

**T.C.**  
**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**İNSAN AMNİYON SIVISI VE FARKLI DİKİŞ TEKNİKLERİNİN**  
**SİNİR İYİLEŞMESİNDEKİ ROLÜ**

**Uzmanlık Tezi**

**Dr. Osman YOLOĞLU**

**Trabzon-2013**

**T.C.**  
**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**İNSAN AMNİYON SIVISI VE FARKLI DİKİŞ TEKNİKLERİNİN**  
**SİNİR İYİLEŞMESİNDEKİ ROLÜ**

**Uzmanlık Tezi**

**Dr. Osman YOLOĞLU**

**Tez danışmanı: Prof. Dr. Mehmet YILDIZ**

**Trabzon-2013**

## İÇİNDEKİLER

	<b><u>Sayfa No</u></b>
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
3. MATERYAL VE METOD	10
4. BULGULAR	18
5. TARTIŞMA	25
6. SONUÇLAR	28
7. ÖZET	29
8. SUMMARY	30
9. KAYNAKLAR	31

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Periferik sinir yaralanmaları sık görülen bir klinik problem olmasının yanında, halen onarımdaki başarıların tam iyileşme sağlayamaması nedeniyle üzerinde sıkça çalışılan bir konudur. Periferik sinir kesilerinden sonra kesi seviyesine bağlı olarak, ekstremitelerdeki fonksiyonlarının bir kısmı veya tamamı ortadan kalkar.

Halen sahip olduğumuz bilgi ve olanaklarla teknik olarak yapılabilecek en mükemmel onarımda bile, sinir fonksiyonu tam olarak, ya da başka bir deyişle %100, geri kazanılamamaktadır. Her bir fasikül demetinin içinde altı ile on iki bin akson bulunduğu ve bunların bire bir iyileşmelerini sağlayabilecek bir yöntemin mevcut olmadığı düşünülürse sorunu anlamak kolaylaşır (1).

İnsan amniyon sıvısı (AS), içeriğindeki hiyaluronik asit (HA), NGF (sinir büyüme faktörü), IGF-1 (insülin benzeri büyüme faktörü 1), IGF-2 (insülin benzeri büyüme faktörü 2), FGF (fibroblast büyüme faktörü), EGF (epidermal büyüme faktörü), laminin, fibronektin gibi glikoproteinler yardımıyla, yara, sinir, tendon ve kemik iyileşmesi üzerine olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir(2,3,4). Bu nedenle insan amniyon sıvısının sinir iyileşmesinde olumlu etkileri olabileceği düşünülerek deneysel bir çalışma planlandı.

Optimal bir sinir rejenerasyonu, onarım bölgesinde minimal gerginlik, sinir uçlarının uygun koaptasyonu, nörotropik faktörlerin korunması, minimal fibrozis ve onarım bölgesinde minimal yabancı cisim reaksiyonu ile mümkündür(5). Askı dikişi yöntemiyle onarım bölgesinde dikiş materyalinin olmaması ve bunun oluşturacağı yabancı cisim reaksiyonundan kaçınılması nedeniyle, sinir iyileşmesine olumlu katkısı olabileceği düşünülerek, deneysel modelde bu yönetime de yer verildi.

Bu çalışmada, ratlar üzerinde oluşturulan deneysel sinir yaralanması modelinde, insan amniyon sıvısının ve askı dikişi yöntemlerinin sinir iyileşmesi üzerine etkilerinin araştırılması amaçlandı.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Sinir Onarımının Tarihçesi**

Her ne kadar 1. ve 2. Dünya Savaşları periferik sinir yaralanmalarını anlamamızda çok deneyim kazanmamızı sağlasa da periferik sinir onarımının tarihi çok eskilere dayanmaktadır. 7. yüzyılda Paul of Aegena tarafından yara kapatılması ve yaralanmış periferik sinir uçlarının bir araya getirilmesi tanımlandı (6). Nöronal dejenerasyon 1850 yılında Augustus Waller tarafından bulundu ve tanımlandı (6,7). 1864 yılında Nelaton sekonder sinir iyileşmesini tanımladı ve 1873-1875 yıllarında Hueter primer epinöral dikişi tanımladı (6). 1876'da Albert sinir greftini ilk kez tanımladı. 1880'de Mikulicz, 1884'te de Loebke dikiş tekniğinin geliştirilmesi ve sinir gerginliğinin azaltılması için kemik kısaltılması gibi teknikler üzerinde çalışma yaptılar(6). Son 150 senede periferik sinir onarımı ile yapılan çalışmalar arttı. 1964'te Smith sinir uçlarını yaklaştırmak için mikroskop kullandı. Hanno Millesi mikrosütür materyali ve mikroenstrümantasyon kullanımını vurguladı. 1987'de Bonard ve Narakas başarılı fibrin yapıştırıcısı kullanımını rapor ettiler(6).

Periferik sinir onarımı ve sinir iyileşmesi ile ilgili çalışmalar halen yaygın olarak yapılmakta ve farklı dikiş yöntemleri, alternatif tedavi metodları denenmeye devam edilmektedir.

### **2.2. Periferik Sinirin Yapısı**

Periferik sinir sistemi beyin ve omurilik dışında kalan sinire ait tüm yapıları içermektedir. Kranial ve spinal sinirler periferik sinirleri içerir(8).

Periferik sinir sistemi 2 tane destekleyici hücre içermektedir. Schwann hücreleri, merkezi sinir sistemindeki oligodendrositlere eşdeğerdir ve satellit hücreleri, duyu ve otonomik gangliyonlardaki hücre gövdelerini çevreleyen hücrelerdir.

Periferik sinir sistemine ait sinir lifleri Schwann hücreleri tarafından kaplanmaktadır ve miyelinli liflerde bunlar tek tek aksonları sararak miyelin kılıfını oluştururlar. Miyelinsiz liflerde ise tek bir Schwann hücresi birçok aksonu içine alarak çevrelemektedir. Bu hücreler nöral krestten gelişirler. Bu hücreler ayrıca, periferik sinir sistemindeki yıkıntıları temizler ve yaralanma veya kesilme sonrası aksonların yeniden büyümesine rehberlik ederler(8).

Miyelin kılıfın yapısında, protein sıfır (P0), periferik miyelin proteini (PMP) ve miyelin temel protein (MBP) olarak adlandırılan membran proteinleri bulunmaktadır. P0, miyelin kılıf lamellerinin sıkıca bir araya gelmesinden sorumlu esas yapısal miyelin proteindir. P0 proteini, miyelinizasyon sırasında plazma membranında eksprese olan 30 kDA ağırlığında bir hücre yapışma molekülüdür. Bu transmembran glikoprotein, karşılıklı iki membran tabakası arasında güçlü bir adhezyon sağlar ve periferik sinir miyelininin anahtar yapısal komponentidir. Yapısal ve genetik çalışmalar P0 proteinini kodlayan genlerdeki mutasyonların demiyelinizan hastalıklara yol açabileceğini işaret etmektedir(9).

Periferik sinirler, Schwann hücrelerine ek olarak üç ayrı bağ dokusu örtüsüne sahiptir: epinöryum, perinöryum ve endonöryum

Epinöryum; tip 1 kollajen ve fibroblastlardan oluşur ve tüm siniri çevreler.

Perinöryum; sinirin içinde aksonları fasiküllere ayırır. İki farklı özelliği olan ve birçok dairesel tabakadan oluşan fibroblastlar perinöryumu oluşturur. Bu özellikler:

1- Bazal lamina, fibroblast tabakalarını çevrelemektedir.

2- Fibroblastlar, sıkı bağlantı kompleksleriyle birbirlerine tutunarak koruyucu bir bariyer olan kan-sinir bariyerinin oluştururlar.

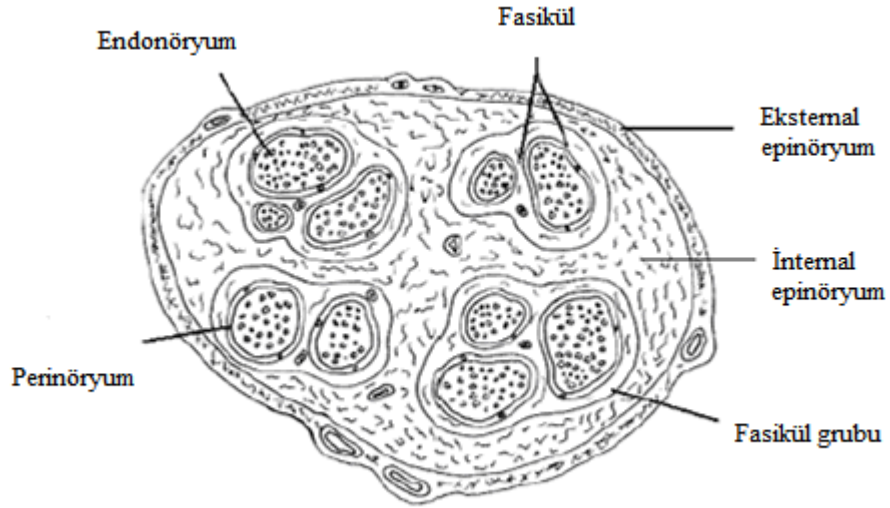
Endonöryum; tek tek aksonları ve onların etrafındaki Schwann hücrelerini çevrelemektedir. Yapısında ise Tip 3 kollajen lifleri ve sinir liflerin arasında bulunan az miktardaki fibroblastlar bulunmaktadır(8).

Sinir lifi periferik sinirin en belirgin yapısıdır. Akson miyelin kılıfı ve Schwann hücrelerinden oluşur. Sinir lifleri bağ dokusundan oluşmuş kılıflarla fasiküller şeklinde düzenlenmiştir. Bir fasikül miyelinli ve miyelinsiz sinir lifleri taşımaktadır(8).

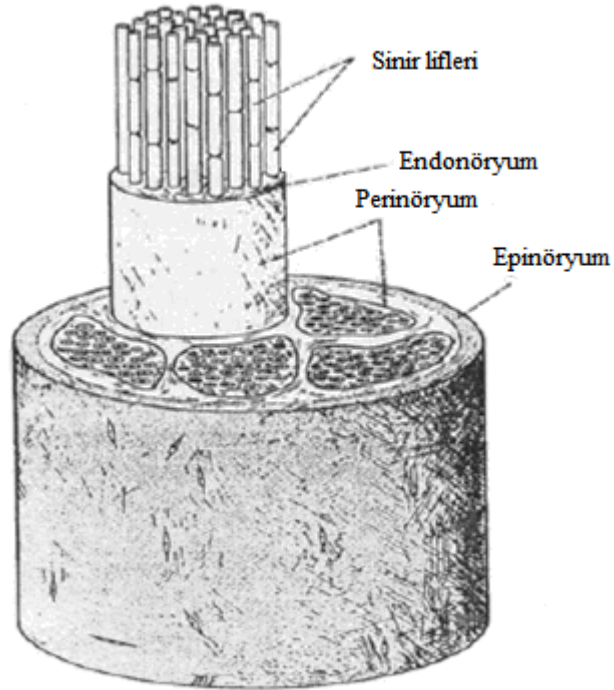
Aksonlar miyelin segmentlerine yani boğumlar arası bölgelere sahiptir (internod) ve Ranvier boğumu (nod) tarafından ayrılmıştır. Her bir boğumlar arası miyelin kılıfını tek bir Schwann hücresi oluşturmaktadır(8,10).

