin enjektörleri kullanıldı. Her kemik için 1 cc toplamda ise hayvan başına 8-12 cc DMEM-LG kullanıldı. Hücreler eşit hacimdeki Ficoll solösyonu (1.077 g/mL) üzerine tüp içerisinde yayıldı. Elde edilen solösyondan mononökleer hücreleri ayırmak amacıyla dansite gradiyent yöntemi kullanılarak 900 devirde 30 dakika süre ile santrifüj edildi. İnterfazdan toplanan mononökleer hücrelerden 3 ml'si akım sitometri çalışması için ocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı ocuk Hematoloji Laboratuvarına götüröldü. Geride kalan kısım 3 ml'lik daha önceden 200 mL/L FBS (fetal bovine serum), 100 U/mL penisilin, 100 U/mL streptomisin ve 20 mL/L L-glutamin eklenerek hazırlanmış olan DMEM-LG besiyeri içinde 25 cm<sup>2</sup>lik (T25) hücre költür kaplarına 10<sup>6</sup>/mL konsantrasyonunda yayılarak ekildi.

Hücreler 37 °C ve 50 mL/L CO<sub>2</sub> içeren % 95 nem oranına sahip CO<sub>2</sub> inkübatöründe inkübe edildi. İlk üç gün besiyerleri hergün sonrasında ise miktarı 5 ml'ye çıkarılarak 3 günde bir değiştirildi. İvert mikroskopta hücrelerin kültür kabının %75'ini kapladığının görüldüğü 14. günde hücreler pasajlandı. Pasaj işlemi için kültür kaplarına içerisindeki besiyerini aldıktan sonra 1,5 ml Tripsin-EDTA-C konuldu. 2-3 dakikalık elle perküsyon sonrasında 37 °C'lik inkübatörde 3-5 dakika arası tutuldu ve tekrar elle 2 dakika kadar perküte edilen hücrelerin mikroskopta yapıştıkları plastik yüzeyden kalktıkları görüldü. Hücreler bu şekilde toplam 5 kez pasajlandı. Pasajlanan 12 kültür kabından tripsin-EDTA-C ile kaldırılan hücreler süspansiyon haline getirilip akım sitometri çalışması için Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Hematoloji Laboratuvarına götürüldü.

Pasajlanarak çoğaltılan diğer hücre kültürleri yine aynı yöntem kullanılarak tripsin-EDTA-C ile kaldırıldı. % 10 Dimetil sulfoksit (DMSO) ve % 20 FBS içeren DMEM-LG'den 1,5 ml eklenerek 2ml'lik kriyotüplerde daha sonra deneyde kullanılmak üzere -80 °C'ye kaldırıldı.

#### **Akım sitometri İle Mezanşimal Kök Hücrelerin Tanımlanması:**

İnterfazda toplanan mononükleer hücrelerden oluşan ekim yapılmadan önce alınmış 3 ml'lik örneğin kullanımında her hücre dizini için 6 tüp kullanıldı. Tüplerin üzerleri sırasıyla yüzey belirteçlerinin adları ve Kontrol Grubu olarak yazıldı. Sonra her tüpe hücre konsantrasyonu  $1 \times 10^6$  olacak şekilde getirilen hücre süspansiyonundan 100'er µl konuldu. Birden beşe kadar olan tüplere yüzey belirteçleri sırası ile  $10^7$  ar µl eklendi. Altıncı tüpe belirteç konulmadı. Tüpler vortekslendi. 4 °C'de karanlık ortamda 15 dakika inkübe edildikten sonra üzerine daha önceden hazırlanmış olan yıkama solüsyonundan 1 ml eklendi ve 1400 devir/dakikada 5 dakika boyunca santrifüj edildi. Süpernatant atıldıktan sonra kalan hücre çöktisine tekrar 0.5 ml yıkama solüsyonu eklenerek akım sitometri cihazında tanımlandı. Bu işlemde HKH (hematopoetik kök hücre) ve MKH hücre belirteçleri (CD11b/c, CD44, CD45, CD90, CD106)'nin kullanımı sonucunda CD11b/c [%97 (+)], CD44 [%1 (-)], CD45 [%99 (+)], CD90 [%34 (+)] ve CD106 [%11 (-)] olduğu gösterildi.

Aynı işlemler, pasajlanan kültür kabından tripsin-EDTA-C ile kaldırılarak toplanan hücrelerden oluşan örnekle de tekrarlandı. Aynı belirteçlerin kullanımı sonucunda CD11b/c

[%5 (-)], CD44 [%97 (+)], CD45 [%1 (-)], CD90 [%97 (+)] ve CD106 [%30 (+)]olarak tanımlandı.

### **3.2.Denek Seçimi**

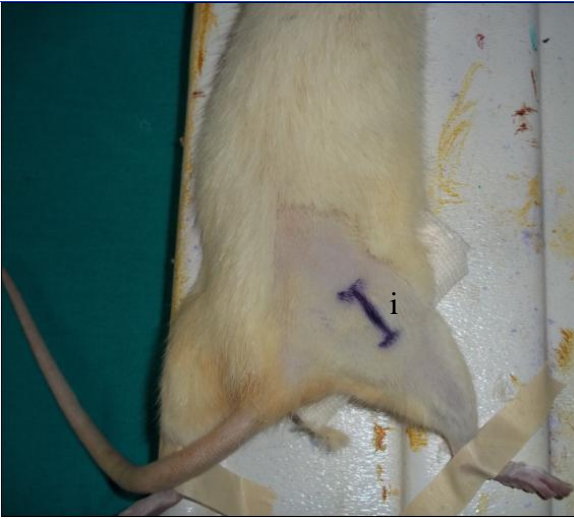
Çalışmada, toplam 32 adet, dişi, ağırlıkları 200-300 gram arasında değişen Spraque-Dawley cinsi rat kullanılmıştır. Sekiz rat, elektrofizyolojik çalışmalarda sinir iletim hızları ve EMG kayıtları için referans olması amacıyla siyatik sinirde hasar oluşturulmadan, sadece normal sinir kayıtları alınması için kullanılmıştır (Kontrol Grubu). Deney aşamasında ise toplam 24 adet rat kullanılmıştır. 12 ratta, siyatik sinir tam kat kesisi sonrası kök hücre uygulanmadan (Sham Grubu); 12 ratta ise siyatik sinir tam kat kesisi sonrası kök hücre uygulanarak (Kök Hücre Grubu) anastomoz yapılarak sonuçlar elektrofizyolojik ve histopatolojik olarak incelenmiş ve istatistiksel analizleri yapılmıştır.

### **3.3.Deneyin Uygulanması:**

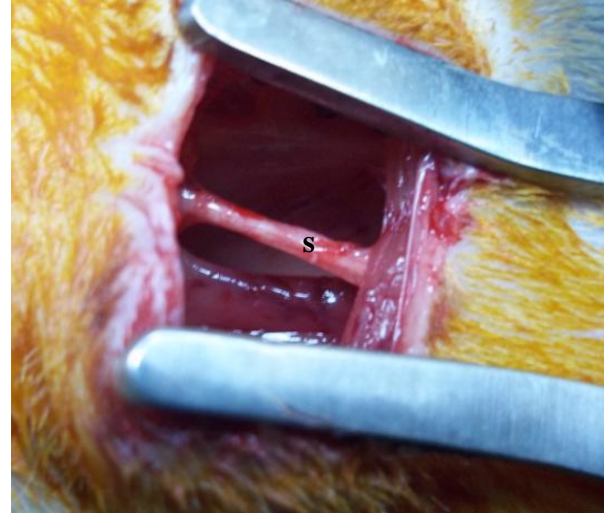
Cerrahi işlem öncesinde profilaksi amaçlı olarak sefazolin sodyum(Cefozin® Bilim İlaç) 10 mg/kg dozunda intramüsküler olarak uygulandı. Deneklerin anestezisinde 50-150 mg/kg ketamin(Ketalar® Parke Davis) ve 5-10 mg/kg ksilazin(Rompun® Bayer) intraperitoneal olarak uygulandı. Anestezi sonrası denekler prone pozisyonda tespit edilerek sol femoral ve gluteal bölgeler ortaya kondu. Tüm ratlarda cerrahi alanda traş yapıldıktan sonra % 10 luk povidon iyot solüsyonu ile cilt antisepsisi sağlandı. Ardından tüm deneklere femura paralel 3 cm lik insizyon yapılarak (Şekil 8), uyluk fleksör ve ekstansör grup kasları arasından diseksiyonla derinleşilerek siyatik sinire ulaşıldı(Şekil 9). Sham Grubundaki 12 ratın siyatik siniri mikromakasla kesildikten sonra (Şekil 10), mikroskop altında 8/0 prolen ile uç uca anastomoz yapıldı (Şekil 11) ve anastomoz hattına surgicel(surgicel® ETHICON) ve bioglue(BioGlue® CryoLife) sıkıldı. Surgicel ve bioglue, kök hücre uygulanan grupta kök hücrenin anastomoz hattıda kalması için uygulandı ancak Sham Grubunda da kök hücre dışındaki faktörleri nötralize etmek için uygulandı. Ardından cilt 3/0 vicrille suture edildi. Kök Hücre Grubundaki 12 ratın siyatik siniri mikromakasla kesildikten sonra 8/0 prolenle yine mikroskop altında uç uca anastomoz yapıldı, anastomoz hattına önceden hazırlanmış olan mezanşimal kök hücre ekstresinden toplam  $2 \times 10^6$  hücre olacak şekilde insülin enjektörü ile enjekte edildi, üzerine surgicel ve bioglue sıkılarak kök

hücrelerin cerrahi sahada kalması sağlandı. Ardından cilt 3/0 vicril ile sütüre edildi. Cerrahi sonrası deneklere 2mg/ml içme suyuna katılmış parasetamol oral yoldan 3 gün boyunca verilerek postoperatif analjezi sağlandı. 8 hafta boyunca dörderli gruplar halinde kafeslerde tutulan hayvanlar, elektrofizyolojik testler yapıldıktan sonra anestezi altında giyotinle dekapite edildi ve siyatik sinirlerinden, anastomoz hattının 1 cm üstü ve 1 cm altını içerecek şekilde histopatolojik inceleme için kesitler alındı.

Cerrahi işlemler sırasında kök hücrenin anastomoz hattında kalması için kullanılan bioglu, literatürde çok çeşitli çalışmalarda sinir onarımında kullanılmıştır (74-78). Trombosit içermediği için pıhtı reaksiyonuna neden olmadığı ve sinir rejenerasyonunda aksonal ilerlemeye bariyer oluşturmadığı tespit edilmiştir (79). Bu yüzden çalışmamızda kullanımının elektrofizyolojik ve histopatolojik incelemeler üzerine negatif etkisi olmadığı düşünülmektedir.



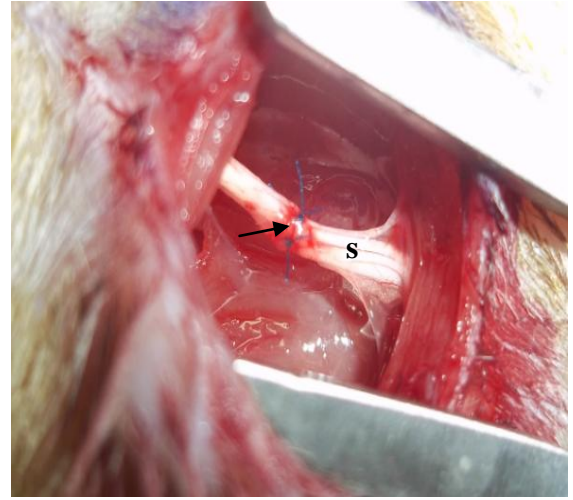
**Şekil 8:** Uyutulmuş, traş edilmiş, cerrahiye hazır rat (i: insizyon çizgisi).



