

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ MERAM TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

Prof. Dr. Mustafa YEL
ANABİLİM DALI BAŞKANI

SİYATİK SİNİR KESİ MODELİNDE
ERİTROPOETİN İLE TZP(TROMBOSİTTEN
ZENGİN PLAZMA)'NIN REJENERASYON
ÜZERİNE ETKİSİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Recep Gani GÖNCÜ

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Burcak Kutluhan KAÇIRA

KONYA
2011

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	i
KISALTMALAR	iv
ŞEKİL DİZİNİ	vi
TABLO DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Periferik Sinir Anatomisi	4
2.1.1. Nöron.....	4
2.1.2. Aksonal İletim	7
2.1.3 Schwann Hücreleri ve Miyelin Kılıf.....	7
2.1.4 Siniri Çevreleyen Bağ Dokusu Elemanları	9
2.1.5 Vasküler Yapı.....	11
2.2 Periferik Sinir Yaralanmaları	12
2.2.1. Seddon Sınıflaması (1942).....	12
2.2.2. Sunderland Sınıflaması (1951).....	13
2.3 Sinir Dejenerasyonu ve Rejenerasyonu.....	16
2.3.1. Sinir Hücre Gövdesinde Meydana Gelen Değişiklikler.....	16
2.3.2. Proksimal Segmentte Meydana Gelen Değişiklikler	16
2.3.3. Distal Segmentte Meydana Gelen Değişiklikler	17
2.3.4. Rejenerasyonda Makrofaj ve Schwann Hücreleri	19
2.4. Nörotrofik Faktörler	19

2.4.1. Sinir Büyüme Faktörü (NGF)	20
2.4.2. Nörotrofin-3 (NT-3), -4/5 (NT-4/5) ve -6 (NT-6).....	20
2.4.3. Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF).....	20
2.4.4. Silier Nörotrofik Faktör (CNTF).....	21
2.4.5. Lösemi İnhibitör Faktör (LIF).....	21
2.4.6. Glia Kaynaklı Nörotrofik Faktör (GDNF)	21
2.5. Trombositler	21
2.6. Trombositten Zengin Plazma (TZP)	23
2.6.1. TZP Çalışma Prensibi.....	25
2.6.2. TZP Kullanım Alanları.....	26
2.6.3. TZP İçerisindeki Büyüme Faktörleri.....	27
2.6.3.1. Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF).....	27
2.6.3.2. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)	27
2.6.3.3. Transforme Edici Büyüme Faktörü-Beta (TGF- β)	28
2.6.3.4. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1 ve 2 (ILGF-1 ve ILGF-2)	28
2.6.3.5. Fibroblast Büyüme Faktörü 1 ve 2 (FGF-1 ve FGF-2).....	29
2.6.3.6. Epidermal Büyüme Faktörü (EGF).....	29
2.7. Eritropoetin (EPO)	30
2.8. Periferik Sinir Cerrahisi	31
2.8.1. Onarım Teknikleri.....	31
2.9. Elektrofizyolojik Ölçümler	34

2.9.1. Sınır Lifinde Aksiyon Potansiyeli Oluşum Mekanizması.....	34
2.9.2. Sınır İletimini Etkileyen Faktörler	36
2.9.3. Bileşik Aksiyon Potansiyeli (BAP).....	36
2.9.4. Bileşik Aksiyon Potansiyelinin Kaydedilmesi.....	38
2.9.4.1. Ekstraselüler Kayıt Yöntemi	38
2.9.4.2. “Suction” Yöntemi	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM	40
3.1. Gruplar	40
3.2. TZP Hazırlanışı	41
3.3. Cerrahi İşlem.....	42
3.4. Elektrofizyolojik Değerlendirme.....	44
3.5. Histopatolojik Değerlendirme	48
3.6. İstatistiksel Analiz	50
4. BULGULAR	51
4.1. Elektrofizyolojik Bulgular.....	51
4.2. Histopatolojik Bulgular	55
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	60
6. ÖZET.....	68
7. ABSTRACT	70
8. TEŞEKKÜR.....	72
9. KAYNAKLAR.....	73

KISALTMALAR

- BAP: Bileşik Aksiyon Potansiyeli
- BDNF: Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör
- CNTF: Silier Nörotrofik faktör
- EGF: Endotelyal büyüme faktörü
- EPO: Eritropoetin
- EPO-R: Eritropoetin Reseptörleri
- FGF: Fibroblast büyüme faktörü
- GDNF: Glia kaynaklı Nörotrofik faktör
- IL-6: İnterlökin-6
- ILGF: İnsülin benzeri büyüme faktörü
- $\dot{I}H_{bap}$: Latans hızı
- $\dot{I}H_{md}$: Tepe hızı
- LIF: Lösemi inhibitör faktör
- MD: Maksimum depolarizasyon
- NGF: Sinir Büyüme Faktörü
- NT-3: Nörotrofin-3
- NT-4/5: Nörotrofin-4/5
- NT-6: Nörotrofin-6
- PDGF: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü

PRGF: Büyüme faktörlerinden zengin plazma(plasma rich in growth factors)

SÜDAM: Selçuk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi

TGF: Transforme edici büyüme faktörü

TLAP: Tek Lif Aksiyon Potansiyeli

TNF: Tümör Nekroz faktör

TZP-PRP: Trombositten Zengin Plazma – Platelet Rich Plasma

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1 : Periferik sinir duyu ve motor köklerin şematik görünümü	4
Şekil 2 : Sinir hücre anatomisi.....	5
Şekil 3 : Uzantılarına göre sinir hücresi sınıflaması	6
Şekil 4 : Sinir kılıfları şematik anatomisi	8
Şekil 5 : İletim hızının miyelinli ve miyelinsiz aksonlarda akson çapına bağlı olarak değişimi	9
Şekil 6 : Periferik sinirlerin mikrovasküler dolaşımı. A: genel dolaşım şeması, B: intrinsek-ekstresek bağlantı şeması.....	11
Şekil 7 : Periferik sinir yaralanmalarının (Sunderland) sınıflandırılması.....	14
Şekil 8 : Periferik sinir dejenerasyonu ve rejenerasyonu.....	18
Şekil 9 : Trombositin şematik yapısı	22
Şekil 10 : Santrifüj işlemi sonrası kanın tabakalara ayrılmış şematik görünümü....	25
Şekil 11 : Epinöral onarım şematik görünümü	32
Şekil 12 : Perinöral onarım şematik görünümü	32
Şekil 13: Sinir lifinde (tek lif) aksiyon potansiyeli oluşumu ile Na^+ , K^+ zar geçirgenliği ilişkisi	35
Şekil 14 : Ekstrasellüler kayıt sistemin şematik görünümü	38
Şekil 15: “Suction” kayıt sistemi şematik gösterimi	39
Şekil 16: Eppendorf tüpüne alınan 1 ml kan (A) ve santrifüj sonrası plazma-şekilli eleman ayırımı (B).....	41
Şekil 17 : Aktive olmuş TZP (A) ve cerrahi alana hemen uygulanması (B).....	41
Şekil 18 : Cerrahi öncesi hazırlık (A) ve siyatik sinir diseke edildikten sonra aksonotomi öncesi biyomikroskoptan çekilmiş görünümü (B).....	42
Şekil 19 : Aksonotomi sonrası görünüm.....	43
Şekil 20 : Anastomoz sonrası görünüm.....	43
Şekil 21 : Her iki siyatik sinirin lomber pleksustan ayak bileğine kadar diseke edilmiş görünümü. Okla gösterilen anastomoz bölgesi.....	45

Şekil 22 : Siyatik sinir diseksiyonu.....	45
Şekil 23 : Organ banyosu düzeneği (sinir kutusu).....	46
Şekil 24 : Organ banyosunda sinirin distali (sağda) suction eletrot içinde proksimalde (sol) uyaran elektrotlara yatırılmış halde kayıt alınıyor.....	46
Şekil 25 : BAP eğrisinin analizi.....	47
Şekil 26 : Tüm sinir iletim çalışmasının deney düzeneğinin şeması.....	47
Şekil 27 : Hematoksilen-Eozin ile boyanmış sinir kesitleri.....	49
Şekil 28 : Clemex Vision Lite 3,5 Image Analysis programı ile Histopatolojik analiz örneği.....	49
Şekil 29 : BAP maksimum depolarizasyon değerleri.....	53
Şekil 30 : BAP grafiği altında kalan Alan değerleri.....	53
Şekil 31 : Latans hızı.....	53
Şekil 32 : Maksimum depolarizasyon hızı.....	53
Şekil 33 : miyelinli liflerin 2.ve 4.aydaki dağılımları.....	56
Şekil 34 : İkinci ayda histopatolojik bulguların solda Hematoksilen-Eozin ile boyanan siyatik sinir enine kesitleri ile sağda Toluidine Blue boyası ile boyanan kesitler.....	57
Şekil 35 : Dördüncü ayda EPO ve Kontrol grubu HE ve TB boyalı görünümleri.....	58

TABLO DİZİNİ

Tablo 1: Sinir Yaralanması Sınıflamaları.....	15
Tablo 2: iki ve dördüncü ayda iletim elde edilen sinir sayıları	52
Tablo 3: iki ve dördüncü ayda iletim değerleri ortalama ve standart hataları.....	52
Tablo 4: iki ve dördüncü ayda reobaz değerleri.....	54
Tablo 5: Dokuların 2. ve 4. ayda miyelinli lif sayı ve oranları	55
Tablo 6: iki ve dördüncü ayda miyelinli sinir lifi dağılımları (yüzde ort±st hata)...	56

1. GİRİŞ

Periferik sinir sistemiyle ilgili ilk tanımlamanın MÖ. IV. yüzyılda Hipocrates ve MS. III. yüzyılda Herophilus tarafından yapıldığı, sinir hasarı sonrası motor ve duyu kusurunu Galen'in (130–200) tanımladığı, ilk sinir tamirinin ise İran'lı Rhazes (850-932) ve İbn-i Sina (980–1037) tarafından gerçekleştirildiği bildirilmektedir. 19. yüzyıl başlarında nöron ve akson arasındaki ilişkiyi Johannes Von Purkinje'nin (1787–1869) aydınlatması, 1839'da Schwann'ın Schwann hücresini tanımlaması ve aynı yıllarda Robert Remark'ın(1815–1855) miyelinize ve miyelinize olmayan sinir liflerini göstermesi, sinir hasarı tarihinde köşe taşı olmuştur. Augustus Volney Waller (1816–1870) bu sayede halen geçerli olan “Wallerian dejenerasyon” fenomenini tariflemiştir. Hueter 1873'te, geleneksel epinöral onarım yöntemini tanımlamış periferik sinir hasarı ve onarımına ilgi artmış, çalışmalar hız kazanmaya başlamıştır (1).

Sinirdeki ileti hızı ilk defa Herman Von Helmholtz (1821–1894) ve Guillaume Duchenne (1806–1875) tarafından ölçülmüş, 1940'larda periferik sinir stimülasyonunun perkütan elektrodlarla ölçülmesi ile bugün EMG'nin temelleri olan motor ve duyu ileti hızları ortaya çıkarılmıştır. Kurze ve Smith birbirlerinden bağımsız olarak 1964'te operasyon mikroskobunun önemini periferik sinir cerrahisinde belirtmişlerdir (1).

Uç-uca anastomoz modelinle gerilimsiz uygulanan tekniğin yararları elektrofizyolojik parametrelerle 1975'te gösterilmiş (2), motor-duyu lifi ayrımı için boyama metodları (3) kullanılabileceği 1976'larda tanımlanmıştır.

Periferik sinirler, omurilik ön boynuzdaki motor nöronların, dorsal gangliyonlardaki duysal nöronların ve sempatik gangliyonlardaki sempatik nöronların destek bağ doku ile çevrili aksonal uzantılarından oluşan ve sonlandıkları hedef organa göre motor, duyu ya da otonomik fonksiyonları olan yapılardır (4).

Periferik sinirler oldukça uzun olan seyirleri nedeniyle değişik bölgelerde travmaya maruz kalırlar. Periferik sinir yaralanmalarına neden olan faktörler içerisinde en sık etken travma olmakla birlikte, iskemik olaylar, enfeksiyon, inflamasyon, iyonize radyasyon, traksiyon, doğum travması, eksternal kompresyon, yanık ve elektrik çarpması gibi etkenler

de periferik sinir hasarında rol oynayabilmektedir (5). Yaralanmanın nedeninden bağımsız olarak sinir dokusunda iyileşmenin tam olmaması veya sinirin anormal rejenerasyonu, sıklıkla fonksiyonel kayıp ve ağrı ile sonuçlanmaktadır. Bu nedenle periferik sinir yaralanmaları sonrasında tedavideki ana amaç, sinir bütünlüğünü tekrar sağlayarak iletimin geri dönüşünü sağlamak ve kaybolan motor veya duyu fonksiyonlarını tekrar yerine koymaktır. Periferik sinir yaralanmalarının tedavisindeki temel prensip, skar ve fibrotik dokunun eksize edilmesi, sinir uçlarının tazelenmesi ve gerginlik olmaksızın sinir uçlarının bir araya getirilerek anastomoz yapılmasıdır (6). Tedavide, fonksiyonların maksimum düzeyde geri dönüşünü sağlamak için aksonların uygun doğrultuda distal güdüğe yönlendirmelerini sağlamak gerekmektedir.

Yeni teknolojilerin gelişimi, cerrahi mikroskop kullanımının yaygınlaşması, epinöral ya da perinöral dikişler ile gerilimsiz ve anatomik olarak sinir uçlarının karşılıklı sütüre edilebilmeleri (7), sinir dejenerasyon ve rejenerasyon işlemlerinin moleküler mekanizmalarının aydınlanmaya başlaması ile sinir cerrahisi alanında daha başarılı sonuçlar elde edilmeye başlanmıştır.

Cerrahi başarıyı artırmak için farklı dikiş materyalleri tanımlanmış, lazer, hiperbarik oksijen uygulaması, radyasyon veya manyetik alan gibi farklı onarım teknikleri denenmiştir (8; 9; 10; 11; 12; 13). Ayrıca sistemik olarak kullanılan birçok ilaç veya hormonun bu alandaki etkisi araştırılmıştır. Onarım hattında kesik sinir uçlarının arter, ven, fasya, epinöral tüp, prezerve dura, pseudosinovya, laktat polimerleri, polietilen, kauçuk, tantalyum ve silikon gibi sentetik ve sentetik olmayan materyaller ile sarılması denenmiş, fakat rutin klinik uygulamaya geçememiştir (14; 15; 16). Buna karşın, bugün halen sinir hasarı sonrası sinir iyileşmesinin, duyusal ve fonksiyonel olarak hasar öncesi dönem ile aynı olmasını sağlayabilecek bir tedavi şekli tanımlanamamıştır.

Nörotrofik faktörler ve büyüme faktörleri, sinir hücrelerinin yaşayabilirliklerini desteklemenin yanı sıra, aksonal büyümeyi de uyarırlar (17). Deneysel olarak, yaralanma sonrası sinir hücre ölümünü azaltmak ve sinir iyileşmesini desteklemek için bu faktörlerle yaygın bir şekilde çalışmalar yapılmasına, doku mühendisliği alanındaki ilerlemelere, rekombinant DNA teknolojisindeki yeniliklere rağmen, henüz klinik kullanıma girmiş bir faktör mevcut değildir.

Trombositten zengin plazma (TZP), son yıllarda klinik kullanıma giren, halen birçok deneysel çalışmada kullanılan ve özellikle kemik iyileşmesi, kırıldak rejenerasyonu, yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkileri ortaya konulmuş ve ortopedik ve maksillofasiyal cerrahide kullanım alanı bulmuş olan biyolojik bir üründür (18; 19; 20). İçerisinde çok sayıda büyüme faktörü olduğu bilinen bu ürün, trombositlerin yoğunlaştırılması ve içeriklerindeki büyüme faktörlerini salgılamaları için aktive edilmeleri temeline dayanmaktadır (18).

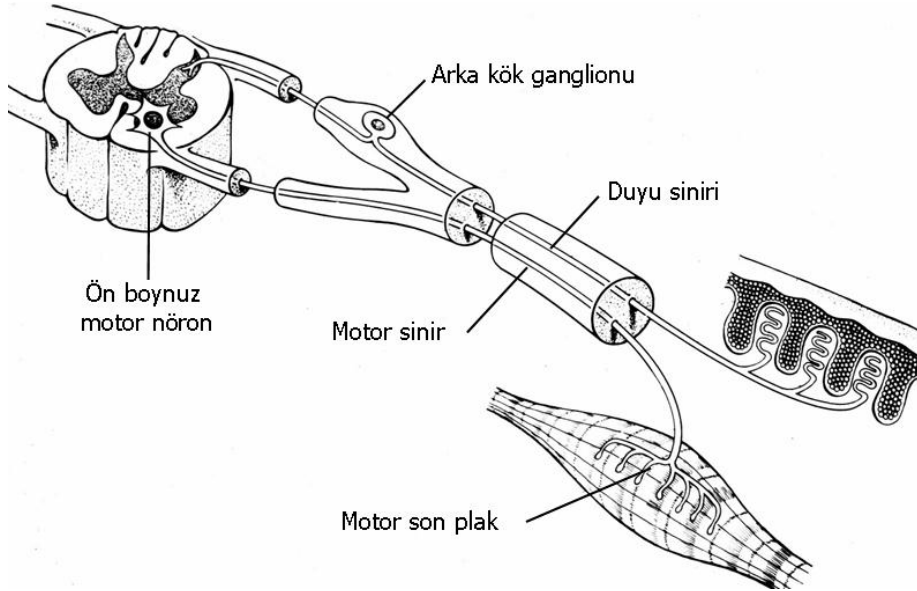
Eritropoetin (EPO) kırmızı kan hücrelerinin üretiminin düzenlenmesinde ve hematopoezde önemli rol oynamaktadır. EPO böbreklerde sentez edilmekte ve anti apoptotik aktivitesi sayesinde eritrosit hücrelerinin hayatta kalmasını sağlamaktadır. Eritropoetin periferik sinir sisteminde de hem normal hem de patolojik koşullarda önemli rol oynadığı son çalışmalarda gösterilmiştir. EPO; periferik sinir sisteminde ve schwann hücrelerinde potansiyel sinir koruyucu aktivitenin artmasını sağlar, Schwann hücrelerinde EPO reseptörleri vardır ve bu oran periferik sinir hasarı sonrası artar (21). Çeşitli çalışmalarda sinir hasarı sonrası eksojen EPO kullanımının sinir iyileşmesi üzerine olumlu etkileri ortaya konmuştur (22; 23; 24).

Literatürde sinir iyileşmesi üzerine birçok çalışma yapılmakta ve EPO'nun ve TZP'nin ayrı ayrı ve değişik metod ve ürünlerle kıyaslanması yapılmaktadır. Bu çalışmada TZP'nin ve EPO'nun sıçanlarda sıyatik sinir kesi yaralanması modelinde, rejenerasyon üzerine etkilerinin karşılaştırılması planlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Periferik Sinir Anatomisi

Periferik sinir sistemi, periferik hedef organlar ile santral sinir sistemi arasında çift yönlü uyarı iletimini sağlar. Çevreden merkezi sinir sistemine verileri taşıyacak şekilde tasarlanmış olup, sempatik ve otonomik yollarla çevresel değişiklikleri yönlendirir. Motor, duyu ve otonom olmak üzere 3 tip periferik sinir bulunmaktadır. Bunlardan motor sinirlerin hücre gövdeleri medulla spinalis ön boynuzunda, duyu sinirlerinin hücre gövdeleri ise dorsal spinal arka kök gangliyonları içerisinde yerleşmiştir. Afferent liflerle alınan duyu mesajları arka kök gangliyonlarına oradan da arka boynuza gelir ve motor iletiler omurilik ön boynuz hücrelerinden periferik olarak iletilirler (Şekil 1) (25).



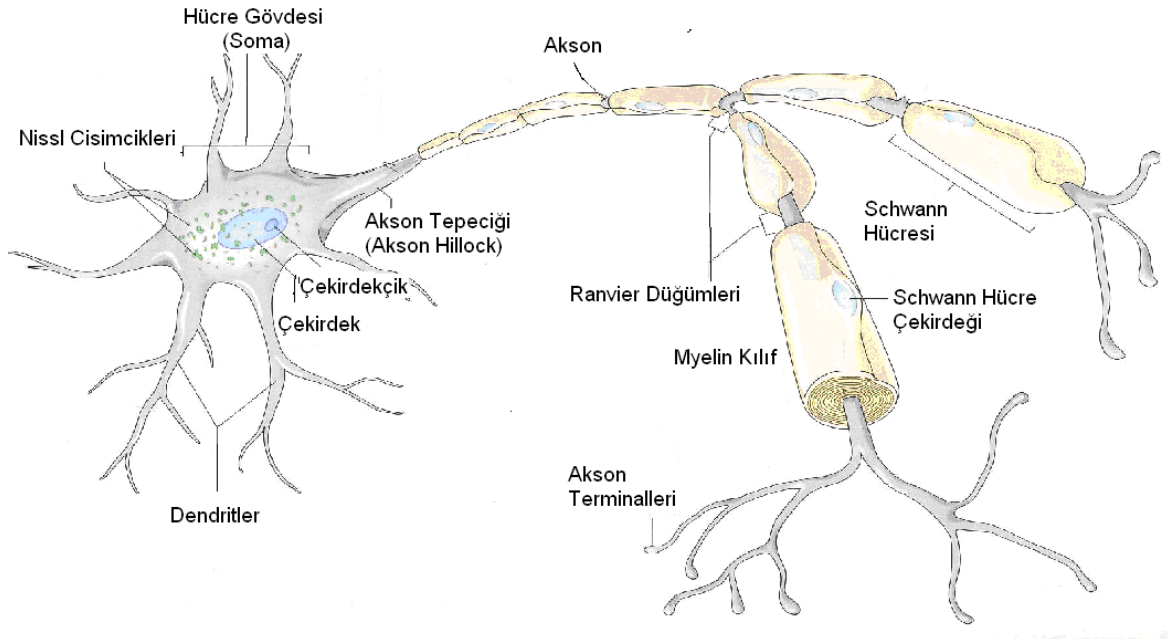
Şekil 1 : Periferik sinir duyu ve motor köklerin şematik görünümü (25).

2.1.1. Nöron

Sinir sisteminin fonksiyonel ünitesi sinir hücresidir (nöron). Nöronlar birbirleri ile dendrit denen pek çok sitoplazmik uzantılar ile ilişki kurarlar ve her bir nöron genelde perifere tek bir aksoplazmik uzantı gönderir. Otonom sinir sistemine ait nöronlar ise santral sinir sistemi içinde ve dışında bulunan nükleus ve gangliyonlarda toplanmışlardır.

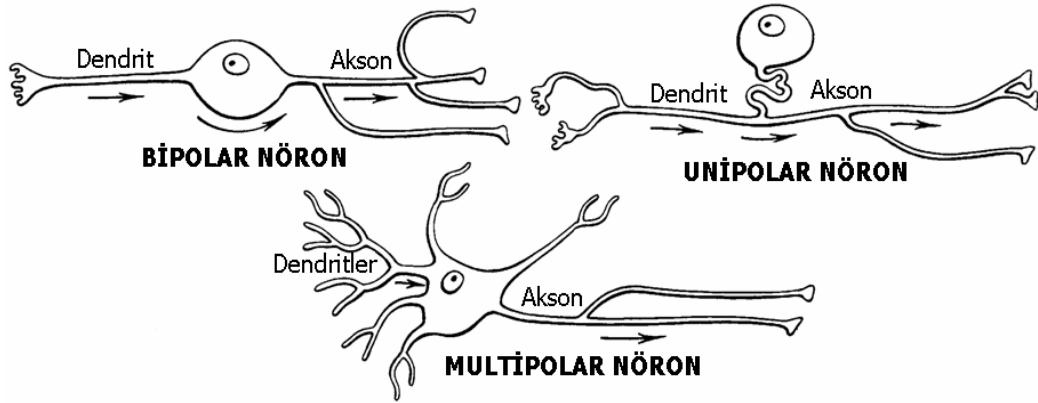
Periferik sinir embriyolojik olarak ektodermal tabakadan gelişir. Embriyonik hayatın 3.–4. haftalarında nöroektoderm içerisinde nöral krest hücreleri şekillenir ve mezoderm içerisine göç ederler. Burada arka kök gangliyonları, Schwann hücreleri ve diğer nöroblastik hücrelerin büyümeleri ve farklılaşmaları başlar (26).

Periferik nöronlar vücuttaki en büyük ve kompleks yapılardan biridir. Perikaryon ya da soma olarak da adlandırılan sinir hücre gövdesi, temel fonksiyonel ünite olan sinir liflerinin beslenmesini, korunmasını ve devamlılığını sağlayan kompozit bir yapıdır. Nükleus, nükleolus ve protein sentezinden sorumlu aparat olan Nissl cisimcikleri'ni (ribozomlu-granüllü endoplazmik retikulum) içerir. Nissl cisimcikleri sinir rejenerasyonu gibi metabolik aktivitenin arttığı durumlarda artış gösterir. Sitoplazma içerisinde bulunan diğer önemli bir yapı da, dendrit ve aksonların sonlarına kadar uzanan, nörotübül ve nörofilamentlerden oluşan nörofibrillerdir. Bunlar metabolitlerin taşınmasında, hücre şeklinin korunması ve desteklenmesinde görev alan yapılardır (Şekil 2).



Şekil 2 : Sinir hücre anatomisi (26).

Sinir hücre gövdesinden çıkan kısa uzantılar dendrit olarak tanımlanırlar ve çevreden gelen uyarıların hücre gövdesine iletilmesinden sorumludurlar. Aksonlar ise tek ve daha uzun olan, sinir hücrelerinin perifer ile iletişimini sağlayan uzantılardır. Aksonların primer görevi sinirsel uyarıyı periferdeki kas dokusuna aksiyon potansiyeli olarak taşımaktır. Genellikle düzgün konturlu ve uniform yapıda olan aksonların ortalama çapları 1–24 μm arasında değişmekte iken uzunlukları 50 μm 'den birkaç metreye kadar uzayabilir (27). Nöronlar bu uzantılarının sayı, uzunluk ve şekline göre unipolar, bipolar ve multipolar olmak üzere 3 gruba ayrılırlar (**Şekil 3**) (28).



Şekil 3 : Uzantılarına göre sinir hücresi sınıflaması (28).

Akson, hücre gövdesinden huni şeklinde bir genişleme (akson tepeciği) ile çıkar, akson boyunca devamlılık gösteren, yüksek fosfolipid içeriği olan ve istirahat potansiyelinin devamlılığını sağlayan üç katlı aksolemma adı verilen bir zarla çevrilidir (27).