Miyelin kılıfının kalınlığı akson çapının kalınlığı ile doğru orantılıdır. Akson genişledikçe boğumlar arası mesafe de uzamaktadır.

Perinöryumdaki hücreler birbirleriyle sıkı bağlantı yaparak kan sinir bariyerini oluştururlar. Endonöryal kapillerler ve sıkı bağlantılarla bağlanmış olan kesintisiz endotel hücreleri, kan sinir bariyeri oluşumuna katılırlar(8).



**Şekil 1:** Periferik sinirin yapısı.



**Şekil 2:** Periferik sinirin kılıfları.

### 2.3. Periferik sinir yaralanmaları

Sinir yaralanmalarının en yaygın görülen tipi gerilme tipi yaralanmalardır. Periferik sinirler, endonöryumlarından dolayı elastiktir, fakat sinire uygulanan çekme, sinirin gerilme kapasitesinden fazla olursa, yaralanma meydana gelebilir ve sinir devamlılığını tamamen yitirebilir. Bununla beraber, çoğu yaralanmalarda devamlılığın genellikle korunduğu belirtilmiştir. Gerilme tipi yaralanmalar genellikle, periferik sinir izolasyonunda veya ekstremiteler kırıklarında, sinirle kemiğin birbirine yakın geçtiği bölgelerde gözlenir (11, 12).

Ciddi yaralanmaların % 30'unu oluşturan ve sinirde kesilme ile karakterize yırtılma tipi yaralanmalar, diğer yaygın tip yaralanmalardır. Bu tip yaralanmalarda tam bir kesi olabilmesine karşın, sıklıkla bazı sinir elemanlarının bütünlüğü korunmuş olabilir. Yırtılma tipi yaralanmalar, kolay bir şekilde oluşturulabildiği için, araştırmalarda yaygın olarak kullanılan bir modeldir (12).

Yaygın olarak görülen diğer yaralanma türü, ezilme tipi yaralanmalardır. Bu yaralanmada sinirsel elemanların ayrılması veya kopması söz konusu değildir. Ezilme tipi yaralanmalarda, motor ve duyu fonksiyonlarının total kaybı meydana gelebilmektedir. Ezilme tipi yaralanmalarda, mekanik ezilme ve iskemi olmak üzere iki ayrı mekanizmanın, primer etken olabileceği kabul edilmektedir. Bununla birlikte sinir hasarının oluşumunda, hangi mekanizmanın daha önemli olduğu net olarak açıklığa kavuşmamıştır. Kısa süreli ezilme tipi yaralanmalarla ilgili yapılan çalışmalarda, iskeminin fizyolojik iletim bloğuna neden olduğunu göstermiştir. Kısa süreli iskeminin, sinir iletim bloğunu nasıl oluşturduğu açık değildir. Bununla birlikte, büyük çaplı miyelinli liflerin, küçük çaplılara oranla daha fazla iskemik etkiye uğradığı gösterilmiştir. Kısa süreli iskemide, histolojik değişiklikler genellikle geri dönüşümlüdür. Şiddetli iskemik hasara uğramış sinirde, genellikle fonksiyon kaybı olabileceği ve tam bir iyileşmenin oluşmayabileceği kabul edilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, ezilme tipi yaralanmalarda mekanik deformasyonun etkilerinin daha ön planda olduğunu görüşü ön plana çıkmıştır (11, 13).

### 2.4. Periferik sinir yaralanmalarının sınıflandırılması

Sinir yaralanmalarının sınıflaması 1947 yılında Seddon ve 1951 yılında Sunderland tarafından yapılmıştır. Sinir lezyonları mekanik (kompresyon, germe, ezilme), termal,



iskemik ve kimyasal nedenlerle olabilir. Lezyonların sınıflandırılmaları, sinir liflerinde ve trunkuslarda olan yapısal veya fonksiyonel değişikliklere göre yapılabilir (14).

Seddon yaralanmaları şiddetine göre; nöropraksi, aksonotimes ve nörotimes olmak üzere 3 sınıfta toplamaktadır. Sinir devamlılığının bozulmadığı ancak geçici bir fonksiyonel kaybın olduğu nöropraksi, bu yaralanmaların en hafif tipidir. Nöroprakside, miyelin yapısında bazı değişiklikler meydana gelmesine rağmen, oluşan geçici fonksiyon kayıplarının yaralanma bölgesindeki lokal bir iyon-aracılı iletim bloğundan dolayı oluştuğu düşünülmektedir. Aksonotmes, akson ve miyelin kılıfın tamamen kesilmesiyle oluşmaktadır. Aksonotmeste, epinöryum ve perinöryum genellikle korunmuştur. Yaralanmanın distal bölgesinde, akson ve miyelin dejenerasyonu sonucu tam bir denervasyon meydana gelmektedir. Nörotmes, sinirin bağlantılarının kesildiği ve tam bir fonksiyonel kaybın olduğu yaralanma tipidir. Bu tip yaralanmalarda aksonda yeniden büyümeyi yönlendirecek yapılar kaybolur ve skar oluşur. Cerrahi girişim yapılmadan genellikle iyileşme meydana gelmemektedir (14, 15).

Sunderland sinir yaralanmalarını 5 grupta değerlendirmiştir; 1.derece yaralanma, Seddon'un nöropraksi tipi yaralanmasına, 2.derece yaralanma ise aksonotmes tipi yaralanmasına eşdeğer olarak kabul edilmiştir. 3.derece yaralanmalar aksonda kesilme ile meydana gelen, Seddon'un nöropraksi ve aksonotmes tipleri arasında bir yaralanma olarak görülmektedir. Bu tip yaralanmalarda endonöryum da kısmen hasar görmektedir. Endonöryumdaki hasarın derecesine bağlı olarak iyileşme oluşabilir. Sunderland, Seddon'un nörotmes tipi yaralanmasını, 4. ve 5.derece yaralanmalar olarak sınıflandırmıştır. 4.derece yaralanmada, epinöryum haricinde sinirin bütün kısımları bozulmakta, 5.derece yaralanmada ise sinir tamamen kesintiye uğramaktadır. Her iki yaralanmada da iyileşme ancak cerrahi girişim ile sağlanabilmektedir (11, 16).

**Tablo 1:** Periferik sinir yaralanmalarının sınıflandırılması.

<i>SEDDON</i>	<i>SUNDERLAND</i>	
nöropraksi	1.derece yaralanma	Segmental demiyelinizasyon, lokalize iletim bloğu
aksonotmes	2.derece yaralanma	Aksonal yaralanma, distalde Wallerian dejenerasyon
	3.derece yaralanma	Wallerian dejenerasyon endonöryumda fibrozis ile birlikte
	4.derece yaralanma	İntakt olan tek yapı eksternal epinöryum
nörotmes	5.derece yaralanma	Sinir tamamen ayrılmış
	6.derece yaralanma	Tüm yaralanmaların kombinasyonu

### 2.5. Yaralanma Sonucu Sinirde Meydana Gelen Değişiklikler

Sinir rejenerasyonunun başarısı, yaralanmanın başlangıçtaki şiddetine ve meydana gelen dejeneratif değişikliklerle ilişkilidir. Yalnızca iletim bloğunun olduğu birinci derece yaralanmalarda, patolojik değişiklikler ya hiç yoktur ya da çok hafiftir. İkinci derece yaralanmalarda, yaralanma bölgesinde veya bu bölgenin proksimalinde hafif histolojik değişiklikler oluşmaktadır. Yaralanma bölgesinin distalinde ise Wallerian dejenerasyonu oluşmaktadır. Wallerian dejenerasyonunda primer histolojik değişiklik, akson ve miyelin kılıfta oluşan yapısal bozukluklardır. Dejenerasyon sonucu meydana gelen başlıca yapısal değişiklikler, nöronda nörotübül ve nörofilamanların düzensiz hale gelmesi, akson ve miyelin kılıfın birbirlerinden ayrılmaları, aksonda varikoz şişkinliklerin oluşmasıdır. Miyelin kılıf dejenerasyonu özellikle 36-48 saat içinde belirgin hale gelir (7, 11, 16).

Yaralanmadan sonra 48-96 saatte genellikle akson devamlılığı kaybolur ve impuls iletimi bozulur. Wallerian dejenerasyonunda Schwann hücrelerinin anahtar rol oynadıkları kabul edilmektedir. Bu hücreler yaralanmadan sonra 24 saat içinde aktif hale geçer, çekirdek ve sitoplazmik büyüme gösteren hücreler, hızla bölünerek, dejenerasyon ve tamir yoluna yardım edecek bir çok molekülü eksprese ederler. Schwann hücreleri dejenerasyon sonrası, akson ve miyelin artıklarını ortadan kaldırır. Periferik kandan göç eden makrofajlar ile Schwann hücreleri, fagositoz yaparak, yaralanma bölgesini 1 haftadan bir

kaç aya ulaşan bir sürede temizler. Bu süreçte, endonöryumda bulunan mast hücrelerinin de önemli rollere sahip oldukları bilinmektedir. Bu hücreler yaralanmadan sonra ilk 2 hafta içinde çoğalırlar, makrofaj göçünü kolaylaştıran ve kapiller permeabiliteyi arttıran histamin ve serotonin salgırlarlar (11, 17).

Başlangıç evresinde, travmaya yanıt olarak endonöral tüp şişer, ilk iki haftadan sonra bu tüpün çapı oldukça azalır. 5-8 haftada dejenere olan sinir artıkları genellikle ortadan kaldırılmıştır. 3.derece yaralanmalarda travma aracılı lokal bir reaksiyon meydana gelir. İntrafasiküler yaralanmalarda sinir lifi distal kısımları elastik endonöryumlarından dolayı retraksiyona uğrar. Lokal vasküler travma, etkin enflamatuvar cevapla sonuçlanan hemoraji ve ödeme yol açar. Fibroblastlar proliferer olur ve oluşan fibröz bağ dokusu, yaralı segmentte şişkinliğe sebep olur. İntrafasiküler skar dokusu sinir gövdesinde de gelişir ve genellikle perinöral skar dokusu ile kaynaşır (11, 16).

## **2.6. İnsan Amniyon Sıvısı**

Amniyon sıvısı kısmen amniyon hücreleri tarafından oluşturulan fakat esas olarak anne kanından gelen berrak bir sıvıdır. Anne karnında oluşan amniyon sıvısı miktarı 10. haftada ortalama 30 ml, 20. haftada 350 ml, 37. haftada 900 ml olacak şekilde gebelik boyunca artar (18).