**Şekil 9:** Musculus biceps femoris ekarte edilmiş; siyatik sinir görülmektedir (s: siyatik sinir).



**Şekil 10:** Siyatik sinirin mikromakasla tam kat kesilmesi sonrası görünümü (s: siyatik sinir).



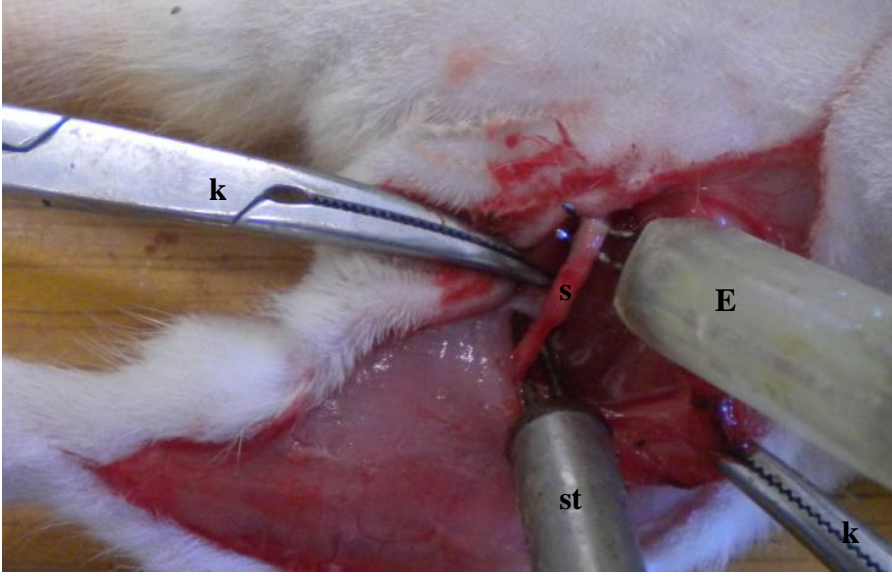
**Şekil 11:** Uç-uca anastomoz sonrası görünüm (s:siyatik siniri, ok: anastomoz hattını göstermektedir).

### **3.4.Elektrofizyolojik Testler:**

Elektrofizyolojik testler, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda, PowerLab/4SP (ADInstruments, Australia) cihazı ile alınan verilerin kayıt sistemine USB kablosu ile aktarılarak Scope programıyla değerlendirilmesiyle gerçekleştirildi. Deney sonrası analiz için kayıtlar bilgisayarda depolandı. Kontrol Grubunda siyatik sinir hasarı oluşturulmadan, bazal değerler elde edildi. Sham Grubu ve Kök Hücre Grubunda ise hasar oluşturulduktan sonra tekrar sütürasyon yapıldı ve işlem sonrası 8. haftada deneklerin siyatik sinirleri tekrar diseksiyonla ortaya konularak sinir ileti hızları ve EMG ölçümleri yapıldı ve karşılaştırıldı.

#### **3.4.1.Sinir İleti Hızı Ölçümü:**

Her iki grupta (Sham ve Kök Hücre Grupları) sinir ileti hızları ölçüldü. Öncelikle deneklere intraperitoneal anestezi yapıldı ve sol siyatik sinirleri etraf dokulardan diseksiyonla ortaya kondu. Deneklerde sol siyatik sinire supramaksimal akım ile uyarım yapıldıktan sonra oluşan aksiyon potansiyelleri aynı sinir üzerinden kaydedildi. Uyarı veren elektrot, kesi sonrası suture edilen alanın 5 mm proksimaline; kayıt alan elektrot ise hasar distaline yerleştirilerek aksiyon potansiyelleri amplitüdü ve latans değerleri kaydedildi (Şekil 12). Ölçümlerde elektrotlar arası mesafe ölçüldü. Daha sonra elektrotlar arası mesafe, başlangıç latansına bölünerek ileti hızı hesaplandı (milimetre/saniye).

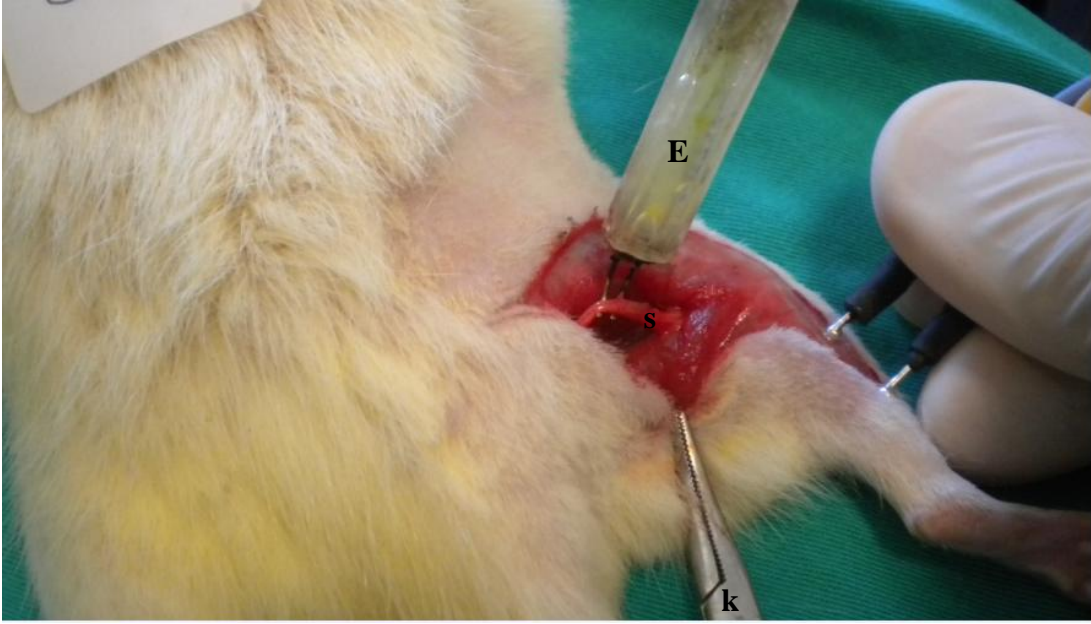


**Şekil 12:** Sinir ileti hızı ölçümü (k: klemp, s: siyatik sinir, E: elektrot st: stimülatör).

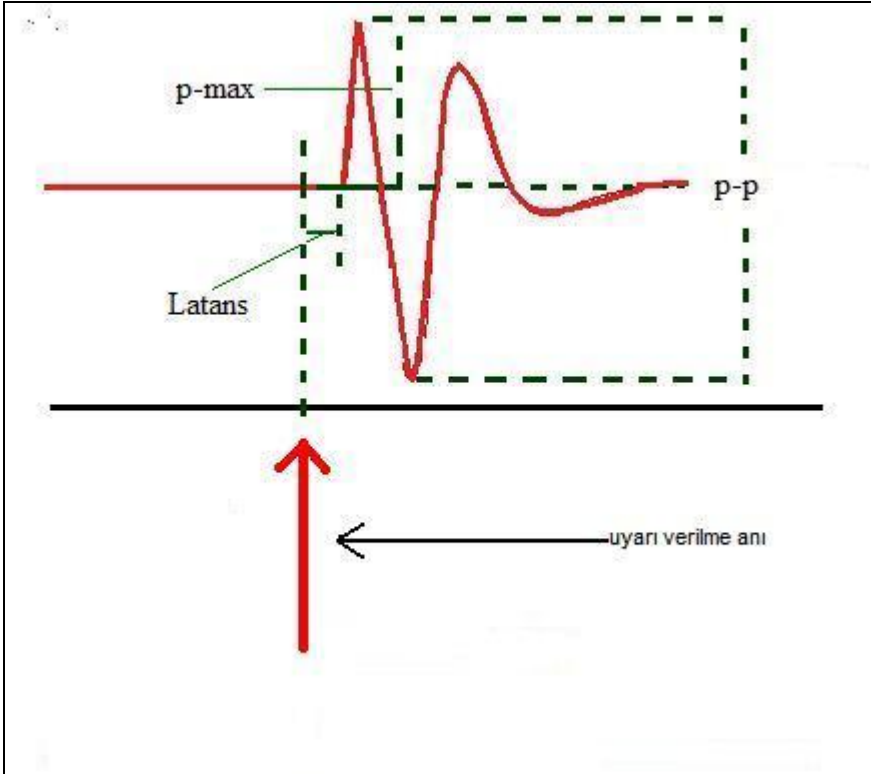
### 3.4.2.EMG Ölçümü:

Sinir ileti hızlarının hesaplanmasının ardından her denekte uyarı veren elektrot, sütürasyon alanının yine 5 mm proksimaline yerleştirildi. Kayıt yapan toprak elektrotlar ise uyarı elektrotunun yaklaşık 2,5 cm distalinde gastrokinemus kası üzerine yerleştirildi. Her iki toprak elektrot arası mesafe 1 cm olarak ayarlandı (Şekil 13). 1 miliamper akım aralığında akım hızları artırılıp azaltılarak her denek için supramaksimal uyarı eşikleri bulundu ve ardından EMG kayıtları alındı. Bu şekilde gastrokinemus kası bileşik kas aksiyon potansiyelleri ölçüldü. Bu aksiyon potansiyeli eğrilerinde uyarıdan defleksiyonun başladığı zamana kadar geçen süre (latans), oluşan potansiyelin tepe-tepe amplitüdü (p-p) ve maksimal pozitif yöndeki tepe-taban pik değerleri (p-max) ölçüldü (Şekil 14). Her denek için üçer adet aksiyon potansiyeli eğrisi çizdirilerek ortalamaları alındı ve karşılaştırıldı.





Şekil 13: EMG ölçümü (s: siyatik sinir, k: klemp, E: elektrot).



Şekil 14: EMG kaydındaki parametreler



### **3.5.Histopatolojik incelemeler:**

Sham Grubu ve Kök Hücre Grubundaki tüm deneklerin kayıt işlemlerinin bitmesinin ardından deneklerin siyatik sinirleri, kesi hattının 1 cm proksimali ve 1 cm distalini içerecek şekilde eksize edilerek önceden hazırlanan %10'luk formaldehit içine kondu. Formaldehite alınan dokular 1 hafta sonra incelenmeye başlandı. Her deneğin siyatik sinirinden, sütür hattı, proksimali ve distalini içerecek şekilde mikrotom bıçağı ile 5 mikron kalınlığında 3 ayrı örnek alındıktan sonra dokulardan sinirin uzun aksına dik olacak şekilde kesitler alındı. Parafinde bloklanan kesitler öncelikle hematoksilin-eozin ile boyandıktan sonra patoloji bölümünce, skar oluşumu ve nöroma oluşumu açısından ışık mikroskopunda incelenerek elde edilen veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Nöroma oluşumu 1= nöroma yok, 2= nöroma var olarak; skar oluşumu 1= Grade 1 skar (40 X büyütmede fibroblast sayısı <100), 2= Grade 2 skar (40 X büyütmede fibroblast sayısı 100-150 arası),3= Grade 3 skar (fibroblast sayısı >150 ) olarak kodlandı (69, 70). Daha sonra aynı örneklerden alınan kesitler benzer işlemlerden geçirildikten sonra toludin mavisi ile boyanarak Wallerian dejenerasyon oranı yine istatistiksel açıdan karşılaştırıldı. Burada da Wallerian dejenerasyon 1= dejenerasyon az , 2= dejenerasyon orta, 3= dejenerasyon çok olarak kodlandı.

### **3.6. İstatistiksel Analiz:**

Bu çalışmanın istatistiksel analizleri SPSS programı kullanılarak yapıldı. Histopatolojik inceleme sonuçları, kategorik değişkenlerden oluştuğu için ki-kare ve Fisher'in kesin testi ile değerlendirildi. Sürekli değişkenlerde normal dağılıma uygun oldukları tespit edildikten sonra varyans analizi ve post Hoc Tukey HSD (honestly significant difference) testleri uygulandı. Bu açıdan elektrofizyolojik çalışmaların değerlendirilmesinde ANOVA testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi tüm incelemelerde anlamlılık değeri  $p < 0,05$  olarak kabul edildi.