Hücre sitoplazmasının akson içerisindeki karşılığı aksoplazmadır. Aksoplazmada, çeşitli proteinler, hücre iskeletini oluşturan mikrotübüller ve nörofilamanlar bulunur. Bunlar yapısal bütünlüğün devamının sağlanmasında ve aksonal iletimde önem taşırlar. Aksonlar, miyelinli ya da miyelinsiz olabilirler. Miyelin kılıf periferik sinir sisteminde Schwann hücreleri tarafından yapılır.

Aksoplazma içerisinde mitokondri, düz endoplazmik retikulum, lizozom ve veziküller gibi organellerin bulunmasına rağmen, protein sentezi yapabilen golgi cisimcikleri ya da granüllü endoplazmik retikulumlar yoktur. Bu nedenle canlılıklarını koruyabilmek için hücre gövdesi ile devamlılıklarının korunması gerekir (29).

2.1.2. Aksonal İletim

Bu sistem, Ca-Mg ATPaz ile sağlanan ATP'ye bağımlıdır ve iki yönlüdür. Anterograd (somatofugal) taşıma ile sinir hücre gövdesinde sentezlenen pek çok madde farklı hızlarda akson boyunca taşınır. İki farklı hızda antegrad taşıma vardır:

1) Yavaş taşıma: Aksonların sitoskeletal elemanlarının ve aktin, tübülün gibi mikrotübül proteinleri, nörofilaman ve mikrofilamanlar bu yolla taşınır. Hız: 1–6 mm/gün

2) Hızlı taşıma: glikoprotein, lipid gibi hücre zarı bileşenleri, çeşitli enzimler ve nörotransmitter içeren veziküller taşınır. Hız: 400 mm/gün

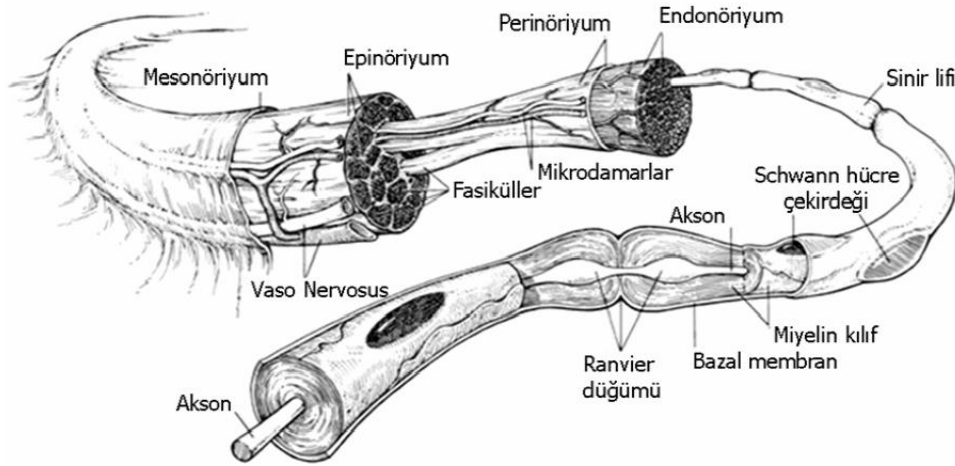
Retrograd (somatopedal) taşıma, akson terminalinden hücre gövdesine doğru olan taşıma sistemidir. Ortalama hız 240 mm/gün kadardır. Nörotransmitter veziküllerinin ve intra-aksonal proteinlerin geri dönüşümü sağlanır. Ayrıca akson terminalindeki ya da kesilmiş akson ucundaki sinir büyüme faktörü gibi nörotrofik faktörler ve herpes simpleks, polio gibi virüsler de geriye doğru taşınabilirler (6).

2.1.3 Schwann Hücreleri ve Miyelin Kılıf

Schwann hücreleri, iyon dengesinin sağlanmasına, nörotransmitterlerin dağılımına ve aksolemma boyunca sodyum kanallarının yerleşimine katkıda bulunan, nöroektodermal kökenli, periferik sinir sisteminin uydu hücreleridir ve akson çevresinde konsantrik karakterde fosfolipid bir tabaka olan miyelin kılıfını sentezlerler. Miyelin kılıfın gelişimi gestasyonun 12–18. haftalarında başlar ve doğum sonrası da değişken hızlarda devam etmektedir. Miyelin esas olarak santral sinir sisteminde oligodentrositlerin, periferik sinir sisteminde ise Schwann hücrelerinin plazma membranlarından oluşur. Miyelinli ya da miyelinsiz olsun, her sinir lifinde aksonlar ucuca dizilmiş Schwann hücreleri ile sarılmışlardır. Miyelinli liflerde her bir Schwann hücresi tek bir aksonu çevrelerken, miyelinsiz liflerde bir Schwann hücresi birden fazla aksonu çevrelemektedir. Ayrıca

Schwann hücreleri tip 4 kollajen ve lamininden oluşan bir bazal membran üretirler ve bu da sinir lifini çevrelemektedir (30; 31).

Miyelin yapısı hücre zar yapısına benzemekle beraber, %75 lipid ve %25 protein içermesiyle farklılık gösterir, lipidlerin %20 ila %30'unu oluşturan kolesterol, multilamellar yapının stabilizasyonunu sağlar. Miyelin içeriğinde bulunan diğer lipidler, glikolipid yapısında olan sülfatid, gangliosid ve galaktoserebroziddir. Proteinler ise glikoprotein yapısında olup; başlıcaları protein zero, periferik miyelin protein 22 kDa, miyelin ilişkili glikoprotein, epiteliyal kadherin ve periaksindir. Büyük çaplı aksonlar miyelinli iken, çapı 1 mikrometreden (μm) küçükler genellikle miyelinsizdir (30). Memelilerde dorsal spinal köklerin ve kutanöz sinirlerin yaklaşık %75'i, kasa giden liflerin %50'si ve postganglionik otonomik liflerin tamamına yakını miyelinsizdir. Miyelinli aksonların da iki Schwann hücresi arasında kalan bölge olan Ranvier düğümleri ve akson çıkış bölgesi olan akson tepeciğinde miyelinsiz kısımları vardır (Şekil 4). Ranvier düğümleri sinir ileti hızı açısından önem taşır, uyarının sıçrayıcı (saltatuar) şekilde iletimi ile çok hızlı taşınmasını sağlar (32).



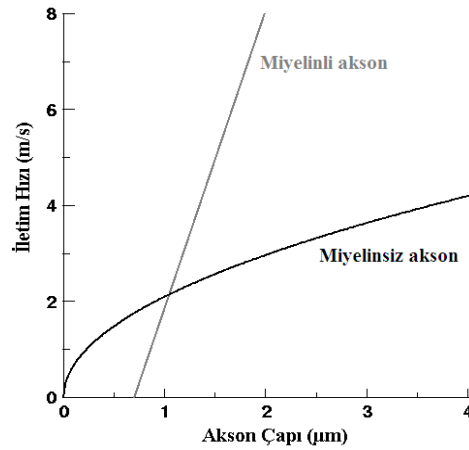
Şekil 4 : Sinir kılıfları şematik anatomisi (33).

Bir sinirin miyelinli olması ve miyelin kalınlığı iletim hızını etkiler (34). Miyelinsiz liflerde çap 0.2–1.5 μm ve iletim hızı 0.4–2.0 m/sn (metre/saniye) iken; kalın miyelinli sinirlerde çap 12–20 μm ve iletim 72–120 m/sn gibi yüksek hızlardadır (Şekil 5). Sinir lifleri iletim hızları ve çaplarına göre 3 gruba ayrılır.

— A grubu lifler: Çapları 2.5–22 μm , Miyelinli somatik afferent ve efferent liflerdir, ileti hızları 15–100 m/sn arasındadır.

— B grubu lifler: Çapları 3 μm , Miyelinli otonomik preganglionik liflerdir, ileti hızları 3–15 m/sn kadardır.

— C grubu lifler: Çapları 0.2–1.5 μm , Miyelinsiz somatik ve visseral afferent lifler ile postganglionik liflerdir, ileti hızları 0.3–1.6 m/sn kadardır.



Şekil 5 : İletim hızının miyelinli ve miyelinsiz aksonlarda akson çapına bağlı olarak değişimi (35; 36).

2.1.4 Siniri evreleyen Bağ Dokusu Elemanları

Periferik sinirler birbirinden bağımsız 3 farklı destek doku ile çevrelenmiştir: epinöriyum, perinöriyum, endonöriyum (

Şekil 4).

Her bir sinir lifi, en ite endonöriyum denen mezoderm kaynaklı bir bağ doku ile çevrelenmiştir. Endonöriyum, mukopolisakkarit ana madde içerisinde yer alan kollajen ve retiküler liflerden, fibroblast, makrofaj, mast hücreleri gibi hücrelerden ve kapiller sistemden oluşan bir bağ dokudur; elastin içermez ve sinir lifi boyunca uzunlamasına

organize olmuştur. Endonöriyumun çevrelediği alan içerisindeki bölge sinir işlevleri için uygun bir ortam sağlar.

Miyelinli ve miyelinsiz sinir lifleri bir araya gelerek fasikülü oluşturur. Perinöriyum ise her fasikülü çevreleyen, yassı perinöral hücreler tarafından oluşturulan çok katlı bir tabakadır. İskemi ve travmalara karşı asıl koruyuculuğu sağlayan ve endonöriyum ile ekstrasellüler boşluğu ayıran bir difüzyon bariyeri olan kan-sinir bariyerini de perinöriyum oluşturur. Perinöral kılıf sinirin distaline doğru incilir ve en distalde tek kat hücre tabakası kalır. Kan-sinir bariyeri, perinöral hücreler ile endonöriyumdaki endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantı noktalarından meydana gelir. Bu bariyer, aksonlar için uygun mikroçevreyi sağlar (32).

Sinir kılıfının en dış tabakası olan, fasikülleri ekstremitelerin hareketi esnasında travmalara karşı koruyan Epinöriyumdur. Tip 1 ve tip 3 kollajen liflerden, elastik liflerden, fibroblastlardan ve değişen oranlarda yağ dokudan meydana gelir. Epinöriyum, internal (interfasiküler) epinöriyum ve eksternal (epifasiküler) epinöriyum denen iki tabakadan oluşur. İnternal epinöriyum denen derin tabaka, fasikülleri tek tek sarar ve bunları gevşek şekilde bir arada tutar. En dışta yer alan eksternal epinöriyum ise fasiküllerin üzerinden kolaylıkla sıyrılabilen bağ doku yapısındadır (6; 32).

Epinöriyum kalınlığı değişkenlik gösterir. Ekstremitelerde siniri çevreleyen bağ doku, nisbeten ince ve yüzeysel seyredir. Eklemleri geçen bölgelerde, siniri tekrarlayan travmalara karşı koruyabilmek için daha kalındır (32).

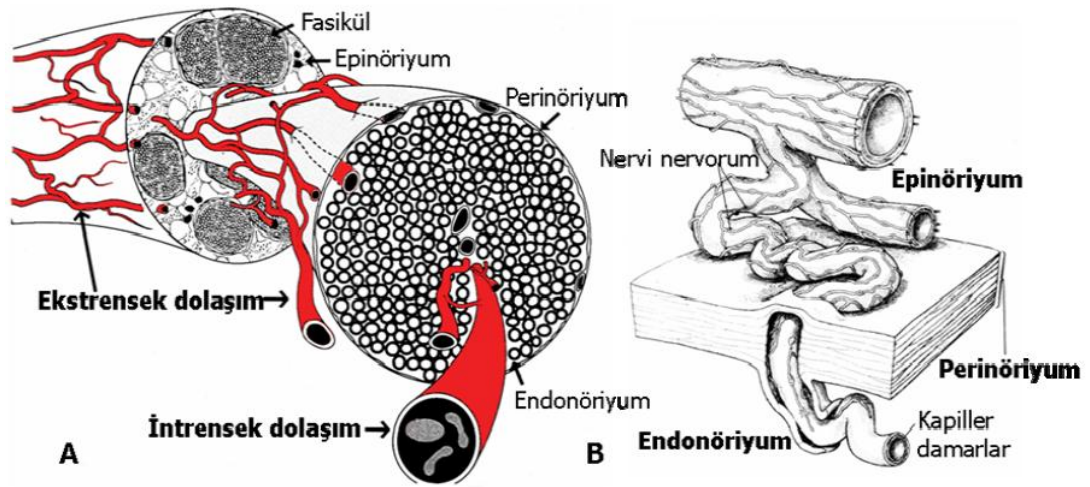
Periferik sinirler fasikül yapılarına göre 3 gruptur (37):

- 1) Monofasiküler sinir: Birçok sinir lifi içeren tek bir fasikül
- 2) Oligofasiküler sinir: Birkaç büyük fasikülden oluşan sinir
- 3) Polifasiküler sinir: Çok sayıda fasikülden oluşan sinir

2.1.5 Vasküler Yapı

Periferik sinirlerde oldukça zengin bir damar ağı mevcuttur. Ekstresek ve intresek olmak üzere, fonksiyonel olarak birbirinden bağımsız ve birbiriyle bütünleşmiş çalışan, iki ayrı sistem bulunmaktadır. Ekstresek sistem, dış yüzeydeki gevşek bağ doku içerisinde bulunan vaza nervorum denen damarlardan oluşur (**Şekil 6**). Bu sistem sempatik uyarılar ve lokal ilaçlardan etkilenir (38). İntresek sistem ise metabolik olaylardan, sempatik uyarılardan ve lokal ilaçlardan etkilenmeyen, epinörium, perinörium ve endonörium içerisinde yer alan vasküler pleksuslardan meydana gelir. Bu iki sistem arasındaki dengeleyici mekanizmalar, siniri vasküler problemlere karşı korur (39).

Uzunlamasına seyreden perinöral damarlar, birçok alanda oblik olarak perinöriumun iç tabakasını delerek endonöral aralığa geçerler ve endonöral vasküler pleksusu oluştururlar. Periferik sinirlerdeki damarlar, sinüzoidal ve kıvrımlı bir yapıya sahiptirler (**Şekil 6-B**). Bu sinüzoidal ve kıvrımlı yapısal özellikleri sayesinde, vasküler sistem gerilme tipi travmalarda hasardan korunur (32; 38).



Şekil 6 : Periferik sinirlerin mikrovasküler dolaşımı. **A**: genel dolaşım şeması, **B**: intresek-ekstresek bağlantı şeması (25).

2.2 Periferik Sinir Yaralanmaları

Periferik sinirler pek çok değişik travma şekli ile yaralanabilirler. Periferik sinir hasarına neden olan en sık yaralanma şekli, gerilim tipi yaralanmalardır. İkinci sıklıkta laserasyonlar gelir ve bu tip yaralanma sıklıkla bıçak gibi penetran bir aletle oluşur. Tam kat veya kısmi kesi oluşabilir. Kompresyon tipi yaralanmalar ise yine sık görülür. Sinir devamlılığı korunmuş ancak, hem duyu hem de motor kayıp oluşabilir. Patofizyolojisi net olmamakla birlikte, mekanik kompresyon sonucunda oluşan iskemiye bağlanmaktadır (40). Periferik sinir yaralanmaları ile ilgili ilk sınıflama, Seddon tarafından 1942 yılında yapılmış (41), 3 tip sinir hasarı tanımlanmıştır: nöropraksi, aksonotomezis, nörotomezis (1; 32). Sunderland, 1951 yılında bu sınıflamayı detaylandırarak, 1 ile 5 arasında değişen 5 grup sinir yaralanma tipi tanımlamış (42), Mackinnon 1988 yılında 6. derece sinir hasarını bu sınıflamaya dahil etmiştir (32).

2.2.1. Seddon Sınıflaması (1942)

Nöropraksi: Anatomik bütünlük ve aksonal devamlılık korunmuş, geçici segmental iletim bloğu ile karakterizedir (41; 43; 44). Spontan iyileşir ve iyileşme tam olur, ancak iyileşme zamanı 5 gün ila 3 ay arasında değişir (ortalama 6–8 hafta). Histolojik olarak en sık demiyelinizasyon görülür (32). Sinir yapısı ve yaralanma distalindeki kasların uyarılabilirliği korunduğu için dejenerasyon görülmez (6). Geçici kompresyon, traksiyon ve künt travma ile oluşabilir. Örnek olarak turnike paralizisi gösterilebilir. Aksonal bir hasar olmadığı için, sinir tomurcuklanmasını (rejenerasyonu) gösteren Tinel bulgusu yoktur (32; 41).

Aksonotomezis: Ciddi kompresyon veya gerilim tipi yaralanmalarda, aksonal devamlılıkta kısmi bozulma oluşmaktadır. Eğer sinir hücresi ölmezse, lezyon distalinde Wallerian dejenerasyon, proksimalinde ise aksonal tomurcuklanma görülür. Endonöral doku ve bazal membran, Schwann hücreleri için kılavuz tüp görevi görerek proliferasyonu sağlar (45). Destek bağ dokular sağlam olduğu için prognoz iyidir ve fonksiyonel geri dönüş tamdır, ancak kasta atrofi gelişebilir (31; 43; 44; 45). Endonöral kılıf bütünlüğu korunduğu için aksonlarda yanlış yöne büyüme, nöroma gelişimi olmaz.

Spontan rejenerasyon beklenen bu tip yaralanmada Tinel bulgusu distale doğru ilerler (32; 41).

Nörotomezis: En ciddi yaralanmalardır. Anatomik olarak sinir bütünlüğünde ciddi hasar vardır. Distalde daha fazla olmak üzere, hem distalde hem de proksimalde dejenerasyon vardır. Endonörium, perinörium ve epinörium hasarlanmıştır. Spontan rejenerasyon mümkün olmadığı için cerrahi onarım şarttır (6; 31; 41).

Lezyon distalinde denervasyona bağlı tüm fonksiyonlarda kayıp izlenir. Sinir fasikülünün iç yapısı, aksonlardaki yıkım ve Wallerian dejenerasyon nedeniyle bozulur. Endonöral kılıf bütünlüğü çeşitli derecelerde bozulur ve inflamatuvar reaksiyonlar sonucu fibrozis kaçınılmaz hale gelir (43).

2.2.2. Sunderland Sınıflaması (1951)

1. derece hasar: Seddon sınıflamasındaki nöropraksiye eşdeğerdir (32; 42; 43).

2. derece hasar: Seddon sınıflamasında aksonotomezise karşılık gelir (32; 42; 43).

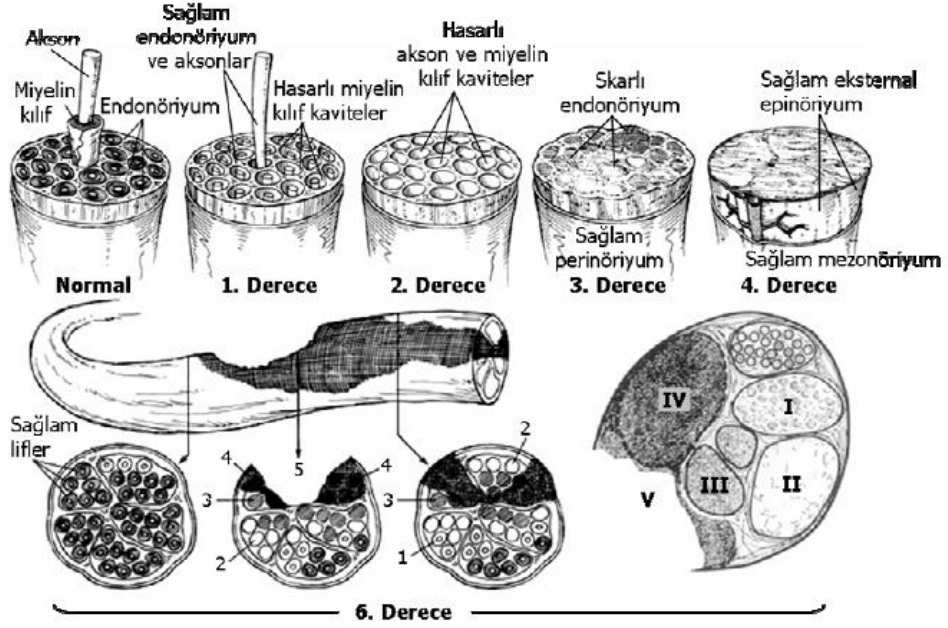
3. derece hasar: Epinörium ve perinörium sağlamdır, ancak Schwann hücre kılıfı, endonörium ve akson devamlılığı bozulmuş, Schwann hücre kılıfı hasarlandığı için iyileşme tam olmaz (32; 43). Bu grup yaralanmalar Seddon sınıflamasındaki aksonotomezis ve nörotomezisin bir karışımı olarak kabul edilirler (42).

4. derece hasar: Epinörium dışındaki tüm tabakaların devamlılığı bozulmuştur. Fiziksel olarak sinir bütünlüğü devam etmekle birlikte, oluşacak skar dokusunun yaratacağı blok sinir rejenerasyonunu engeller ve hasar bölgesinde nöroma oluşumuna neden olur, cerrahi onarım önerilir (31; 43). Tinel bulgusu hasar bölgesinde mevcuttur, ancak rejenerasyon skar dokusu ile engellendiğinden distale ilerlemez. Bu tip hasar sıklıkla gerilim, traksiyon, ezilme, koter yaralanması veya sinire yapılan yanlış enjeksiyon sonucu meydana gelir (32; 42).

5. derece hasar: Epinörium da dahil sinir devamlılığı tam olarak kaybolmuştur ve cerrahi onarım şarttır. Cerrahi onarım olmaksızın iyileşme mümkün değildir. Sıklıkla penetran travmalar ile meydana gelir (31; 32; 42).

Mackinnon bu sınıflamaya **6. derece** sinir hasarı şeklinde bir ekleme yapmıştır. **Mikst tip** sinir hasarı denen bu grupta, sinir boyunca değişik seviyelerde ve farklı derecelerde sinir hasarları bir aradadır. Özellikle ezici tip yaralanmalarla meydana gelir. Tedavisinde intranöral nöroliz ile sağlam fasiküllere zarar vermeden, 4. ve 5. derece hasarlı fasiküllerin cerrahi onarımları gerekir (32; 46).

Sinir hasar tipleri **Şekil 7** ve **Tablo 1**'de özetlenmiştir.



Şekil 7 : Periferik sinir yaralanmalarının (Sunderland) sınıflandırılması (46).

Tablo 1: Sinir Yaralanması Sınıflamaları (47).

Seddon Sınıflaması	Sunderland Sınıflaması	Patoloji	Prognoz
Nöropraksi	1. derece	Miyelin hasarı ve iskemi	1 hafta – 1 ay içinde mükemmel iyileşme
Aksonotmezis		Akson kaybı Stromal ayrılma	İyi veya kötü Destek dokuya ve kas uzaklığına bağlı
	2. derece	Akson kaybı Endonöral tüpler intakt Perinörium intakt Epinörium intakt	İyi Kas uzaklığına bağlı
	3. derece	Akson kaybı Endonöral tüpler parçalanmış Perinörium intakt Epinörium intakt	Kötü, Aksonal yanlış yönelme Cerrahi gerekebilir
	4. derece	Akson kaybı Endonöral tüpler parçalanmış Perinörium parçalanmış Epinörium intakt	Kötü, Aksonal yanlış yönelme Cerrahi genelde gerekli
Nörotmezis	5. derece	Akson kaybı Endonöral tüpler parçalanmış Perinörium parçalanmış Epinörium parçalanmış	Spontan iyileşme yok Cerrahi gerekli Prognoz cerrahi sonrası iyi veya kötü
	6. derece (Mackinnon)	Ezilme yaralanmasında Aksonun değişik kısımlarında sağlam bölümden nedeysen tama yakın kayba varan perspektif.	Kötü Cerrahi gerekli

2.3 Sinir Dejenerasyonu ve Rejenerasyonu

Sinir yaralanması ve onarımından sonra fizyolojik sonuçları etkileyen faktörler; hasar sonrası sağlam kalan sinir hücrelerinin sayısı, aksonal büyümenin hızı ve kalitesi, rejenere olan aksonların uygun şekilde düzenlenmeleri, uç-organların durumu, beyin somatosensoriyal ve motor korteksinde kortikal reorganizasyon işlemidir. Tüm miyelinli veya miyelinsiz liflerde, hasar distalinde Wallerian dejenerasyon meydana gelir (48).

Klinik olarak iyileşme, çoğunlukla hasarın tipine bağlı olarak tam olmaz. Genellikle zayıf ya da anormal duyu, motor fonksiyonlarda kayıp, soğuk intoleransı, ağrı gibi hastanın sosyal ve iş hayatını etkileyen olumsuz belirtilerle seyrederek (49).

2.3.1. Sinir Hücre Gövdesinde Meydana Gelen Değişiklikler

Aksonal yaralanma sonrasında, altı saat içerisinde sinir hücre gövdesinde hacim artar, hücre çekirdeği perifere göç eder, nissl cisimcikleri ve granüllü endoplazmik retikulumlar yıkılır ve sitoplazmanın yapısı değişir. Bunlara ‘**kromatoliz**’ denir. Bu reaksiyonel değişiklikler hasar sonrası 2 ila 3. haftalarda en yüksek değerine ulaşır (6; 40).

Sinir hücresinde oluşan değişikliklerin derecesi, hasarın şiddeti ve yaralanmanın ne kadar proksimalde olduğu ile ilişkilidir. Kromatoliz ile hücre onarım mekanizmaları başlasa bile, hücre ölümü meydana gelebilir (49). Hücre gövdesine çok yakın yaralanmalar hücre ölümüne neden olabilir (31; 32; 40; 44).

Hücre ölümü duyu nöronlarında motor nöronlara kıyasla daha fazla gerçekleşmektedir (29).

2.3.2. Proksimal Segmentte Meydana Gelen Değişiklikler

Yaralanmanın proksimalinde, distal segmenttekine benzer bir dejenerasyon görülür. 24 saatlik bir latent period sonrası, ‘rejenerasyon ünitesi’ denen proksimal kesik uçta terminal ve kollateral aksonal tomurcuklanmalar meydana gelir.

Her bir tomurcuğun ucundaki kısma ise ‘büyüme konisi’ denir (6; 31; 44). Büyüme konisi, aktin filamanları ve miyozin içerir. Bu sayede, filapoid çıkıntılar yaparak hareketli

olmasını sağlar. Büyüme konisinin, distal sinir segmentindeki Schwann hücre kolonlarına (Büngner bantları) ve Schwann hücrelerinin bazal laminasında bulunan fibronektin ve laminine, affinitesi vardır (nörotropizm). Aksonal tomurcukların büyüme yönünü belirleyen faktörlerden biri de bu affinitedir ve ilerleme için bazal lamina uygun ortam sağlar (31; 32; 50).