Amniyon sıvısı içinde bulundurduğu fetusu dış darbelere karşı korur. Embriyonun amniyon zarına yapışmasını engeller ve fetusun hareket etmesini kolaylaştırır(18).

Amniyon sıvısındaki su her 3 saatte bir değişir. Bu da amniyon boşluğu ve maternal kan dolaşımı arasındaki alış verişin ne kadar fazla olduğunu gösterir. Amniyon sıvısının azlığı veya fazlalığı fetal anomalilerin bir göstergesi olabilir(18).

Bu sıvının içeriğinde mezenşimal hücreler bulunur. FGF, EGF, IGF-I, IGF-II, NGF gibi büyüme faktörlerinin yanı sıra, HA, hyaluronic acid stimulating activator (HASA), laminin ve fibronektin gibi ekstrasellüler makromoleküller de yer alır. NGF, IGF-I ve IGF-II nörotropik ajanlar olarak bilinirken laminin, fibronektin gibi ajanlar nörit-promoting faktörler olarak gruplandırılabilir. Ayrıca HA iyileşmeyi skar ve fibrozis oluşumu yerine büyüme ve rejenerasyon lehine ilerleten bir ajandır. HASA ise endojen HA salınımını aktive eden bir moleküldür. Bunlar da 2. trimesterde alınan amniyon sıvısında yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır (2, 4, 19, 20).

## 2.7. Periferik Sinir Onarım Yöntemleri

Periferik sinirlerin onarımıyla ilgili çalışmalar çok çeşitli tekniklerin varlığını ortaya koymuş olsa da, genellikle bu tekniklerin birbirilerine karşı üstünlükleri net olarak ortaya konamamıştır.

En yaygın olarak kullanılan epinöral dikişin yanı sıra epiperinöral onarım, fasiküler onarım, sinir greftleri, çeşitli tüp materyalleri (ven grefti vs. ) metal halka, fibrin yapıştırıcı, epinöral manşet dikişi ve askı dikişi gibi birçok yöntem ve metod tanımlanmıştır (1, 5, 6, 21, 22).

Sinir onarımındaki en önemli hedef minimum sayıda dikiş ve yabancı cisim ile optimal düzeyde dizilim ve koaptasyon sağlamaktır. En iyi fonksiyonel geri dönüş, motor ve sensoriyal liflerin isabetli şekilde devamlılığını sağlamakla kazanılır (5, 21, 22).

## 2.8. Rat Siyatığının Anatomisi

L4, L5, L6 ve S1'den gelen spinal sinirlerin oluşturduğu lumbo-sakral trunkustan çıkan siyatik sinir, rattaki en kalın periferik sinirdir. Varyasyon gösterebilmekle beraber, L5,L6 ve S1'den kaynaklanan liflerin birleşmesinden oluşur. Pelvis minör içinde siyatik sinir adını alır. Siyatik çentikten çıktıktan sonra piriform kasın ventralinde izlenir. Sırt derisinin yarısını ve arka bacak kaslarını inerve eder. Piriform kas seviyesinin 1-2 mm aşağısında kuadratus femoris kasının üzerinde ilerler. Piriform kas seviyesinde ince bir dal ventrale gider ve biceps femoris, semitendinöz ve semimembranözü inerve eder. Diz ekleminin yaklaşık yarım santimetre üzerinde kalın tibial sinir ve ince peroneal sinir dallarına ayrılır (1, 23).

Rat sinirinin diseksiyonu için, yüzüstü yatırılan ratın tıraş ve temizliğinden sonra kalça eklemi katlantısını izleyecek şekilde cilt kesisi yapılır. Cilt diseke edilip ekarte edildikten sonra biceps femoris kası ortaya konur. Biceps femoris kası açılır ve siyatik sinir ortaya konur (1, 23).

### **3. MATERYAL VE METOD**

#### **3.1. Materyal**

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma ve Uygulama Merkezinde 11.06.2012- 08.08.2012 tarihleri arasında yapıldı. Çalışmada ortalama ağırlıkları 395 gr (350-450gr) olan, 16 adet Spraque Dawley cinsi erkek ratın her iki siyatik siniri kullanıldı.

Ratlar; 20-24°C oda sıcaklıkları ve 14-10 saatlik ışık- karanlık döngüleri sağlandıktan sonra, tek tek olacak şekilde kafeslere yerleştirildi. Kafeslerinde günlük 10 gr rat yemi ve suları hazır olacak şekilde bakımları sağlandı. 16 adet ratın 32 adet siyatik siniri 4 gruba ayrıldı.

#### **3.2. Anestezi**

Ameliyat öncesi ratlar 4 saat süreyle aç bırakıldı. Anestezi sağlamak için 50mg/kg ketamin hidroklorür ( Ketalar®; Pfizer, İstanbul, Türkiye) ve 10mg/kg xylazin hidroklorür (Rompun®; Bayer, Leverkusen, Almanya) intraperitoneal olarak kullanıldı. Gerektiğinde anesteziyi uzatmak için 15mg/kg ketamin hidroklorür intraperitoneal olarak uygulandı

#### **3.3. Cerrahi**

Anesteziden sonra ratlar yüzüstü yatırıldı. Her iki uyluk posteriorları tıraş edildi. Cerrahi kesiden önce uyluklar %10 povidon iyot (Batticon; Adeka, Samsun, Türkiye) ile boyandı. Mikrocerrahi için cerrahi araştırma merkezindeki mikroskop (İnami, DECA-21 operation microscope, Japan) kullanıldı. Dikiş materyali olarak ethilon 10/0 (monofilament polyamide 6, Ethicon ® UK) kullanıldı. Cilt dikişi için 4/0 ipek (Doğsan 4/0 ipek, Türkiye) kullanıldı.

Grup 1: epinöral dikiş + 0,3ml serum fizyolojik (SF)