## **4.BULGULAR**

Bu çalışmada elektrofizyolojik değerlendirmede bazal değerlerin saptanması için 8 denek kullanıldı. Bu deneklerde sadece siyatik sinir üzeri diseke edilerek sinir ileti ve EMG kayıtları alındı. Bunun dışında 12 hayvandan oluşan Sham Grubu ve 12 hayvandan oluşan Kök Hücre Grubunda da deney sonunda siyatik sinirden sinir ileti ve EMG kayıtları yapılarak karşılaştırıldı. Sham Grubu ve Kök Hücre Grubu, histopatolojik yönden de incelenerek nöroma oluşumu, skar oluşumu ve Wallerian dejenerasyon oranları açısından birbirleri ile karşılaştırıldı. Bu değerlendirmeler sonucunda istatistiksel olarak elde edilen sonuçlar bu bölümde özetlenmiştir.

### **4.1.Elektrofizyolojik Bulgular**

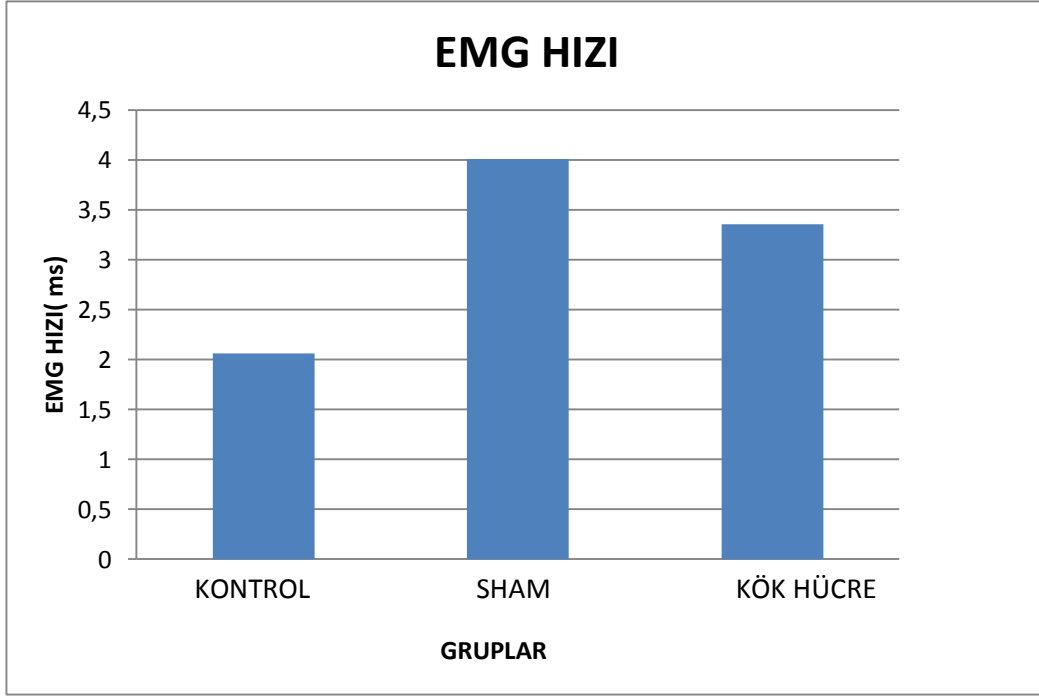
#### **4.1.1.EMG Bulguları**

##### **4.1.1.1. Ortalama EMG Hızı**

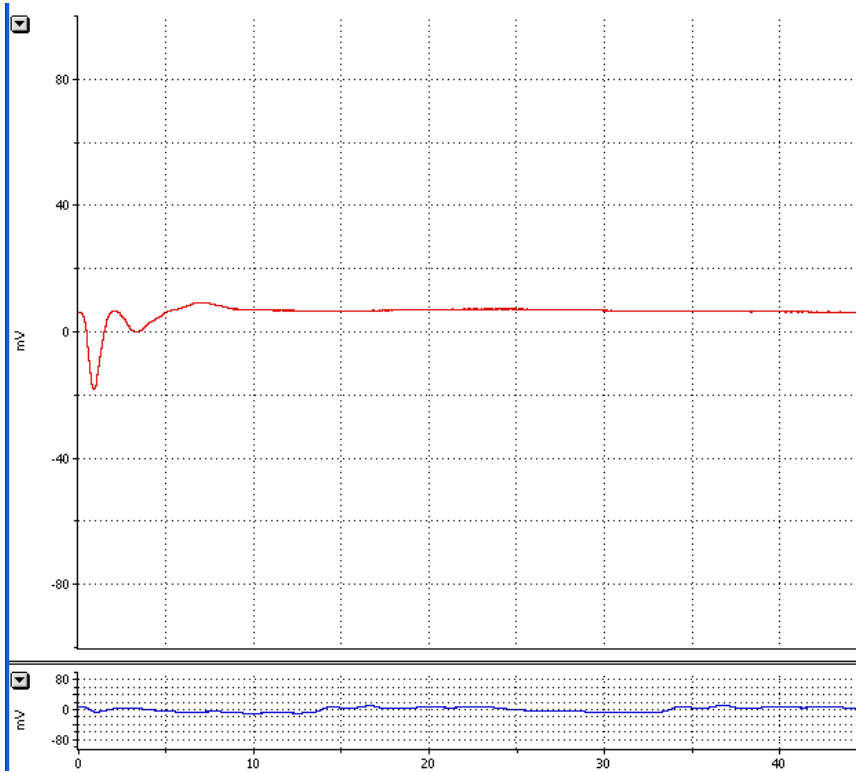
Ortalama EMG hızları, Kontrol Grubunda, Sham Grubunda ve Kök Hücre Grubunda elde edildi. Bu değerler Tablo 2’de gösterilmiştir. Bulguların grafiksel görünümü Şekil 15’ te gösterilmiştir.

**Tablo II:** Ortalama EMG hızları

<b>GRUPLAR</b>	<b>EMG HIZI (ms)</b>
<b>KONTROL</b>	2,08
<b>SHAM</b>	4,009090909
<b>KÖK HÜCRE</b>	3,358333333



Şekil 15: EMG hızlarını karşılaştıran grafik.



Şekil 16: Kontrol Grubu EMG hızı ölçümü.

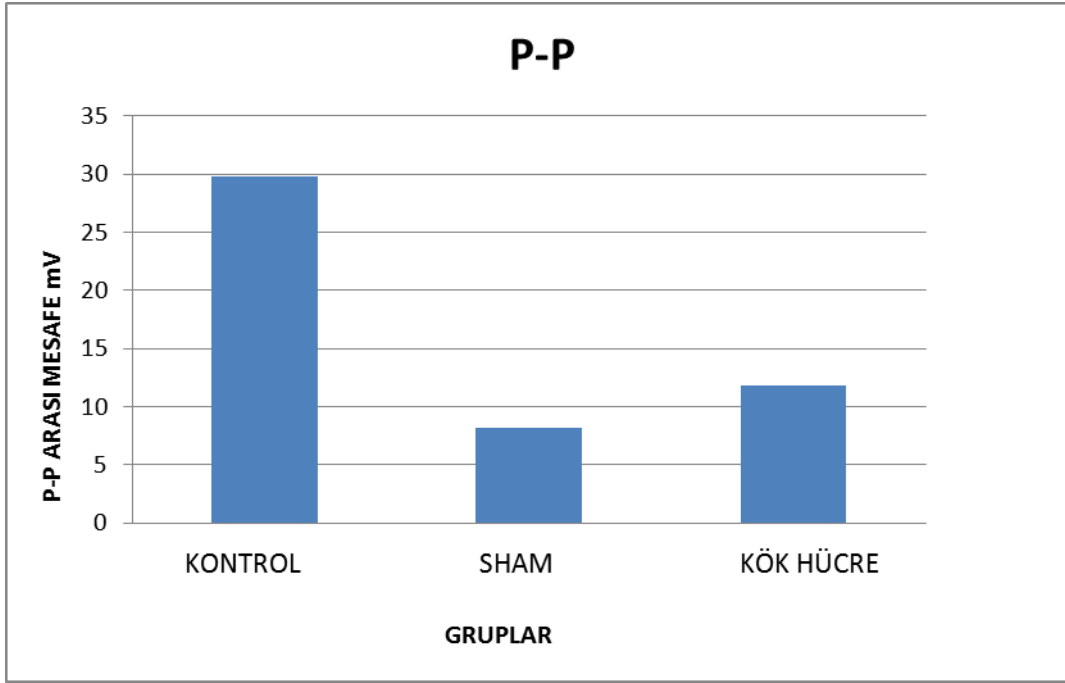
EMG hızlarına istatistiksel açıdan bakıldığında Kök Hücre Grubunun Kontrol Grubuyla ve Sham Grubunun Kontrol Grubuyla karşılaştırılmasında p değeri  $< 0,05$  idi ve anlamlı fark vardı. Ancak Sham Grubu ile Kök Hücre Grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı( ANOVA testi;  $p > 0,05$ ).

#### **4.1.1.2. P-P (pozitif ve negatif pikler arası mesafe) Mesafe Değerleri**

P-P arası mesafe, Kontrol Grubunda, Sham Grubunda ve Kök Hücre Grubunda elde edildi. Bu değerler Tablo 3'te gösterilmiştir. Bulguların grafiksel görünümü Şekil 17'de gösterilmiştir.

**Tablo III:** Ortalama p-p arası mesafe değerleri.

<b>GRUPLAR</b>	<b>P-P Arası Mesafe (mV)</b>
<b>KONTROL</b>	29,81
<b>SHAM</b>	8,145454545
<b>KÖK HÜCRE</b>	11,825



**Şekil 17:** Ortalama p-p arası mesafeyi gösteren grafik.

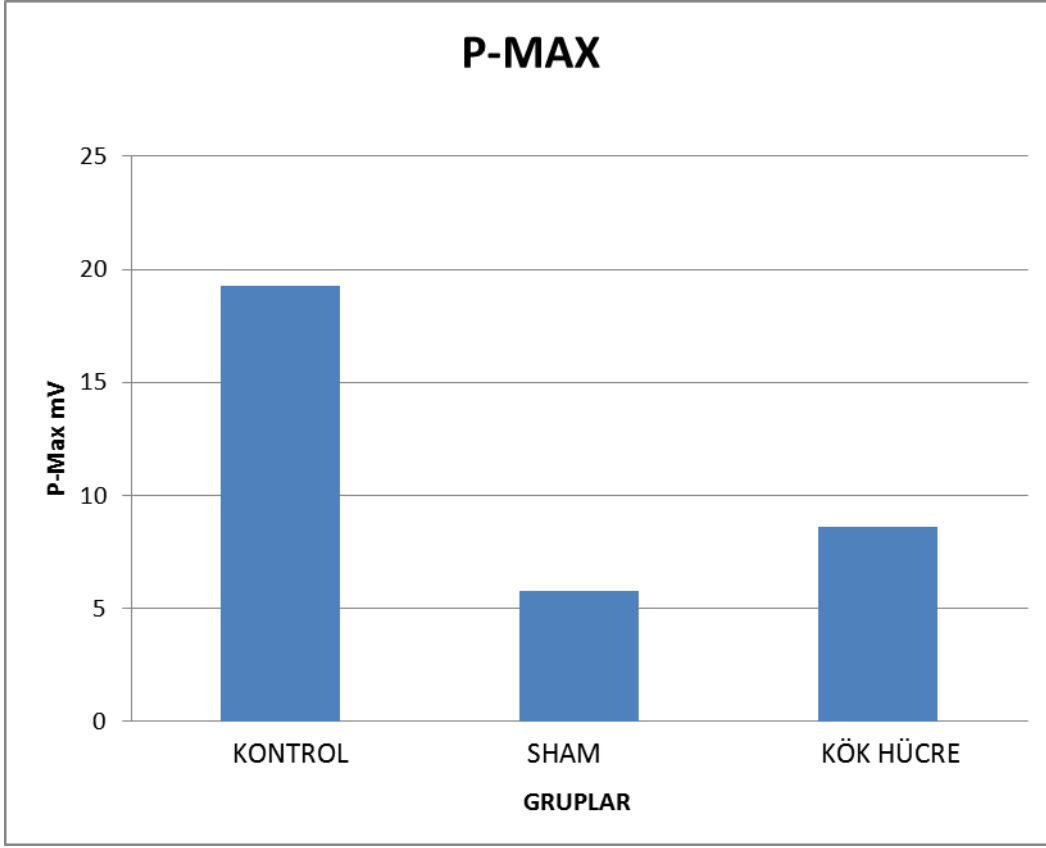
P-P arası mesafe değerlerine istatistiksel açıdan bakıldığında Kök Hücre Grubunun Kontrol Grubuyla ve Sham Grubunun Kontrol Grubuyla karşılaştırılmasında p değeri  $< 0,05$  idi ve anlamlı fark vardı. Ancak Sham Grubu ile Kök Hücre Grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0,05$ ).