Periferik sinir rejenerasyon kapasitesini ve nörotropizmi, ilk kez 1928 yılında Cajal tarafından gösterilmiştir (44; 49; 50).

2.3.3. Distal Segmentte Meydana Gelen Değişiklikler

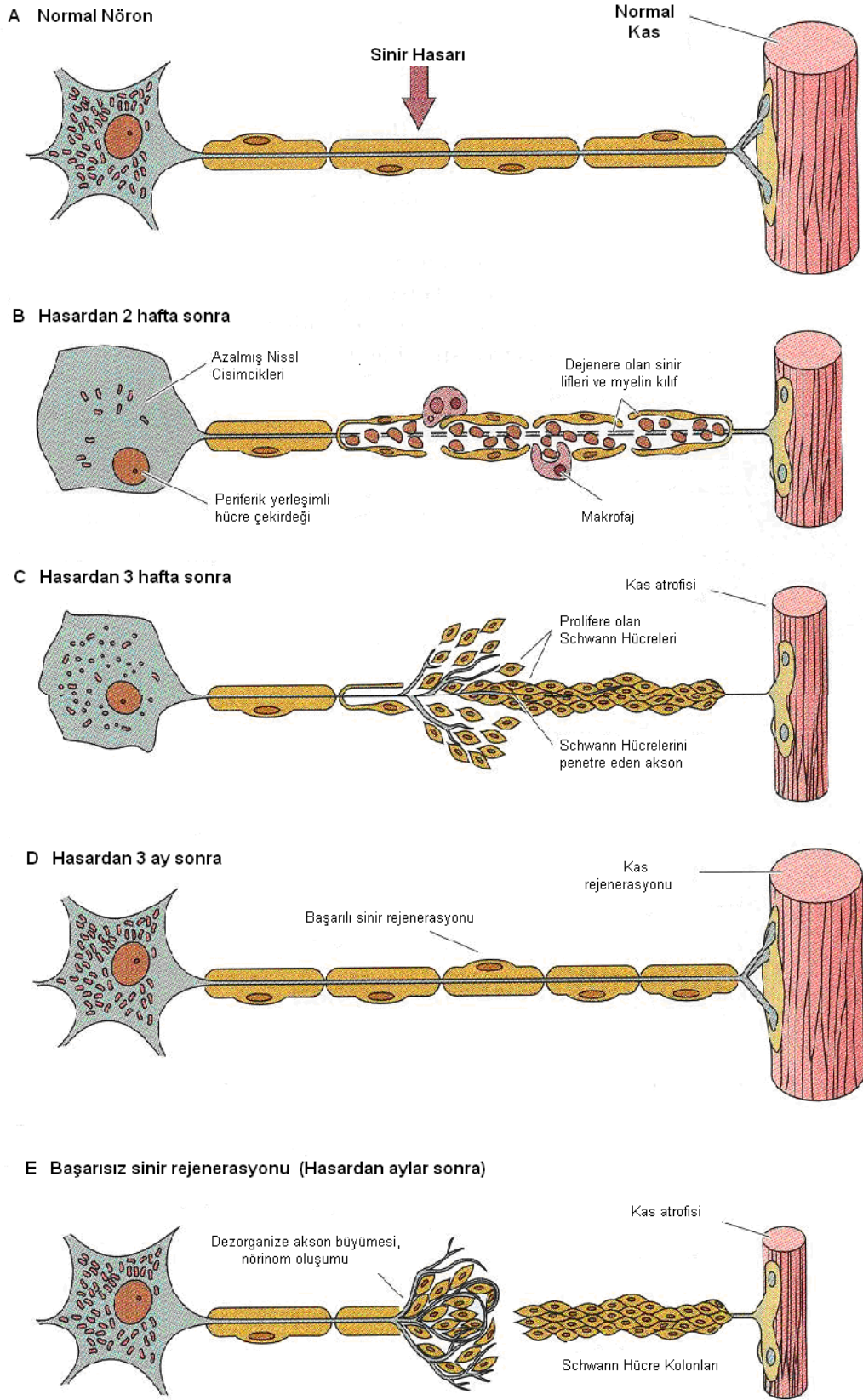
Distal sinir segmentinde akson ve miyelin kılıfta meydana gelen hücresel dejeneratif değişikliklere 'Wallerian dejenerasyon' denir. İlk kez 1850 yılında Waller isimli araştırmacı tarafından tanımlanmıştır. Wallerian dejenerasyon ile akson ve miyelin kökenli maddelerin temizlenmesi sağlanırken, rejenere olan aksonun büyümesi için uygun ortam oluşturulur (1; 29).

Schwann hücreleri, bazal lamina boyunca dizilerek Büngner bantlarını oluştururlar. Ortada oluşan içi boş tüp yapısına endonöral tüp denir (29). Aksoplazmik hücresel iskelet, proteolitik enzimlerce yıkılır. Miyelin, Schwann hücreleri ve makrofajlar tarafından fagosit edilir. Tüm debrisin temizlenmesi birkaç ayı bulur (6; 29).

Tomurcuklar proksimal sinir güdüğünden endonöral tüp kılıfı klavuzluğunda distale doğru ilerlerler. Bu hareketlenme sinir iyileşmesinin başarısını etkileyen en önemli olaydır. Bazı tomurcuklar bağ doku içersine doğru uzanabilirler ki, bu **nöroma** oluşumu ile sonuçlanır. Tomurcuklar Büngner bantlarını takip ederek, perifere doğru uzanıp hedeflerini bulurlar (**Şekil 8**) (29; 51).

Proksimalden distale doğru ilerledikçe rejenerasyon hızı azalmaktadır. Rejenerasyon hızı, hasar alanının sinir hücre gövdesine uzaklığı ile ters orantılıdır (31).

Distal sinir segmentinin vasküler ağı da yaralanmaya cevap olarak, önce vazokonstrükte olur, daha sonra vazodilate olur. En başarılı aksonal rejenerasyondan sonra bile orijinal kan akımının ancak %60-80'ine ulaşabilir.



Şekil 8 : Periferik sinir dejenerasyonu ve rejenerasyonu (51).

2.3.4. Rejenerasyonda Makrofaj ve Schwann Hücreleri

Aksonal rejenerasyonda nörotropizm yönü, salınan çeşitli nörotrofik faktörler ve Schwann hücrelerinin migrasyonu ile sağlanır (29). Makrofajların sinir hasarı sonrası primer görevleri miyelin debrisin temizlenmesidir. Makrofajlar kadar etkin olmamakla beraber, Schwann hücreleri de fagositik etkili davranarak, miyelin antijenlerini birbirlerine sunarak miyelin yıkımına yardım ederler. Aktive makrofajlar bazı büyüme faktörlerinin sentez ve sekresyonunu uyararak ve hasar alanına endotel hücre migrasyonunu da arttırarak anjiogenezisi destekler (48).

Sonuç olarak Schwann hücreleri rejenerasyonu üç farklı yolla destekler.

Birincisi hücre yüzey adezyon moleküllerinin sentezinin arttırılması,

ikincisi laminin, fibronektin, heparan sülfat gibi ekstrasellüler matriks proteinlerini içeren bazal membranın oluşturulması ve

üçüncüsü sinir büyümesini destekleyen pek çok büyüme faktörü ve reseptörlerinin üretiminin arttırılmasıdır (52).

2.4. Nörotrofik Faktörler

Hasarlanmış sinir ve hedef organlarda, travma sonrası ortaya çıkarak ve akson boyunca retrograd taşınıp sinir rejenerasyonuna katkıda bulunan, nörotrofik faktörlerin son yıllarda önemi artmaya başlamıştır. Pek çok deneysel çalışmada, bu faktörlerin sinir hasarında kullanımıyla, sinir hücre yaşayabilirliğinde ve aksonal büyümede artış saptanmıştır (49; 53).

Nörotrofik faktörler reseptörlerine göre 2 gruptur.

Birinci grubu oluşturan nörotrofinler, sinir büyüme faktörü (NGF), beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), nörotrofin-3(NT-3), nörotrofin-4/5(NT-4/5) ve son yıllarda bulunan nörotrofin-6(NT-6)'dır.

İkinci grup ise nöropoetik sitokinler olarak anılır ve bu grupta silier nörotrofik faktör (CNTF), lösemi inhibitör faktör (LIF) ve interlökin-6 (IL-6) bulunmaktadır.

Bunların yanı sıra, sinir rejenerasyonunun değişik aşamalarında etkili olan, Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), Fibroblast büyüme faktörü (FGF), Transfome edici büyüme faktörü (TGF), Tümör Nekroz faktör (TNF), İnsülin benzeri büyüme faktörü – 1 ve 2 (ILGF–1 ve 2), Endotelial büyüme faktörü (EGF) ve Glia kaynaklı nörotrofik faktör (GDNF) gibi büyüme faktörleri de vardır (49; 52). Nörotrofinler ‘p75’ olarak adlandırılan düşük affiniteli NGF reseptörlerine ve ‘trk’ olarak adlandırılan yüksek affiniteli tirozin kinaz reseptörlerine bağlanarak etkilerini gösterirler (54).

2.4.1. Sinir Büyüme Faktörü (NGF)

Levi-Montalcini ve Hamburger tarafından 1951 yılında ilk defa tanımlanan polipeptit yapıda nörotrofik faktördür (55). Sinir hasarı sonrası makrofaj, Schwann hücreleri ve fibroblastlardan sentezlenir. Hücre ölümünü sempatik ve duyuusal nöronlarda geri döndürdüğü, aksonal tomurcukların büyüme yönünü etkilediği, miyelinize akson sayısında ve miyelın kalınlığını arttırdığı, nöral internal organizasyonun daha düzgün olmasını sağladığı ve sinir rejenerasyonunu hızlandırdığı saptanmıştır (56).

Sempatik ve duyuusal nöronlar, normal gelişimleri için de NGF’e ihtiyaç duyarlar, ancak parasempatik ve motor nöronlara etkili olmadığı, ancak fibronektin ile beraber kullanıldığında etkili olabildiği gözlenmiştir (57; 58).

2.4.2. Nörotrofin–3 (NT–3), –4/5 (NT–4/5) ve –6 (NT–6)

Duyuusal ve parasempatik nöronlarda yaşayabilirliği ve diferansiasyonu desteklediği, motor nöron yaşayabilirliği üzerine güçlü etkileri olduğu gösterilen polipeptit yapılı faktörlerdir. Ayrıca NT–4/5’in hasarlanmış retinal ganglion hücrelerinin yaşayabilirliğini desteklediği gösterilmiştir. NT–6 fonksiyonu tam netleşmemiş, Nörotrofin ailesinin en son bulunmuş olan üyesidir. (54; 59).

2.4.3. Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF)

İlk kez 1982 yılında bulunmuş, NGF ile benzer bir polipeptittir. Sinir hasarı sonrası, Schwann hücrelerinde ve hedef organ olan kasta miktarı artar, retrograd olarak sinir hücre gövdesine taşınır (52; 54; 59). Yapılan çalışmalarda, omurilik ön boynuz motor sinir hücre

ölümünü azalttığı, periferik sinir rejenerasyonunu ve remiyelinizasyonunu arttırdığı, etkisi Doza bağımlı, düşük dozlarda (0,5–2 µg/gün) uygulandığında motor akson rejenerasyonunu hızlandırmasına karşın, yüksek dozlarda (12–20 µg/gün) rejenerasyonu inhibe ettiği görülmüştür (54; 60).

2.4.4. Silier Nörotrofik Faktör (CNTF)

Sağlıklı periferik sinirlerde Schwann hücrelerinde ve santral sinir sisteminde astrositlerde bol miktarda bulunan ve yapısal olarak NGF'den farklı yapıda bir nöroaktif sitokindir. CNTF, nöron kaynaklı bir miyojenik faktördür, aksonal tomurcuklanmayı artırır. Deneysel olarak uygulandığında motor nöronların yaşayabilirliğin de artışa neden olmakta, kaslarda denervasyona bağlı gelişen atrofiyi azaltmakta ve kas gücünün yeniden kazanılmasına yardımcı olmaktadır (52; 54; 61).

2.4.5. Lösemi İnhibitör Faktör (LIF)

Yamamori ve ark. tarafından 1989 yılında adlandırılan (62), periferik sinirlerin yaşayabilirliğini destekleyen bir diğer büyüme faktörüdür. Etki ve aktivitesi CNTF ile benzerdir; sinir rejenerasyonunun ve miyelinizasyonunun artmasının yanı sıra, kas kitlesinde ve kasılma gücünde de artışa neden olduğu saptanmıştır (63).

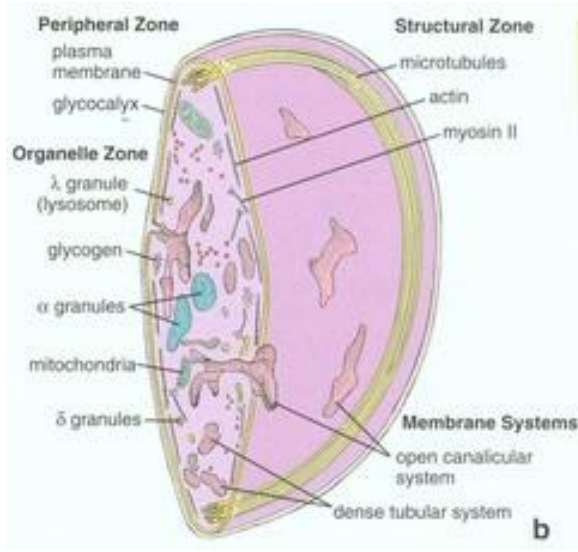
2.4.6. Glia Kaynaklı Nörotrofik Faktör (GDNF)

İlk kez 1993 yılında bulunduğu dopaminerjik nöronlarda etkili olduğu düşünülmüş, ancak sonradan yapılan çalışmalarda pek çok nöron popülasyonunda potent bir nörotrofik faktör olduğu saptanmıştır. Schwann hücreleri tarafından sentezlenir ve bu hücreler üzerine güçlü trofik etkisi ile hem duyuşal hem de motor nöronların, doğal ya da travmaya bağlı hücre ölümünü azaltır (52; 53).

2.5. Trombositler

Trombositler, megakaryositlerin sitoplazmik parçalarıdır. Beyaz kan hücreleri olup kemik iliğinde üretilirler. Ortalama 2 µm çaplı, yuvarlak ya da oval şekilli, en küçük kan hücreleridir. Trombosit hücre zarında yer alan, adezyon ve agregasyonundan, glikoprotein,

glikolipit ve mukopolisakkaritlerden oluşan ‘glikokaliks’ adı verilen yapılar sorumludur (Şekil 9) (18; 20).



Şekil 9 : Trombositin şematik yapısı

Trombositlerin sitoplazmalarında, içerikleri ve işlevleri birbirlerinden farklı, çoğu alfa (α) granül olmak üzere, delta (δ) ve lambda (λ) granüller bulunur. Alfa granüller, çoğunun hemostaz ve doku iyileşmesinde kritik önemi bulunan, otuzdan fazla biyoaktif protein ve büyüme faktörü içerir. Delta (δ) granüller, diğer adıyla ‘dens (yoğun) cisimler’ agregasyonda önemli kofaktörler, ADP, Kalsiyum iyonları, vazokonstrüktör ve kapiller permeabiliteyi arttıran normal plazma konsantrasyonundan 100 kat fazla serotonin başta olmak üzere, Pirofosfat, ATP gibi protein olmayan moleküller içerirler. Lambda (λ) granüller, lizozomlar olup, bakterisidal, fibrinolitik enzimler gibi lizozomal enzimleri içeren veziküllerdir (18; 64; 65) .

Alfa granüllerinde, önceden sentezlenip depolanmış olan büyüme faktörleri, trombositlerin aktivasyonu sonucu degranülasyonla salınarak, hedef hücrelerde fonksiyonlarını gerçekleştirirler. Trombositlerin α -granüllerinde bulunan biyoaktif proteinler: trombosit kökenli anjiogenetik faktör, trombosit kökenli endotelial büyüme faktörü, PDGF, TGF, platelet faktör 4, IL-1, VEGF, EGF, epitelyal hücre büyüme faktörü, İLGF. Ayrıca büyüme faktörü olmayan bileşenler de vardır. Trombosit aktive edici faktör, Von Willibrand faktör, ADP, Osteokalsin, osteonektin, vitronektin,

trombospondin-1, serotonin gibi komponentlerin trombosit adezyonu, aktivasyonu ve fibroblast proliferasyonunda çeşitli rolleri vardır (18; 20; 64; 65; 66).

Kandaki ortalama değerleri ise, milimetreküpde 150.000 ila 400.000 arasında değişir. Trombositler dalakta yüksek oranda bulunurlar. Dolaşımında yaklaşık 7–10 gün kadar kalırlar ve daha sonra karaciğer ve dalakta retikuloendotelial sistem makrofajları tarafından dolaşımdan temizlenirler. Trombositlerin en önemli fonksiyonları, hemostaz ve yara iyileşmesi üzerinedir. Doku hasarı sonrasında trombosit aktivasyonu ile trombosit tıkaç oluşturularak, ekstrensek ve intrinsek koagülasyon kaskadı ile kan pıhtısı oluşumu ile kanamanın durması sağlanır.

Yara iyileşmesinin tüm fazlarında (inflamasyon, proliferasyon, remodelling ve skar dokusu oluşumu) trombositlerin etkileri vardır. Ortama salınan büyüme faktörleri, hücre göçünü, proliferasyonu, farklılaşmayı ve matriks sentezini artırır (18; 20; 66).

2.6. Trombositten Zengin Plazma (TZP)

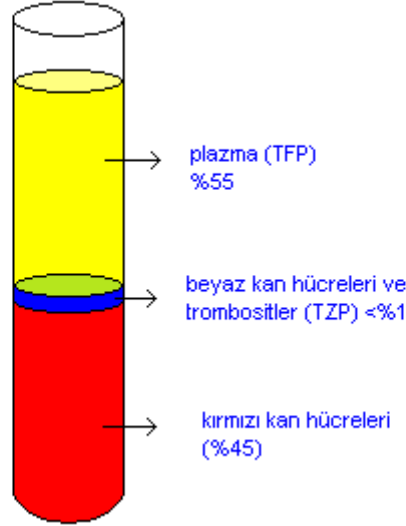
Trombosit içerisindeki büyüme faktörlerinin ve diğer maddelerin yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkileri 90'ların başında keşfedildikten sonra içerdiği çeşitli büyüme faktörleri ayrıntılı olarak araştırılmaya ve faydaları teker teker tespit edilmeye başlandı. Fibrin yapıştırıcılar, PRGF(büyüme faktörlerinden zengin plazma), TZP jel formasyonu ve sonrasında da Whitmann ve ark.nın (66) maksillofasial cerrahide titanyum implantlarda kullanımı ile iyice gündeme oturdu. Dünyanın çeşitli yerlerindeki yazarlar, kendi teknikleriyle değişik isimlendirme adı altında metodlarını yayınladılar. Dohan Ehrenfest ve ark. (65) bu konsantrasyon tekniklerinin birbirlerinin benzerleri olduğunu ifade ederek bir sınıflandırma yaptılar. 4 grupta sınıfladığı bu trombosit konsantrasyonlarını ayrıntılarıyla ortaya koydular (18; 65; 67). Bu çalışmada da Anuita'nın tariflediği teknik olan yani Ehrenfest'in sınıflamasına göre Saf TZP sınıfına giren teknikte tüm deney gerçekleştirildi. Sınıflama şu şekilde;

- 1) **Saf-TZP (P-PRP: pure platelet rich plasma):** Anuita'nın PRGF'si, Vivostat PRF, hücre ayırıcı PRF olarak sunulan teknikleri,
- 2) **L-TZP (Lökosit ve Trombositten Zengin Plazma: L-PRP):** Curasan, Regen, Plateltex, SmartPRP, PCCS, Magellan yada GPS PRP olarak ticari kullanıma sunulan teknikleri,
- 3) **Saf TZF (saf trombositten zengin fibrin: P-PRF):** Fibrinet tekniğini,
- 4) **L-TZF (lökosit ve trombositten zengin fibrin: L-PRF):** Choukroun'un PRF tekniğini kapsayan bir sınıflama yaptılar.

TZP(yani Saf-TZP), bazal değerlerden daha yüksek seviyelerde trombosit içeren otolog plazma kısmıdır. TZP, bazal plazma değerlerinden 3 ila 5 kat fazla trombosit içermektedir. TZP içerdiği bu yüksek miktardaki trombosit içeriğine bağlı olarak, pıhtılaşma faktörlerinin tümünü ve büyüme faktörlerini konsantre bir şekilde içerir. Başlıcaları; PDGF, TGF- β , VEGF, EGF ve ILGF gibidir (18; 65; 67).

TZP'nin etkisi, içerdiği büyüme faktörlerinin sinerjistik etkisiyle ortaya çıkmaktadır. TZP içerisinde büyüme faktörleri yanı sıra bulunan diğer maddeler, örneğin serotonin, fibrin ve trombin gibi, doku onarımında görevli hücrelerin proliferasyon ve migrasyonunu arttırmalarıdır. Ayrıca TZP'nin düşük Ph sı ve lizozomal bakterisidal enzimleri sayesinde enfeksiyona direnç oluştururken, henüz mekanizması bilinmeyen bir yolla ağrıyı da azalttığı gösterilmiştir (18; 66).

Hayvan çalışmalarında, özellikle küçük hayvanlarda, TZP hazırlamak için gereken kanı aynı hayvandan almak çeşitli zorluklar içerdiğinden kullanılan TZP'nin, otolog değil homolog hazırlanarak kullanıldığı görülmektedir (68; 69; 70). Bu nedenle oluşabilecek immün reaksiyonlara bağlı olarak, deneylerde yanlış-negatif sonuçlar oluşabilir. Gerçek TZP mutlaka otolog hazırlanmalıdır (71). TZP uygun şekilde hazırlandıktan sonra, içerisindeki trombositler 8 saat canlılıklarını koruyabilirler. TZP içerisindeki trombositlerin etkinleştirilmeleri için, en sık sığır trombinini ve kalsiyum kullanılmaktadır (18; 20; 71). Bu çalışmada ise otolog olarak TZP hazırlanmış, immün reaksiyonların önlenmesi için de kalsiyum ile aktive edilmiştir.



Şekil 10 : Santrifüj işlemi sonrası kanın tabakalara ayrılmış şematik görünümü.

TZP hazırlanırken denekten alınan antikoagüle edilmiş kan santrifüj edildiğinde 3 tabaka ortaya çıkmaktadır. En altta kırmızı kan hücrelerinden zengin tabaka, ortada trombositler ve beyaz kürelerden oluşan tabaka (TZP) ve en üstte plazma (trombositten fakir plazma- TFP) şeklinde katmanlar ayrılır. (Şekil 10) Sonra trombositten zengin kısım alınarak kalsiyum-klorürle aktive edilerek jel kıvam elde edilir ve bu jelimsi doku gerekli alana uygulanır (18; 20; 72; 73).

2.6.1. TZP Çalışma Prensipli

Trombosit α -granüllerindeki önceden sentezlenip depolanmış büyüme faktörleri, trombositlerin aktivasyonu sonrasında degranülasyonla ortama salınır. Bu salınım işlemi aktivasyon sırasında ilk 10 dakika içinde başlar ve ilk 1 saat içinde büyüme faktörlerinin %95'ten fazlası salınır. Bu ilk deşarj sonrasında, trombositler hayat döngüleri olan 7–10 gün boyunca ek büyüme faktörü ve diğer proteinlerin sentez ve salınımına devam ederler. TZP içindeki büyüme faktörleri normal metabolik olayların akışını değiştirmeyip, sadece hızlandırır, direkt hücre farklılaşması yaratmaz, ancak kök hücreler ve öncü hücrelerde hücre farklılaşmasını sağlayan morfogenez faktörlerine cevabı arttırırlar (18; 71; 73).

2.6.2. TZP Kullanım Alanları

TZP, ilk kez Whitman ve ark. (67) tarafından, maksillofasial cerrahide kullanımından sonra takip eden çalışmalarda özellikle kemik ve yara iyileşmesi üzerindeki etkileri üzerinde durulmuştur.

Periodontal, oral cerrahi ve kemik iyileşmesi: TZP'nin olumlu etkileri ilk olarak kemik rejenerasyonu üzerindeki saptanmış olup, maksillofasial ve çene cerrahisi alanlarında klinik kullanıma girmiştir. Maksillofasial bölgede geniş tümör rezeksiyonlarında, mandibula rekonstrüksiyonlarında, alveolar yarık cerrahi onarımında ve yarık dudak-damak ilişkili oro-nazal fistüllerin onarımında, osseointegre implantların yerleştirilmesinde, maksiller sinus kaldırma ameliyatlarında ve diş çekimi sonrası kanama kontrolü sağlamak amacıyla başarıyla kullanılmaktadır (67; 72).

By-pass cerrahisi: Del Rossi ve ark. (74) kardiyo-pulmoner by-pass cerrahisi sonrası kanama kontrolü ve hematolojik parametrelerde düzelme sağlanabileceğini bildirmişlerdir.

Spinal cerrahi: Spinal füzyon ameliyatlarında kemik rejenerasyonunda artış, kemik füzyonunda erken maturasyon elde etmişlerdir (75; 76).

Yara iyileşmesi: TZP ile muamele edilen yaralarda epitelyal diferansiasyon, dermal matrikste organizasyon daha düzgün olmakta ve vasküler büyüme, fibroblast proliferasyonu, kollajen üretimi artarak epitelizasyon daha hızlı gerçekleşmektedir (18; 77).

Ligaman ve tendon iyileşmesi: Büyüme faktörlerinden PDGF ile yapılan tendon ve ligaman iyileşmesi üzerine çeşitli deneysel çalışmalarda onarımı desteklediği gözlenmiş, TZP ile başarılı sonuçlar elde edilmiştir (78; 79).

Plastik ve kozmetik cerrahi: Özellikle adeziv ve hemostatik etkileri göz önüne alınarak, TZP'nin yüz germe operasyonlarında, üst ve alt göz kapağı blefaroplastilerinde, cilt greftlerinde, kemik greft donör alanlarında, kemik rekonstrüksiyonunda ve insizyonların dikişsiz kapatılması gibi Plastik Cerrahi uygulamalarında kullanımı mevcuttur.

Sinir iyileşmesi: Son zamanlarda TZP'nin çeşitli alanlarda etkinliği ortaya konduktan sonra sinir iyileşmesi üzerinde yapılmış çalışmaları artmaktadır. Özbayoğlu'nun tez (68) ve Sarıgüney ve ark. nin çalışmasında ise (69; 80), sıçan sıyatik sinirin crush yaralanma ve kesilip epinöral onarım yapılan alanına, TZP tek doz şeklinde uygulanmış ve sinir rejenerasyonunun olumlu yönde etkilendiği bildirilmiştir.