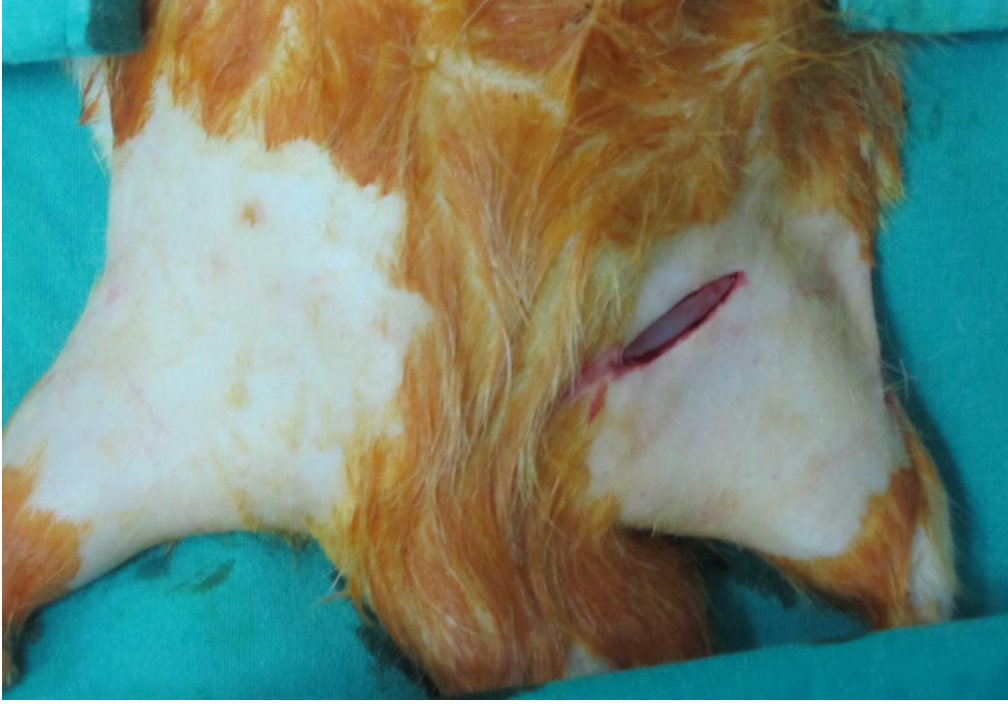
Grup 2: askı dikiş + 0,3ml SF

Grup 3: epinöral dikiş + 0,3ml AS

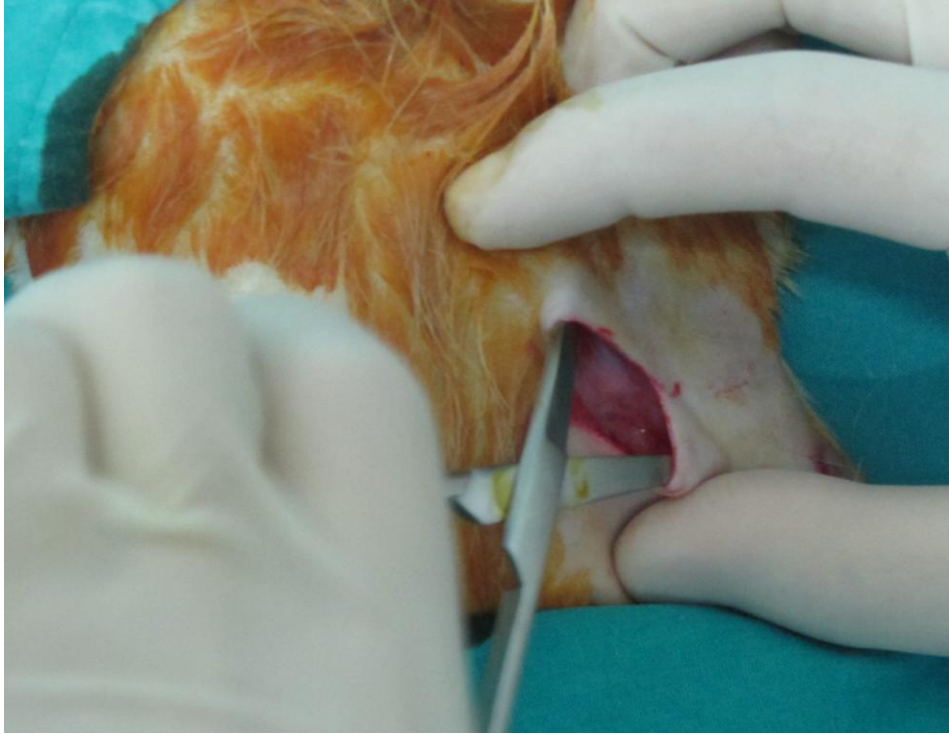
Grup 4: askı dikiş + 0,3ml AS



**Resim 1:** Gluteal bölgeler tıraş edilip temizlendi.

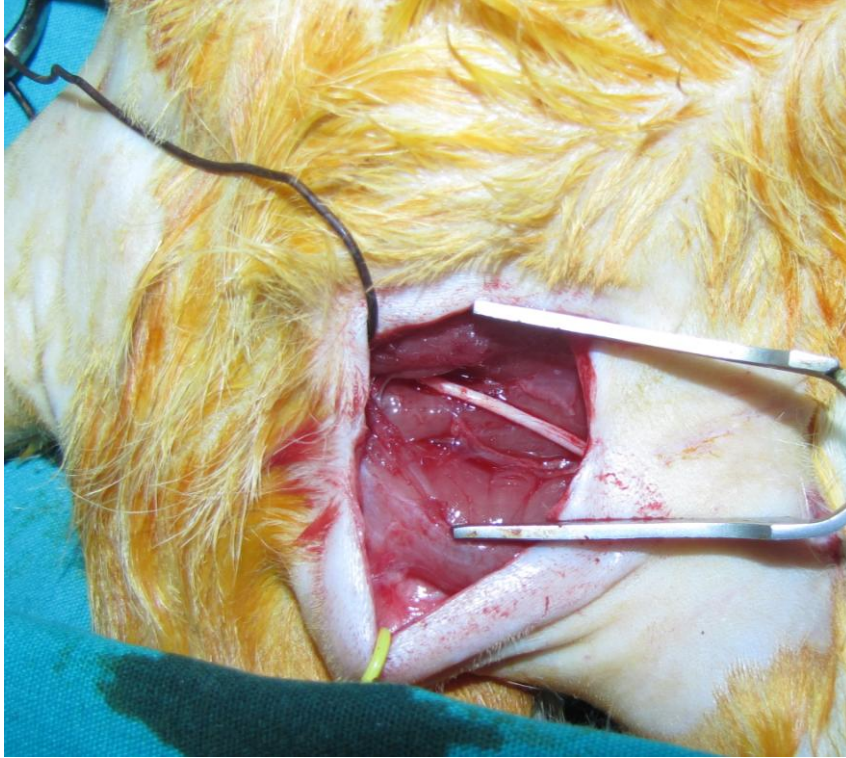


**Resim 2:** Daha sonra sağ kalça eklemi katlantısının üzerinden cilt, cilt altı geçildi.

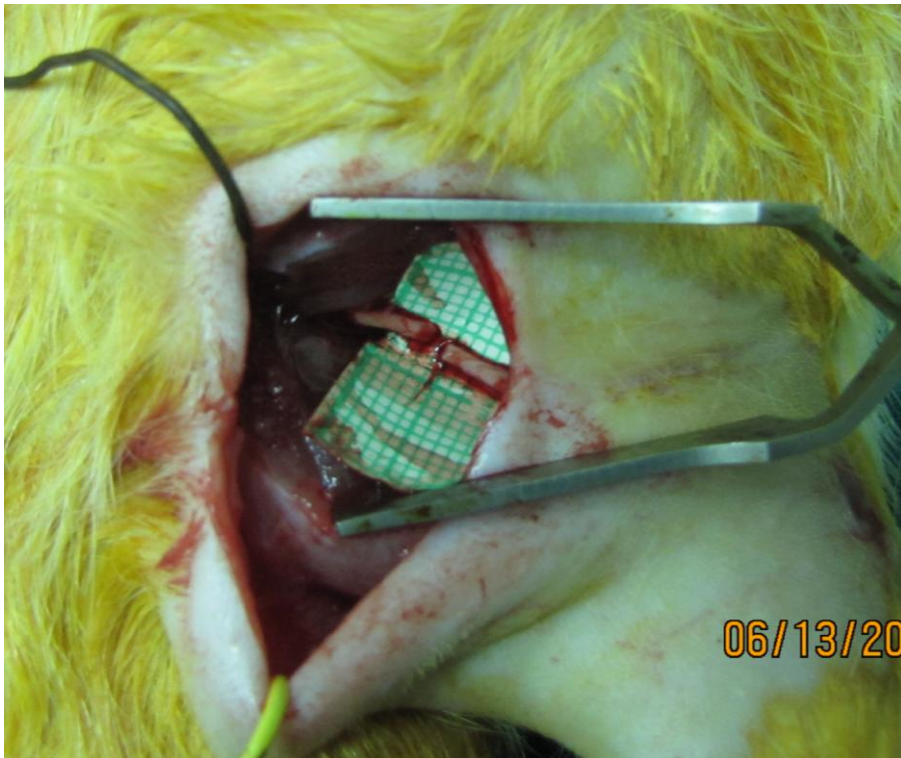


**Resim 3:** Cilt, cilt altı künt diseke edilip biceps femoris ortaya kondu.





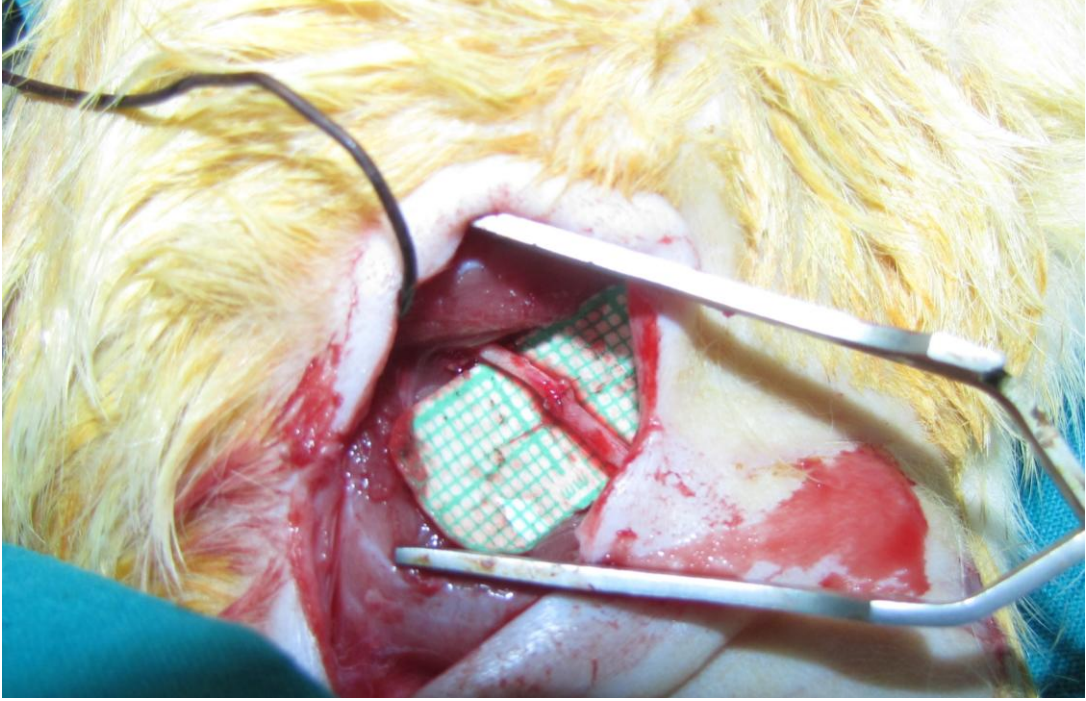
**Resim 4:** Biceps femoris kası geçilip siyatik sinir bulundu.



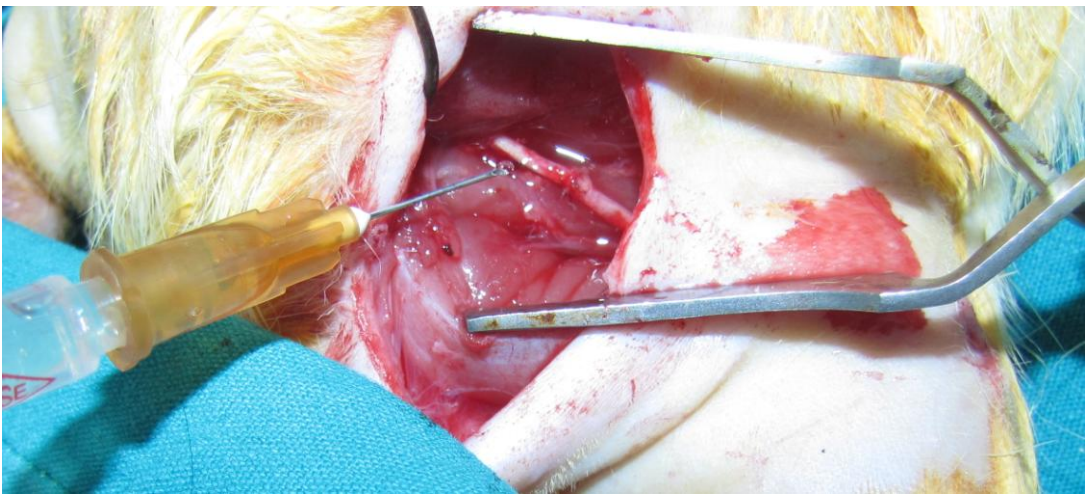
**Resim 5:** Siyatik sinir ortaya konulup diseke edildikten sonra keskin bistüri ile tek hamlede kesildi.



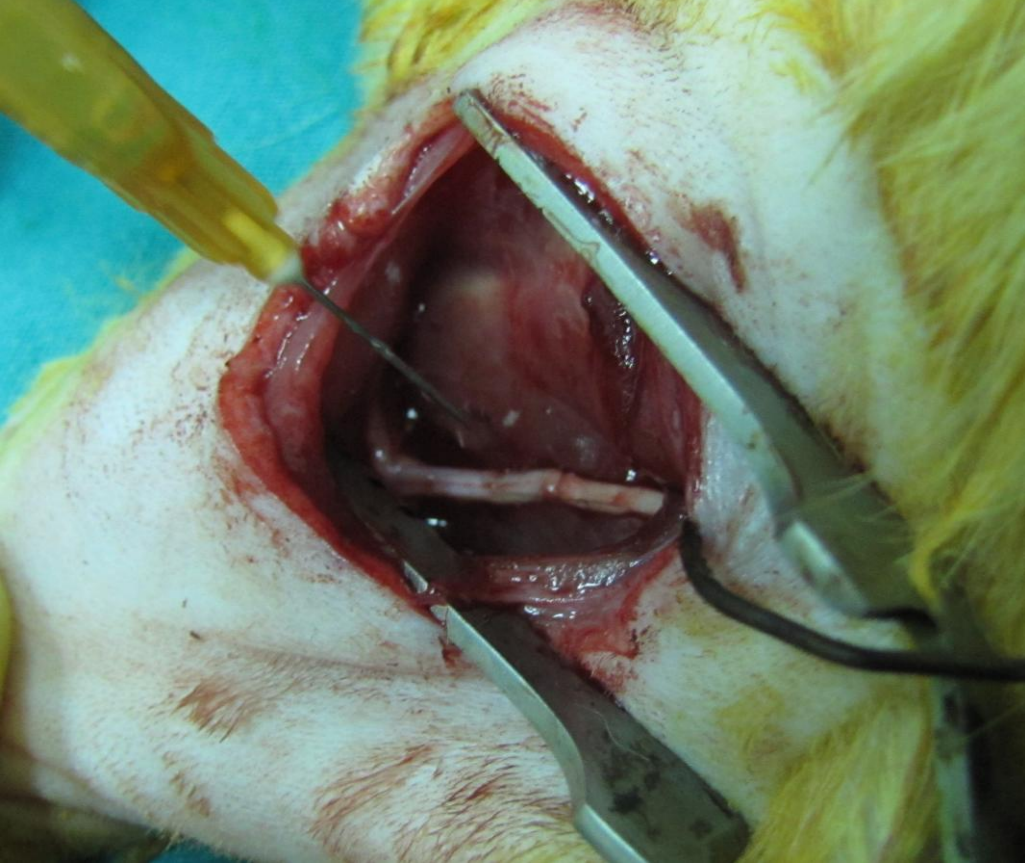
1.gruba epinöral dikiş ek olarak 0,3 ml SF onarım hattına damlatıldı. 2. gruba askı dikişine ek olarak 0,3 ml SF onarım hattına damlatıldı. 3. gruba epinöral dikiş ek olarak 0,3ml insan amniyon sıvısı damlatıldı. 4. gruba askı dikişine ek olarak 0,3 ml amniyon sıvısı damlatıldı. Epinöral dikiş gruplarına standart epinöral dikiş atılırken, askı dikiş gruplarına kesi hattından en az 0,5 mm uzaklıkta olacak şekilde 2 adet askı dikiş atıldı.