#### 4.1.1.3. P-Max (maksimum pozitif pik) Değerleri

P-Max değerleri Kontrol Grubunda, Sham Grubunda ve Kök Hücre Grubunda elde edildi. Bu değerler tablo 4'te gösterilmiştir. Bulguların grafiksel görünümü Şekil 18'de gösterilmiştir.

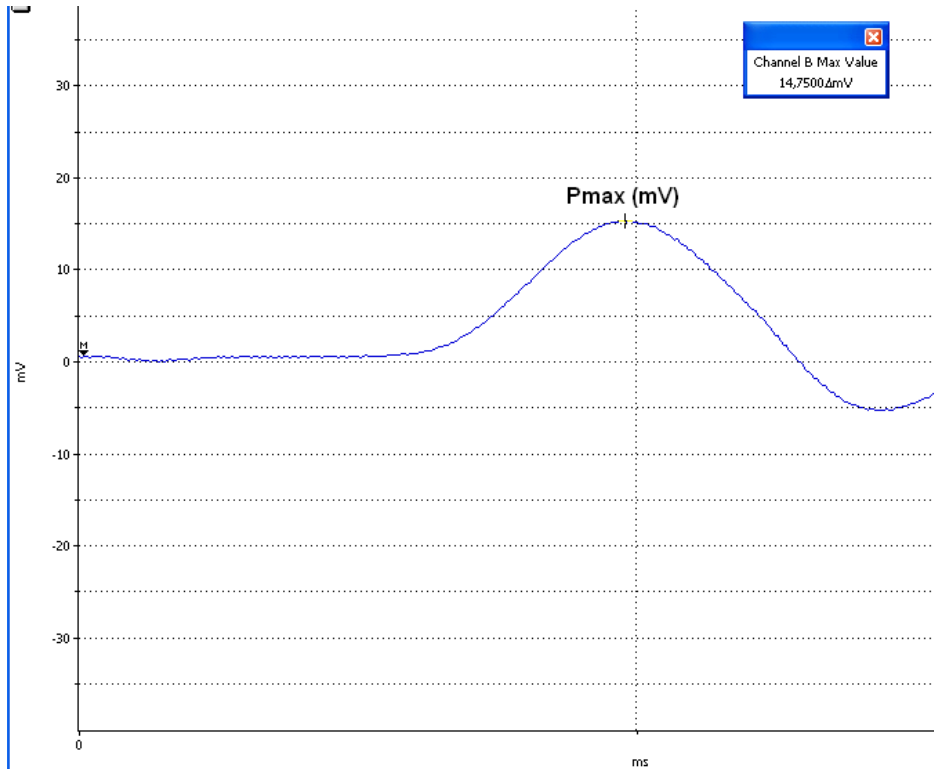
**Tablo IV:** ortalama P-Max değerleri

GRUPLAR	P-Max (mV)
KONTROL	19,25
SHAM	5,768181818
KÖK HÜCRE	8,633333333

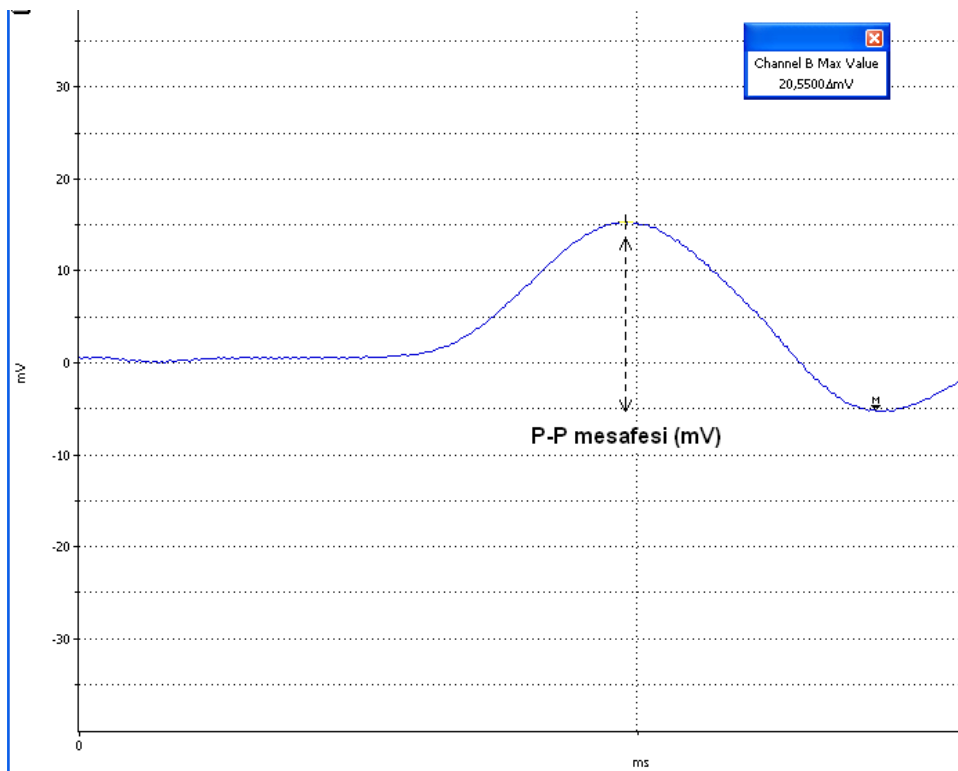


**Şekil 18:** Ortalama P-Max değerlerini gösteren grafik.

P-Max değerlerine istatistiksel açıdan bakıldığında Kök Hücre Grubunun Kontrol Grubuyla ve Sham Grubunun Kontrol Grubuyla karşılaştırılmasında p değeri  $< 0,05$  idi ve anlamlı fark vardı. Ancak Sham Grubu ile Kök Hücre Grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0,05$ ).



**Şekil 19:** Kök Hücre Grubu Pmax ölçümü büyütülmüş görüntüsü.



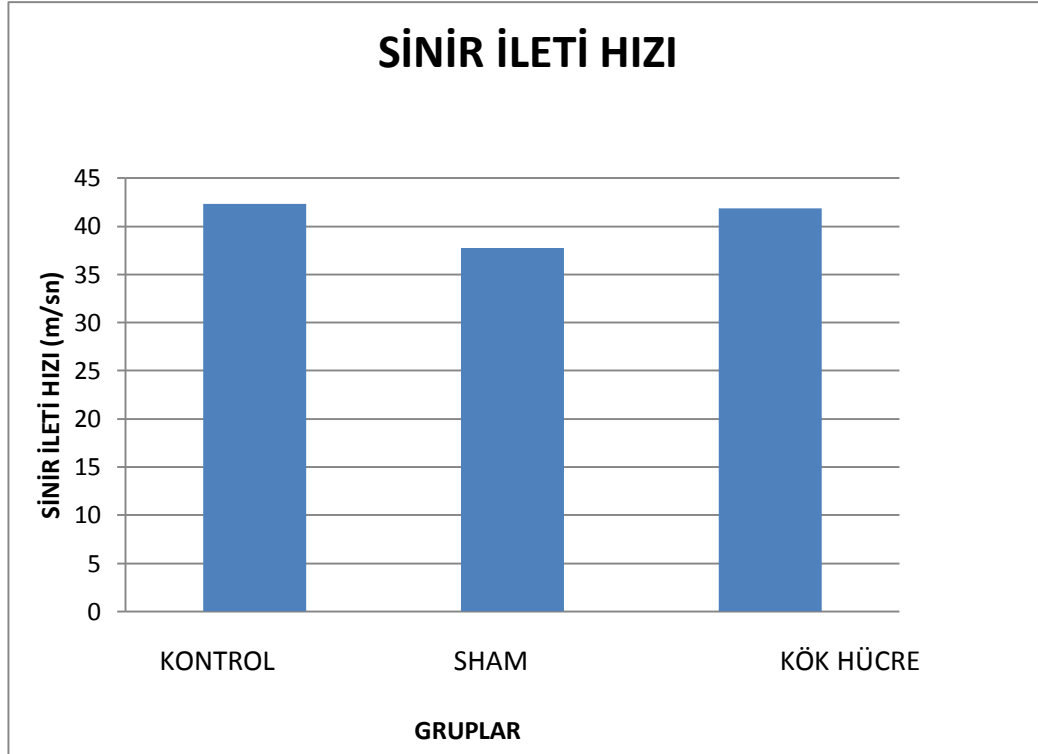
**Şekil 20:** Kök Hücre Grubu p-p mesafesi ölçümü büyütülmüş görüntüsü.

#### 4.1.2.Sinir İleti Hızı Bulguları

Bu aşamada aksiyon potansiyeli amplitüdü ve latans değerleri ölçüldü. İleti hızı, uyarı ve kayıt elektrotları arasındaki mesafenin, başlangıç latansına bölünmesi ile hesaplandı (metre/saniye). Bu bulgular Kontrol Grubunda, Sham Grubunda ve Kök Hücre Grubunda hesaplandı. Sonuçlar Tablo 5’te ve Şekil 21’de gösterilmiştir.

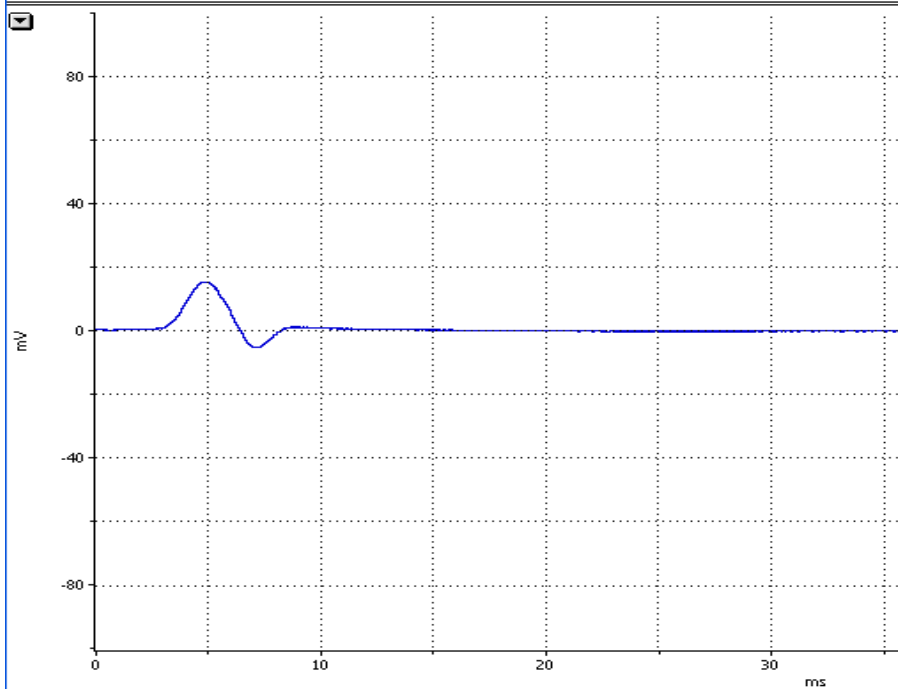
**Tablo V:** Ortalama sinir ileti hızları.