2.6.3. TZP İçersindeki Büyüme Faktörleri

2.6.3.1. Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF)

İlk olarak fibroblast ve düz kas hücreleri üzerindeki proliferatif etkisi nedeniyle 'trombosit kaynaklı mitojen' olarak tanımlanmıştır. Asıl kaynak trombositler olmasına rağmen, endotel hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar, düz kas hücreleri ve epidermal keratinositler gibi pek çok farklı hücre tarafından da sentezlenebilir. Klasik hedef hücreleri, fibroblastlar ve düz kas hücreleri olmasına karşın, glial öncü hücreleri, trombositleri ve endotel hücrelerini de etkiler (81; 82).

İn vivo olarak embriyonik gelişimde, santral sinir sistemi gelişiminde, vasküler sistem gelişiminde, doku homeostazında ve yara iyileşmesinde çeşitli görevleri vardır. PDGF, yara iyileşmesine cevapta en erken ortaya çıkan, fibroblast ve düz kas hücrelerine güçlü mitojenik etkisinin yanı sıra, nötrofil ve makrofajların kemotaksisini arttıran bir faktördür (81; 82). Santral sinir sisteminde PDGF etkinliği üzerine yapılmış çeşitli çalışmalarda; nöroprotektif etkili, remyelinizasyonda artışa neden olduğu saptanmıştır (83; 84).

Özellikle periferik sinir hasarı sonrası Schwann hücrelerinde, hem PDGF reseptörleri, hem de PDGF miktarı artmaktadır ve Schwann hücrelerinin yaşayabilirliğini desteklediği, aksonal rejenerasyonu hızlandırdığı gösterilmiştir (85; 86; 87).

2.6.3.2. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)

Tümör anjiogenezisi üzerindeki etkisi nedeniyle, 1983 yılında tanımlanmış bir faktördür (88). Tümör hücrelerince salınan VEGF vasküler endotel hücre geçirgenliğini

arttırarak, ödeme neden olmaktadır ve bu nedenle 'vasküler permeabilite faktörü' olarak tanımlanmıştır. Endotel hücreleri için, güçlü anjiogenik etki göstererek anjiogenezi arttırır.

Periferik sinir üzerine yapılan çeşitli çalışmalarda, ortama VEGF eklenmesi ile aksonal büyümede, Schwann hücre yaşayabilirliği ve diferansiasyonunda artış olduğu, sinir rejenerasyonunun hızlandığı gözlenmiştir (18; 88; 89; 90; 91).

2.6.3.3. Transforme Edici Büyüme Faktörü-Beta (TGF- β)

İlk olarak 1983 yılında plasenta kaynaklı elde edilmiş ve fibroblast proliferasyonunu sağladığı görülmüştür. Normal hücreleri malign hücelere çevirdiği düşünüldüğü için bu isim konmuştur; ancak daha sonra malign dönüşüm etkisi olmadığı anlaşılmıştır. TGF- β vücutta trombosit, makrofaj, lenfosit, fibroblast, kemik hücreleri ve keratinositler gibi pek çok farklı hücreden sentezlenebilir ve hemen hemen tüm hücrelerin duyarlı oldukları bir faktördür; ancak her hücre tipinin bu faktöre yanıtı farklılık gösterir (inhibisyon-stimülasyon) (92; 93).

Yara iyileşmesinin geç fazı olan güçlenme ve remodeling fazında da etkileri vardır. Özellikle yara iyileşmesinde esas görevi olan hücrelerin proliferasyonu, diferansiasyonu ve gen ekspresyonunu etkileyerek, bazı fibrotik hastalıkların da patogenezinde rol alır. Ekstra-sellüler matrikse mitojenik, kemotaktik ve anabolik etkileri olup, inflamatuvar ve immün cevabın hem hücresel hem de hümorale basamaklarında, ayrıca anjiogeneizde rol alır (18; 92; 93).

Sinir hasarı sonrasında makrofajlar ve Schwann hücrelerinden salınır. TGF- β 1 ve TGF- β 2'nin, in vitro sıçan Schwann hücreleri için güçlü etkili mitojenik ajanlar olduğu ortaya konmuştur. Özellikle de motor nöronlar için potent bir nörotrofik faktör olan GDNF'ün, fonksiyonlarını gösterebilmesi için TGF- β 'ya ihtiyaç duyduğu gözlenmiştir (54; 92; 93).

2.6.3.4. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1 ve 2 (ILGF-1 ve ILGF-2)

Doku büyümesi, gelişimi ve rejenerasyonunda etkileri vardır. Somatomedinler olarak da anılırlar. Primer olarak karaciğerde üretilmelerine karşın, otokrin uyarı ile tüm

vücut dokularında üretilebilirler. Büyüme hormonu etkisini ILGF-1 üzerinden göstermektedir.

ILGF-1 anabolik etkilidir. Öncelikle protein sentezini uyarır, periferik hücrelerde glikoz içe alımını, glikojen sentezini, nöron yaşayabilirliğini, miyelin sentezini artırır ve kemik iyileşmesinde de olumlu etkileri vardır. PDGF ve ILGF-1 beraber kullanıldıklarında sinerjistik etki ile yara iyileşmesini desteklemektedirler.

Santral, periferik ve otonom sinir sistemi gelişiminde önemli rol oynamalarının yanı sıra, sinir yaralanma modellerinde, periferik sinir rejenerasyonunu destekleyici etkileri ortaya konmuştur (82; 93; 94; 95).

2.6.3.5. Fibroblast Büyüme Faktörü 1 ve 2 (FGF-1 ve FGF-2)

İlk olarak sığır hipofiz bezinden elde edilmiştir. FGF-1 asidik, FGF-2 bazik fibroblast büyüme faktörüdür. Endotel hücreleri, nöral hücreler, vasküler düz kas hücreleri ve keratinositler tarafından üretilebilirler ve her iki faktör de mezoderm ve nöroektoderm kökenli hücreler üzerine kuvvetli mitojenik etki gösterir. Hasar sonrası inflamasyon bölgesinde kemotaksis, hücre proliferasyonu ve diferansiasyonu destekler, anjiogenezi uyarır (18; 93).

FGF-2, FGF-1' den 10 kat daha fazla anjiogenezi uyarırken; FGF-1'in de periferik sinir rejenerasyonunu desteklediği saptanmıştır, her iki faktörün de in vitro olarak Schwann hücre mitozunu arttırdıkları gözlenmiştir. FGF-1, santral ve periferik nöronlarda yaşayabilirliği ve diferansiasyonu destekler (82; 93).

2.6.3.6. Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)

İlk kez 1962 yılında Stanley Cohen tarafından erkek fare submandibuler bezinden izole edilmiştir (68). Endotel hücreleri, fibroblastlar ve sinir sistemi destek doku hücreleri için mitojeniktir. Ayrıca vasküler düz kas hücrelerine de mitojenik etkili olup, anjiogeneze de rol alır.

Çeşitli çalışmalarda nöron içeren doku kültüründe, EGF uygulaması ile aksonal rejenerasyonda artış saptanmış (96), ancak başka bir çalışmada oluşturulan sinir defektine dışardan uygulanan EGF'ün, sinir iyileşmesinde etkisi olmadığı görülmüştür (97).

2.7. Eritropoetin (EPO)

Eritropoetin (EPO), kırmızı kan hücrelerinin üretiminin düzenlenmesinde ve hematopoezde önemli rol oynamakta, böbreklerde sentez edilmekte ve anti apoptotik aktivitesi sayesinde eritrosit hücrelerinin hayatta kalmasını sağlamaktadır.

Eritropoetin periferik sinir sisteminde de hem normal hem de patolojik koşullarda önemli rol oynadığı gösterilmiştir (98). Erişkin ratlarda siyatik sinir ve Dorsal Kök Ganglionunda EPO ve EPO reseptörlerinin (EPO-R) bulunduğu, EPO'nun Dorsal Kök Ganglionunda hücre gövdesinde ve aksonda da üretildiği ve yaralanma sonrasında schwann hücrelerinde seviyelerinin arttığı bildirilmiştir (98; 99; 100). EPO ve EPO-R'nin, hücre gövdesinde, aksonlarda, endotelial hücrelerde ve schwann hücrelerinde bulunduğu, nöronal fonksiyonun önemli komponentleri olduğunu ve sinir yaralanması sonrasındaki artmış hücresel aktivitede rol aldığını düşündürmektedir (21; 100).

Yaralanma sonrası sinirlerin korunmasında endojen mekanizmaların yetersiz kaldığı belirtilmektedir ve eksojen verilen rekombinant insan EPO'nun (rhEPO) yararlı etkileri olduğu, beyin, spinal ve periferik sinir yaralanma modellerinde gösterilmiştir. EPO'nun primer duyu nöronlarını hücre ölümünden koruduğu ve spinal sinir yaralanma modelinde ağrıyı ortadan kaldırdığı saptanmıştır (99; 100; 101).

EPO; periferik sinir sisteminde ve schwann hücrelerinde potansiyel sinir koruyucu aktivitenin artmasını sağlar, Schwann hücrelerinde EPO-R vardır ve bu oran periferik sinir hasarı sonrası artar (21; 100; 102).

2.8. Periferik Sinir Cerrahisi

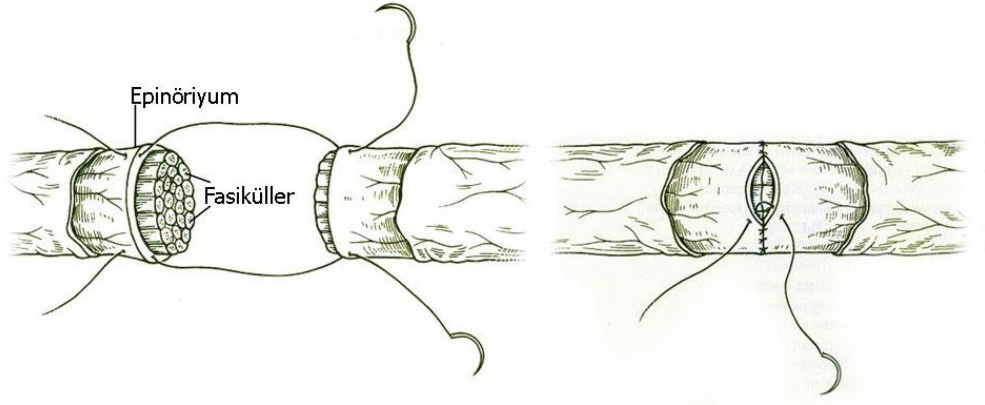
Periferik sinir sistemine ait ilk bilgiler Hippocrates'e (MÖ 460-370) kadar uzanmaktadır, fakat sinir kesilerinin duyuşal ve motor kayba yol açtığını ilk olarak Galen (MS 130-200) bildirmiştir. Sinir tamiri ile ilgili ilk kayıtlar ise William'a (13. yy) aittir. Kayıtlara geöen ilk başarılı sinir onarımı ise 1847 yılında Paget tarafından gerçekleştirilmiştir. Sinir defektlerini sinir greftleri ile onarma fikri ilk kez Philippeaux ve Vulpian tarafından ortaya atılmış, ilk klinik uygulama ise 1878 yılında Albert tarafından yapılmıştır. Greftle tamirde ilk başarılı sonuç ancak 20. yüzyılın başlarında Mayo-Robson tarafından yayınlanmıştır (4; 103).

Sinir onarımlarındaki başarı oranı yirminci yüzyılın başlarında artmaya başlamış, birinci ve ikinci dünya savaşları nedeniyle büyük gelişmeler kaydedilmiştir. 1963 yılında operasyon mikroskoplarının kullanıma girmesi, 1967 yılında Bora tarafından gerçekleştirilen perinöral onarımın keşfi sinir cerrahisi açısından önemli bir dönüm noktası olmuştur (104; 105). Periferik sinir yaralanmalarının tedavisi ile ilgili, dikiş ile onarım teknikleri, fibrin yapıştırıcı kullanımları, onarım hattının tübülizasyon materyalleri ile desteklenmesi ve onarım alanına uygulanan ek topikal tedaviler gibi konularda çok sayıda çalışma bulunmaktadır.

2.8.1. Onarım Teknikleri

Yaralanmış bir sinirde onarımın hedefi, fonksiyonel ileti ünitesi olan fasiküllerde devamlılığın sağlanması için bu yapıların cerrahi olarak doğru konumlarda karşılıklı getirilmesi, yani sinir uçlarının 'koaptasyonu'dur. Sinir onarımı için en uygun zaman yaralanmadan sonraki mümkün olan en erken dönemdir. Erken dönemde fasiküler dizilimin ve epinöral damarların, proksimal ve distal uçların doğru olarak karşı karşıya getirilmesinde yol gösterici etkileri vardır (14; 106).

1. Epinöral Onarım: Klinikte en sık kullanılan onarım tekniğidir. Dikiş proksimal ve distal uçlardaki epinöriumdan geöer (**Şekil 11**) (107). Sinir uçlarının uygun pozisyonda karşı karşıya gelmesini sağlamak için klavuz olarak longitudinal seyreden kan damarları ve fasiküller karşılıklı getirilmeye çalışılır (14). Sinirlerin kalınlığına göre 8/0, 9/0 veya 10/0 monoflaman dikişler tercih edilir. Dikiş materyali olarak emilen ya da emilmeyen dikişler

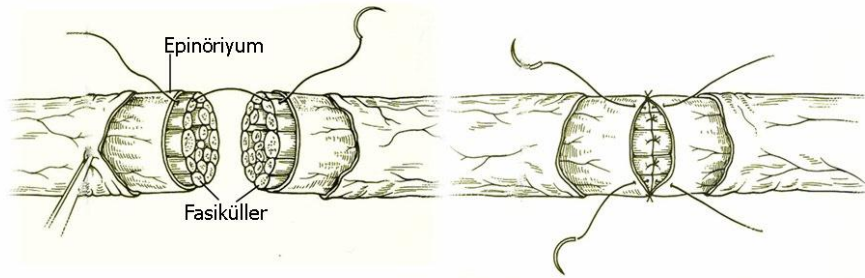


Şekil 11 : Epinöral onarım şematik görünümü (107).

kullanılabilmektedir. Dikiş sayısı sinir uçlarını yaklaştıracak ve gerginlik yaratmayacak şekilde, mümkün olan en az sayıda olmalı ve fasiküller dikiş aralarından çıkmamalıdır.

Epinöral onarımın basit olması ve kısa sürmesi en önemli avantajlarıdır. Ayrıca cerrahi müdahale sırasında fasiküler yapılara ek zarar verilmez ve sinir içerisinde reaksiyona neden olabilecek dikiş materyali olmaz. Yöntemin en önemli dezavantajı ise, eş fasiküllerin her zaman karşılıklı gelememesidir. Ufak bir gerginlik bile fasiküller arasında açıklık oluşmasına neden olabilir. Bu açıklık ise başarıyı olumsuz etkilemektedir (33).

2. Perinöral (Fasiküler) Onarım: Optimal eşleşmeyi sağlayabilmek için proksimal ve distal sinir uçlarındaki eş fasiküllerin birbirlerine dikilmesi amaçlanır (**Şekil 12**). Fasiküler onarımda her fasikülün 2–4 adet dikiş ile tutturulması genellikle yeterli olmaktadır ve bu sayede fasiküllerin hatalı yönlenmesi engellenebilmektedir (105).



Şekil 12 : Perinöral onarım şematik görünümü (107).

Tekniğin en önemli ve zor yönü fasiküllerin uygun eşleşmesini yapabilmektir. Bunun için de sinirin fasiküler dağılımını bilmek gerekmektedir. Yaralanmadan sonraki ilk 72 saatte yapılan ameliyatlarda, intraoperatif elektrodiagnostik yöntemler ile fasiküler dağılımı tanımlamak mümkün olabilmektedir. Duyusal liflerin hatalı fasiküler onarımında oluşacak fonksiyon kayıpları kortikal yeniden tanımlama ile geri dönebilirken, motor aksonların duysal aksonlara veya interfasiküler epinöryuma yönelmesi durumunda fonksiyon kaybı kaçınılmaz olmaktadır (108). Perinöral dikiş tekniğinin en önemli dezavantajı, sinir içine konulan dikiş materyalinin yarattığı yabancı cisim reaksiyonu ve yapılan ek diseksiyonlar sonucu artan intranöral fibrozis riskidir. Ayrıca bu yöntem diğerlerine göre daha uzun sürmektedir.

Epinöral ve perinöral dikiş tekniklerinin karşılaştırmalı çalışmaları çok farklı sonuçlar içermektedir (6). Genel kanı cerrahın tecrübeli olduğu yöntemi tercih etmesi yönündedir. Sunderland ise her iki tekniği de yerine göre kullanmayı önermiş, fasikül seyrinin kalın ve belirgin olduğu durumlarda perinöral, kesinin düzensiz, fasiküllerin ayrımının zor olduğu durumlarda ise epinöral tekniği kullanmak gerektiğini belirtmiştir (109).

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

3. Epiperinöral Onarım: Her iki yöntemin birleşimi olan bu teknik, 1964 yılında Edshage tarafından (110) tanımlanmıştır. Teknik olarak epinöral dikiş tekniğine benzemekle beraber, dikişler karşılıklı olarak perinöral tabakadan da geçilmektedir. İntranöral travma riski yüksektir.

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

Lazer ile onarım bu yöntemlerden biridir. Burada kesik sinir uçları yaklaştırılarak iki tespit dikişi konulduktan sonra, lazer ışınları ile uçlar birbirine tespit edilir. Anastomoz sağlandıktan sonra tespit dikişleri alınabilir. Bu yöntemin, aksonların tüp dışına çıkmasını önlediği belirtilmektedir, ancak traksiyonel kuvvetlere direnci tartışmalıdır (111).

Fibrin yapıştırıcı da sinir onarımında kullanılan farklı bir biyomateryaldir. Ancak onarım bölgesinde inflamatuvar reaksiyonu arttırması ve yeterli traksiyonel kuvvet sağlayamaması gibi dezavantajları bulunmaktadır. Deneysel çalışmalarda iki adet dikiş konulduktan sonra fibrin yapıştırıcı kullanımının daha uygun olduğu gösterilmektedir (112).

Menovsky tarafından rat siyatik siniri üzerinde yapılan bir çalışmada laser, fibrin yapıştırıcı ve epinöral dikiş teknikleri karşılaştırılmış ve fonksiyonel iyileşme açısından anlamlı fark bulunmamıştır (113).

2.9. Elektrofizyolojik Ölçümler

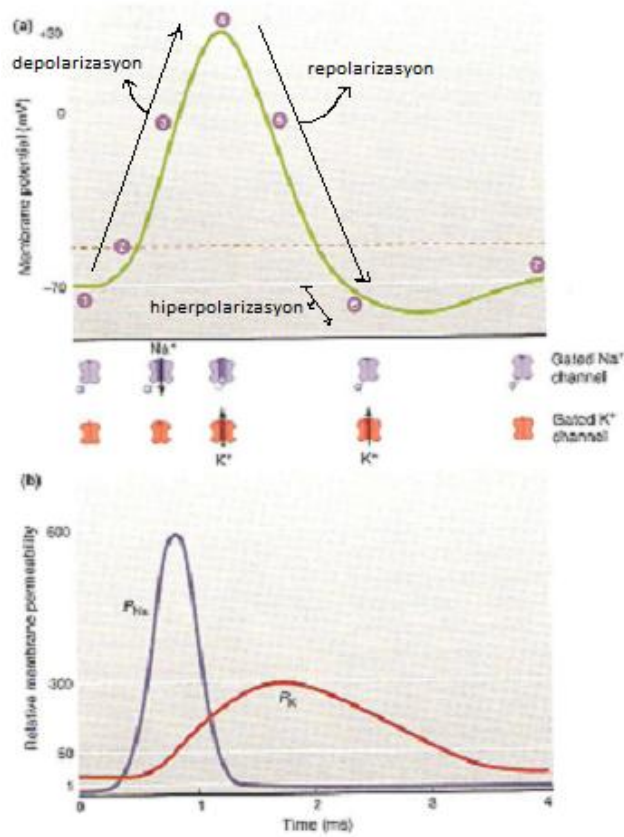
2.9.1. Sinir Lifinde Aksiyon Potansiyeli Oluşum Mekanizması

Sinir sisteminde bilgi iletimi, hücrenin içi ile dışı arasındaki mevcut dinlenim potansiyel farkının (zar potansiyeli) geçici olarak değişmesi ve bu değişikliğin hücre zarı boyunca yayılması ile oluşur. Zar potansiyelindeki bu geçici değişim aksiyon potansiyeli (AP) olarak adlandırılır. Uyarılma sonucunda zar potansiyeli kritik bir değeri aşarsa, zar aksiyon potansiyeli tetiklenmek üzere depolarize olur. Sinir hücresinde de oluşan bu aksiyon potansiyeli hücre gövdesinden akson boyunca akarak hedef organa ulaşır ve gerekli uç organ cevapları elde edilir. Hücre zarı, çift tabaka lipid yapısı sayesinde hücre içi ile dışını hem elektriksel hem de kimyasal açıdan ayıran yalıtkan özelliğe sahiptir. Bu elektriksel olaylar, hücre içi ile dışı arasındaki pozitif ve negatif iyonların geçişleri ile sağlanmaktadır. Bu geçişleri sistemli ve belli bir düzene göre ayarlama mekanizmalarını zar içerisinde görev alan iyon kanalları gerçekleştirir.

Sinir hücre zarlarının etrafı negatif ve pozitif yüklü iyonların oluşturduğu (Na^+ , K^+ , Cl^- , organik anyonlar- A^-) bir yük tabakası ile çevrilidir. Dinlenim durumunda hücre içinde negatif iyonlar yoğunken, hücre dışında ise pozitif yüklü iyonlar daha fazladır. Bu yük dağılımı hücre zarının dinlenim durumunda iyon geçişlerine izin vermemesi sayesinde korunmaktadır. Kanallardan sızıntı şeklinde geçen iyonlar ise pompalar ile geri atılarak iç ve dış iyon konsantrasyonları sabit tutulmaktadır. Bu yük dağılımı sebebiyle hücrenin içi ile dışı arasında “zar potansiyeli” adı verilen bir potansiyel fark meydana gelmektedir. Zar potansiyeli tanım gereği;

$$V_m = V_{iç} - V_{dış}$$

şeklinde ifade edilmektedir. Konvansiyonel olarak hücre dışı referans seçilerek yapılan ölçümlerde dinlenme zar potansiyeli nöronlar için -60 ile -70 mV civarındadır. Uygun bir uyaran ile bu dinlenme zar potansiyeli aksiyon potansiyeli tetiklenmek üzere pozitif yönde bozular. Aksiyon potansiyeli ile birlikte zar potansiyeli değeri +40 mV ile +60 mV değerlerine kadar ulaşabilir. Dinlenme durumunda negatif yönde polarize olmuş zardaki bu pozitif yönde değişim olayına Depolarizasyon denir. Bunu Na^+ , K^+ iyon kanalları işlevleri ile repolarizasyon dönemi izler. Sonrasında hiçbir uyarıya cevabın verilmediği Refrakter dönem alır, refrakter dönem sonrasında sinir lifi yeni uyarıyı alabilecek kapasiteye gelmiştir. Tüm bu işlemler sonrasında dinlenme durumundaki iyon dengesine dönüş ise enerji harcanarak aktif iyon pompalarıyla sağlanır. Bu işlemlerin tümü sadece saniyenin binde birleri gibi çok kısa sürelerde gerçekleşir (Şekil 13) (34; 114).



Şekil 13: Sinir lifinde (tek lif) aksiyon potansiyeli oluşumu ile Na^+ , K^+ zar geçirgenliği ilişkisi (114).

2.9.2. Sinir İletimini Etkileyen Faktörler

Sinir lifinin herhangi bir noktasından verilen uyarana yanıt “ya hep ya hiç” özelliğine bağlı olarak eşik değeri aşan şiddetteki uyarılar aksiyon potansiyeli oluşturarak akson boyunca yayılır. Aksiyon potansiyelinin akson boyunca yayılma hızı birtakım özelliklere bağlıdır. Bu özelliklerden bazıları;

1. Kolay uyarılabilir özellikteki lifler (eşik değeri düşük) aksiyon potansiyellerini daha hızlı iletirler.
2. Akson zarının üzerinde yer alan sodyum kanallarının zardaki yoğunluğunun fazla olması birim zamanda açılan kanal sayısını da artıracığından iletim hızını artırır.
3. Hücre sitoplazmasının direncinin az olması yani öz iletkenliğinin fazla olması iletim hızını artırır.
4. Miyelin kılıfının kalınlığı iletim hızını etkileyen faktörlerdendir. Miyelin kılıfın kalınlığı arttıkça iletim hızı da artar.
5. Aksonun çapının büyük olması iletim hızını artırır. Miyelinli aksonlarda iletim hızı, yarıçap ile doğru orantılıyken, miyelinsizlerde yarıçapın karekökü ile doğru orantılıdır.
6. Sıcaklık arttıkça iletim hızı artar (115; 116; 117).

2.9.3. Bileşik Aksiyon Potansiyeli (BAP)

Periferik sinir çeşitli aksonlardan oluşan, fonksiyonel özelliğine göre farklılıklar gösteren lif demeti yapısındadır. Bir sinir içerisindeki lifler, çapları ve miyelin kılıflarının kalınlıkları bakımından farklılıklar gösterir. Bu nedenle her bir lifin iletim hızı ve aksiyon potansiyeli parametreleri de farklı olacaktır.

Günümüze kadar tek lif aksiyon potansiyelini (TLAP) tek başına kaydetmek mümkün olmamıştır. Dolayısıyla birden fazla, farklı özelliklerdeki liflerden oluşan periferik sinirlerle yapılan çalışmalarda, teorik olarak lif demetine yeterli şiddette uyarı uygulanırsa, tüm demetlerin ortaklaşa oluşturdukları aktiviteleri gözlenir. Gözlenen bu toplam aktivite her bir sinir lifine ait TLAP'nin toplamından oluşur ve bu potansiyel bileşik aksiyon potansiyeli (BAP) olarak adlandırılır.

Farklı eşik değerine sahip liflerden oluştuğu için ya hep ya hiç özelliği göstermez. Uyarıcı şiddeti arttıkça genliği artmaktadır. Eğer uyarıcı şiddeti, siniri oluşturan tüm sinir liflerini uyarabilecek kadar büyükse BAP'ın genliği sabit bir değere ulaşır. Bu durumda BAP sinyali tüm sinir liflerinin aktivitesini içermektedir. Bu şiddet değerinden itibaren uyarıcı büyüklüğü ne kadar artırılırsa artırılsın BAP genliğinde bir değişiklik olmaz. BAP'nin mutlak refrakter dönemi, sinir içerisindeki en büyük çaplı, yani en büyük iletim hızına sahip lif grubunun mutlak refraktör dönemine eşit olmaktadır (117).