**Resim 6:** Epinöral dikiş grubu.



**Resim 7:** SF damlatılması.



**Resim 8:** Askı dikişi grubu.



**Resim 9:** Cilt altı ve cilt kapatılması.

İnsan amniyon sıvısı grubunda kullanılacak olan AS Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniğinde amniyosentez yapılan 20 haftalık 2 adet gebeden onayı alınarak temin edildi. Daha sonra 4300 devirde 15 dakika santrifüj edilerek hücrelerinden ayrıldı ve -20 °C’de saklandı. Kullanılmadan önce oda sıcaklığında 15 dakika beklenecek çözünmesi sağlandı.

Cerrahi sonrası ratlar her kafeste bir rat olacak şekilde kafeslere yerleştirildi. Ratların serbest hareketlerine izin verildi. Kafesler düzenli olarak temizlendi. Cerrahi öncesi ve sonrası hiçbir grupta antibiyotik kullanılmadı. Cerrahinin 50. gününde 1 adet rat öldü.

8 haftalık bekleme süresinin ardından ratlara tekrar anestezi uygulandıktan sonra, tüm ratların siyatik sinirleri tekrar diseke edilip proksimal ve distalden kesi hattına 1cm uzaklıktan kesilerek alındı ve %10’luk formaldehit solüsyonunda 48 saat tespit edildi. Rutin histolojik takip prosedürü uygulanarak dokular parafinle blok haline getirildi. Daha sonra iyileşme hattı ve 0,5cm distalinden mikrotomla (Leica, RM 2255, Germany) 5µmlik seri kesitler alındı. Alınan kesitler 45 °C’de benmari içindeki sıcak su üzerinde kırışıklıkların açılması için bekletildi ve lam üzerine alındı. Hematoksilen eozin (H&E) ve toluidin blue (TB) ile boyama yapıldı.

Tüm gruplardaki preparatlar KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Stereoloji laboratuvarındaki, Olympus DP 71 kameralı ışık mikroskopunda (IM) Analysis 5 Research (Olympus Soft Imaging Solution, Germany) programına aktararak ortalama akson çapı ölçüldü. Bunun için randomize seçilmiş alanlarda yirmişer adet akson çapı ölçüldü. Matür akson sayımı için yine aynı laboratuvarındaki kameralı araştırma mikroskobu (Leica, DM4000B-M, Germany) ve buna bağlı stereoloji yazılım sistemi (Stereo Investigator 9, Computer Assisted Stereological Toolbox-Leica) kullanılmış olup alınan kesitlerde, bilgisayarın atadığı, randomize, 10.000µm<sup>2</sup>’lik 4 alanda, manuel olarak miyelinize aksonlar sayıldı. Tüm sinirin alanına normalize edildi. Ratlar servikal dislokasyon yolu ile öldürüldü.

### 3.4. İstatistik

Sonuçlar alındıktan sonra tanımlayıcı istatistik olarak yüzde, ortalama ve standart sapma kullanıldı. Grupların karşılaştırılmasında parametrik koşul taşıyanlarda Student-t testi kullanıldı. Makroskopik karşılaştırmada ise paired-samples testi kullanıldı. Bilgisayar programı olarak SPSS 13.0 kullanıldı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Klinik Bulgular

Ratlarda ameliyat sonrası 24 saat içinde her iki alt ekstremitede de topallama mevcut olacak şekilde mobilize oldular. Anesteziye bağlı bir komplikasyon izlenmedi. 50. günde 1 adet rat (insan amniyon sıvısı alan grupta) öldü ve araştırmadan çıkarıldı. 8 haftanın sonunda tüm ratlar her iki alt ekstremitelerini topallamadan kullanabiliyorlardı.

### 4.2. Makroskopik Bulgular

8 hafta sonunda siyatik sinirlerin alınması için yapılan ikinci cerrahi girişimde cerrahi alan makroskopik olarak değerlendirildi. Makroskopik olarak AS kullanılan grupta yapışıklığın daha az olduğu ve genelde keskin diseksiyona gerek kalmadığı gözlemlendi. SF grubunda ise yapışıklık daha fazlaydı ve keskin diseksiyona ihtiyaç duyuldu. Bu değerlendirme Petersen ve arkadaşlarının tanımlamış olduğu ve cilt, kas fasyası ve sinirdeki iyileşme ve yapışıklık düzeylerini gözlemleyen sınıflandırma ile yapıldı(24) (Tablo 2).

**Tablo 2 :** Petersen ve ark. makroskopik görünüm sınıflandırması.

<i>Doku</i>	<i>Derece</i>	<b>Tanımlama</b>
Cilt ve kas fasyası	1	Cilt veya kas fasyasının tamamı kapanmış
	2	Cilt ve kas fasyasının bir kısmı açık
	3	Cilt ve kas fasyasının tamamı açık
Sinir yapışıklığı ve ayrılması	1	Diseksiyon yok veya hafif künt diseksiyon
	2	Künt diseksiyon gerekli
	3	Keskin diseksiyon gerekli

Bu sınıflandırmaya göre, SF ve AS uygulanan gruplar karşılaştırıldı (Tablo 3). Genel görünüm itibariyle cilt ve kas fasyası açısından her iki grup arasında bir farka rastlanmadı. AS kullanılmış grupta, sinirdeki yapışıklık daha düşüktü. İstatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0,001$ ).

**Tablo 3:** Grupların karşılaştırılması

Grup	<i>Deri ve kas fasyası</i>		<i>Sinir yapışıklığı ve ayrılması</i>	
	SF grubu	AS grubu	SF grubu	AS grubu
1	1	1	3	2
2	1	1	3	2
3	1	1	2	2
4	1	1	3	1
5	1	1	2	1
6	1	1	3	2
7	1	1	3	2
8	1	1	2	2
9	1	1	3	1
10	1	1	2	2
11	1	1	2	2
12	1	1	3	2
13	1	1	2	1
14	1	1	2	2
15	1		3	
16	1		2	
<b>p</b>	p> 0,05		p= 0,001	

### 4.3. Histolojik Bulgular

Histolojik değerlendirmede kriter olarak matür, miyelinli akson sayısı ve ortalama akson çapı kullanıldı. Bu değerlendirme için hem iyileşme hattından hem de sinirin distal hattından kesitler alındı. Tüm grupların karşılaştırmaları tablolarda verildi.

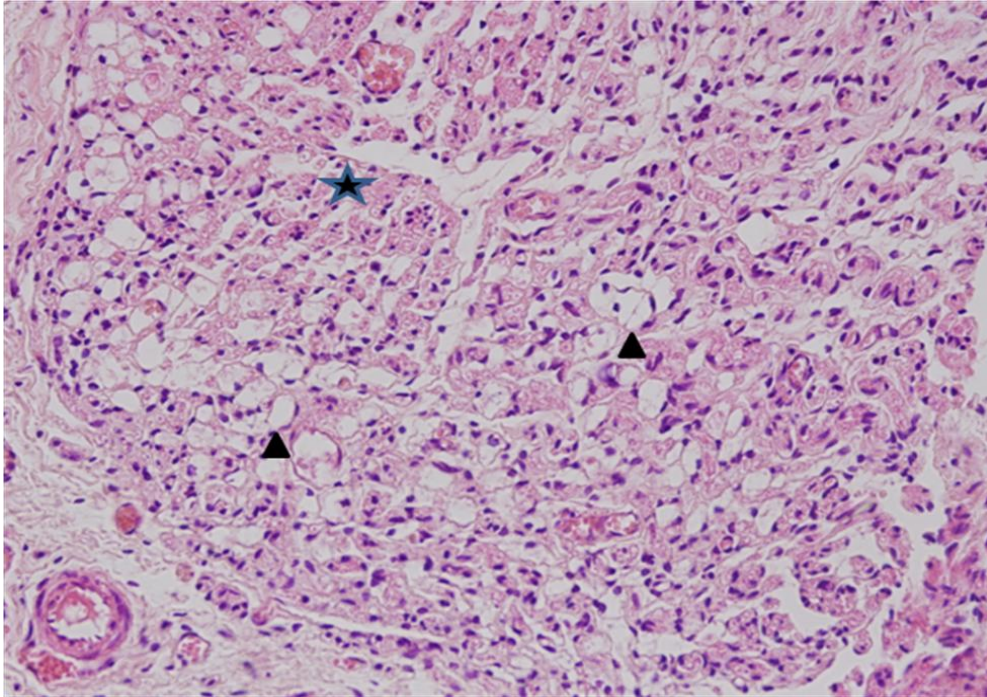


1. grupta (epinöral dikiş + SF grubu), tamir hattında miyelinli sinir liflerinde Aksonal rejenerasyon izlendi. Distalinde ise miyelinli sinir liflerinde az miktarda Aksonal rejenerasyon yanında yaygın endonöral kollajen izlendi. Aksonların atrofik olduğu görüldü. Proksimal ve distal kesitler arasında çaplarda aritmetik olarak azalma olduğu görüldü.

2. grupta (askı dikişi + SF grubu), tamir hattında miyelinli sinir liflerinde Aksonal rejenerasyon yanında yer yer endonöral kollajen izlendi. Distalinde ise miyelinli sinir liflerinde Aksonal rejenerasyonun yanı sıra yaygın endonöral kollajen izlendi. Fibrotik alanların diğer gruplara göre daha fazla olduğu gözlemlendi.