GRUPLAR	Ortalama Sinir İleti Hızı (m/sn)
KONTROL	42,36
SHAM	37,76667951
KÖK HÜCRE	41,86194392

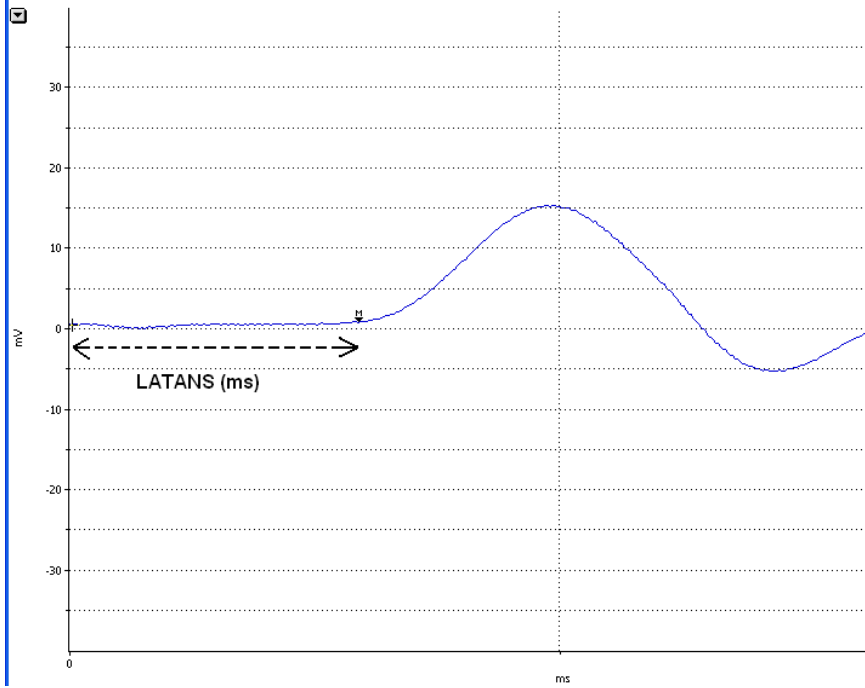


**Şekil 21:** Sinir ileti hızlarını karşılaştıran grafik.





Şekil 22: Kök Hücre Grubunda sinir ileti hızı ölçümü.



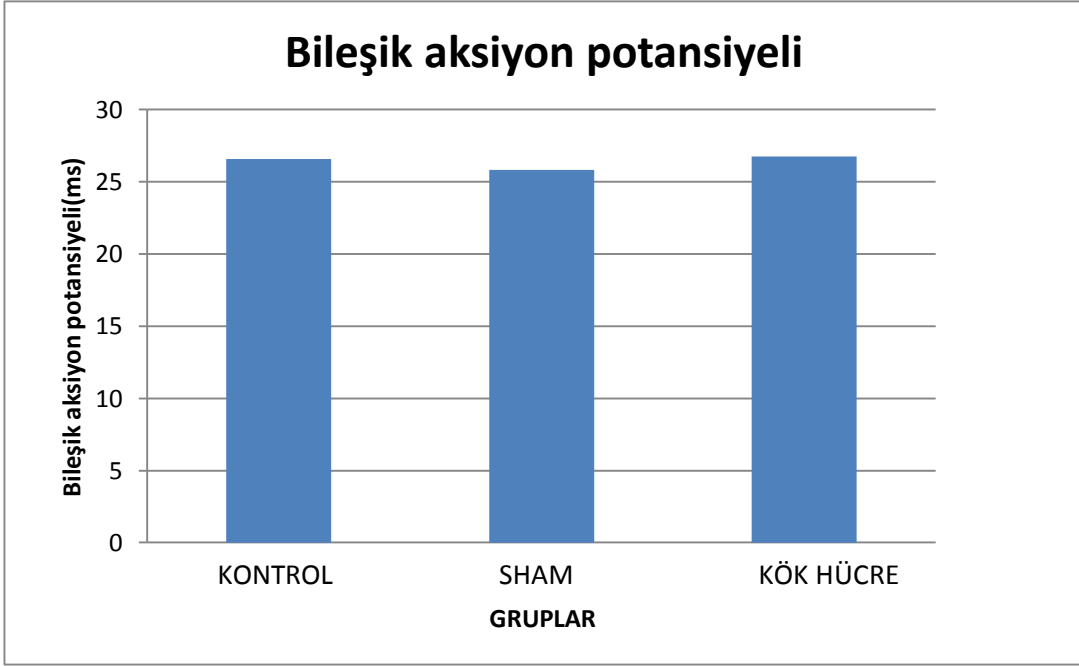
Şekil 23: Kök Hücre Grubunda sinir ileti hızı ölçümü büyütülmüş görüntüsü.

Sinir ileti hızlarına bakıldığında Kök Hücre Grubuyla Sham Grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptandı ( $p= 0,001$ ). Kök Hücre Grubuyla Kontrol Grubu arasında anlamlı fark saptanmadı. ( $p>0,05$ ). Kontrol Grubuyla Sham Grubu arasında anlamlı fark saptandı ( $p<0,05$ ).

Sinir bileşik aksiyon potansiyeli, her 3 grupta ölçülmüştür. Bulgular Tablo 6'da ve Şekil 24'te gösterilmiştir.

**Tablo VI:** Sinir bileşik aksiyon potansiyeli.

<b>GRUPLAR</b>	<b>Sinir bileşik aksiyon potansiyeli (mV)</b>
<b>KONTROL</b>	26,56
<b>SHAM</b>	25,83636364
<b>KÖK HÜCRE</b>	26,76666667



**Şekil 24:** Sinir bileşik aksiyon potansiyelini gösteren grafik.

Bileşik aksiyon potansiyellerinin karşılaştırılmasında hiçbir grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmamıştır ( $p > 0,05$ ).

**Tablo VII:** Elektrofizyolojik karşılaştırma sonuçları.

değişkenler	(I) grup	(II) grup	Std. hata	P değeri
pp	sham	kok hucre	2,71256	,377
		kontrol	3,01952	,000
	kok hucre	sham	2,71256	,377
		kontrol	2,96608	,000
	kontrol	sham	3,01952	,000
		kok hucre	2,96608	,000
Emg hızı	sham	kok hucre	,34626	,163
		kontrol	,38545	,000
	kok hucre	sham	,34626	,163
		kontrol	,37862	,006
	kontrol	sham	,38545	,000
		kok hucre	,37862	,006
<u>ileti hızı</u>	<u>sham</u>	<u>kok hucre</u>	,98042	,001
		kontrol	1,09136	,001
	kok hucre	sham	,98042	,001
		kontrol	1,07204	,880
	kontrol	sham	1,09136	,001
		kok hucre	1,07204	,880
Aksiyon potansiyeli	sham	kok hucre	1,05557	,656
		kontrol	1,17502	,812
	kok hucre	sham	1,05557	,656
		kontrol	1,15422	,983
	kontrol	sham	1,17502	,812
		kok hucre	1,15422	,983
pmax	sham	kok hucre	2,06451	,361
		kontrol	2,29814	,000
	kok hucre	sham	2,06451	,361
		kontrol	2,25746	,000
	kontrol	sham	2,29814	,000
		kok hucre	2,25746	,000

## 4.2.Histopatolojik Bulgular

### a) WALLERIAN DEJENERASYON ORANLARI:

1. DEJENERASYON AZ
2. DEJENERASYON ORTA
3. DEJENERASYON ÇOK

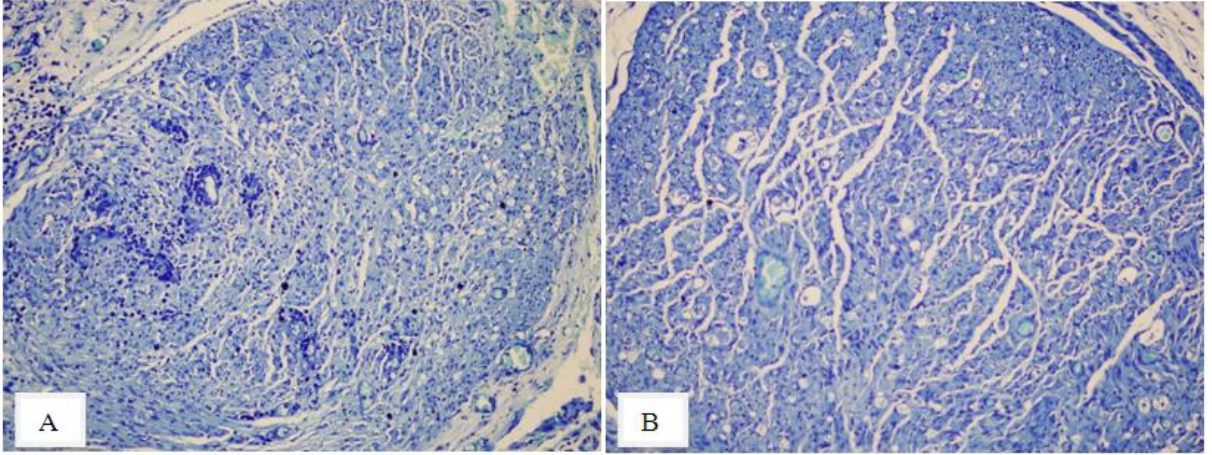
**Tablo VIII:** Wallerian dejenerasyon skorlaması.

WALLERIAN DEJENERASYON	1. DENEK	2. DENEK	3. DENEK	4. DENEK	5. DENEK	6. DENEK	7. DENEK	8. DENEK	9. DENEK	10. DENEK	11. DENEK	12. DENEK
SHAM	2	2	1	1	1	2	2	2	1	1	1	1
KÖK HÜCRE	1	3	1	2	1	2	1	1	1	2	2	1

**Tablo IX:** Wallerian dejenerasyon oranları.

			grup		Total
			sham	kok hucre	
Wallerian	dejenerasyon az	sayı	7	7	14
		Grup içi	58,3%	58,3%	58,3%
	dejenerasyon orta	sayı	5	4	9
		Grup içi	41,7%	33,3%	37,5%
	dejenerasyon çok	sayı	0	1	1
		Grup içi	,0%	8,3%	4,2%

Mevcut sonuçlar Sham Grubunda ve Kök Hücre Grubunda ki-kare testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı ( $\chi^2=1.1$  sd=2 p> 0,05).



**Şekil 25:** Işık mikroskopunda Toludin Mavisi ile boyanma sonrası Wallerian dejenerasyonun görünümü: **A:** orta derecede Wallerian dejenerasyon (200 x büyütme); **B:** hafif derecede Wallerian dejenerasyon (200 x büyütme)

**b) SKAR OLUŞUMU (69, 70)**

1. GRADE 1 SKAR: 40 X BÜYÜTMEDE FİBROBLAST <100
2. GRADE 2 SKAR: 40 X BÜYÜTMEDE FİBROBLAST 100-150 ARASI
3. GRADE 3 SKAR: 40 X BÜYÜTMEDE FİBROBLAST > 150

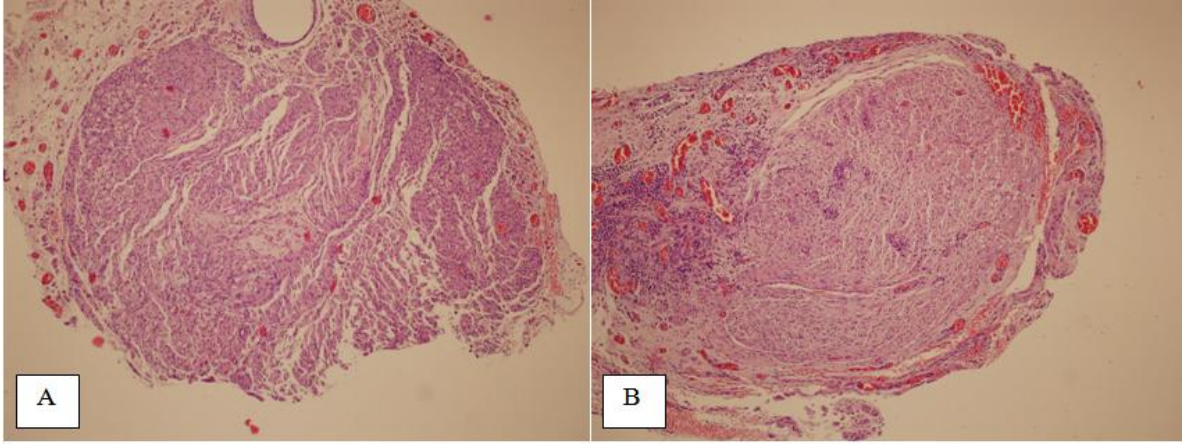
**Tablo X:** Skar oluşumu skorlaması.