Kayıt uzaklığı artırdıkça BAP genliğinde azalma ve süresinde artma gözlenirken, farklı iletim hızlarına sahip lif gruplarının oluşturduğu, gittikçe birbirinden ayrılan hörgüçler de belirginleşmeye başlar. Hörgüçlerin birbirinden ne kadar oranda ayrıştığı (veya uzaklaştığı), lif gruplarının hızlarının ne kadar birbirinden farklı olduğu ile direkt olarak ilgilidir. Bununla birlikte kayıt mesafesinin uzaması ile genliğin azalmasına rağmen ideal koşullarda BAP eğrisi altında kalan alanın sabit kalması beklenir (117; 118).

BAP içerisindeki hörgüçlerin genliği ise sinirin içerdiği lif gruplarının çeşitliliğine göre değişiklik gösterir. Bu çeşitliliği, lif grubunu oluşturan aksonların çapları ve sayıları belirler. Büyük çaplı lifler daha düşük bir uyarılma eşik değerine sahip ve TLAP genlikleri fazla iken, küçük çaplı liflerin uyarılma eşik değeri düşük ve daha küçük genlikli TLAP'lere sahiptirler. Bu durum, aynı sayıda akson içeren iki çap grubundan, düşük çaplı liflerin BAP genliğine katkılarının daha az olmasına sebep olur (117).

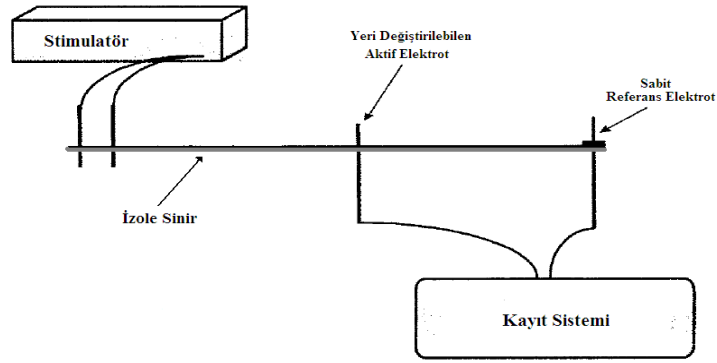
İzole periferik sinirlerden kaydedilen BAP'ler çeşitli yöntemler kullanılarak analiz edildiğinde, sinir liflerinin yapısal ve fonksiyonel özellikleri ile ilgili bilgiler çıkarılabilmektedir. Sinirin izole edilerek çalışılması ile motor-son plak ve kas ile ilgili problemler olaya katılmadığından sadece siniri ilgilendiren sorunlara odaklanma imkanı elde edilir. Sinirde meydana gelen zedelenmeler, yaralanma sonucu meydana gelen sinir hasarları ya da çeşitli hastalıklar sonucu meydana gelen sinir dejenerasyonları ve seviyeleri bu sayede detaylı olarak tesbit edilebilmektedir (117).

2.9.4. Bileşik Aksiyon Potansiyelinin Kaydedilmesi

İzole periferik sinir deneysel çalışmalarında BAP kayıtları iki temel yöntem kullanılarak yapılmaktadır. Bunlar ekstraselüler ve “suction” kayıt yöntemleridir (117).

2.9.4.1. Ekstraselüler Kayıt Yöntemi

Bu yöntemde hacim iletken etkilerini en aza indirmek için izole sinir kullanılır. İzole sinir, sinir kutusu içerisine yerleştirilmiş uyarıcı ve kaydedici elektrotlar üzerine yatırılır. Stimülatöre bağlı olan uyarıcı elektrotlar aracılığı ile sinir uyarılır, oluşan BAP sinyalleri istenilen mesafeden kayıt elektrotları aracılığı ile kaydedilir. Kayıt elektrotları elektrot potansiyelini ve gürültüyü (artefakt) en aza indirmek için genellikle Ag/AgCl elektrotlardan yapılır (Şekil 14).



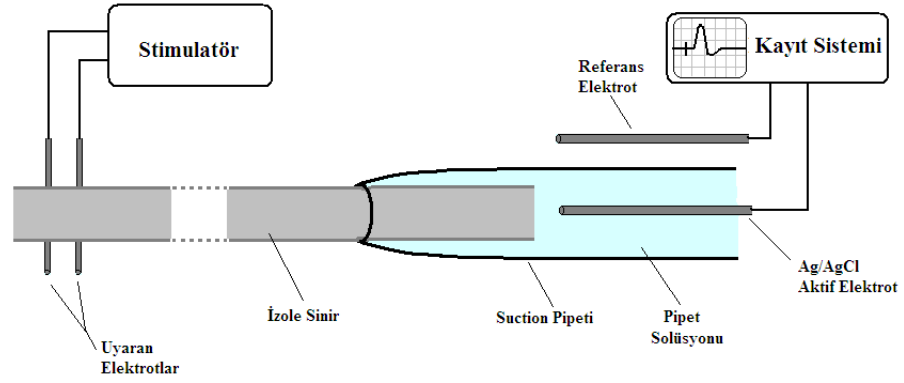
Şekil 14 : Ekstraselüler kayıt sistemin şematik görünümü (119).

Bazı ekstraselüler kayıt yöntemlerinde hacim iletkeni direncini artırmak (~10 MΩ) ve sinirin dış ortamdan etkilenmesini azaltmak için sükröz, sıvı vazelin vb. gibi yalıtkan akışkanlar kullanılır. İzole sinir bu akışkanın içerisine yatırılır ya da belirli bir bölgesinin bu akışkanın içinden geçmesi sağlanır (117; 119).

2.9.4.2. “Suction” Yöntemi

Suction elektrodu ekstraselüler elektrotlarla uyarılan bir sinirde oluşturulan BAP yanıtların kaydedilmesi için kullanılabileceği gibi sinirleri uyarmak ya da kardiyak hücrelerden aksiyon potansiyeli kaydı almak için de kullanılabilir.

Bu yöntemde borosilikattan yapılmış kapiller tüplerin uçları bir mikroelektrot çekici kullanılarak çalışılacak sinirin kayıt alınacak ucunun çapına göre inceltilir. Bu şekilde elde edilen pipetlerin içi tuz çözeltisi ile (3 M KCl) doldurulur. Cl ile kaplanmış Ag tel (Ag/AgCl elektrot) mikropipetin içine daldırılarak suction elektrodu elde edilir. Bu elektrot kayıt için kullanılmak isteniyorsa kayıt sistemine, uyarmak için kullanılmak isteniyorsa stimülatöre uygun iletkenlerle irtibatlandırılır (Şekil 15) (117).



Şekil 15: "Suction" kayıt sistemi şematik gösterimi (117).

Bu kayıt yönteminin getirmiş olduğu avantajlardan biri kayıt elektrodu ile referans elektrodu arasındaki direncin artırılmasıdır ($\sim 40-70 \text{ M}\Omega$). Böylece sinirin aktivitesi esnasında akım kaybı minimuma indirileceğinden gerçek değere yakın potansiyel değerleri gözlenmiş, hacim iletkenliğinden kaynaklanan bilgi kaybı da minimuma indirilmiş olur.

Bir diğer önemli avantajı ise kayıt bölgesindeki sıcaklığın sabit tutulabilmesidir. Sıcaklığın sinir iletim parametreleri üzerine direkt etkili olması nedeniyle canlı dokudan izole edilerek çalışma sırasında fizyolojik tüm koşulların (sıcaklık, elektrolit, asitlik dengeleri gibi) oluşturulması, deneysel verilerin gerçeğe yakınlığını sağlamaktadır. Bu nedenle deneysel çalışmalarda kullanılan sıcakkanlı hayvanlara ait dokuların canlılığının vücut sıcaklığında uygun fizyolojik çevre şartlarında tutulması oldukça önemlidir. "Suction" elektrot kullanılarak yapılan çalışmalarda sinirin kayıt alınan bölgesi solüsyon içerisinde yer aldığından, bu solüsyon uygun fizyolojik koşulları perfüzyon işlemi ile sabit tutulabilmektedir (117; 120).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma 26.02.2010 tarih ve 2010–017 sayılı Selçuk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi (SÜDAM) Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan onay alınarak, 2010–2011 yıllarında SÜDAM'de, elektrofizyolojik testleri S.Ü Meram Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı'nda ve patolojik incelemeleri de Patoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı. Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 10102011 proje numarasıyla desteklendi.

Çalışmada yaklaşık 200–300 g ağırlıklarında Wistar albino cinsi 60 adet erişkin dişi sıçan kullanıldı. Çalışmanın cerrahi işlemleri SÜDAM'de müdahale odalarında gerçekleştirildi. Cerrahi öncesi ve sakrifikasyon öncesi sıçanlara intraperitoneal 100 mg/kg Ketamin-HCl (Ketalar®, Pfizer) ve 5 mg/kg Ksilazin-HCl (Rompun®, Bayer) ile anestezi uygulandı. Cerrahi sonrası sıçanlar beşerli-altışarlı olarak kafeslere kondu, sınırsız (ad-libitum) su ve diyet verildi. Cerrahiye takip eden 2. ve 4. aylarda elektrofizyolojik çalışmalar yapıldıktan sonra çıkarılan siyatik sinirler histopatolojik olarak incelendi.

Tüm cerrahi işlemler aynı cerrah tarafından biyomikroskop altında (Carl Zeiss OPMI 9-FC, Germany), yüz üstü yatar (prone) pozisyonda uygulandı. Sıçanların sol siyatik sinirlerine cerrahi işlem uygulandı. Kesi Grubunun sağ taraf sağlam sinirleri normal verileri elde etme amacıyla Kontrol Grubu olarak alındı.

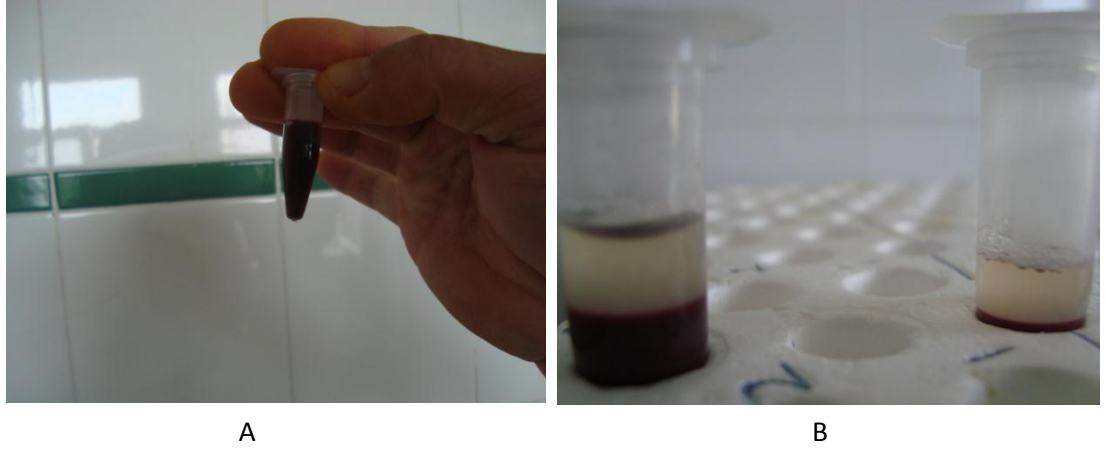
3.1. Gruplar

Sıçanlar 4 gruba ayrıldı. 1. ve 2. grup aynı sıçanların sağ ve sol siyatik sinirleri, 3. grup EPO, 4. grup TZP grubu şeklinde ve ayrıca her grup da kendi içinde 2 aylık ve 4 aylık şeklinde ayrıldı;

- 1. Grup: Kontrol (sağ taraf) – 2 aylık, 4 aylık
- 2. Grup: Kesi (1.gruptaki sıçanların sol tarafları) – 2 aylık, 4 aylık
- 3. Grup: EPO – 2 aylık, 4 aylık
- 4. Grup: TZP –2 aylık, 4 aylık

3.2. TZP Hazırlanışı

TZP grubundaki sıçanlara anestezi uygulandıktan sonra, Anuita'nın tariflediği metotla (72), 0,1 ml %3,8'lik sodyum-sitrat çekilmiş 1ml lik insülin enjektörlerine intrakardiyak ponksiyonla 1 ml kan alındı. Otolog alınan bu numune santrifüj için uygun eppendorf tüplerine alındı (**Şekil 16-A**), oda sıcaklığında 1800 rpm de 10 dakika santrifüj (NÜVE 1000-R santrifüj cihazı) edildi. **Şekil 16-B** deki gibi kan elemanları ayrıldı. Plazma-şekilli elemanların kesişme alanı olan trombositten zengin plazma aspire edilerek %10'luk kalsiyum klorürle 10 dakikada aktive edilerek oluşan jel (**Şekil 17-A**) hemen cerrahi işlem bölgesine uygulandı (**Şekil 17-B**) .



Şekil 16: Eppendorf tüpüne alınan 1 ml kan (A) ve santrifüj sonrası plazma-şekilli eleman ayrımı (B).



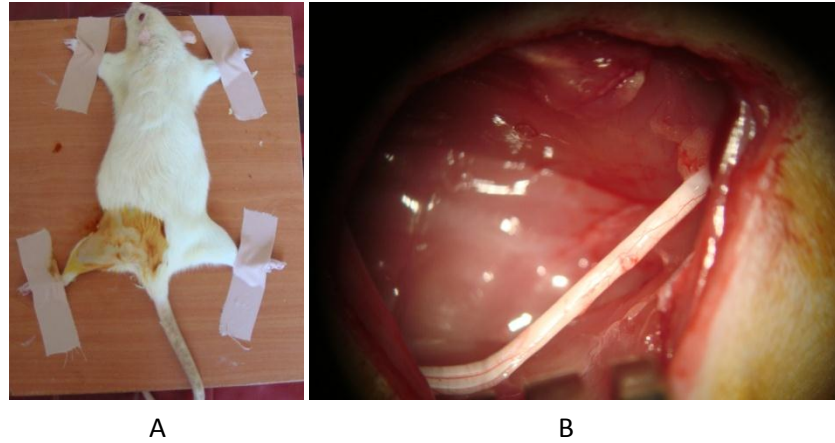
Şekil 17 : Aktive olmuş TZP (A) ve cerrahi alana hemen uygulanması (B).

3.3. Cerrahi İşlem

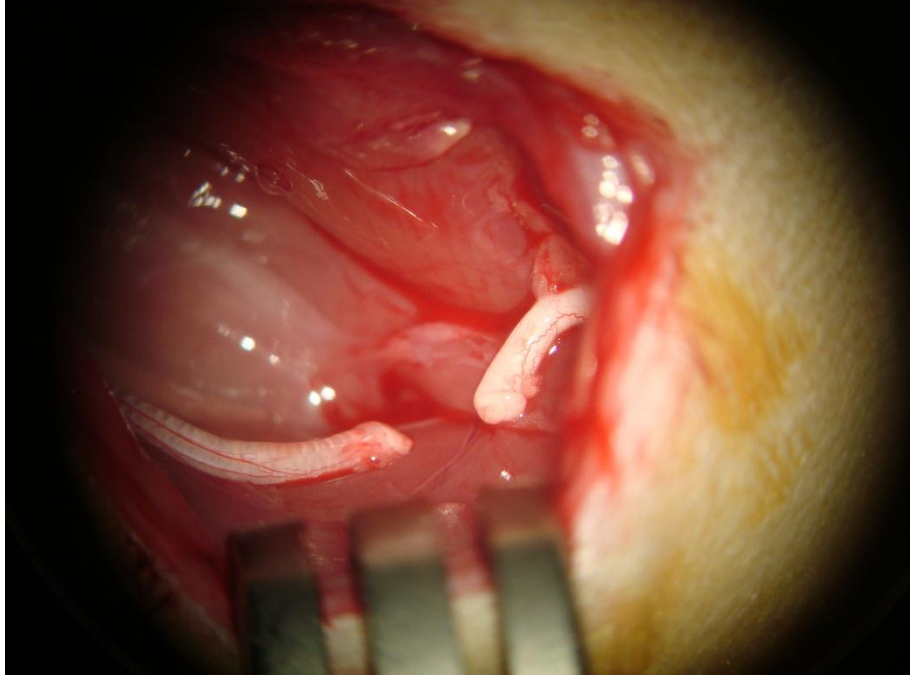
Tüm sıçanlar SÜDAM müdahale merkezinde gerekli anestezi verildikten sonra, sol femur cildi vertebradan dize kadar traşlandı, müdahale tahtasına prone pozisyonda yatırılarak tespit edildi. Operasyon bölgesinde povidon iodin ile antisepsi sağlandı (**Şekil 18-A**). Cilt kesisi sonrası katlar geçilerek siyatik sinire ulaşıldı (**Şekil 18-B**). Keskin temiz bistüri ile tek hamlede sinir bifirkasyon bölgesinin yaklaşık 1 cm proksimalinden, femur orta hattı hizasından kesilerek Aksotomi yapıldı (**Şekil 19**).

Biyomikroskop altında 8/0 yuvarlak uçlu monoflaman prolenle yaklaşık 90 derecelik aralıklarla, anastomozdan dışarıya sinir uçları çıkmayacak şekilde, anastomoz yapıldı (**Şekil 20**). Dokular Serum Fizyolojik ile yıkanarak, TZP grubunda yukarıda bahsedildiği gibi TZP hazırlanarak anastomoz bölgesine konduktan sonra kas ve cilt kapatıldı. EPO grubunda cerrahi sonrasında hemen intra-peritoneal 5000 İÜ/kg rekombinant Eritropoetin yapıldı.

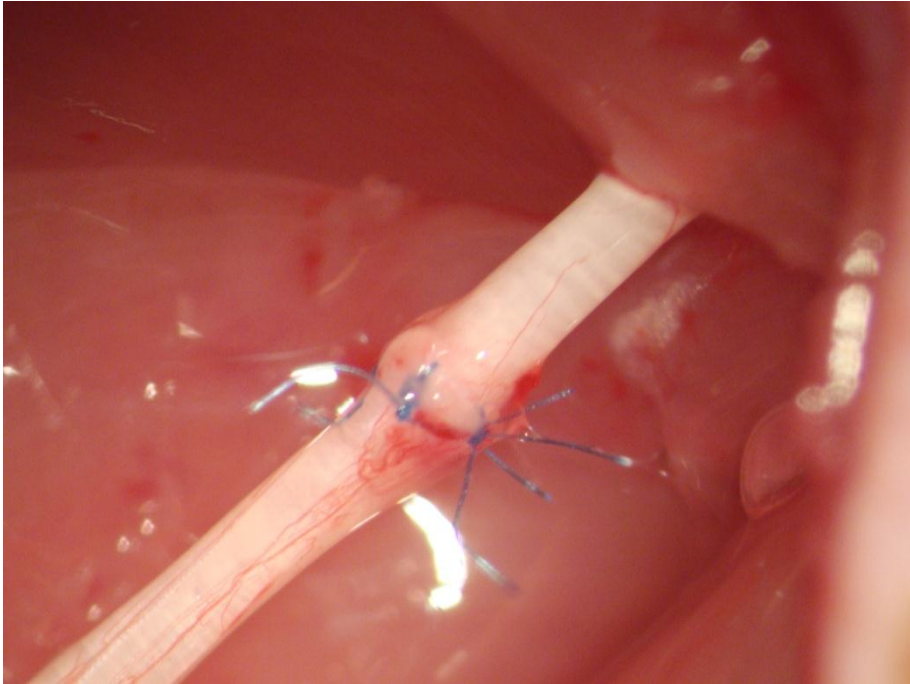
Tüm sıçanlar cerrahi sonrası kafeslerine kondu, içme sularına 2mg/ml Asetaminofen analjezik olarak 3 gün süre ile eklendi. Normal gece-gündüz döngüsüne maruz bırakıldı.



Şekil 18 : Cerrahi öncesi hazırlık (**A**) ve siyatik sinir diseke edildikten sonra aksotomi öncesi biyomikroskoptan çekilmiş görünümü (**B**).



Şekil 19 : Aksonotomi sonrası görünüm.



Şekil 20 : Anastomoz sonrası görünüm.

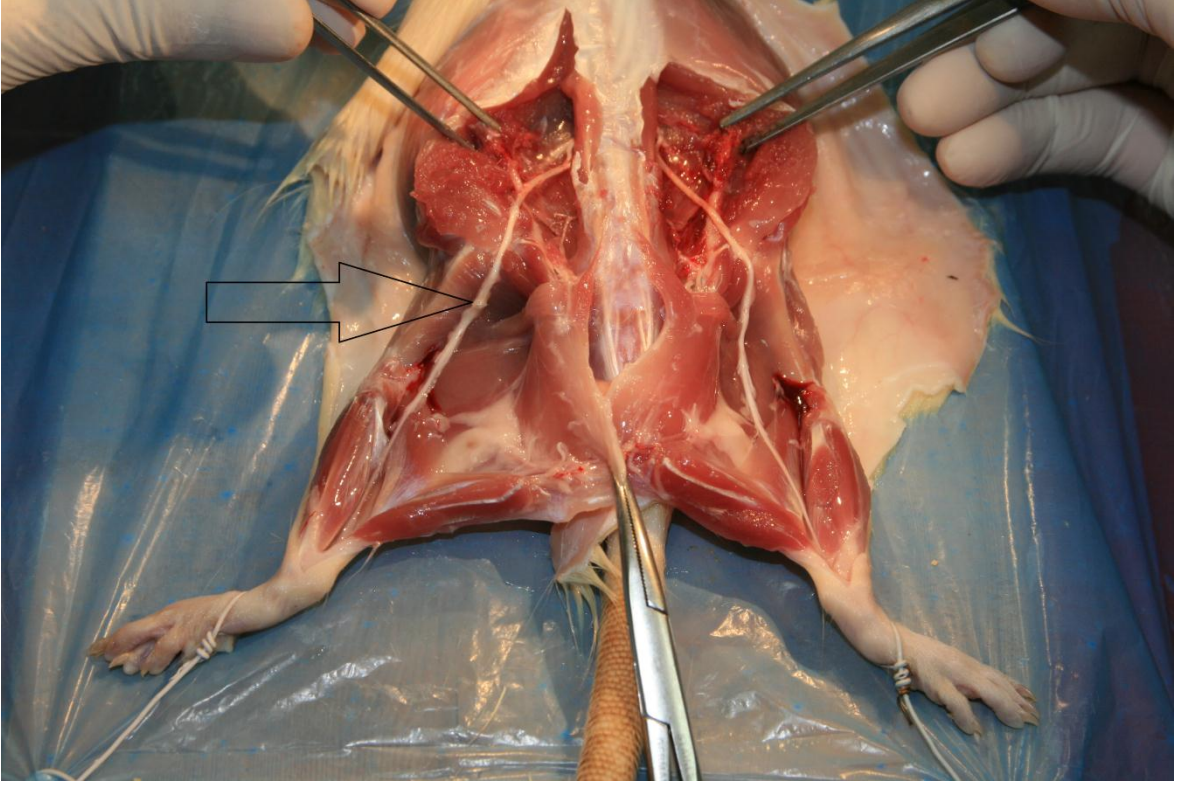
Cerrahi sonrası 2. ve 4. ayda yine anestezi altında çıkarılan sinirler elektrofizyolojik testler yapılmak üzere gerekli düzeneğe (Elektrofizyolojik Değerlendirme bölümünde ayrıntılı bahsedilecek) yerleştirilerek kayıtlar alındı.

Kesi grubundaki sıçanların sol siyatik sinirleri ile aynı sıçanların sağ sinirleri Kontrol olarak alındı. Yine EPO ve TZP'nin sistemik etki ile sağlam taraftaki sinir iletim parametrelerini etkileyip etkilemediğini değerlendirmek için de bu grupların sağ sinirlerinden örnekleme yapıldı.

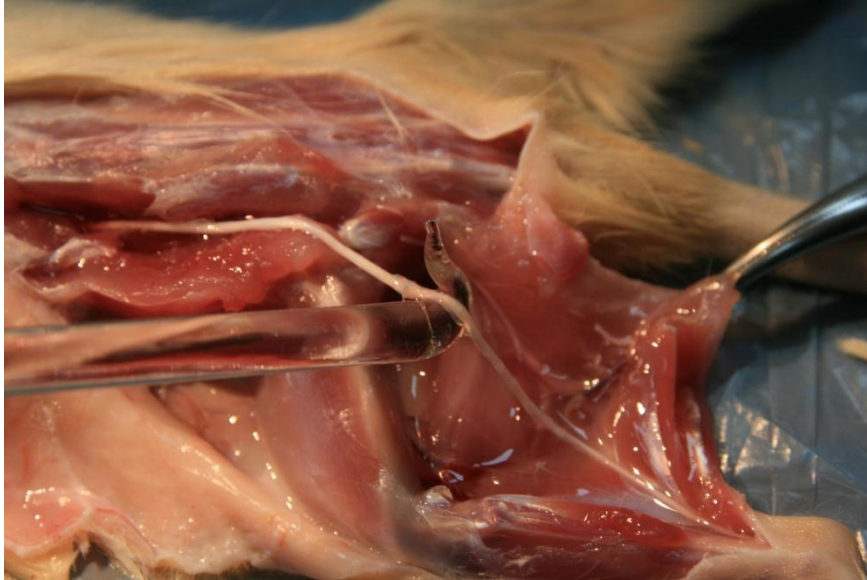
Daha sonra çıkarılan her sinir %10'luk formole konarak, patolojik değerlendirme yapıldı.