3. grupta (epinöral dikiş + AS grubu), tamir hattında miyelinli sinir liflerinde yaygın aksonal rejenerasyon izlendi. Distal kesitlerde yaygın Aksonal rejenerasyona ilave olarak yer yer endonöral kollajen yapımı izlendi. Miyelinli akson çaplarının hem proksimale hem de diğer gruplara göre daha iyi olduğu gözlemlendi.

4. grupta (askı dikişi + AS grubu), tamir hattında miyelinli sinir liflerinde yaygın aksonal rejenerasyon izlendi. Miyelinli akson sayısının diğer gruplara göre daha fazla olduğu gözlemlendi. Distal kesitlerde ise az miktarda aksonal rejenerasyon ve yer yer endonöral kollajen yapısı olduğu görüldü.



**Resim 10:** Grup 1 tamir bölgesine ait transvers kesit. Ok başları: rejenere miyelinli aksonlar, yıldız: fibrozis (H&E X400)

**Tablo 4:** İyileşme hattında akson sayısı karşılaştırılması

<i>İyileşme hattındaki akson sayısı</i>			
	Epinöral dikiş grubu	Askı dikişi grubu	p
SF grubu	1219,75±660,713	1017,13±422,445	0,477
AS grubu	2951,86±1173,411	2426,43±1365,383	0,455
p	0,007	0,034	

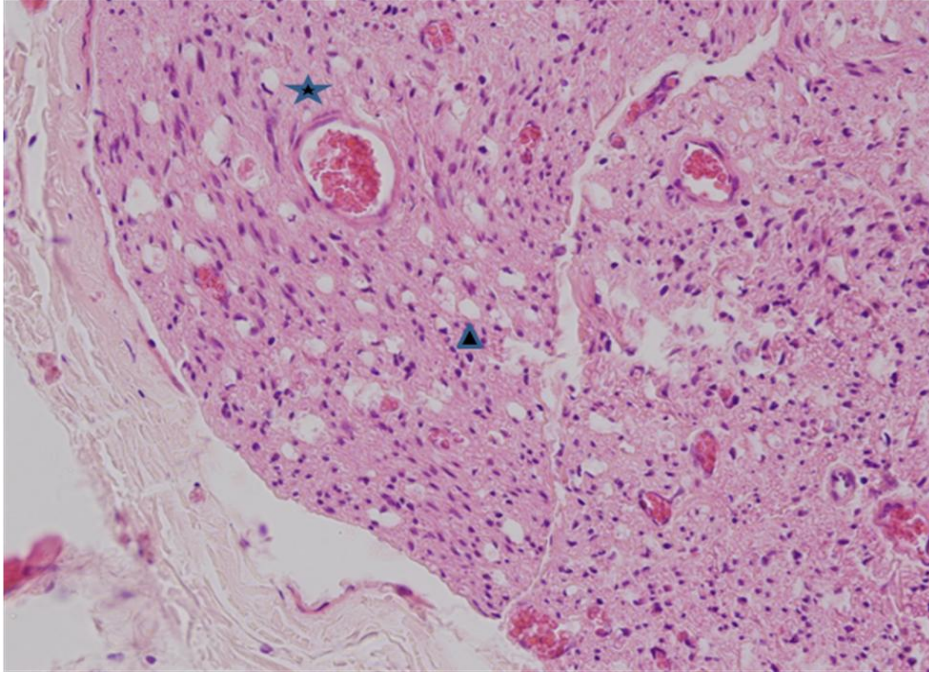
İyileşme hattına bakıldığında akson sayısı açısından; epinöral dikiş ve askı dikişi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Fakat SF grubu ve AS grubu karşılaştırıldığında AS grubu istatistiksel olarak daha iyi olduğu gözlenmiştir(p=0,007, p=0,034). (tablo 4)

**Tablo 5:** İyileşme hattı ortalama akson çapı karşılaştırılması.

<i>İyileşme hattında ortalama akson çapı</i>			
	Epinöral dikiş grubu	Askı dikişi grubu	p
SF grubu( $\mu\text{m}$ )	12,135±4,9265	9,037±2,6819	0,020
AS grubu( $\mu\text{m}$ )	15,109±3,3533	12,989±3,9638	0,076
p	0,032	0,001	

İyileşme hattında ortalama akson çapına bakıldığında; epinöral dikiş ve askı dikişi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir (p=0,020). Epinöral dikiş ve askı dikişi arasındaki tek istatistiksel fark burada bulunmuş olup bu epinöral dikiş lehine olduğu gözlenmiştir (tablo 5). SF grubu ile AS grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olup, bu fark AS grubu lehinedir(p=0,032, p=0,001).



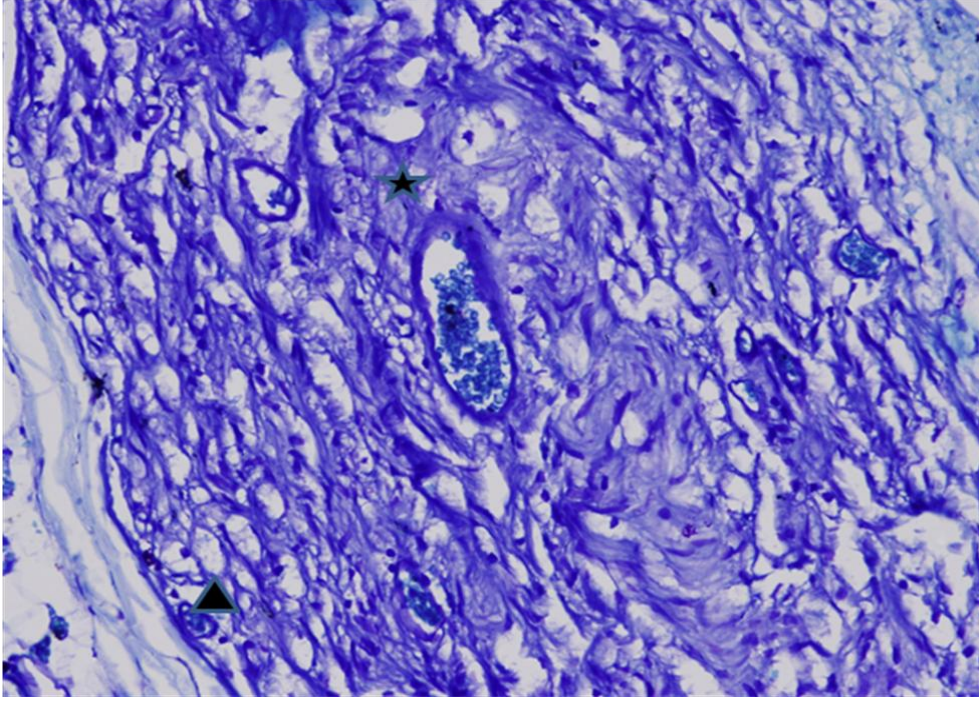


**Resim 11:** Grup 2 distal bölgesine ait transvers kesit. Ok başı: miyelinli akson, yıldız: fibrozis (H&E X400)

**Tablo 6:** Distalde akson sayısı karşılaştırılması.

<i>Distalde akson sayısı</i>			
	Epinöral dikiş grubu	Askı dikişi grubu	p
SF grubu	508,25±161,639	431,13±175,025	0,375
AS grubu	1448,71±944,866	2168,71±967,091	0,184
p	0,016	0,003	

Sinin distalinden alınan kesitlerde akson sayısına bakıldığında; epinöral dikiş ve askı dikişi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi. SF grubu ve AS grubu arasında ise, AS lehine, istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $p=0,016$ ,  $p=0,003$ ) (Tablo 6).

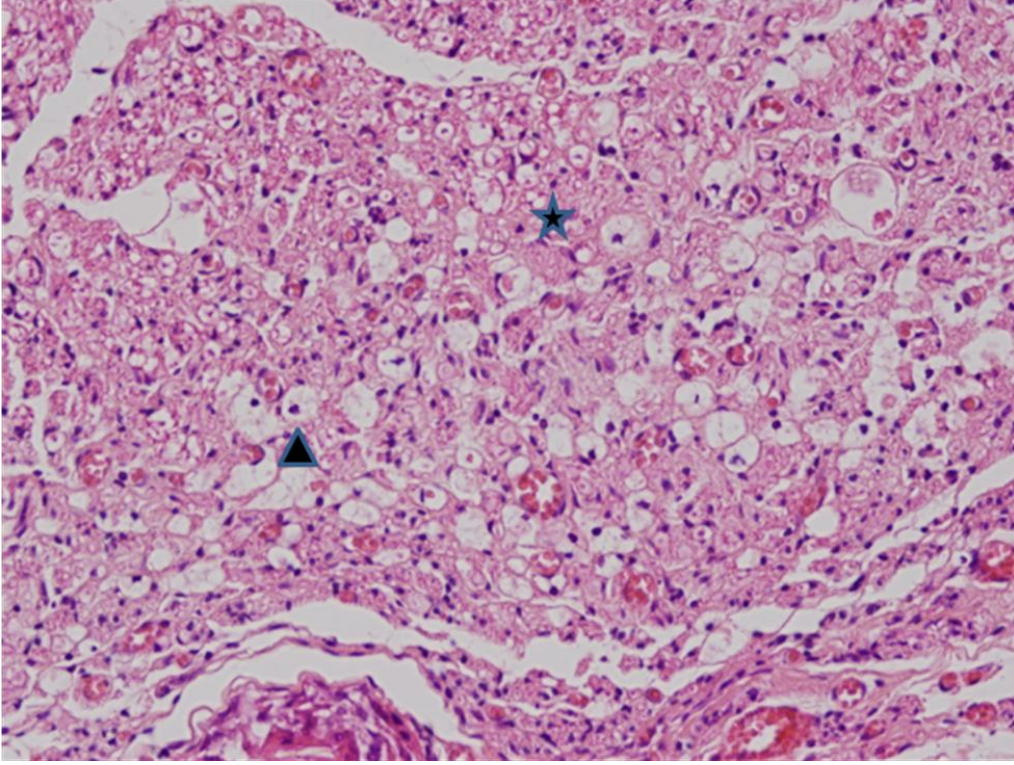


**Resim 12:** Grup 3 distal bölgesine ait transvers kesit. Ok başı: miyelinli akson, yıldız: fibrozis (TB X400)

**Tablo 7:** Distalde ortalama akson çapı karşılaştırılması.

<i>Distalde ortalama akson çapı</i>			
	Epinöral dikiş grubu	Askı dikişi grubu	p
SF grubu ( $\mu\text{m}$ )	8,8395 $\pm$ 4,7676	9,1920 $\pm$ 2,8870	0,779
AS grubu ( $\mu\text{m}$ )	11,7825 $\pm$ 5,2127	12,8935 $\pm$ 5,5045	0,516
p	0,070	0,013	

Sinirin distalinden alınan kesitlerde ortalama akson çapına bakıldığında; epinöral dikiş ve askı dikişi arasında istatistiksel olarak fark bulunamadı. SF grubu ve AS grubu karşılaştırıldığında ise askı dikişi ile onarılmış grupta AS lehine anlamlı bir sonuç bulundu( $p=0,013$ ) (tablo 7).