SKAR OLUŞUMU	1. DENEK	2. DENEK	3. DENEK	4. DENEK	5. DENEK	6. DENEK	7. DENEK	8. DENEK	9. DENEK	10. DENEK	11. DENEK	12. DENEK
SHAM	1	2	2	2	1	2	2	2	1	1	2	2
KÖK HÜCRE	2	2	1	2	2	1	1	1	2	1	2	2

**Tablo XI:** Skar oluşum oranları.

			grup		Total
			sham	kok hucre	
Skar oluşumu	GRADE 1 SKAR:	Sayı	4	5	9
		grup içi	33,3%	41,7%	37,5%
	GRADE 2 SKAR:	Sayı	8	7	15
		grup içi	66,7%	58,3%	62,5%
	GRADE 3 SKAR:	sayı	0	0	0

Mevcut sonuçlar Sham Grubunda ve Kök Hücre Grubunda Fisher'in kesin testi ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0,05$ ).



**Şekil 26:** Işık mikroskopunda hematoksilen-eozin ile boyanma sonrası skar oluşumunun görünümü:  
**A:** hafif derecede skar oluşumu (100 x büyütme); **B:** orta derecede skar oluşumu (10 x büyütme).



c) **NÖROMA OLUŞUMU:**

1. NÖROMA YOK

2. NÖROMA VAR

**Tablo XII:** Nöroma oluşma skorlaması.

NÖROMA OLUŞUMU	1. DENEK	2. DENEK	3. DENEK	4. DENEK	5. DENEK	6. DENEK	7. DENEK	8. DENEK	9. DENEK	10. DENEK	11. DENEK	12. DENEK
SHAM	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
KÖK HÜCRE	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

**Tablo XIII:** Nöroma oluşma oranları.

	grup		Total
	sham	kok hucre	
nöroma yok sayı	12	12	24
Grup içi	100,0%	100,0%	100,0%

Her iki grup incelendiğinde hiçbir denekte nöroma oluşumu saptanmadı ve istatistiksel açıdan fark saptanmadı.

## 5.TARTIŞMA

Periferik sinir yaralanmaları, sinir rejenerasyonundaki kısıtlılık nedeniyle günümüzde hala önemli sorunlardan biri olarak karşımıza çıkmaktadır (4). Cerrahi işlemler sonrasında sinir rejenerasyonundaki yetersizlik, alternatif tedavilerin araştırılmasına yol açmıştır (6). Bu alternatif tedavi arayışlarından biri de kök hücre uygulamalarıdır (98,99). Son dönemlerde moleküler biyoloji ve rejeneratif tıptaki gelişmeler mezenkimal kök hücrelere dikkati çekmiştir. Çünkü bu immatür hücreler pluripotenttir; kemiğe, kıkırdağa veya kullanım amacına göre yağ hücrelerine farklılaşabilme kapasitesine sahiptirler (98). Farklılaşmamış mezenkimal kök hücreler immün sistem tarafından tanınmadığından immün yanıtı neden olmazlar. Bu nedenle mezenkimal kök hücre transplantasyonları çeşitli hastalıklarda önemli tedavi yöntemlerinden biri haline gelmiştir (99).

2000 yılından itibaren de periferik sinir cerrahisinde kök hücre kullanımı yoğunlaşmıştır ve kök hücrenin deneysel kullanımı ile ilgili yayınlar yapılmaya başlanmıştır (83, 95, 96). Bu yayınlardan biri Murakami ve arkadaşları tarafından 2003 yılında yapılmıştır. Buna göre periferik sinir hasarlarında kullanılan nöral kaynaklı kök hücreler, Schwann hücresi benzeri destek hücrelerine dönüşerek aksonal rejenerasyona katkı sağlamaktadır (83). 2004 yılında Cuevas ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada periferik sinirin hasarlı ucuna implante edilen stromal hücrelerin yeni fiberlerin rejenerasyonunu desteklediği görülmüştür (95). Yine 2005 yılında Choi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada deneysel siyatik sinir hasarı, ven grefti ile onarılmış ve ven grefti içine kültüre edilmiş kemik iliği stromal hücreleri transplante edilerek 4, 8 ve 12. haftalarda elektron mikroskobu ile incelenmiş ve akson sayılarında anlamlı artış tespit edilmiştir (96). Tüm bu ve benzeri deneysel çalışmalarda ağırlıklı olarak rat ve tavşan kullanılmıştır. Kolay elde edilebilirliği ve ratlardaki sinir trunkuslarının yapısının insanlardakine benzer olması nedeniyle biz de çalışmamızda rat kullanımını uygun bulduk (93, 94).

Periferik sinir rejenerasyonunda kilit rol oynayan hücre Schwann hücresidir. Schwann hücreleri, nörotrofik faktörler salgılar ve yapısal destek sağlar (80). Hem singeneik, hem allogeneik Schwann hücre transplantasyonunun, periferik sinir rejenerasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (81, 82). Klinik kullanımda, yeterli miktarda primer insan Schwann hücresinin elde edilmesi zor olduğu için, Schwann hücre benzeri

destek hücrelerine diferansiye olan nöronal progenitör kök hücreler, periferik sinir hasarı olan bölgelerde kullanılabilir (83).

Daha önce genel bilgiler bölümünde bahsedildiği gibi sinir kesileri sonrası birçok cerrahi onarım tekniği bulunmaktadır ve klinik olarak bunların birbirlerine üstünlükleri gösterilememiştir. Proksimal ve distal uçların uyumluluğu, anastomoz hattının gergin olmaması, travmatik dikiş tekniğinin kullanılması, rejenerasyonu olumlu etkileyen noktalardır. Çalışmamızda Sham Grubundaki ve Kök Hücre Grubundaki tüm deneklere epinöral dikiş tekniği uygulanmış olup, yukarıda bahsedilen kurallara uyulmaya çalışılmıştır. Anastomoz sırasında kullanılacak olan sütür sayısı da literatüre bakılarak uygulanmıştır. Martins ve arkadaşları tarafından 2011 yılında yayımlanan makalede, epinöral dikiş tekniği ile onarılan rat siyatik sinirlerinde bir grupta 3, bir grupta 6 adet sütür atılmış ve 8 hafta sonunda kollajen 1 ve kollajen 3 miktarları ölçülmüş. Sonuçta 3 adet sütür atılan deneklerde kollajen miktarının daha az olduğu ve buna bağlı olarak da epinöral skar dokusunun daha az oluştuğu savunulmuştur (97). Bu yüzden çalışmamızda da tüm deneklerde 3'er adet epinöral sütür kullanılmıştır.

Çalışmamızda, siyatik sinire tam kat kesi yapılan ratlarda, mezaşimal kök hücrenin, sinirin sütüre edilmesinden sonra anastomoz hattına uygulanmasının etkileri histopatolojik ve elektrofizyolojik olarak incelenmiştir. Kanaya ve arkadaşları(84), periferik sinir rejenerasyonunu gösteren parametrelerin arasında sıklıkla uyumsuzluk olduğunu ve hangi parametrelerin rejenerasyonu daha iyi gösterdiğinin bilinmediğini, bu yüzden tüm parametrelerin birlikte değerlendirilmesi gerektiğini bildirmiştir. Bizim çalışmamızda da histopatolojik incelemeler açısından Kök Hücre Grubuyla Sham Grubu arasında anlamlı fark saptanmamasına rağmen; elektrofizyolojik incelemelerde sinir ileti hızları arasında anlamlı fark saptanması, bu görüşü desteklemektedir.

Periferik sinirin şiddetli yaralanmalarından sonra, nöropraksi dışında tüm durumlarda distal sinirde Wallerian dejenerasyon olur (100). Bu dejenerasyondan da Schwann hücreleri sorumludur. Wallerian dejenerasyon tamamlandıktan sonra hasarın proksimalinden distale doğru rejenerasyon süreci başlar (36). Çalışmamızda hem Kök Hücre Grubunda, hem Kontrol Grubunda benzer oranlarda Wallerian dejenerasyon saptanmıştır. Periferik sinir yaralanması sonrası dejenerasyon-rejenerasyon sürecinin doğal

bir parçası olan Wallerian dejenerasyonunun her iki grupta da orta şiddette olması, rejenerasyon oranlarının da benzer şekilde olacağını düşündürmüştür. Ancak yaklaşık olarak 1 yıla kadar fonksiyonel rejenerasyon olabileceği düşünüldüğünde yalnızca daha uzun süreli araştırmalarla kesin sonuca ulaşılabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Periferik sinir yaralanmaları sonrasındaki temel sorunlardan biri de cerrahi uygulanan anastomoz hattındaki skar oluşumudur. Şiddetli sinir hasarı sonrasında fibroblastlar hasar bölgesinde toplanarak yaralanmaya cevap olarak kollajen üretirler. Endonöryumdaki kollajen üretimi, hem fibroblast hem de Schwann hücreleri tarafından sağlanır. Buna bağlı olarak endonöral tüpte kalınlaşma olur ve aksonların geçişi için gereken alan daralmış olur (89).

Epinöral ve ekstranöral skar oluşumunu azaltmak için çeşitli ajanlar kullanılmıştır. Bazıları; aprotinin (85), adcon T/N (86), cis-hidroksiprolin (87), östrojen-progesteron, metilprednizolon asetatı (88). Ayrıca Görgülü ve arkadaşları tarafından düşük doz eksternal radyasyonun da periferik sinir cerrahisindeki skar oluşumunu azaltabileceği bildirilmiştir (89). Görüldüğü gibi skar oluşumu eski dönemlerden beri önemini korumakta olup bahsedilen birçok yöntemle skar oranı azaltılmaya çalışılmıştır. Bu açıdan, çalışmamızda mezanşimal kök hücrenin, sinir hücresinin histolojik ve fonksiyonel rejenerasyonu üzerine etkisini araştırırken aynı zamanda kök hücrenin skar oluşumunu azaltmaya etkisi olup olmadığını inceledik. Kök hücre uygulanan grupta % 41,7 oranında Grade 1, % 58,3 oranında Grade 2 skar oluşumu gözlenirken bu oran Sham Grubunda sırasıyla % 33,3, %66,7 olarak saptanmıştır. Bulguların sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde  $p > 0,05$  olarak saptanmıştır ve anlamlı fark saptanmamıştır. Ancak rejenerasyonun 1 yıla kadar uzayabildiği de göz önünde bulundurulmalı ve anlamlı fark olup olmadığını anlayabilmek için daha uzun süreli çalışmalara ihtiyaç olduğu unutulmamalıdır.

Çalışmamızda histopatolojik olarak incelenen son parametre nöroma oluşumudur. Bilindiği gibi posttravmatik ya da postoperatif kronik ağrının nedenlerinden biri de sinir hasarı sonrası oluşan nöromadır. Periferik sinir hasarından sonra sinirin distal ucu şişebilir ve bağ dokusu içine gömülü olan, karmaşık sinir liflerinden oluşan nöroma ortaya çıkabilir (90). Nöromalar, genellikle travma ya da cerrahi sonrası aylar ya da yıllar içinde ortaya

çıkar, bu yüzden de erken dönemde tespit edilerek tedavi edilmeleri mümkün olmamaktadır. Çalışmamızda, 8 hafta sonunda incelenen Kök Hücre ve Sham Grubundaki deneklerin hiçbirinde nöroma oluşumunun saptanmaması, nöromanın daha uzun süreçte ortaya çıkan bir patoloji olduğunu desteklemektedir.