3.4. Elektrofizyolojik Değerlendirme

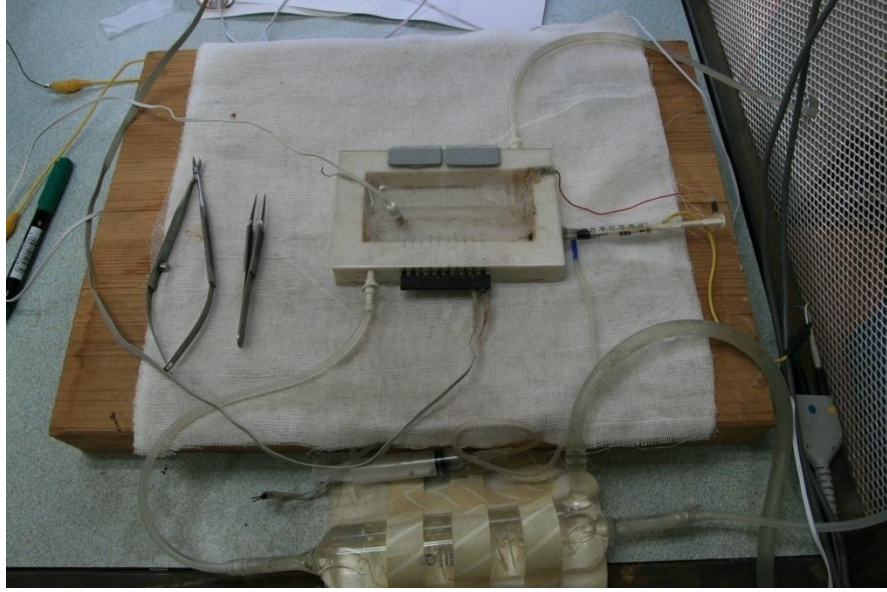
Sinir elektrofizyolojisi çalışmaları S.Ü. Meram Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi. Cerrahi işlemler sonrasında 2. ve 4. ayın sonunda sıçanlar hafif anestezi altındayken siyatik sinir en distalde ayak bileği seviyesinden, en proksimalde lomber pleksustan birleşim yerine kadar, (**Şekil 21**) sinire zarar vermeden diseksiyon edilerek her iki uçtan kesilip çıkarıldı. Disseksiyon işlemleri esnasında gerdirme, ezilme olmaması ve yapay uyarı oluşturulmaması için özel çaba gösterildi. Kurumamaları için sinirler belirli periyotlarla Krebs solüsyonu ile ıslatıldı (**Şekil 22**). Çıkarılan sinirler S.Ü. Meram Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı laboratuvarında özel olarak tasarlanmış ve imal edilmiş, fizyolojik sıcaklıktaki ($36\pm 2^{\circ}\text{C}$) gazlanmış (%95 O₂ ve %5 CO₂ karışımı ile) Krebs solüsyonu (119 mM NaCl, 4,8 mM KCl, 1,8 mM CaCl₂, 1,2 mM MgSO₄, 1,2 mM KH₂PO₄, 20 mM NaHCO₃, ve 10 mM glukoz, pH 7,4) ile perfüze edilen organ banyosu içerisine yerleştirildi (**Şekil 23**). Sinirin distal ucu ekstraselüler direnci azaltmak amacıyla "suction" elektrot (**Şekil 24**) içerisine alındı. Supramaksimal genlikli 200 mikrosaniye süreli kare biçimli uyaran pulslar Grass S88 stimülatörle Grass SIU5 stimulus izolasyon ünitesi üzerinden 1 Hz frekanslı olarak sinirin proksimal ucundan gümüş elektrotlardan uygulandı. Oluşturulan bileşik aksiyon potansiyeli (BAP) yanıtları "suction" elektrot kullanılarak bir AC amplifikatörde (Grass CP511 Amplifier, USA) 500 katına amplifiye edildi. Bu sinyaller bir Analog/Dijital sinyal çevireci (Advantech PCL-717 A/D Converter) ile PCI kart üzerinden 50 kHz örnekleme hızında BiosigW yazılımı kullanılarak ileri analizler için bilgisayar sabit diskine kaydedildi.



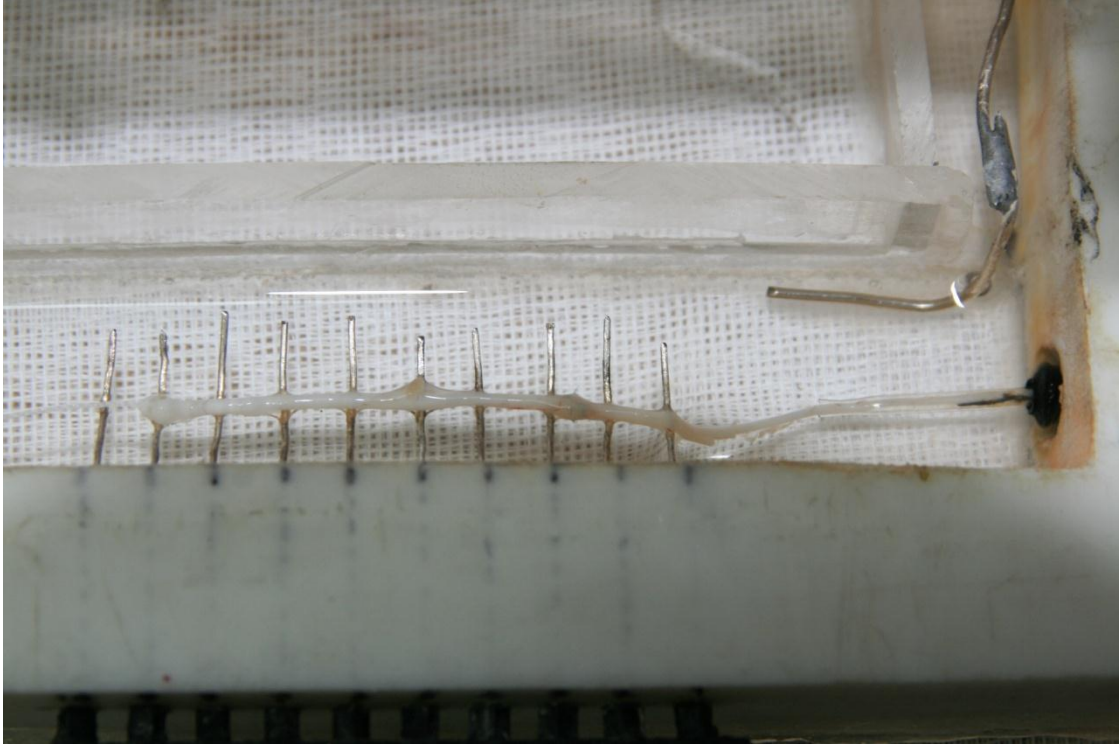
Şekil 21 : Her iki siyatik sinirin lomber pleksustan ayak bileğine kadar diseke edilmiş görünümü. Okla gösterilen anastomoz bölgesi.



Şekil 22 : Siyatik sinir diseksiyonu.

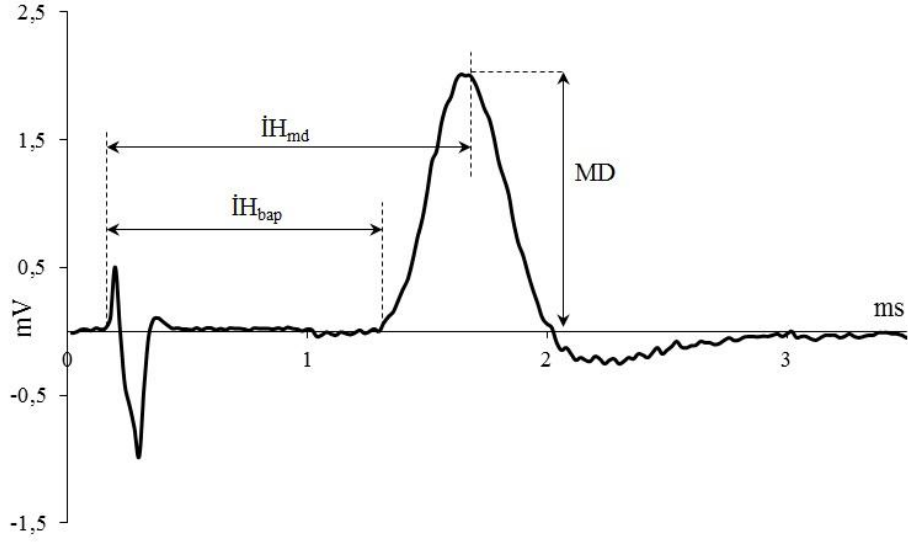


Şekil 23 : Organ banyosu düzeneği (sinir kutusu).

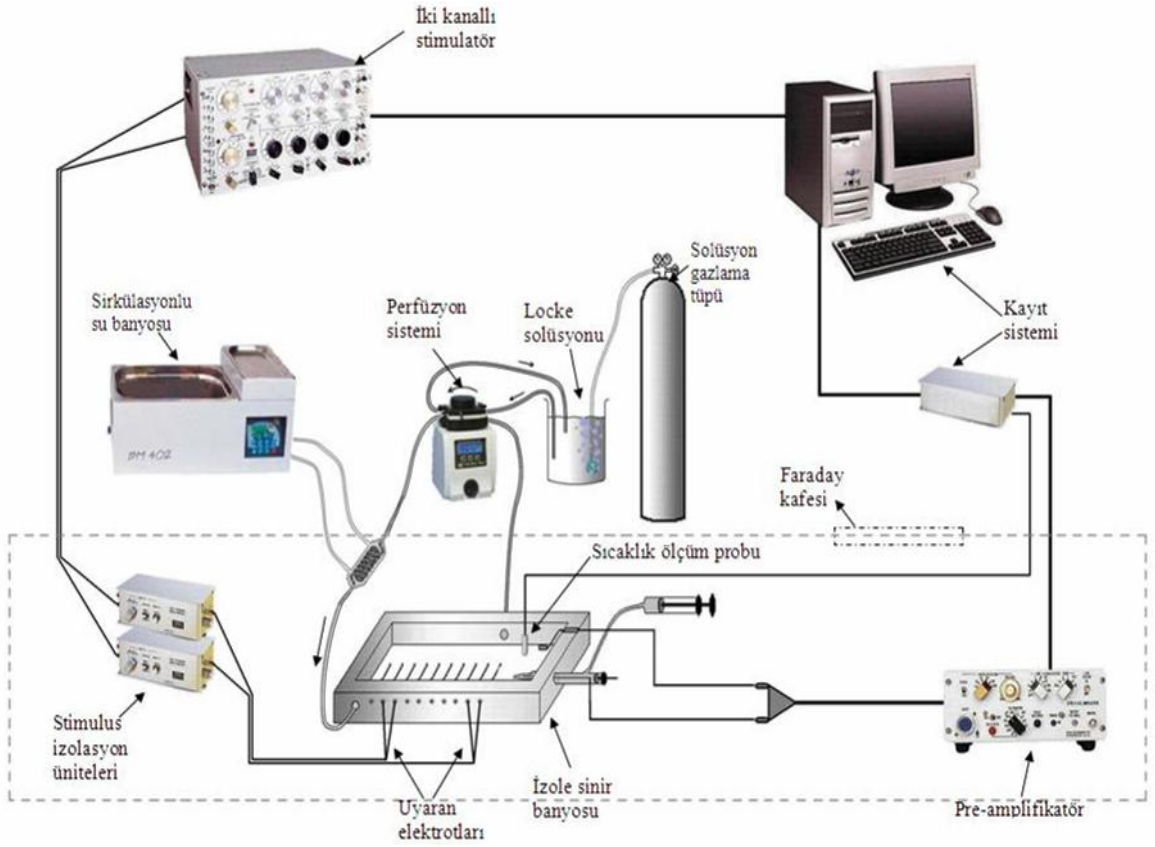


Şekil 24 : Organ banyosunda sinirin distali (sağda) suction elektrot içinde proksimalde (sol) uyaran elektrotlara yatırılmış halde kayıt alınıyor.

Kaydedilen BAP sinyalleri üzerinden matematiksel analiz yöntemleri kullanılarak sinirin fonksiyonel durumu hakkında bilgi edinmek amacıyla bazı parametreler hesaplandı. Sinirin uyarılabilirliği ile ilgili bilgi veren parametreler olan Reobaz (V) hesaplanması



Şekil 25: BAP eğrisinin analizi.
MD: Maksimum depolarizasyon değeri, $\dot{I}H_{md}$: Tepe hızı, $\dot{I}H_{bap}$: Latans hızı.



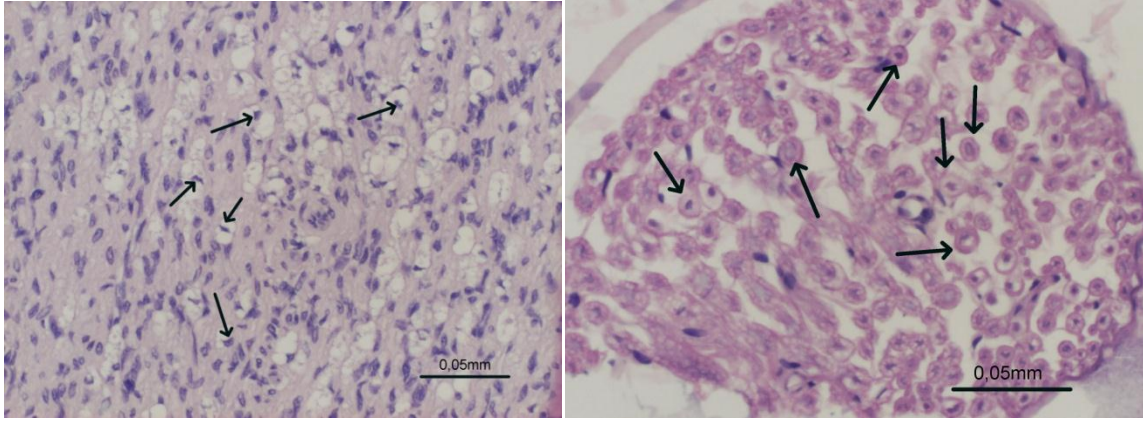
Şekil 26 : Tüm sinir iletim çalışmasının deney düzeneğinin şeması (117).

amacıyla uygulanan elektriksel uyarının süresi arttırıldıkça (0,002 ms'lik adım artışlarıyla 0,01 ile 0,1 ms aralığında) sinirde uyartı oluşumu için gerekli eşik uyarın şiddeti ölçüldü. Eşik uyarın şiddetin, uyarın süresine bağılı değişimi üssel azalan bir eğri vermekte ve bu şiddet-süre eğrisinde sürenin en fazla olduğu durumda şiddet Reobaz adı verilen en küçük değere ulaşmaktadır. Bunlara ilaveten bileşik aksiyon potansiyelinin maksimum depolarizasyon değeri (MD, mV), altında kalan alan (Alan, mV.ms) hesaplandı. Sinir iletim hızı hesaplanırken iki farklı süre esas alındı; latans kullanılarak hesaplanan iletim hızı ($\dot{I}H_{bap}$) ve stimulus artefaktından BAP tepe değerine kadar olan süre kullanılarak hesaplanan iletim hızı ($\dot{I}H_{md}$) (**Şekil 25**) (117).

Şekil 15'da sinir suction-kayıt sisteminin basit şematize edilmiş görünümü, **Şekil 26**'de ise tüm sistemin şematize edilmiş hali gösterilmektedir.

3.5. Histopatolojik Değerlendirme

Elektrofizyolojik testlere tabii tutulan ve kayıtları alınan sinirler % 10 luk formalin solusyonu içerisinde 1 gün süre ile tespiti yapıldıktan sonra, rutin doku takibi için işleme alındı. Takip işlemleri tamamlanan dokular parafin bloklara gömüldükten sonra mikrotom cihazı ile anastomoz bölgesinden Hematoksilen-Eozin boyama için 5 Mikron kalınlığında, Toluidine Blue boyası uygulamak için 1–2 mikron kalınlığında kesitler alındı. Hazırlanan preparatlar Nikon Eclipse E400 ışık mikroskobu ile değerlendirildi. Bu değerlendirme esnasında ışık mikroskobuna bağılı bulunan Nikon Coolpix 5000 dijital fotoğraf makinesi ile de preparatların fotoğrafları çekildi. Fotoğraflar çekilirken aynı mikroskop büyütmesinde Nikon micrometer microscope slide (MBM11100 Stage Micrometer Type A) görüntüsü de dijital olarak kaydedildi. Tüm görüntüler bilgisayar ortamına aktarılarak ve Clemex Vision Lite 3,5 Image Analysis programı ile değerlendirildi. Değerlendirme başlangıcında Nikon micrometer microscope slide görüntüsü ile uzunluk kalibrasyonu yapıldı. İnceleme alanı adı geçen görüntü analizi ile hesaplanarak ve $77484,3 \mu m^2$ olarak saptandı. Bu alan içerisindeki miyelinsiz (**Şekil 27-A**) ve miyelinli (**Şekil 27-B**) sinir lifleri ayrı ayrı işaretlenerek Clemex Vision Lite 3,5 Image Analysis programı (**Şekil 28**) ile otomatik olarak saydırıldı.

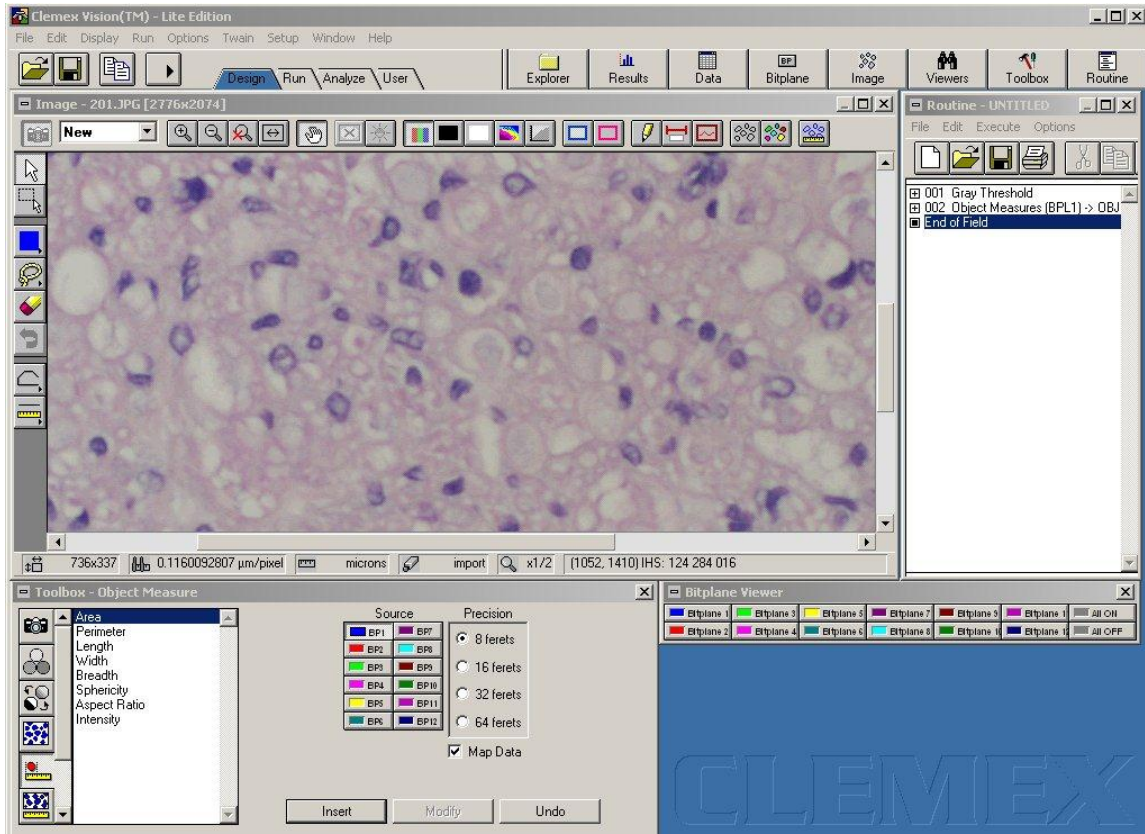


A

B

Şekil 27: Hematoksilen-Eozin ile boyanmış sinir kesitleri

A: miyelinsiz sinir lifleri, **B:** miyelinli sinir lifleri ok ile gösterilmiştir (Hematoksilen-Eozin X 100).



Şekil 28: Clemex Vision Lite 3,5 Image Analysis programı ile Histopatolojik analiz örneği.

3.6. İstatistiksel Analiz

Elektrofizyolojik ölçüm verilerinde, deney gruplarının hesaplanan parametreleri arasındaki farklılık için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yöntemi kullanılarak sınıandı. Gruplar arası farkın önemli çıkması halinde ($P<0,05$), Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanarak hangi grupların %95 güven aralığında birbirinden farklılık gösterdiği tespit edildi.

Histopatolojik ölçümlerden elde edilen veriler için gruplar arasında çift yönlü non-parametrik bir test olan Mann Whitney U testi kullanıldı. $P<0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

İstatistiksel analizler GraphPad Prism 5.0 Demo for Windows programı kullanılarak yapıldı. Veriler tablo, ortalama ve standart hata tabloları ve grafikleri ile gösterildi.

4. BULGULAR

Çalışmanın 4 aylık takibi süresinde çeşitli zamanlarda 12 hayvan ölüm nedeniyle çalışma dışı kaldı. Çalışmaya 48 hayvanda 65 sinir dahil edildi. Tüm gruplarda sinir kesisi yapılan ayaklarda, cerrahi sonrasında tam motor paralizi olduğu görüldü. Sakrifikasyon aşamasında kesi gruplarında ayak parmaklarında kısmi ve değişik seviyelerde otonibalizasyon-mutilasyon görüldü. Değerlendirme kriterlerini etkilemediğinden bu hayvanlar çalışmadan çıkarılmadı.

Çalışmaya her grup için 10 hayvanla başlandı. Özellikle TZP grubunda intrakardiyak ponksiyon işleminin mortaliteyi arttırmamasından çekince ile cerrahi işlem yapıldıktan sonra 2.ayını dolduran her gruptan 7 hayvan sakrifiye edilerek değerlendirildi. İkinci aydan sonra yine hayvan ölümleri oldu ancak istatistiksel anlamsızlığa yol açmayacak sayılarla çalışma bitirilebildi. Benzer şekilde literatürde de %10–25 telef miktarı söz konusudur (80).

4.1. Elektrofizyolojik Bulgular

Tüm Gruplar 2. ve 4. ayda siyatik sinirleri izole edilerek elektrofizyolojik olarak değerlendirildi. EPO grubunda 2 aylık ve 4 aylıkta tüm hayvanlarda distale iletim elde edilebilirken Kesi ve TZP gruplarında iletim alınamayan denekler çıktı. Ayrıntılı dökümleri **Tablo 2**'de verildi.

Kontrol grubunun normal, sağlam sinirlerden oluşması nedeniyle 2. ve 4. ayda elde edilen verilerin ortalama ve standart hataları birleştirilerek, iki ve dört aylık deney gruplarıyla karşılaştırıldı.

Elde edilen iletim verilerinden maksimum depolarizasyon (MD) değerleri (**Şekil 29**), aksiyon potansiyeli maksimum depolarizasyon altında kalan alan (**Şekil 30**), en hızlı liflerin hızı anlamına gelen latans iletim hızı ($\dot{I}H_{bap}$) (**Şekil 31**), orta hızlı liflerin hızı hakkında bilgi veren tepe iletim hızı ($\dot{I}H_{md}$) (**Şekil 32**) değerleri hesaplanarak **Tablo 3**'te ortalama \pm standart hata şeklinde gösterildi.

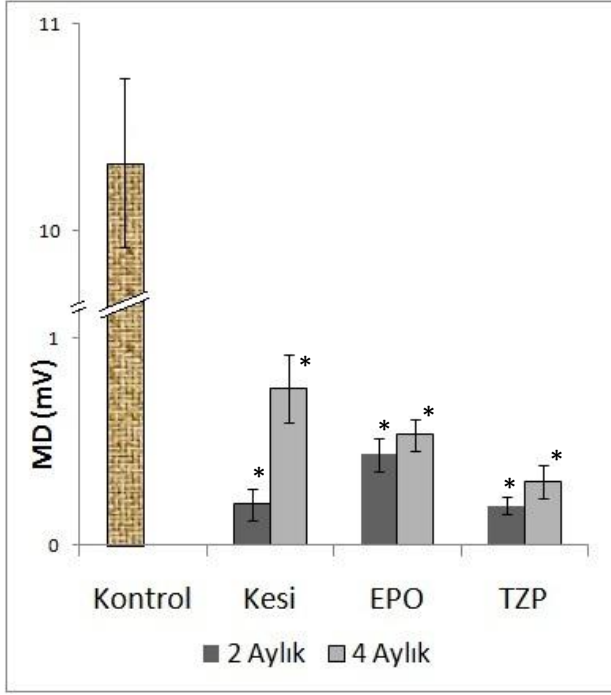
Tablo 2: iki ve dördüncü ayda iletim elde edilen sinir sayıları

Hayvan no	<u>Kontrol</u>		<u>Kesi</u>		<u>EPO</u>		<u>TZP</u>	
	2 ay	4 ay	2 ay	4 ay	2 ay	4 ay	2 ay	4 ay
1	√	√	-	-	√	√	√	√
2	√	√	√	√	√	√	√	-
3	√	√	√	√	√	√	√	√
4	√	√	-	-	√	√	-	√
5	√	√	√	√	√	√	√	-
6	√	√	√	√	√	√	√	√
7	√	√	√	√	√	√	√	√
8	∅	√	∅	√	∅	√	∅	√
9	∅	√	∅	√	∅	√	∅	∅
10	∅	√	∅	√	∅	∅	∅	∅
iletim oranı	7/7	10/10	5/7	8/10	7/7	9/9	6/7	6/8
yüzde	% 100	% 100	% 71.4	% 80	% 100	% 100	% 85.7	%75

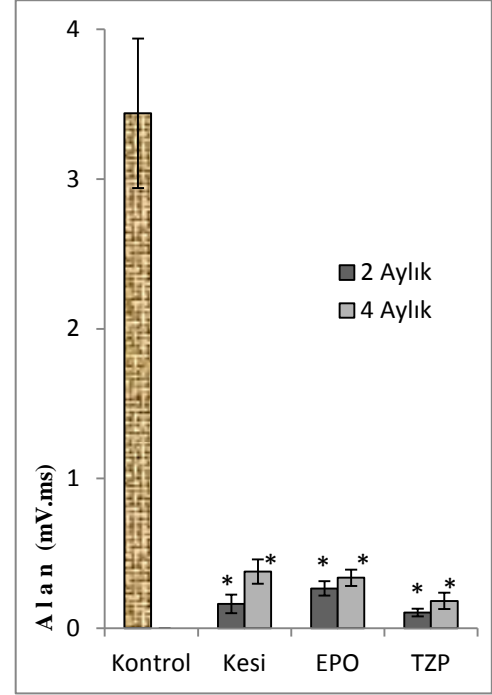
Tablo 3: iki ve dördüncü ayda iletim değerleri ortalama ve standart hataları

	<u>Kontrol</u>	<u>Kesi</u>		<u>EPO</u>		<u>TZP</u>	
	(n=17)	2 ay (n=7)	4 ay (n=10)	2 ay (n=7)	4 ay (n=9)	2 ay (n=7)	4 ay (n=8)
MD (mV)	10.33±0.41	0.20±0.08	0.76±0.16	0.44±0.08	0.53±0.08	0.19±0.04	0.31±0.08
Alan (mV.ms)	3.44±0.50	0.16±0.06	0.38±0.08	0.27±0.05	0.34±0.05	0.11±0.05	0.18±0.05
iH_{bap} (m/s)	69.10±2.70	16.39±4.26	36.54±6.66	33.52±5.29	27.69±1.11	18.27±3.34	21.23±4.69
iH_{md} (m/s)	40.02±1.71	12.46±3.24	19.45±3.55	17.69±1.25	18.29±0.66	13.31±2.30	12.44±2.77

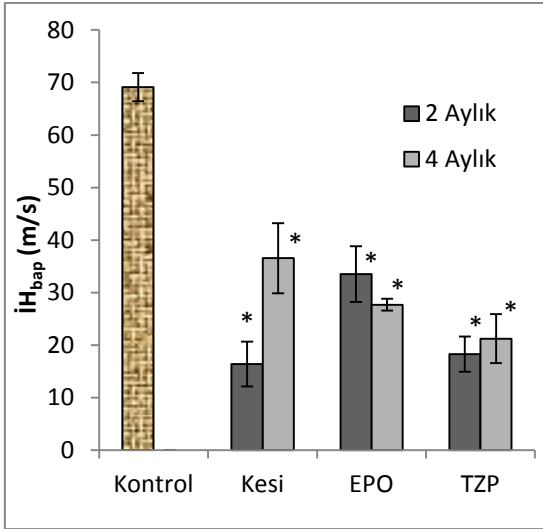
MD: maksimum depolarizasyon, **Alan:** eğri altında kalan alan, **iH_{bap}:** latans hızı, **iH_{md}:** tepe hızı



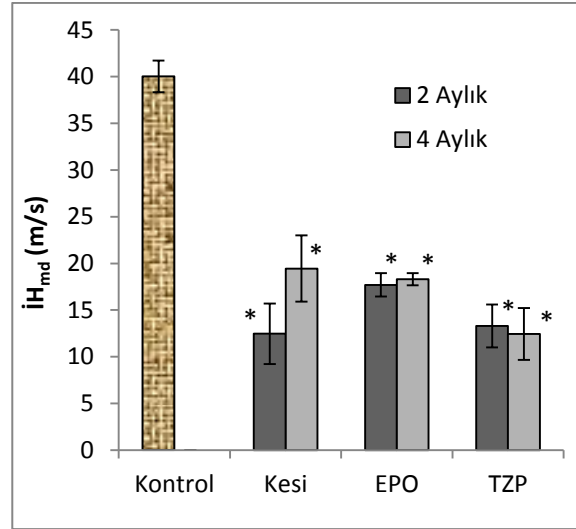
Şekil 29: BAP maksimum depolarizasyon değerleri.
*: kontrol ile deney grupları arasındaki fark anlamlı ($p<0.05$).