**Resim 13:** Grup 4 tamir bölgesine ait transvers kesit. Ok başı: miyelinli akson, yıldız: fibrozis (H&E X400)

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda siyatik sinir yaralanması modelinde, insan amniyon sıvısı ve askı dikişi yönteminin kullanılmasının avantajları olabileceğinin araştırılması amaçlanmıştır. İnsan amniyon sıvısı deney gruplarının hepsinde hem ortalama akson sayısı, hem de ortalama akson çapı açısından daha iyi sonuçlar ortaya çıkarmıştır. Askı dikişi yönteminin ise epinöral dikişe bir üstünlüğü gösterilememiştir.

Sinir yaralanma modeli oluşturabilmek için köpek, kurbağa, domuz, fare ve rat gibi birçok denek kullanılmıştır. Buna rağmen, insandaki periferik sinire benzerlik göstermesi, rejenerasyonun hızlı ve etkin olması ve ucuza mal edilebilir olması nedeniyle ratlar daha sık kullanılır ve çalışmamızda bu nedenle ratı tercih ettik. Siyatik sinir yaralanma modeli olarak sıklıkla popliteal bölgenin 1 cm yukarısından keskin bistüri ile kesilir. Çalışmamızda bu yöntemi kullandık (1).

İnsan amniyon sıvısı birçok büyüme faktörü, hiyalüronik asit, HASA, laminin ve fibronektin ihtiva eder. Bu büyüme faktörleri arasında, NGF, IGF-I, IGF-II, FGF ve EGF yer alır. Bu büyüme faktörleri ve makromoleküller 2. Trimesterde amniyosentez sonrası elde edilmiş insan amniyon sıvısında bolca yer almaktadır. Bu faktör ve moleküllerin dışarıdan ilavesinin sinir iyileşmesini olumlu etkilediği deneysel çalışmalarda gösterilmiş olup, insan amniyon sıvısı ile yapılmış deneysel çalışmalar da mevcuttur (2, 20, 25, 26, 27).

Özellikle NGF, duyuşal nöronların gelişiminde önemli bir rol oynarken, motor nöronların gelişiminde minimal etkisi vardır. FGF ise sinir gelişimini direkt nöral elementler üzerinden ve dolaylı olarak da Schwann hücre proliferasyonu yolu ile olumlu etkilemektedir. Laminin ve fibronektin gibi glikoproteinler ise Schwann hücresinde yer alan ve aksonal elongasyona yardım eden moleküllerdir (2, 28, 29).

Özgenel ve arkadaşlarının rat siyatığı üzerine AS kullandıkları çalışmada, Petersen ve arkadaşlarının makroskopik sınıflamasına göre, AS grubunda deney grubuna nazaran



belirgin derecede sinir yapışıklığında azalma gözlenmiştir. Bu sonuçlar bizim çalışmamızda da benzer şekilde bulunmuştur (2, 24).

Özgenel ve arkadaşlarının bu çalışmasında, AS ve SF grupları arasında akson sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamamasına rağmen, akson çapı AS grubunda anlamlı derecede iyidir. Bizim çalışmamızda ise hem akson sayısı hem de akson çapı açısından AS grubu daha iyi bulunmuştur (2).

Chaiyasate ve arkadaşlarının rat siyatığı üzerinde yapmış olduğu çalışmada, FK-506, FGF, SF karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada FGF uygulanan grubun SF uygulanan gruptan akson sayısı açısından istatistiksel olarak daha iyi sonuç verdiği gözlenmektedir. Amniyon sıvısı içeriğinde FGF'nin yanı sıra birçok büyüme faktörü bulunması bu durumla korelasyon göstermektedir (30).

Apel ve arkadaşlarının yine rat siyatığı üzerine yapmış olduğu çalışmada, IGF-I ve yaş grupları karşılaştırılmıştır. IGF-I uygulanan ratlarda, SF uygulanan ratlara nazaran hem akson çapı hem de akson sayısı açısından anlamlı bir artış gözlenmiştir (31).

Ayan ve arkadaşlarının insan plasenta süspansiyonunun sinir iyileşmesindeki etkisini araştırdıkları çalışmada akson sayılarına bakıldığında, test grubu tamir bölgesindeki akson sayısı anlamlı derecede fazlaydı. Distaldeki akson sayısı ise fazla fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi (3).

Özgenel ve arkadaşlarının yapmış olduğu başka bir çalışmada epinörektomi yapılmış rat siyatığında insan amniyon zarı ve HA enjeksiyonunun skar dokusu oluşumuna etkisi araştırılmış olup bu ikisinin kombine edilmiş olduğu grupta yapışıklık düzeyinin minimal olduğu bulunmuştur. Bunun dışında hiyaluronik asidin sinir iyileşmesinde skar dokusunu azaltması ve dolayısıyla sinir iyileşmesine olumlu katkıları olabileceği bildirilen başka çalışmalara literatürde rastlanmaktadır. AS içindeki hiyaluronik asidin yanı sıra HASA'nın da bulunması ve bunun çevre dokulardan hiyaluronik asit sentezini artırması başka bir olumlu yönüdür (32, 33).

Sarıgüney ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada büyüme faktörleri açısından zengin bir içeriğe sahip olduğu bilinen platelet-zengin plazmanın (PRP) sinir iyileşmesine olumlu katkıları araştırılmıştır. 6 adet epinöral dikiş ile onarım yapılmış olan gruplarında PRP uygulanan siyatik sinirlerde miyelin kalınlığını anlamlı ölçüde yüksek bulmuşlardır. 2 adet epinöral dikiş ile onarım yaptıkları grupta ise böyle bir fark gözlenmemiştir (34).

Periferik sinir yaralanmalarında, onarım için kullanılan tekniklere literatürde sıklıkla rastlanmaktadır. Klasik epinöral dikişin yanı sıra, fasiküler onarım, epiperinöral onarım gibi yöntemler klasik olarak tarif edilmekle birlikte başka metodlar da denenmeye devam edilmektedir. Epinöral manşon (sleeve) nörorafi, epinöral dikişe ek olarak askı dikişi, metal halka kullanımı, fibrin yapıştırıcısı, lazer kullanımı gibi birçok yöntem literatürde yer almıştır. Bunlar dışında end-to-side yöntemi de literatürde sıkça denenilen yöntemlerdendir. Yapılan çalışmalarda yöntemlerin birbirilerine karşı üstünlüklerinin olabileceği belirtilse de bu konu mikrocerrahlar tarafından araştırılmaya devam etmektedir (5, 21, 22, 35).

Bustamante ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada klasik epinöral dikiş, epinöral dikişe ek olarak askı dikişi ve sinir grefti karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada akson sayısı açısından gruplar arasında fark bulunamamıştır. Akson çapı açısından ise klasik epinöral dikiş, sinir grefti grubundan daha iyi bulunmuştur (35).

Siemionow ve arkadaşlarının yapmış olduğu başka bir çalışmada epinöral manşon dikişi, klasik epinöral dikiş ile karşılaştırılmış olup, bu karşılaştırma için siyatik fonksiyon indeksi kullanılmıştır. Dört ve sekizinci haftalarda epinöral manşon dikişi anlamlı derecede iyiyken on ikinci haftada, iki grup arasında anlamlı fark gözlenmemiştir (5).

Kayıkçioğlu ve arkadaşlarının eksternal metalik halka kullanarak yaptığı onarım ve klasik epinöral dikişi karşılaştırdıkları çalışmada, histolojik olarak proksimal segmentte fark gözlenmezken, distalde akson çapı açısından eksternal metalik halka daha iyi sonuç vermiştir (21).

Çalışmamızda, insan amniyon sıvısının sinir iyileşmesi üzerine yapmış olduğu olumlu katkısı nedeniyle, klinik kullanımı için ileri araştırmaların yapılması, doz saptamalarının düzenlenmesi ve ihtiva ettiği moleküllerin detaylı incelenmesi gerektiği kanısına varılmıştır.

Askı dikişi yönteminin ise, klasik epinöral dikişe bir alternatif olabileceği ve cerrahların envanterinde yer alabileceğini düşünmekteyiz. Askı dikişi kullanımında kullanılacak dikiş sayısı ve onarım hattına uzaklığı araştırma konusu olabilecek diğer konular arasında yer almaktadır.

## 6. SONUÇLAR

Yaptığımız çalışmada şu sonuçlara varılmıştır:

1. Ratlar periferik sinir yaralanması modeli için uygun denekler olup kısa sürede sinir iyileşmesinin histolojik görüntüleme yapılabilmesi açısından avantajlıdır.
2. Ameliyat edilen ratların hiçbirinde enfeksiyon görülmemiş olup, yara yeri problemleri de görülmemiştir.
3. AS kullanılan grupta, SF kullanılan gruba göre sinirde anlamlı derecede yapışıklık azdır ve bu sinir iyileşmesini olumlu etkilemektedir.
4. AS kullanılan ratlarda, epinöral dikiş kullanılan grubun distaldeki akson çapı dışındaki tüm verilerde, SF karşısında anlamlı derecede iyidir. Epinöral dikiş kullanılan grubun distaldeki akson çapında da AS grubu, SF grubundan daha yüksek rakamlara sahip olduğu halde, istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur.
5. Epinöral dikiş ve askı dikişi karşılaştırıldığında, tek anlamlı fark SF kullanılan ratların iyileşme hattındaki ortalama akson çapında olup, bu değer epinöral dikiş lehinedir. Diğer hiçbir parametrede, epinöral dikiş ve askı dikişi arasında anlamlı fark bulunamamıştır.
6. Amniyon sıvısının ihtiva ettiği moleküller sebebiyle sinir iyileşmesinde olumlu katkılarının olduğu, fakat bu moleküllerin etki mekanizmalarının detaylı araştırmalarla ortaya konması gerektiği kanaatine varılmıştır.

## 7. ÖZET

### **İnsan Amniyon Sıvısı Ve Farklı Dikiş Tekniklerinin Sinir İyileşmesindeki Rolü.**

Bu deneysel çalışmada, insan amniyon sıvısı kullanımı ve askı dikişi yönteminin sinir iyileşmesi üzerine olumlu katkısının olup olmayacağını araştırmayı amaçlandı.

15 adet Spraque Dawley cinsi erkek ratın her iki siyatik siniri (30 adet sinir) kullanılarak oluşturduğumuz sinir yaralanma modelinde 4 grup oluşturuldu. 1. gruba 0,3ml SF ve epinöral dikiş, 2. gruba 0,3ml SF ve askı dikişi uygulandı. 3. gruba 0,3ml insan amniyon sıvısı ve epinöral dikiş ve 4. gruba da 0,3ml insan amniyon sıvısı ve askı dikişi uygulandı.