Periferik sinir yaralanması modellerinde sık tercih edilen değerlendirme yöntemlerinden biri de elektrofizyolojik çalışmalardır. Biz de çalışmamızda, temel anlamda iki ana grupta incelemeler yaptık. Biri sinir ileti hızı ölçümü, diğeri de EMG ölçümüdür. EMG ölçümlerinde EMG hızı, p-p mesafesi ve p-max değerleri ölçüldü. Sinir ileti hızı çalışmalarında da ileti hızı ve bileşik aksiyon potansiyeli amplitüdü ölçüldü. Elektrofizyolojik çalışmalar, objektif olması ve rakamsal değerler elde edilmesi açısından rejenerasyonun değerlendirilmesinde kıymetlidir. Literatürde siyatik sinir rejenerasyonu için 4-8 hafta arasında beklenmesi gerektiğini savunan çalışmalar sıktır. Fonksiyonel rejenerasyonun teorik olarak 8 haftada tamamlandığı düşünülmektedir (91, 92 ). Bu verilere dayanarak çalışmamızda cerrahi olarak oluşturulan siyatik sinir kesisi sonrası yapılan anastomoz 8 hafta sonunda değerlendirilmiştir.

Sinire uyarı verildikten sonra ortalama EMG oluşma hızları, Kontrol Grubunda 2,08 ms iken Kök Hücre Grubunda 3,35 ms, Sham Grubunda 4,00 ms idi. Rakamsal olarak fark olmasına rağmen istatistiksel açıdan Kök Hücre Grubuyla Sham Grubu arasında fark saptanmadı. Diğer bir EMG parametresi p-p mesafe ölçümüydü. Bu mesafe, Kök Hücre Grubunda 11 mV, Sham Grubunda 8 mV, Kontrol Grubunda ise 29 mV idi. Yine istatistiksel açıdan Sham Grubuyla Kök Hücre Grubu arasında anlamlı fark saptanmadı. Diğer bir EMG ölçüm parametresi olan p-max değeri, Kök Hücre Grubunda 8.6; Sham Grubunda 5.7; Kontrol Grubunda ise 19 mV idi. İstatistiksel olarak Sham Grubu ile Kök Hücre Grubu arasında fark saptanmadı. Her üç parametre de EMG ölçümüne ait parametrelerdi. Sinire uyarı verilmesinin ardından kastan yapılan ölçüm ile elde edilen değerlerdi. Bu açıdan bakıldığında kas atrofisinin düzelmesi ve fonksiyonel rejenerasyonun tamamlanması için daha uzun sürelere ihtiyaç olduğu aşikardır.

Kas atrofisinin etkilemediği parametreler sinir iletim hızı ölçümleridir. İleti hızları, direkt olarak cerrahi uygulanan sinirdeki iletim hızını belirtir. Bu açıdan fonksiyonel rejenerasyonun değerlendirilmesinde daha hızlı ve doğru sonuç sağladığı düşünülmektedir.

Daha önce sinir ileti hızını çalışılan birçok çalışmada, kök hücre uygulamasının sinir ileti hızını arttırdığı tespit edilmiştir (100-102). Çalışmamızda sinir iletim hızı ölçümleri Kontrol Grubunda 42,3 m/s iken Kök Hücre Grubunda 41,8 m/s; Sham Grubunda ise 37,7 m/s idi. Sham Grubuyla Kök Hücre Grubu arasındaki istatistiksel değerlendirmede  $p=0,001$  olarak hesaplandığından istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Bu bağlamda, mezanşimal kök hücre uygulanmasının sinir ileti hızında anlamlı artış yaptığı söylenebilir.

İnsan hayatında önemli rolü olan periferik sinir hasarında kök hücre kullanımı ile ilgili birçok çalışmada, kök hücrenin rejenerasyonu olumlu etkilediği yönünde sonuçlar yayınlanmıştır (83, 95, 96, 100-102). Kanaya ve arkadaşlarının(84) savunduğu gibi, kök hücrenin periferik sinir rejenerasyonundaki rolünü değerlendirmek için ideal olan hem morfolojik hem fonksiyonel değerlendirmelerin eş zamanlı yapılmasıdır. Çünkü morfolojik ve fizyolojik rejenerasyon oranları tutarlılık göstermeyebilmektedir. Biz de çalışmamızı yukarıdaki literatür ışığında hem histopatolojik hem de elektrofizyolojik olarak eş zamanlı yürüttük. Histopatolojik açıdan Sham Grubuyla Kök Hücre Grubu arasında fark saptanmamasına rağmen fonksiyonel rejenerasyonu gösteren sinir ileti hızları karşılaştırıldığında, Kök Hücre Grubundaki hızların, Sham Grubuna göre belirgin olarak artmış olduğu ve cerrahi uygulanmayan Kontrol Grubundaki ratlara yakın değerlere ulaştığı saptanmıştır. Mezanşimal kök hücrenin, deneysel siyatik sinir hasarında kullanımının, fonksiyonel rejenerasyonu arttırdığının saptanması yönünden çalışmamızın literatüre katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.

## 6.SONUÇ

Çalışmamız her ne kadar histopatolojik açıdan sinir rejenerasyonunda mezanşimal kök hücrenin etkisini saptamadıysa da, fonksiyonel rejenerasyonun bir göstergesi olan sinir ileti hızı, daha önce yapılan çalışmalarda (101, 102) alınan sonuçlarla benzer şekilde kök hücre uygulanan grupta anlamlı düzeyde iyileşme göstermiştir. Bu sonuç bile başlı başına klinik uygulamalar için umut verici olabilir. Bununla beraber kök hücrenin uygulanım şekli, kullanılacak kök hücrenin türü, uygulama sonrası ne zaman rejenerasyonun değerlendirilmesi gerektiği gibi konularda çok fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç olduğu şüphesizdir.

## **7.KAYNAKLAR**

1. DeZawa M, Takahashi I, Esaki M et al. Sciatic nerve regeneration in rats induced by transplantation of in vitro differentiated bone-marrow stromal cells. *Eur J Neurosci* 2001; 14: 1771–1776.
2. Heine W, Conant K, Griffin JW et al. Transplanted neural stem cells promote axonal regeneration through chronically denervated peripheral nerves. *Exp Neurol* 2004; 189: 231–240.
3. Wei L, Cui L, Snider BJ et al. Transplantation of embryonic stem cells overexpressing Bcl-2 promotes functional recovery after transient cerebral ischemia. *Neurobiol Dis* 2005; 19: 183–193.
4. Evans GR. Peripheral nerve injury: a review and approach to tissue engineered constructs. *Anat Rec* 2001; 263: 396–404.
5. Kim DH, Connolly SE, Kline DG et al. Labeled Schwann cell transplants versus sural nerve grafts in nerve repair. *J Neurosurg* 1994; 80: 254–260.
6. Vanderhooft E. Functional outcomes of nerve grafts for the upper and lower extremities. *Hand Clin* 2000; 16: 93–104
7. Battiston B, Tos P, Geuna S. Alternative techniques for peripheral nerve repair: conduits and end-to-side neurorrhaphy. *Acta Neurochir Suppl* 2007; 100: 43-50.
8. Adams F. The genuine works of Hippocrates. New York, William Wood & Co 1849
9. Polder TW. Pathophysiology of peripheral nerve injury and repair. Palmer JD. (Editör). *The Manual of Neurosurgery*. Edinburgh, Churchill Livingstone, 1996; 777-783
10. Cruikshank W. Experiments on the nerves, particularly on their reproduction; and on the spinal of living animals. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biol Sci* 1776; 85: 112.
11. Haighton J. An experimental inquiry concerning the reproduction of nerves. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biol Sci* 1795; 85: 519.



12. Allan C. Functional results of primary nerve repair. *Hand Clinics* 2000; 16 : 67-71.
13. Seçer H.İ., Daneyemez K. Periferik sinir yaralanmaları ve cerrahisi. Korfalı E., Zileli M. (editörler). *TND Temel nöroşirürji kitabı cilt II* Ankara 2010; 1763-1787.
14. Atilla P. Sinir sisteminin embriyolojisi. Korfalı E., Zileli M. (editörler). *TND Temel nöroşirürji kitabı cilt I* Ankara 2010; 107-108.
15. Okutan Ö, Solaroğlu İ. Periferik sinir ve pleksusların anatomisi. Korfalı E., Zileli M. (editörler). *TND Temel nöroşirürji kitabı cilt I* Ankara 2010; 91-93.
16. Aksoy K (Editör): *Temel Nöroşirürji. Buluş Tasarım ve Matbaacılık Hizmetleri, Ankara 2005.*
17. Arıncı K., Elhan A. : *Anatomi. Dördüncü baskı. Güneş Kitabevi Ankara 2006.*
18. Duus P. *Topical Diagnosis in Neurology. Third edition. Georg Thieme Publishers Germany 1998.*
19. Gray H. *Anatomy of Human Body. Otuzyedinci baskı. Churchill Livingston London 1995.*
20. Moore KL., Dalley AF. *Clinically Oriented Anatomy. Third edition. Lippincott Williams and Wilkins Baltimore 1999.*
21. Moore KL., Agur AMR. Elhan A (çeviri editörü). *Temel Klinik Anatomi. İkinci baskı. Güneş Kitabevi Ankara 2006.*
22. Snell RS. *Clinically Anatomy for Medical Students. Fourth Edition. Littie, Brown and Company, Boston/Toronto 1992.*
23. Taner D. *Fonksiyonel Nöroanatomi. İkinci Baskı. METU Press Ankara 1999.*
24. Çetinkaya D.U. *Mezenkimal Kök Hücrelerin Klinikte Kullanımı. Kök Hücre Biyolojisi ve Klinik Uygulamalar, TÜBA (Türkiye Bilimler Akademisi); 2009: 99-103.*
25. Çifci M. *Kültüre Kemik İliği Kök Hücrelerinin Uç-İçe Onarılmış Periferik Sinir Rejenerasyonundaki Etkisi. Uzmanlık Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Samsun, 2008, 40-43.*

26. Okarma TB, Lebkawski J, Schain L, Harwey M. The AIS CELLector: A new technology for stem cell purification Prog Clin Biol Res. 1992; 377: 487- 502.
27. Daneyemez K,Seçer H.İ., Periferik Sinir Yaralanmaları ve Fizyopatolojisi. Demircan N., Zileli M. (editörler). Türk Nöroşirürji Derneği Spinal ve Periferik Sinir Cerrahisi Grubu Yayınları No:6. Periferik Sinir Cerrahisi kitabı, Ankara 2008; 99-107.
28. Jacques L, Kline DG. Response of the peripheral nerve to physical injury, Crockard A, Hayward R, Hoff JT (eds): Neurosurgery: The Scientific Basis of Clinical Practice, ed 3. London: Blackwell, 2000; 1: 516-525.
29. Lewis T, Pickering CW, Rothschild P. Centripetal paralysis arising out of arrested bloodflow to the limb. Heart 1931; 16: 1-32.
30. Ochoa J, Danta G, Fowler TJ, et al. Nature of the nerve lesion caused by a pneumatic tourniquet. Nature 1971; 233: 265-266.
31. Seddon HJ. Three types of nerve injury. Brain 1943; 66: 237-288.
32. Sunderland S. Nerves and Nerve Injuries, ed 2. London: Churchill Livingstone, 1978.
33. Bozkurt G.,Benli K. Periferik Sinir Yaralanmaları. Benli K (editör) Hacettepe Üniversitesi Yayınları.Temel Nöroşirürji Kitabı, Ankara 2004; 319-327.
34. Mackinnon SE. New directions in peripheral nerve surgery. Ann Plast Surg 1989; 22: 257-273.
35. Döşoğlu M.,İş M. Periferik sinir cerrahisinde yaklaşımlar . Korfalı E., Zileli M. (editörler). TND Temel nöroşirürji kitabı cilt I Ankara 2010; 517-528.
36. Waller A. Experiments on the section of the glossopharyngeal and hypoglossal nerves of the frog, and observations of the alterations produced thereby in the structure of their primitive fibers. Phil Trans Roy Soc 1850; 140: 423-429.
37. Burnett MC, Zager EL. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. Neurosurg Focus 2004; 16 : 1 -7.