Şekil 30: BAP grafiği altında kalan Alan değerleri.
*: kontrol ile deney grupları arasındaki fark anlamlı ($p<0.05$).



Şekil 31: Latans hızı.
*: kontrol ile deney grupları arasındaki fark anlamlı ($p<0.05$).



Şekil 32: Maksimum depolarizasyon hızı.
*: kontrol ile deney grupları arasındaki fark anlamlı ($p<0.05$).

Bu verilerin istatistiksel analizi yapıldığında hiçbir parametrede deney grupları arasında fark çıkmazken, tamamen normal sinirlerin değerleri olan kontrol grubu anlamlı olarak farklı bulundu.

Ayrıca sinir liflerinin uyarılabilirliği hakkında bilgi veren Reobaz değerleri **Tablo 4'** deki gibi bulundu. İki aylık Kesi grubunda Reobaz eğrisini oluşturabilecek düzenlilikte veriler elde edilemedi. İkinci ayda Kesi grubunun ancak % 71,4'ünde proksimalden kayıt alınabilecek iletim tespit edilebildi.

Tablo 4: iki ve dördüncü ayda reobaz değerleri

	Kontrol	Kesi		EPO		TZP	
	(n=17)	2 aylık (n=7)	4 aylık (n=10)	2 aylık (n=7)	4 aylık (n=9)	2 aylık (n=7)	4 aylık (n=8)
Reobaz	2,54±0,08	-*	3,20±0,22*	3,71±0,39*	3,88±0,17*	4,11±0,19*	3,74±0,52*
İletim %	100,0	71,4	80,0	100,0	100,0	85,7	75,0

*: Kontrol ile deney grupları arasındaki fark anlamlı ($p<0.05$)

4.2. Histopatolojik Bulgular

Anastomoz bölgesinden yapılan kesitlerde birim alana düşen miyelinli – miyelinsiz sinir lifleri sayıldı. Sayılan lifler ve yüzdeleri gruplara göre **Tablo 5**'teki gibi bulundu.

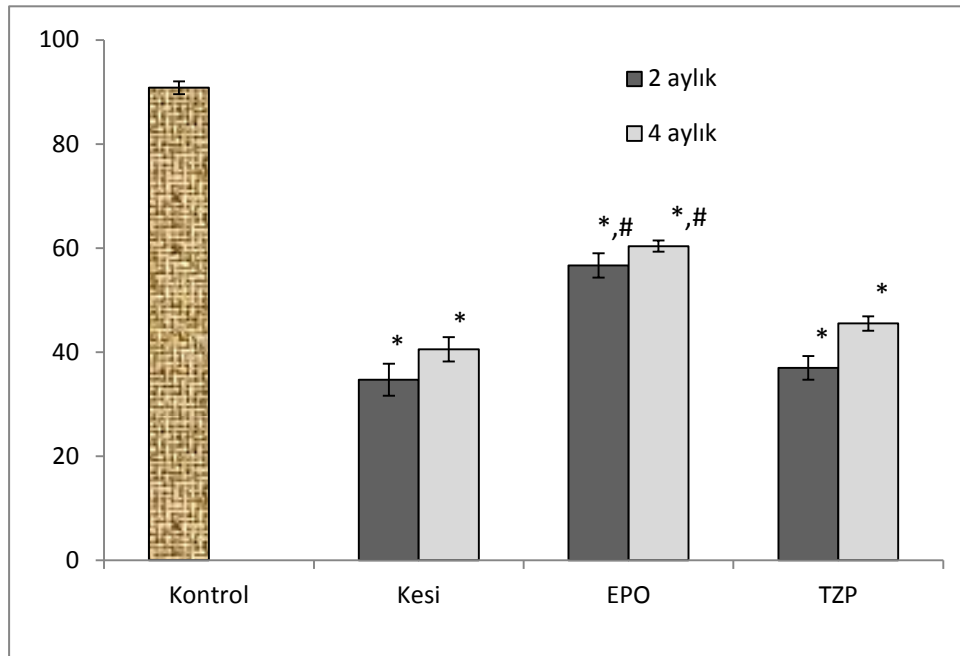
Tablo 5: Dokuların 2. ve 4. ayda miyelinli lif sayı ve oranları

	2 ay						4 ay					
	h.no	sayı	%	sayı	%	Toplam	h.no	sayı	%	sayı	%	Toplam
Kontrol	1	86	95,56	4	4,44	90	1	124	91,85	11	8,15	135
	2	66	92,96	5	7,04	71	2	96	91,43	9	8,57	105
	3	87	82,08	19	17,92	106	3	111	95,69	5	4,31	116
	4	95	87,96	13	12,04	108	4	74	81,32	17	18,68	91
	5	93	86,92	14	13,08	107	5	126	90,00	14	10,00	140
	6	192	94,12	12	5,88	204	6	105	94,59	6	5,41	111
	7	138	82,63	29	17,37	167	7	117	90,70	12	9,30	129
Kesi	1	21	31,82	45	68,18	66	8	108	95,58	5	4,42	113
	2	49	36,03	87	63,97	136	9	115	96,64	4	3,36	119
	3	36	23,23	119	76,77	155	10	117	93,60	8	6,40	125
	5	38	35,85	68	64,15	106	1	44	40,00	66	60,00	110
	4	33	30,28	76	69,72	109	2	39	32,50	81	67,50	120
	6	48	50,00	48	50,00	96	3	51	54,84	42	45,16	93
	7	49	35,77	88	64,23	137	4	48	42,11	66	57,89	114
EPO	1	82	66,67	41	33,33	123	5	42	37,17	71	62,83	113
	2	91	56,88	69	43,13	160	6	29	29,59	69	70,41	98
	3	76	59,84	51	40,16	127	7	36	40,00	54	60,00	90
	4	42	51,85	39	48,15	81	8	51	36,96	87	63,04	138
	5	54	56,84	41	43,16	95	9	46	48,42	49	51,58	95
	6	48	47,06	54	52,94	102	10	42	43,75	54	56,25	96
	7	68	57,63	50	42,37	118	1	81	66,39	41	33,61	122
TZP	1	26	27,37	69	72,63	95	2	54	58,06	39	41,94	93
	2	49	37,69	81	62,31	130	3	61	58,10	44	41,90	105
	3	41	32,03	87	67,97	128	4	69	57,50	51	42,50	120
	4	54	37,24	91	62,76	145	5	51	56,67	39	43,33	90
	5	48	43,64	62	56,36	110	6	72	61,54	45	38,46	117
	6	47	44,34	59	55,66	106	7	63	63,64	36	36,36	99
	7	41	36,61	71	63,39	112	8	76	59,84	51	40,16	127
TZP	1	51	46,79	58	53,21	109	9	61	61,62	38	38,38	99
	2	54	43,20	71	56,80	125	1	51	46,79	58	53,21	109
	3	49	43,75	63	56,25	112	2	54	43,20	71	56,80	125
	4	61	45,19	74	54,81	135	3	49	43,75	63	56,25	112
	5	42	51,85	39	48,15	81	4	61	45,19	74	54,81	135
	6	51	51,52	48	48,48	99	5	42	51,85	39	48,15	81
	7	46	38,66	73	61,34	119	6	51	51,52	48	48,48	99
	8	42	43,30	55	56,70	97	7	46	38,66	73	61,34	119
	9	41	45,56	49	54,44	90	8	42	43,30	55	56,70	97

Bu değerler analiz edilerek ortalama ve standart hataları **Tablo 6**'te çıkarıldı. Bu değerlerden elde edilen veriler **Şekil 33**'de grafik halinde sunuldu. Kontrol grubunun 2 ve 4 aylıklardan çıkarılan sinirlerin ortalaması tek sütun şeklinde gösterildi. Ayrıca **Şekil 34** ve **Şekil 35**'te Hematoksilen-Eozin ve Toluidine Blue boyası ile alınan kesitler gösterildi.

Tablo 6: iki ve dördüncü ayda miyelinli sinir lifi dağılımları (yüzde ort±st hata)

	2 aylık miyelinli lif yüzdesi	4 aylık miyelinli lif yüzdesi
Kontrol	88,89 ± 2,06	92,14 ± 1,40
Kesi	34,71 ± 3,08	40,53 ± 2,33
EPO	56,68 ± 2,32	60,37 ± 1,07
TZP	36,99 ± 2,27	45,53 ± 1,39

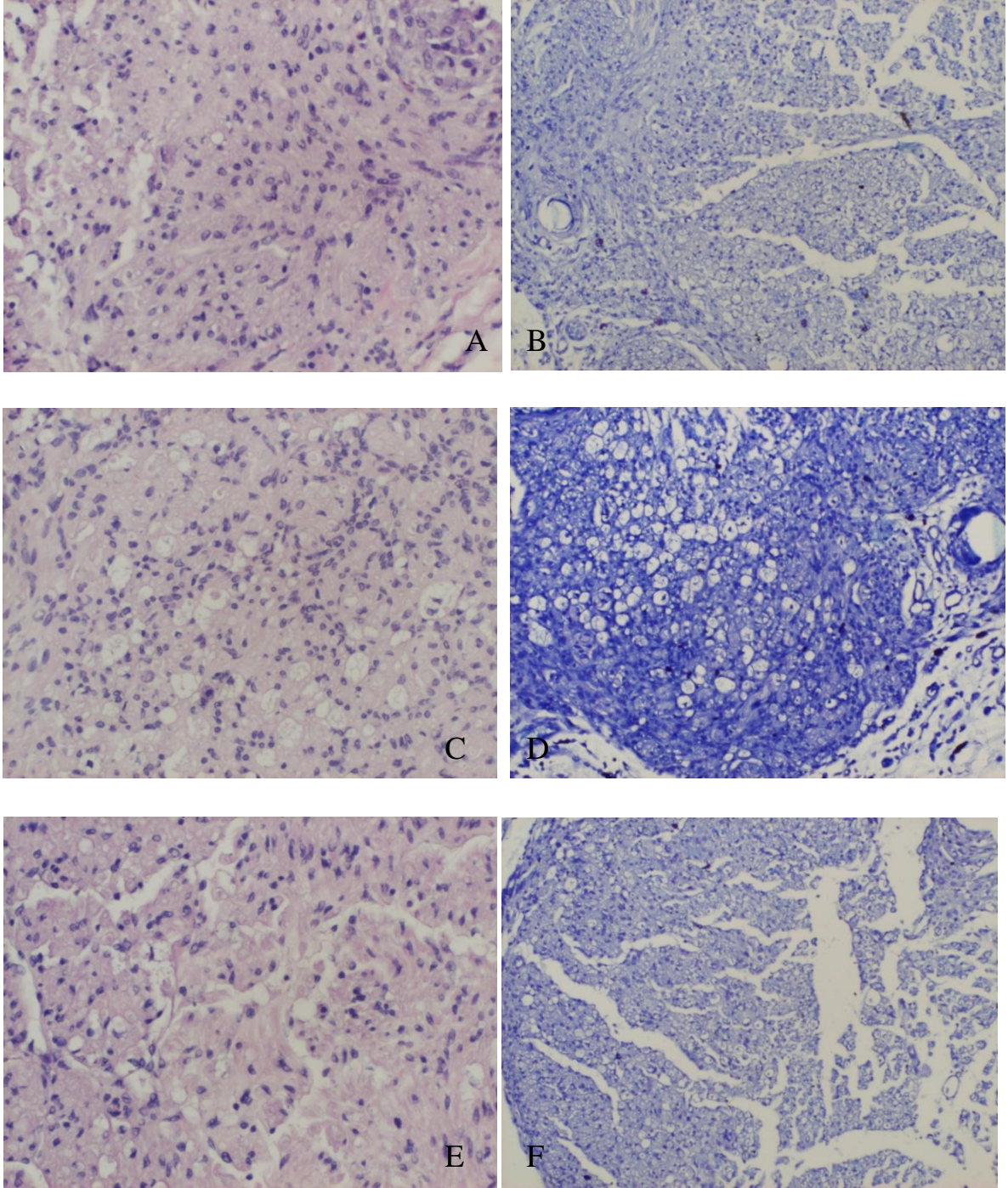


Şekil 33: miyelinli liflerin 2.ve 4.aydaki dağılımları

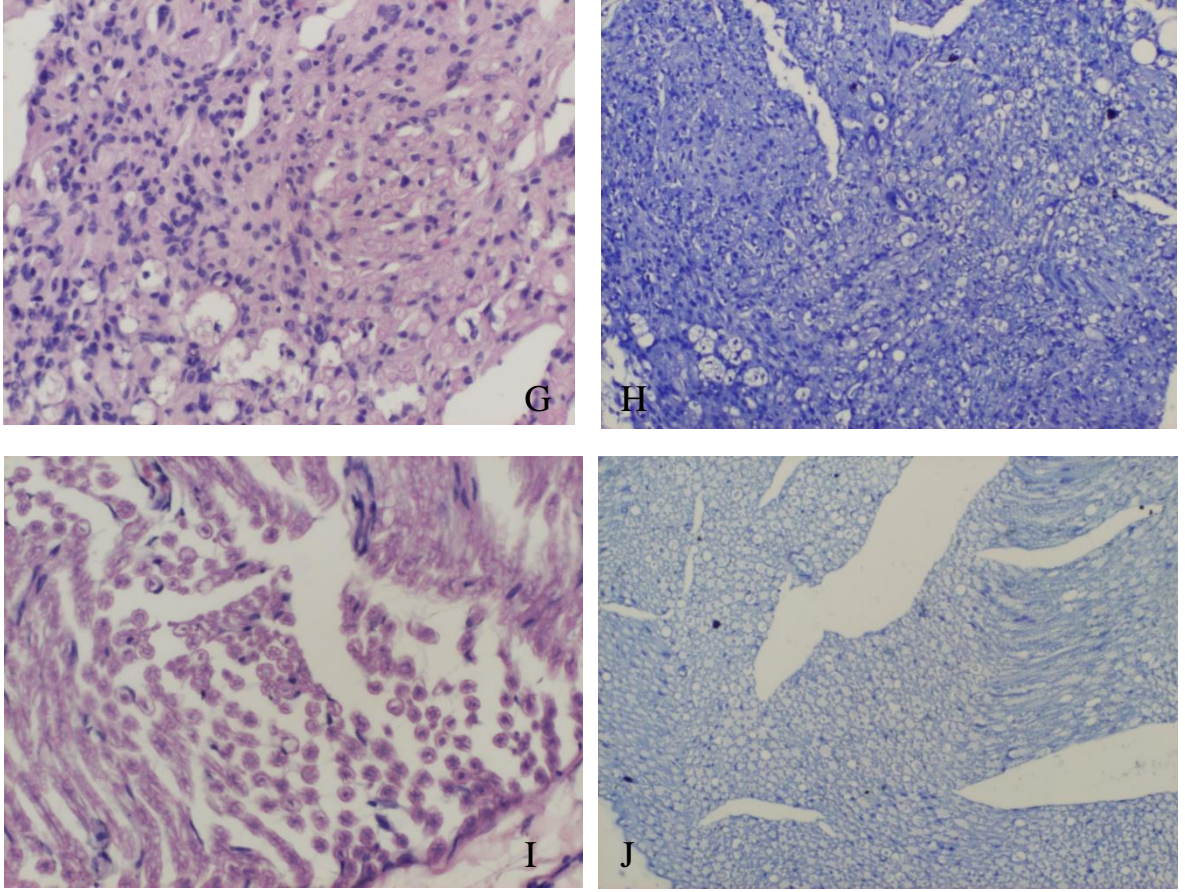
*: Kontrol ile deney grupları arasındaki fark anlamlı ($p < 0.05$)

#: Kesi ile EPO grupları arasındaki fark anlamlı ($p < 0.05$)

İkinci ayda miyelinli liflerin yüzde dağılımlarının gruplar arasındaki farkları incelendiğinde; sıçan normal periferik sinirinde kesit alanına giren sinir liflerinin ortalama olarak %90,8'i miyelinli sinir liflerinden oluşmaktadır. Kesi grubunda iyileşme sonucu ancak 4. ay sonunda %40'lara ulaşırken, EPO grubunda 2. ay %56, 4. ay %60'lara ulaşmaktadır. TZP grubunda ise 2. ayda %37, 4. ayda %45'lere ulaşmaktadır.



Şekil 34: İkinci ayda histopatolojik bulguların solda Hematoksilen-Eozin ile boyanan siyatik sinir enine kesitleri ile sağda Toluidine Blue boyası ile boyanan kesitler. **A:** iki aylık Kesi grubu H.Eozin ile boyanmış, **B:** T.Blue ile boyanmış mikroskopik görüntüsü, **C:** iki aylık TZP grubunun HE boyası ile, **D:** TB ile boyanmış görünümleri, **E:** iki aylık EPO grubu HE ve **F:** TB ile boyanmış görüntüleri. (Hematoksilen-Eozin X 100,Toluidine Blue X 100).



Şekil 35: Dördüncü ayda EPO ve Kontrol grubu HE ve TB boyalı görünüşleri.
G: EPO grubu HE boyalı, **H:** TB boyalı, **I:** Kontrol grubu HE ve **J:** TB boyalı görünüşleri
(Hematoksilen-Eozin X 100, Toluidine Blue X 100).

Grupla istatistiksel olarak analiz edildiğinde;

2. ayda: Kesi ile TZP grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız bulundu. Kontrol – Kesi, Kesi – EPO, Kontrol – EPO, EPO – TZP arasındaki farklar anlamlı bulundu ($p<0.05$).

4. ayda; ikinci aydakine benzer şekilde, Kesi ile TZP grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız bulundu. Kontrol – Kesi, Kesi – EPO, Kontrol – EPO, EPO – TZP arasındaki farklar anlamlı bulundu ($p<0.01$).

İstatistiksel analizlerle birlikte **Şekil 33**'teki veriler değerlendirildiğinde ise Kesi grubuyla TZP grubu arasında ne ikinci ayda ne de dördüncü ayda fark olmadığı, yapısal olarak TZP uygulamasının fark yaratmadığı anlaşılmıştır. Yapısal olarak iyileşmenin EPO grubunda Kesi ve TZP grubuna göre daha iyi olduğu ancak Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında çok geride kaldığı görülmektedir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Genel olarak tüm travma, yaralanma ve cerrahi işlemlerden sonra dokuların iyileşme süreçleri ve bu iyileşmenin hızlandırılma hayali tüm tababet aleminin rüyalarını süslemekte, hatta bilim kurgu roman ve filmlerine konu olmaktadır. İnsanoğlunun, herhangi bir yaralanma ve/veya cerrahi operasyon sonrasında doktoruna ilk sorduğu soru, genellikle “ne zaman eski hayatıma dönebileceğim?” şeklinde olmaktadır. Bu nedenle tüm dokuların iyileşme süreçlerinin hızlandırılması yönündeki gelişmeler, insan yaşam kalite ve konforunu arttıracığından, güncel ve popüler olmaya devam edecek gibi gözükmektedir. Sinir yaralanması sonrasında sinirin kendini onarma ve yenileyebilme kapasitesi özellikle etkilenen son organların fonksiyonlarına bağlı olarak insan yaşam kalitesini önemli derecede etkilemektedir. Sinir iyileşmesi ile ilgili çalışmalar, iyileşme ve fonksiyonların yaralanmadan saatler sonrasına kadar kısaltılacağı günler gelinceye ya da bunun imkansızlığı kanıtlanıncaya dek sonlanacak da değildir. Bu nedenle ezilme olsun kesilme olsun çeşitli yaralanma modelleri ile deney hayvanları üzerinde çalışmalar yapılmaktadır.

Ezilme yaralanma modellerinin standardizasyon sıkıntıları ve ezilme işlemi uygulanan sinirde hiç hasara uğratılmayan sinir liflerinin kalması gibi sıkıntılar nedeniyle (68) bu çalışmada sinir kesisi yapılarak hasar modeli oluşturuldu. Ancak kesi modelinin de kendine göre dezavantajları mevcuttur; sinir anastomozunun tam olarak karşılıklı getirilememesi gibi (80). Yine de her iki yöntem de sinir araştırmalarında yoğun olarak kullanılmaktadır.

Sinir yaralanması sonrasında (ödeme bağlı nöropraksiden, tam sinir hasarına varan yelpazede) çeşitli faktörlere bağlı olarak proksimalden uyarının son organa ulaşmaması nedeniyle fonksiyon kaybı gelişmektedir. Son bilgiler ışığında, sinir yaralanması sonrası ister ezilme tarzı isterse kesilme veya defektif olsun, onarım yapıldıktan veya sinir uçları karşılıklı dikildikten sonra sinirin iyileşmesi damar anastomozu yapmak gibi anında sonuç vermemektedir. Sinir iyileşmesi, proksimaldeki aksonların hasar distalindeki sinir dokusunun iskeletine yani endonöral tüp denem yapılarının içine uzayarak, diğer bir deyişle proksimalden distale büyüyerek gerçekleşmektedir. Başarılı bir cerrahi tamirin dahi sonucu, bu büyümeye etkili faktörlere bağlı olmak zorundadır (1; 29; 40; 48; 109; 121).

Günümüzdeki çalışmalar bu faktörleri etkileyip hızlandırmaya yönelik olmaktadır ki bunların büyük kısmı nörotropik faktörler üzerinedir.

Bu çalışmada yaygınlığı ve popülerliği artmaya başlayan, içerisinde birçok büyüme faktörü içeren trombosit zengin plazma (65; 66; 71; 72) ile eritrositlerin kemik iliğinden farklılaşarak eritrosit oluşumunu hızlandırma primer özelliği olan aynı zamanda sinir dokusu üzerine olumlu etkileri gösterilen Eritropoetinin (22; 98; 101) sinir rejenerasyonuna etkileri karşılaştırıldı.

Sinirin fonksiyonel olarak değerlendirilmesi için kesilen aksondan distale geçebilen uyarının tespit edilmesi amacıyla birçok yol tanımlanmış ve uygulanmıştır. Bu amaçla hayvan deneylerinde; yürüme analizleri, refleks testleri, elektrofizyolojik ölçüm teknikleri vb. yöntemler kullanılmaktadır (68; 69). Hepsinin birbirlerine göre farklı avantaj ve dezavantajları muhakkak mevcuttur. Örneğin: elektromiyografi (EMG) ile ölçüm yapıldığında, çoğunlukla siyatik sinire verilen uyarı sonucunda gastrokinemius kası üzerine konan elektrot ile kasın elektriksel aktivitesi (aksiyon potansiyeli) ölçülmektedir. Burada kasa uyarı gitmese bile, çevresinde kasılan kasların aktivitesi sonucunda gastrokinemius kasının kasılarak istenmeyen yanlış sonuçlar vermesi muhtemeldir. Ancak bu yolla ölçüm defalarca tekrarlanabilir bir yoldur. Yürüme analizinin de tekrarlanabilir olması bir avantajken, sıçan gibi kemirgenlerde hasarlı ayağını kendisinin veya diğer sıçanların yemesi söz konusudur ki bu olay hayvanın çalışma dışına alınmasını gerektirecektir, ayrıca bir diğer dezavantajı da ölçümü analiz eden kişiye göre farklı değerler ortaya çıkabilmesidir (68).

Bu çalışmada ise sinirin tam fonksiyonu hakkında gerçeğe en yakın veriler elde edilebilen, izole sinir üzerinden elektrofizyolojik kayıtlar alınarak yapıldı. Bu yöntemin, çevre kas ve dokuların artefaktlarından etkilenmeme, uyarının doğrudan sinire uygulanıp sinirin elektriksel aktivitesinin direkt sinir üzerinden ölçüm yapılması ve kurulan sistem sayesinde ortam sıcaklığının sabit tutulabilmesi nedeniyle gerçeğe en yakın veriler elde edilebilmesi gibi avantajları vardır. Ayrıca sinir-kas kavşağı sorunları ve uzun süreli kas atrofisine bağlı hatalardan da etkilenmeyip doğrudan ve sadece sinirle ilgili verilere ulaşılması da avantajları arasındadır. Ancak bu yöntemin dezavantajı ise aynı sinir üzerinde tekrarlanamamasıdır (117; 120; 122).