Sinir iyileşmesinin tamamlanması için 8 hafta bekledikten sonra tüm siyatik sinirler tekrar eksplore edildi. Makroskopik değerlendirmenin ardından, histolojik inceleme için, proksimal ve distalden kesi hattına 1cm uzaklıktan kesilerek alındı.

Rutin histolojik takiplerin ardından onarım hattı ve distalden uygun kesitler alınıp hematoksilen eozin ve toluidin blue ile boyandı ve hematoksilen eozin preparatlarında akson sayısı ve ortalama akson çapları tespit edildi. Makroskopik değerlendirme için Petersen ve arkadaşlarının kullandığı sınıflandırma kullanıldı.

Sonuçlar alındıktan sonra, tanımlayıcı istatistik olarak yüzde ortalama ve standart sapma kullanıldı. Gruplar arasında parametrik koşul taşıyanlarda Student-t testi kullanıldı. Makroskopik görünüm sınıflandırılması için paired-samples testi kullanıldı.

Sonuç olarak insan amniyon sıvısı kullanılan 3. ve 4. grupta makroskopik inceleme açısından sinir yapışıklığı ve iyileşmesi daha iyiydi ( $p=0,001$ ). Akson sayısı hem onarım hattında, hem de distalde anlamlı olarak daha iyi bulundu ( $p= 0,007$ ,  $p=0,034$ ,  $p= 0,016$ ,  $p=0,003$ ). Ortalama akson çapı açısından ise iyileşme hattında insan amniyon sıvısı daha iyiyken ( $p=0,032$ ,  $p= 0,001$ ), distalde, epinöral dikiş kullanılan grupta, insan amniyon sıvısı ve SF arasında fark yoktu( $p=0,070$ ). Askı dikişi atılan grupta ise yine insan amniyon sıvısı grubu daha iyiydi( $p=0,013$ ). Epinöral dikiş ve askı dikişi grupları karşılaştırıldığında ise tek anlamlı fark, SF kullanılan, onarım hattındaki ortalama akson çapıydı ve epinöral dikiş lehineydi ( $p=0,020$ ).



## **8. SUMMARY**

### **Role of Human Amniotic Fluid and Different Suture Technique in Nerve Regeneration**

In this experimental study, we search positive effects of human amniotic fluid (HAF) and anchor suturing, in nerve regeneration.

We prepare 4 group of nerve injury model, which contains 15 Sprague Dawley rats bilateral sciatic nerves (30 nerves). We used, epineural suture with 0,3ml SF in group 1, anchor suture with 0,3ml SF in group 2, epineural suture with 0,3ml human amniotic fluid in group 3 and anchor suture with 0,3ml human amniotic fluid in group 4.

We wait 8 weeks for nerve regeneration and than all the sciatic nerves are explored. For histological observation, all of the nerves are explored and taken from 1cm distance from repair site, after macroscopic evaluation done.

After routine histological procedure, 5 $\mu$ m cross sections are taken, from the repair site and distal of the nerves. Axon counts and mean axon diameters are measured in the light microscope. Also a numerical grading scheme described by Petersen, et al., was used for gross evaluation.

Student-t test was used for statistical analysis of histological findings and paired-samples test used for gross evaluation.

As a result, group 3 and 4 (human amniotic fluid groups) have better results in gross evaluation of nerve adherence and separability ( $p=0,001$ ). Axon counts are also better in HAF groups, in repair site and distal segments ( $p= 0,007$ ,  $p=0,034$ ,  $p= 0,016$ ,  $p=0,003$ ). In terms of mean axon diameters, HAF groups have better results at repair site ( $p=0,032$ ,  $p=0,001$ ). In distal segments, there is no difference between HAF and SF which we use epineural suture (0,070), but HAF is better which we use anchor suture (0,013). The only difference between epineural suture and anchor suture is the mean axon diameter of the repair site which we use SF ( $p=0,020$ ).

## 9. KAYNAKLAR

1. Bayramiçli M: Deneysel Mikrocerrahi. ARGOS İletişim Hizmetleri Reklamcılık ve Ticaret AŞ, 1. Baskı, İstanbul 2005, s, 341-351
2. Özgenel GY, Gülaydan F: Effects of human amniotic fluid on peripheral nerve scarring and regeneration in rats. J Neurosurg 98: 371-377, 2003.
3. Ayan İ, Esenkaya İ, Karakaplan M, Germen B, Milcan A, Zorludemir S, Özcan C: Sıçan siyatik sinir iyileşmesinde insan plasenta süspansiyonunun etkisi. Acta Orthop Traumatol Turc, 41(2): 140-146, 2007.
4. Karaçal N, Koşucu P, Çobanoğlu Ü, Kutlu N: Effect of human amniotic fluid on bone healing. J Surg Res, 129: 283-287, 2005.
5. Siemionow M, Tetik C, Özer K, Ayhan S, Siemionow K, Browne E: Epineural sleeve neuroorrhaphy: surgical technique and functional results- a preliminary report. Ann Plast Surg 48: 281-285, 2002.
6. Mafi P, Hindocha S, Dhital M, Saleh M: Advances of peripheral nerve repair techniques to improve hand function: a systematic review of literature. The Open Orthopaedics Journal 6(suppl1: M7):60-68,2012.
7. Stoll G, Jander S, Myers RR: Degeneration and regeneration of the peripheral nervous system: from Augustus Waller's observations to neuroinflammation. J Peripher Nerv Syst 7(1): 13-27, 2002.
8. Kierszenbaum AL: Histoloji ve Hücre Biyolojisi. (çev: R. Demir) Palme Yayınları, Ankara 2006, s,214-216
9. Ross MH, Pawlina W: Histology: A text and atlas. Baltimore, Philadelphia, 5th ed, Lippincott Williams & Wilkins, 2006.

10. Junqueira LC, Carneiro J: Basic Histology: Text and atlas. 10th ed, New York, LANGE Mc Graw- Hill, 2003.
11. Burnett MG, Zager EL: Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. Neurosurg Focus: 16 (5): 1-7, 2004.
12. Robinson LR: Traumatic injury to peripheral nerves. Muscle & Nerve 23: 863-873, 2000.
13. Zochodne DW: The microenvironment of injured and regenerating peripheral nerves. Muscle Nerve Supplement 9: 33-38, 2000.
14. Green DP, Hotchkiss RN, Pederson WC: Green's Operative Hand Surgery. Philadelphia Churchill Livingstone, 1381-1404,1999.
15. Rummler LS, Gupta R: Peripheral nerve repair. Curr Opin Orthop 15: 215-219, 2004.
16. Quan D, Bird S: Nerve conduction studies and electromyography in the evaluation of peripheral nerve injuries. Orthopaedic Journal, 12: 45-51, 1999.
17. Frostick SP, Yin Q and Kemp GJ: Schwann cells, neurotrophic factors, and peripheral nerve regeneration. Microsurgery 18 : 397-405, 1998.
18. Sadler TW: Langman's Medikal Embriyoloji (çev. C Başaklar) Palme yayıncılık, Ankara, 1993, s.102-103.
19. Özgenel GY, Gülaydan F, Özcan M:Effect of human amniotic fluid on cartilage regeneration from free perichondrial grafts in rabbits. Br J Plast Surg, 57:423-428, 2004.
20. Siebert JW, Burd AR, Verheyden CN: Fetal wound healin: a biomechanical study of scarless healing. Plast Reconstr Surg 85: 495-504, 1990.
21. Kayıkçıoğlu A, Karamürsel S, Demirci M, Erdem S, Keçik A: a new epineural nerve repair technique with external metallic circle. Surg Neurol 62: 387-392, 2004.

22. Haastert K, Joswig H, Jaschke KA, Sami M, Grothe C: nerve repair by end-to-side nerve coaptation: histologic and morphometric evaluation of axonal origin in a rat sciatic model. *Neurosurgery* 66(3): 567-576, 2010.
23. Asato F, Butler M, Blomberg H, Gordh T: Variation in sciatic nerve anatomy: implications for a rat model of neuropathic pain. *J Peripher Nerv Syst* 5: 19-21, 2000.
24. Petersen J, Russell L, Andrus K, MacKinnon M, Silver J, Kliot M: Reduction of extraneural scarring by ADCON-T/N after surgical intervention. *Neurosurgery* 38: 976-984, 1996.
25. Merime TJ, Grant M, Tyson JE: Insulin-like growth factors in amniotic fluid. *J Clin Endocrinol Metab* 59: 752-755, 1984.
26. Müller H, Williams LR, Varon S: Nerve regeneration chamber: evaluation of exogenous agents applied by multiple injections. *Brain Res* 413: 320-326, 1987.
27. Danielsen N, Müller H, Pettmann B, Williams LR, Davis GE, Enqvall E, Manthorpe M, Varon S: Rat amnion membrane matrix as a substratum for regenerating axons from peripheral and central neurons: effects in a silicon chamber model. *Brain Res* 467(1): 39-50, 1988.
28. Pagnotta A, Tos P, Fornaro M, Gigante A, Geuna S, Battiston B: Neurotrophins and their receptors in early axonal regeneration along muscle-ven-combined grafts. *Microsurgery* 22: 300-303, 2002.
29. Frostick SP, Yin Q, Kemp GJ: Schwann cells, neurotrophic factors and peripheral nerve regeneration. *Microsurgery* 18: 397-405, 1998.
30. Chaiyasate K, Schaffner A, Jackson IT, Mittal V: Comparing FK-506 with basic fibroblast growth factor (b-FGF) on the repair of a peripheral nerve defect using an autogenous vein bridge model. *J Invest Surg* 22(6): 401-405, 2009.
31. Apel PJ, Ma J, Callahan M, Northam CN, Alton TB, Sonntag WE, Li Z: Effects of locally delivered IGF-1 on nerve regeneration during aging: an experimental study in rats. *Muscle Nerve* 41(3): 335-341, 2010.

32. Özgenel GY, Filiz G: Combined application of Human amniotic membrane wrapping and hyaluronic acid injection in epineurectomized rat sciatic nerve. *J Reconstr Microsurg* 20(2): 153-157, 2004.
33. Hagberg L, Gerdin B: Sodium Hyaluronate as an adjunct in adhesion prevention after flexor tendon surgery in rabbits. *J Hand Surg* 17A: 935-941, 1992.
34. Sarıgüney Y, Yavuzer R, Elmas C, Yenicesu I, Bolay H, Atabay K: Effect of platelet-rich plasma on peripheral nerve regeneration *J Reconstr Microsurg* 24(3): 159-167,2008.
35. Bustamante J, Socolovsky M, Martins RS, Emmerich J, Penini MG, Lausada N, Domitrovic L: Effects of eliminating tension by means of epineural stitches: a comparative electrophysiological and histomorphometrical study using different suture techniques in an animal model. *Arq Neuropsiquiatr* 69(2-B): 365-370, 2011.