38. Ducker TB, Kempe LG, Hayes CJ. The metabolic background for peripheral nerve surgery. *J Neurosurg* 1969; 30: 270-280.
39. Lieberman AR. The axon reaction: a review of the principal features of perikaryal responses to axon injury. *Int Rev Neurobiol* 1971; 14: 49-124.
40. Lundborg C. A 25-year perspective of peripheral nerve surgery: evolving neuroscientific concepts and clinical significance. *J Hand Surg Am* 2000; 25: 391-414.
41. David S, Aguayo AJ: Axonal elongation into peripheral nervous system "bridges" after central nervous system injury in adult rats. *Science* 1981; 214: 931-933.
42. Richardson PM, McGuinness UM, Aguayo AJ. Axons from CNS neurons regenerate into PNS grafts. *Nature* 1980; 284: 264-265.
43. Danielsen N, Varon S. Characterization of neurotrophic activity in the silicone-chamber model for nerve regeneration. *J Reconstr Microsurg* 1995; 11: 231-235.
44. Funakoshi H, Frisen J, Barbany C, et al. Differential expression of mRNAs for neurotrophins and their receptors after axotomy of the sciatic nerve. *J Cell Biol* 1993; 123: 455-465.
45. Heumann R, Korsching S, Brandtlow C, Thoenen H. Changes of nerve growth factor synthesis in nonneuronal cells in response to sciatic nerve transection. *J Cell Biol* 1987; 104: 1623-1631.
46. Richardson PM, Lu X. Inflammation and axonal regeneration. *J Neurol* 1994; 241 (1): 57-60.
47. Taniuchi M, Clark HB, Johnson EM. Induction of nerve growth factor receptor in Schwann cells after axotomy. *PNAS* 1986; 83: 4094-4098
48. Mackinnon SE, Dellon AL, Lundborg C, Hudson A, Hunter DA. A study of neurotrophism in the primate model. *J Hand Surg [Am]* 1986; 11: 888-894.
49. Seckel B, Ryan S, Gagne R, et al. Target specific nerve regeneration through a nerve guide in the rat. *Plast Reconstr Surg* 1986; 78: 793-800.

50. Brushart TM, Seiler WA. Selective reinnervation of distal motor stumps by peripheral motor axons. *Exp Neurol* 1987; 97: 289-300.
51. Brushart TM. Preferential reinnervation of motor nerves by regenerating motor axons. *J Neurosci* 1988; 8: 1026-1031.
52. Dagum AB. Peripheral nerve regeneration, repair, and grafting. *J Hand Ther* 1998; 11 : 111-117.
53. Sanes JN, Suner S, Donoghue JP. Dynamic organization of primary motor cortex output to target muscles in adult rats. I. Long-term patterns of reorganization following motor or mixed peripheral nerve lesions. *Exp Brain Res* 1990; 79: 479-491.
54. Wall JT, Kaas JH, Sur M, et al. Functional reorganization in somatosensory cortical areas 3b and 1 of adult monkeys after median nerve repair. Possible relationships to sensory recovery in humans. *J Neurosci* 1986; 6: 218-233.
55. Mackinnon SE: New directions in peripheral nerve surgery. *Ann Plast Surg* 1989; 22: 257-273.
56. Nagano A, Shibata K, Tokimura H, et al: Spontaneous anterior interosseous nerve palsy with hourglass-like fascicular constriction within the main trunk of median nerve: *J Hand Surg Am* 1996; 21:266-270
57. Yuksel F, Karacaoglu E, Culer MM: Nerve regeneration through side-to-side neurography sites in a rat model: a new concept in peripheral nerve surgery. *Plast Reconstr Surg* 1999; 104: 2092-2099.
58. Çolak A. Periferik Sinir Travmasında Cerrahi Teknik. Demircan N., Zileli M. (editörler). *Türk Nöroşirürji Derneği Spinal ve Periferik Sinir Cerrahisi Grubu Yayınları No:6. Periferik Sinir Cerrahisi kitabı*, Ankara 2008; 129-136.
59. Clark W, Trumble TE, et al: Nerve tension and blood flow in rat model of immediate and delayed models, *J Hand Surg Am* ,1992; 7: 677-687.
60. Lundborg G, Rydevik B: Effects of stretching the tibial nerve of the rabbit. *J Bone Joint Surg Br* 1973; 55: 390- 401.

61. Tsuge K, Ikuta Y, Sakaue M: A new technique for nerve suture: The anchoring funicular suture. *Plast Reconstr Surg* 1975; 56: 496-500.
62. Young L, Wray RC, Weeks PM: A randomized prospective comparison of fascicular and epineural digital nerve repairs. *Plast Reconstr Surg* 1981; 68: 89-92.
63. Lundborg G: Brain plasticity and hand surgery: *J Hand Surg Br* 2000;25:242-252
64. Tupper JW, Crick JC, Mattek LR: Fascicular nerve repairs. *Orthop Clin North Am* 1988; 19: 57-69.
65. Bertelli JA, Mira JC: Nerve repair using freezing and fibrin glue: immediate histologic improvement of axonal coaptation. *Microsurgery* 1993; 14: 135-140.
66. Maragh H, Meyer BS, Davenport D: Morphofunctional evaluation of fibrin glue versus microsurgical nerve repairs. *J Reconstr Microsurg* 1990; 6: 331-337.
67. Narakas A: The use of fibrin glue in repair of peripheral nerves. *Orthop Clin North Am* 1988; 19: 187-199.
68. Cederna PS, Kalliainen LK, Urbanek MC: Donor muscle structure and function after end-to-side neurography. *Plast Reconstr Surg* 2001; 107: 786-789.
69. He Y, Revel M, Loty B: A quantitative model of post-laminectomy scar formation: Effect of a nonsteroidal anti-inflammatory drug. *Spine* 1995; 20: 557-563.
70. Hinton J, Warejcka DJ, Mei Y, McLendon RE, Laurencin C, Lucas PA, Robinson JS Jr: Inhibition of epidural scar formation after lumbar laminectomy in the rat. *Spine* 1995; 20: 564-580.
71. Bayramiçli M. Laboratuvar sıçanının anatomisi. *Deneysel mikrocerrahi kitabı*, 1. Baskı, Mayıs 2005; 178-181.
72. Campell WW. Evaluation and management of peripheral nerve injury. *Clinical Neurophysiology* 2008; 119: 1951-1965.
73. Abreu LB. Upper extremity nerve lesions ( diagnosis, indications, surgical techniques ). *Sao Paulo Medical Journal* 1997; 115 (4): 1495-1507.

74. Becker CM, Gueuning CO, Graff GL : Sutures or fibrin glue for divided rat nerves. *J Reconstr Microsurg* 1984; 1: 139-145.
75. Boedts D : Nerve anastomosis by a fibrinogen tissue adhesive. *J Head Neck Pathol* 1982; 3: 86-89.
76. Moy OJ, Peimer CA, Koniuch MP et al : Fibrin seal adhesive versus nonabsorbable microsuture in peripheral nerve repair. *J Hand Surg* 1988; 13: 273-278.
77. Smahel J, Meyer VE, Bachem U : Glueing of peripheral nerves with fibrin : experimental studies. *J Reconstr Microsurg* 1987; 3: 211-218.
78. Narakas A : The use of fibrin glue in repair of peripheral nerves. *Orthop Clin North Am* 1988; 19: 187-199.
79. Palazzi S, Villa-Tosres J, Lorenzo JC : Fibrin glue is a sealant and not a nerve barrier. *J Reconstr Microsurg* 1995; 11: 135-139.
80. Evans GR. Peripheral nerve injury: a review and approach to tissue engineered constructs. *Anat Rec* 2001; 263: 396–404.
81. Mosahebi A, Fuller P, Wiberg M et al. Effect of allogeneic Schwann cell transplantation on peripheral nerve regeneration. *Exp Neurol* 2002; 173: 213–223.
82. Guenard V, Kleitman N, Morrissey TK et al. Syngeneic Schwann cells derived from adult nerves seeded in semipermeable guidance channels enhance peripheral nerve regeneration. *J Neurosci* 1992; 12: 3310–3320.
83. Murakami T, Fujimoto Y, Yasunaga Y et al. Transplanted neuronal progenitor cells in a peripheral nerve gap promote nerve repair. *Brain Res* 2003; 974: 17–24.
84. Kanaya F, Firrell JC, Breidenbach WC. Sciatic function index, nerve conduction tests, muscle contraction, and axon morphometry as indicators of regeneration.. *Plast Reconstr Surg.* 1996 ; 98: 1264-1274.
85. Görgülü A, Imer M, Simşek O, Sencer A, Kutlu K, Cobanoğlu S. The effect of aprotinin on extraneural scarring in peripheral nerve surgery: an experimental study. *Acta Neurochir (Wien)*. 1998; 140: 1303-1307.

86. Petersen J, Russell L, Andrus K, MacKinnon M, Silver J, Kliot M. Reduction of extraneural scarring by ADCON-T/N after surgical intervention. *Neurosurgery*. 1996 ;38 :976-984.
87. Pleasure D, Bora FW Jr, Lane J, Prockop D. Regeneration after nerve transection: effect of inhibition of collagen synthesis. *Exp Neurol*. 1974; 45: 72-78.
88. Nachemson AK, Lundborg G, Myrhage R, Rank F. Nerve regeneration and pharmacological suppression of the scar reaction at the suture site. An experimental study on the effect of estrogen-progesterone, methylprednisolone-acetate and cis-hydroxyproline in rat sciatic nerve. *Scand J Plast Reconstr Surg*. 1985; 19: 255-260.
89. Görgülü A, Uzal C, Doğanay L, Imer M, Eliuz K, Cobanoğlu S. The effect of low-dose external beam radiation on extraneural scarring after peripheral nerve surgery in rats. *Neurosurgery*. 2003; 53: 1389-1396.
90. Vernadakis AJ, Koch H, Mackinnon SE. Management of neuromas. *Clin Plast Surg* 2003; 30: 247–268.
91. A. Gramsbergen, J. Ijkema-Paassen and M.F. Meek, Sciatic nerve transection in the adult rat: abnormal EMG patterns during locomotion by aberrant innervation of hindleg muscles. *Exp Neurol*, 2000; 161: 183–193.
92. E.F. Oliveira, N. Mazzer, C.H. Barbieri and M. Selli, Correlation between functional index and morphometry to evaluate recovery of the rat sciatic nerve following crush injury: experimental study. *J Reconstr Microsurg*, 2001; 17: 69–75.
93. S.E. Mackinnon, A.R. Hudson and D.A. Hunter, Histologic assessment of the nerve regeneration in the rat. *Plast Reconstr Surg*, 1985; 75: 384–388.
94. F.J. Rodriguez, A. Valero-Cabré and X. Navarro, Regeneration and functional recovery following peripheral nerve injury. *Drug Discov Today Dis Models*, 2004; 1: 177–185.
95. 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.
96. Choi BH, Zhu JS, Kim BY, Huh JY, Lee HS, Jung JH. Transplantation of Cultured

Bone Marrow Stromal Cells improve Peripheral Nerve Regeneration. *J Oral*

*Maxillofac Surg* 2005; 34: 537.

97. Martins RS, Teodoro WR, Simplicio H, Capellozi VL, Siqueira MG, Yoshinari NH, Pereira JP, Teixeira MJ. Influence of suture on peripheral nerve regeneration and collagen production at the site of neuroorrhaphy: an experimental study. *Neurosurgery*. 2011; 68 :765-772.

98. Okano H. Stem cell biology of the central nervous system. *J Neurosci Res* 2002; 15: 698–707.

99. Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res* 1991; 9: 641–650.

100. Cui L, Jiang J, Wei L, Zhou X, Fraser JL, Snider BJ, Yu SP. Transplantation of embryonic stem cells improves nerve repair and functional recovery after severe sciatic nerve axotomy in rats. *Stem Cells*. 2008 ; 26: 1356-1365.

101. Orbay H, Uysal AC, Hyakusoku H, Mizuno H. Differentiated and undifferentiated adipose-derived stem cells improve function in rats with peripheral nerve gaps.

*J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2011 Dec 1 (BASKIDA).

102. Wang Y, Jia H, Li WY, Tong XJ, Liu GB, Kang SW. Synergistic Effects of Bone Mesenchymal Stem Cells and Chondroitinase ABC on Nerve Regeneration After Acellular Nerve Allograft in Rats. *Cell Mol Neurobiol*. 2011 Nov 18 (BASKIDA).