TZP'nin elde edilmesinde ve kullanımında birçok değişik yol olması aslında standardizasyon problemlerini de beraberinde getirmektedir. Çünkü elde edilme aşamasında öncelikle otojen hazırlanması esas iken sıçan gibi küçük hayvan deneylerinde hazırlanma zorlukları üzerinde durularak, literatürde allojen hazırlandığı görülmektedir (68; 69; 70; 72; 78; 123). Ayrıca hazırlanması aşamasında da nisbeten oldukça ucuz olan gerek manüel gerekse de daha maliyeti yüksek olan ticari ürünler yardımıyla hazırlanmış ve kullanılmış preparatlı çalışmalar mevcuttur (65; 68; 69). Bu değişik yöntemler nedeniyle literatürde oldukça fazla çeşitlilikte büyüme faktörlerinden zengin ürünlerin kullanıldığı yayınlar ortaya çıkmış durumdadır. Ehrenfest ve arkadaşları (65) bu ürünleri toplayarak bir sınıflama yapma ihtiyacı duymak zorunda kalmışlardır. Gerçekten de bu TZP preparatlarının içerdikleri faktör yoğunluklarının miktarı çok farklılık arzettiğinden dolayı standardizasyonu sorun olmaktadır. Çünkü her sıçanın trombosit sayısı ve trombositlerin granülleri içerisindeki büyüme faktörlerinin içeriği ve aktivitesi eşit olamayacağı gibi, sıçandan kan alma sırasında trombositlerin aktive olmaları ile faktörlerin inaktif hale gelmelerine neden olabileceği gibi sorunlar dile getirilmektedir (78). Bu çalışmada Anuita'nın tariflediği (72) yöntem olan manüel yöntem kullanıldı. Aynı zamanda bilindiği kadarıyla sıçanlarda otojen olarak yapılan ilk çalışma niteliğini de taşıdığı söylenebilir.

Çalışmamızda sinir iyileşmesinin fonksiyonel değerlendirmesi elektrofizyolojik olarak, yapısal değerlendirmesi de histopatolojik olarak yapıldı. Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde;

a) Elektrofizyolojik veriler:

İlk etapta proksimal elektrotlardan verilen uyarının distal suction elektrodundan alınması sinirin uyarıları distale iletebildiğini yani iyileştiğini gösteren önemli bir bulgudur. Dolayısıyla hem ikinci hem de dördüncü ayda tüm sıçanlarda iletim elde edilen EPO grubunda tam iyileşme var denebildiği gibi, Kesi grubunda %71,80, TZP grubunda %85,75 iyileşmenin söz konusu olduğu söylenebilir (**Tablo 2**).

Ayrıca iletilen uyarının kalite ve nitelikleri hakkında bilgiler veren parametrelerde ise bulgular şu yöndedir:

Maksimum depolarizasyon (MD) değeri (tepe-amplitüd-genlik), aktif olan sinir liflerinin TLAP değerlerinin toplamından oluştuğu için aktif yani iyileşen lifler hakkında bilgi vermektedir (117). Çalışmamızda kontrol grubu olan sağlam sinir MD değerleri ile deney grupları arasında anlamlı fark mevcuttu ve tüm deney gruplarında kesi yapılan sinirlerin MD değerleri oldukça düşük bulundu. Ayrıca deney grupları arasında ikinci ve dördüncü ay değerleri arasındaki fark anlamsız bulundu.

Aksiyon potansiyeli eğrisi altında kalan alan ise siniri oluşturan liflerin geneli hakkında bilgi vermektedir. Yine deney gruplarının anlamlı fark yok iken kontrol grubu ile aralarında belirgin fark bulundu.

Uyaran verildiği andan aksiyon potansiyelinin oluşmasına kadar geçen süreden elde edilen Latans süresinden hesaplanan hız ($\dot{I}H_{bap}$) değeri ise en hızlı lifler, yani miyelinli lifler hakkında bilgi vermektedir. $\dot{I}H_{bap}$ değerleri incelendiğinde; yine kontrol grubunun anlamlı olarak daha iyi olduğu, deney grupları arasında fark olmadığı bulundu.

Uyarandan Maksimum depolarizasyon oluşuncaya kadar geçen süreden hesaplanan $\dot{I}H_{md}$ ise orta derecede hızlı ileten lifler hakkında bilgi vermektedir. Yine bu değerlerde de diğerleri gibi kontrol daha iyi ve farklı, deney grupları arasında ise anlamlı fark olmadığı görüldü.

b) Histopatolojik veriler:

Histopatolojik olarak sinir liflerinin miyelinizasyonunun iyileşme hızını etkilemesi nedeniyle aksonu oluşturan miyelinli sinir liflerinin sayılarak yüzdesel hesaplamaları yapıldı. Histopatolojik veriler incelendiğinde yine kontrol grubunun farklı olarak daha iyi olduğu bulundu. TZP grubunun küçük miktarlarda Kesi grubundan daha iyi olduğu, ancak aradaki farkın anlamlı olmadığı görüldü. EPO grubunun ise hem ikinci ayda hem de dördüncü ayda Kesi ve TZP grubundan anlamlı olarak daha iyi olmakla birlikte kontrol grubu verileri kadar iyi olamadığı tespit edildi.

Bu çalışmada hem yapısal hem de fonksiyonel olarak TZP işleminin normal onarımla karşılaştırıldığında iyileşmeyi arttırmadığı görüldü. Yapısal olarak EPO uygulamasının kesi ve TZP grubuna göre iyileşmeye olumlu ve hızlandırıcı etkisinin

istatistiksel olarak anlamlı olmasına rağmen fonksiyonel değerlendirmede diğer deney gruplarıyla farkının anlamlı olmadığı görüldü.

Sarıgüney ve ark. sıçanlarda siyatik sinir kesi modeline iki, altı sütür ve bunlara eklenen allojen TZP uyguladıkları ve kontrol ile birlikte beş gruplu çalışmalarında yürüme analizi, EMG, inerve edilen kas ağırlığı ölçümleri ve kas-sinir histoptolojisi ile değerlendirmişler. İki sütür uygulaması ile TZP-iki sütür arasında fark bulamamalarına rağmen, altı sütüre TZP uyguladıkları grupta nispeten daha iyi sonuçlar elde etmişlerdir (69). Bizim çalışmamızda ise otojen olarak hazırladığımız TZP normal onarım yapılan sinir verilerinden üstün bulunmamıştır.

Özbayoğlu'nun sıçanlarda siyatik sinir ezilme yaralanması modelinde allojen ticari hazırlanan TZP uyguladığı tez çalışmasında, Siyatik fonksiyonel indeks (SFİ), ayak geri çekme refleksi, EMG, histopatoloji ile değerlendirilmiş, SFİ, refleks değerlerinde daha kaliteli ve hızlı rejenerasyon elde edildiğini, bu bulguları EMG ve histopatolojinin desteklediği sonucunu belirtmiştir (68). Manüel TZP uyguladığımız çalışmamızda TZP grubunun sadece onarım yapılan gruptan iyi olmadığını tespit ettik.

Emel, Ergün, Kotan ve ark. sıçanlarda siyatik sinir ezilme yaralanması modelinde İLGF-1 ile allojen TZP nin etkilerini kıyasladıkları çalışmalarında, Siyatik fonksiyonel indeks, duyu fonksiyonu, G-oranları ile değerlendirdikleri üç aylık takipleri neticesinde İLGF-1'in fonksiyonel indeks birinci ay sonuçlarının daha iyi ve anlamlı olduğunu, TZP nin salin grubundan farksız olduğunu, ikinci ve üçüncü ayda fark olmadığını, duyu fonksiyonunda ise yine İLGF-1 in daha iyi, sonra TZP nin iyi ve farklı olduğunu belirtmişlerdir (94). Erken dönemde İLGF-1'in anlamlı olarak daha iyi olması sonraki aylarda arada fark olmaması dikkat çekicidir. Ayrıca SFİ değerlerinde TZP, bizim çalışmamızda olduğu gibi, işe yaramamış, sonraki aylarda tüm grupların verileri aynı değerlere ulaşmıştır. Bizim çalışmamızda da EPO grubunun 2. aydaki elektrofizyolojik değerleri minimal daha iyi ancak fark anlamlı bulunmadı. 4. ay verilerinde tüm grupların elektrofizyolojik ölçümleri (MD, Alan, İH_{md} değerleri – **Şekil 29, Şekil 30, Şekil 32**) birbirine çok yakın bulundu. Bu belki de sinirin iyileşebileceği en üst düzey noktaya vardığı zamanlar olduğundan arada fark ortaya çıkmadığı sonucunu çıkarabilir. Bu nedenle

bahsedilen maddeler erken dönemde işe yarayıp geç dönemde işe yaramıyor gözükmektedir.

Pişkin, Kaplan, Aktaş ve ark. sıçanlarda siyatik sinir üzerine yaptıkları çalışmada sham, kollajen tüp (KT), KT-trombosit jel, otojen sinir grefti, primer tamir gruplarından oluşan beş grup oluşturarak, EMG ve histopatolojik olarak değerlendirmişler. Primer onarım grubunun elektrofizyolojik verilerinin diğer deney gruplarından anlamlı olarak daha iyi olduğu, histopatolojik olarak da sinir grefti ile primer onarım grubunun yine daha iyi olduğu, trombosit jel uygulamasının rejenerasyon üzerine daha etkili olmadığını belirtmektedirler (70). Bizim çalışmamızda ne fonksiyonel ne de yapısal olarak TZP iyi bulunmadı.

Özkan, Gökmen, Yılmaz, Erbayraktar ve Bağrıyanık'ın sıçanlarda siyatik sinir kesi modelinde yapmış oldukları tek doz EPO ile çoklu doz EPO karşılaştırmalı çalışmalarında, EPO'nun SFİ, histopatolojik değerlendirmelerde serum fizyolojik verilen gruba göre anlamlı olarak daha iyi olduğunu, çoklu doz ile tek doz uygulanan EPO arasında fark olmadığını bildirmişlerdir (22). Bizim çalışmamızda ise yapısal olarak EPO uygulaması işe yaramış ancak fonksiyonel olarak iyileşmeyi hızlandırmamış olarak bulundu.

Sanchez, Anuita, Kugat ve arkadaşlarının 2003–2005 yılları arasında 32 hipertrofik olmayan non-union olgulu hasta üzerinde yapmış oldukları çalışmada, perkütan enjeksiyonla PRGF (Preparation Rich in Growth Factors) uygulamışlar, sadece 2 hastada tekrarlayan enjeksiyon yapılarak, ortalama 4.9 ayda (2–8 ay) komplikasyonsuz tam kaynama elde ettiklerini bildirmişlerdir (124). Bizim çalışmamızda tek doz uygulanan TZP'nin sinir iyileşmesi üzerine olumlu etkisi gösterilemedi.

Trombosit kaynaklı büyüme faktörlerinin içerikleri ve görevleri ayrıntılarıyla bahsedildi. Çalışmamızda her ne kadar sinir iyileşmesi üzerine daha iyi etkili olduğu bulunamasa da subjektif olarak TZP uygulanan sıçanların yara yerlerinin daha hızlı ve erken kapandığını gözlemledik.

Kemik (124), eklem kıkırdağı (125), tendon (78; 79), yara iyileşmesi (18; 126) üzerine olumlu etkileri bildirilen TZP ve çeşitli trombosit büyüme faktörü uygulamalarının, sinir iyileşmesi konusunda hem iyi (68; 69; 87) olduğu hem de işe

yaramadığı (70; 94) yönünde bildirimler yapılmaktadır. Nörotrofik faktörlerin etkileri doz bağımlı olmaktadır, düşük dozda büyümeyi artırırken yüksek dozda inhibe etme özellikleri bulunmaktadır (94). Bazı çalışmalarda TZP'nin etkisiz bulunması, hazırlanması sırasında içerisindeki faktörlerin dozlarını standardize etmenin ve sürekli aynı dozda bulunmasını ve bunu sabit aralıklarla salgılamasını sağlamanın güçlüğü ile açıklanabilir (94; 123).

Eritropoetin sinir hasarı sonrasında uygulandığında hasar bölgesinde reseptörlerini arttırarak ve nöron gövdesinde apoptozu önleyerek nöroprotektif etki gösterdiği ve iyileşmeye olumlu katkı sağladığı gösterilmiştir (21; 22; 24). Ancak olumlu etkiler bulunan çalışmalarda genellikle EMG yöntemi ile kayıtlar alınmış ve bu yöntemin de yanlış pozitiflik oranları, daha önce tartışıldığı gibi, belirtilmişti. Çalışmamızda fonksiyonel olarak EPO'in anlamlı farklı olacak şekilde işe yaramadığı sonucu çıkmasının nedeni buna bağlanabilir.

Bildiğimiz kadarıyla EPO ile TZP'nin sinir iyileşmesi üzerine etkilerinin izole sinir üzerinde karşılaştırıldığı ilk çalışma niteliği taşıyan çalışmamızda, TZP'nin sinir iyileşmesinde, normal primer onarım yöntemine göre üstün bir etkisi tespit edilemedi. Ayrıca EPO'in yapısal olarak iyi olsa da fonksiyonel olarak yine normal onarım yönteminden daha iyi etkili olduğu gösterilemedi. EPO'in tekrarlayan dozlarının tek doz uygulamasına göre farklı olmadığını gösteren çalışmalar (22) olmasına rağmen doğru doz ve doğru aralıklarla yapılması ile ilgili çalışmaların faydalı olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca henüz sinir iyileşmesi konusunda etkinliği tartışmalı (123) olan, TZP'nin uygun ve standart faktör içeriğinin raharlıkla takip edilebileceği, daha uygun büyüklükte deney hayvanlarıyla, tekrarlayan dozlarda yapılması ve/veya uygun doz miktarının belirlenebilmesi ile ilgili daha detaylı çalışmaların yapılması faydalı olacaktır. Bu yapılması gereken çalışmalar için mevcut sinir değerlendirme testleriyle ilgili avantaj ve dezavantajlar ayrıntılı olarak irdelendi. Sinirin fonksiyonu hakkında gerçeğe en yakın ve aynı sinir üzerinde tekrarlanabilir testlerin keşfedilmesi bu çalışmaların kalitesini ve klinik olarak uygulanabilirliğini arttıracağını düşünmekteyiz.

Sonuç olarak travma, tümör, bası, ameliyat vs gibi nedenlerle sinir yaralanması gerçekleştikten sonra, tüm doku yaralanmaları sonrasında gelişen mekanizmalar gibi

iyileşme süreci zaman almakta ve kalitesi hiçbir zaman olay öncesi seviyelere ulaşmamaktadır. Üstelik sinir dokusunun iyileşme süreci diğer dokulara nazaran daha yavaş olmaktadır. Sinir iyileşmesi üzerine oldukça yoğun çalışmalar yapılmakta ancak henüz klinik kullanım alanına girebilmiş çalışma sonuçları bulunmamaktadır.

Sinir yaralanması sonrasında halen güncelliğini ve yerini koruyan itinali, dikkatli ve özenli cerrahi ile sinirlerin uç-uca karşılıklı dikilmesi en önemli kriter olmaya devam etmektedir. Ayrıca hem bizim çalışmamız hem referans alınan çalışmalar göstermektedir ki, sinir dokusu yaralandıktan sonra asla eski fonksiyon ve yapısına kavuşmamaktadır. Cerrahlık mesleğini seçen meslektaşlarımızın klasik textbooklara girmiş olan “dokuya saygılı davranılmalı” şiarı akıldan çıkarılmamalı, iatrojenik olarak ortaya çıkacak veya komplikasyon sonucu oluşacak her hasarın bir bedeli olacağı unutulmamalıdır.

6. ÖZET

Giriş: Kaza, kitle basısı, ameliyat vb nedenlerle hasarlanan periferik sinirlerde meydana gelen fonksiyon kaybının geriye dönmesi oldukça uzun zaman almakta bazen de hiç dönmemektedir. Yaralanma sonrası hastaların bırakın eski yaşam konforuna dönmelerini, çoğu zaman hastanın hayat kalitesi oldukça azalmaktadır. Çeşitli çalışmalarda Eritropoetin (EPO) ve Trombositten Zengin Plazma (TZP)'nin sinir iyileşmesi üzerinde olumlu etkileri bildirilmiştir. Bu çalışmada EPO ve TZP'nin, sinir iyileşmesi üzerindeki etkilerini, gerçeğe daha yakın değerlendirme testlerinden olan izole sinir üzerinde çalışılarak karşılaştırılması amaçlandı.

Gereç ve yöntem: İkinci ve dördüncü ayda elektrofizyolojik ve histopatolojik değerlendirmeler yapılmak üzere 60 adet dişi Wistar albino sıçan 4 gruba ayrıldı. İlk grup kontrol grubuydu ve hiçbir işlem yapılmayan siyatik sinirlerinden oluşturuldu. İkinci grupta (Kesi grubu) kontrol grubu sıçanlarının sol siyatik siniri kesildikten sonra sadece dikildi. Üçüncü grupta (EPO grubu), siyatik sinir kesilerek dikildikten sonra intraperitoneal EPO uygulandı. Dördüncü grupta (TZP grubu), sinir kesildikten sonra dikildi ve üzerine Anitua'nın tariflediği yöntemle TZP uygulandı. Sıçanlar derin anestezi altındayken elektrofizyolojik değerlendirme amacıyla lomber pleksusla tibia distali arasında diseksiyon edilip izole edilen sinir üzerinde elektriksel aktivite ölçümü yapıldı. Sonrasında %10'luk formole konan sinirler enine kesitlerde Hematoksilin-Eozinle boyanarak, birim kesit alandan miyelinli-miyelinsiz sinir lifleri sayımı yapıldı. Ayrıca Toluidine Blue boyası ile demonstre edildi.

Bulgular: Histopatolojik olarak 2 ve 4. ayda EPO grubu Kesi grubuna göre anlamlı olarak daha iyi bulundu. Kesi ile TZP grubu arasında fark anlamlı bulunmazken, kontrol grubu ile tüm deney grupları arasındaki fark anlamlı bulundu. Elektrofizyolojik ölçümlerde EPO grubunda tüm sıçanlarda (%100) kesi bölgesinden distale iletim alınabildi. TZP grubunda % 85.7-%75 sıçanda distale iletim tespit edilebilirken, Kesi grubunda % 71.4-%80 oranında sıçanda iletim elde edildi. Fakat iletim kalitesini gösteren verilerde kontrol grubu ile tüm deney grupları arasında fark anlamlı iken deney gruplarının kendi arasında anlamlı fark tespit edilemedi.

Tartışma-sonuç: Sinir fonksiyonları hakkında gerçeğe daha yakın bilgiler veren izole sinir tekniği ile yapılan çalışmamızda, EPO ve TZP'nin Kesi grubuna göre iyileşme üzerinde belirgin üstünlüğünün olmadığı bulundu. Özellikle TZP uygulamasının primer onarımla kıyaslanınca herhangi bir fayda sağlamadığı kanısındayız. Ayrıca histopatolojik olarak EPO grubunun sonuçlarının daha iyi olması, tüm deneklerde distalden iletim alınabilmesi ama iletim kalitesinin iyi olmaması nedeniyle EPO üzerinde daha detaylı araştırmalar yapmak gerektiğini düşünmekteyiz. Sonuç olarak sinir yaralanması sonrasında en önemli ve en iyi tedavi yönteminin deneyimli bir cerrah tarafından yapılacak itinalı ve özenli bir cerrahi olduğu kanısındayız.

Anahtar kelimeler: Eritropoetin, trombosit zengin plazma, sinir yaralanması, izole sinirde elektrofizyolojik çalışma, iletim hızı dağılımı

7. ABSTRACT

Introduction: Peripheral nerve injury that occurs due to accident, mass compression, surgery etc., loss of nerve function after injury, it takes quite time to heal or sometimes never returns. Let us return to the comfort of the old life of patients after injury, quite often decreases the patient's quality of life. Several studies, erythropoietin (EPO) and Platelet Rich Plasma (PRP) of the reported positive effects on nerve healing. In this study, compare the effect of the PRP and EPO on nerve healing closer to the truth by working on isolated nerve to use evaluation testing.

Material and methods: Electrophysiological and histopathological assessments to be made at the second and fourth month of 60 female Wistar albino rats were divided into 4 groups. The first group was the control group and the sciatic nerves were created without any action. In the second group (Cut group), left sciatic nerve of control group rats was only repaired after cut off. The third group (EPO group), the sciatic nerve were cut and intraperitoneal injection of EPO performed after the repair. The fourth group (PRP group), the nerve is cut off and repaired and PRP was performed with the method of described by Anitua. The rats under deep anesthesia electrical activity was measured for electrophysiological evaluation of the sciatic nerve was dissected and isolated between lumbar plexus and distal tibia. Then put in 10% formalin nerves cross sections stained with Hematoxylin - Eosin and unit cross-sectional area were counted in myelinated-unmyelinated nerve fibers. Toluidine Blue staining was also demonstrated.

Findings: At 2 and 4 months EPO group was significantly better than in the incision group histopathologically. There was no significant difference between the cut with the PRP group, and found no significant difference between the control group and all experimental groups. Electrophysiological measurements in all rats into the EPO group (100%) the transmission are taken to distal from incision site. PRP-group, identified distal transmission in 85.7%- 75% of the rats, 71.4%- 80% transmission was obtained in rats of cut group. But showing the data transmission quality was significant between all experimental groups and the control group but in the experimental groups, no significant difference could not be determined between them.

Discussion-conclusion: In the study found that the providing information closer to reality about the functions of the nerve with the technique of isolated nerve, the EPO and PRP was not significant improvement on healing according to the cut group. Particularly we believe that the application of PRP does not provide any benefit compared to primary repair. In addition, the EPO group was histopathologically to have better outcomes, and taken distal conduction of all subjects but not good quality transmission more detailed research on the need to consider. Our opinion after the nerve injury as a result of the most important and best method of treatment by an experienced surgeon, a surgical that careful and attentive.

Key Words: erythropoietin, Platelet Rich Plasma, nerve injury, electrophysiological working on isolated nevre, Conduction velocity distribution

8. TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın ortaya çıkmasında büyük emeği olan S.Ü. Meram Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi, proje danışmanım Doç. Dr. Nazım Karalezli'ye çok teşekkür ederim. Ayrıca tez danışmanım Yrd.Doç.Dr. Burkay K Kaçıra ve Anabilimdalı Başkanımız Prof. Dr. Mustafa Yel'e saygılarımla teşekkürü borç bilirim.

Yetişmemizde büyük emekleri bulunan Prof. Dr. Recep Memik, Prof Dr. Uğur Yensel, Prof. Dr. M.İ.Safa Kapıcıoğlu, Prof. Dr. Mehmet Arazi, Prof. Dr. Tunç C. Öğün, Prof. Dr. İbrahim Tuncay, Doç. Dr. H.Mustafa Özdemir, Doç. Dr. Hakan Şenaran ve sonradan aramıza katılan Prof. Dr. Orhan Büyükbecici, Doç. Dr. Serdar Toker ve Yrd. Doç. Dr. Onur Bilge'ye teşekkür ederim.

Projenin yapılması sırasında özellikle elektrofizyolojik testlerin yapılmasında, verilerin analiz edilmesinde çok büyük katkıları ve emeği olan Biyofizik Anabilim Dalı'ndan Seçkin TUNCER ve değerli hocam Prof. Dr. Nizamettin DALKILIÇ'a, Patoloji Anabilim Dalı'ndan Yrd. Doç. Dr. Hasan ESEN ve Prof. Dr. M.Cihat AVUNDUK hocalarıma da ayrıca saygılarımla teşekkür ederim.

Çocukluğumdan beri maddi manevi desteklerini hep arkamda hissettiğim muhterem anne ve babam Habibe-Mehmet Göncü ve kardeşlerim Ömer Güneri, Gülgün ve Gökhan'a saygı ve sevgilerimi sunarım.

Bu zorlu süreçte bana destek olup moral veren sevgili eşim Fatma ve kızım Habibe Esin'e teşekkür ve sevgilerimi sunarım.

9. KAYNAKLAR

1. **Terzis JK, Sun DD, Thanos PK.** Historical and basic science review: past, present, and future of nerve repair. *J Reconstr Microsurg.* 1997 Apr, 13-3, s. 215-25.
2. **Terzis JK, Faibisoff B, Williams HB.** The nerve gap: Suture under tension vs grafts. *Plast Reconstr Surg.* 1975, 56-2, s. 166-170.
3. **Gruber H, Freilinger G, Holle J, Mandl H.** Identification of motor and sensory funiculi in cut nerves and their selective reunion. *Br J Plast Surg.* 1976, 29, s. 70-73.
4. **Mackinnon SE.** Surgical management of the peripheral nerve gap. *Clin Plast Surg.* 1989, Cilt 16, s. 587-603.
5. **Mackinnon SE, Dellon AL, Hudson AR, Hunter DA.** Nerve regeneration through a pseudosynovial sheath in a primate model. *Plast Reconstr Surg.* 1985, 75, s. 833-41.
6. **Lundborg G.** Nerve regeneration and repair. A review. *Acta Orthop Scand.* 1987, 58(2), s. 145-69.
7. **Brushart TM, Tarlov EC, Mesulam MM.** Specificity of muscle reinnervation after epineural and individual fascicular suture of the rat sciatic nerve. *J Hand Surg.* 1983, Cilt 8, s. 248-53.
8. **Kayıkcioglu A, Karamursel S, Demirci M, Erdem S, Kecik A.** A new epineural nerve repair technique with external metallic circle. *Surg Neurol.* 2004, 62(5), s. 387-92.
9. **Levinthal R, Brown WJ, Rand RW.** Comparison of fascicular, interfascicular and epineural suture techniques in the repair of simple nerve lacerations. *J Neurosurg.* 1977, 47, s. 744-50.
10. **Gorgulu A, Uzal C, Doganay 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(6), s. 1389-95.
11. **Menosky T, Beek JF.** Carbon dioxide laser-assisted nerve repair, effect of solder and suture material on nerve regeneration in rat sciatic nerve. *Microsurgery.* 2003, 23(2), s. 109-16.
12. **Haapaniemi T, Nylander G, Kanje M, Dahlin L.** Hyperbaric oxygen treatment enhances regeneration of the rat sciatic nerve. *Exp Neurol.* 1998, 149(2), s. 433-8.
13. **dos Reis FA, Belchior AC, de Carvalho Pde T, da Silva BA.** Effect of laser therapy (660 nm) on recovery of the sciatic nerve in rats after injury through neurotmesis followed by epineural anastomosis. *Lasers Med Sci.* 2009 Sep, Cilt 24(5), 741-7.
14. **Wilgis EFS.** Nerve repair and grafting, ed: Green DP., Churchill Livingstone, New York., *Operative Hand Surgery.* 1982, s. 915-38.
15. **Ludberg G, Hasson HA.** Nerve regeneration through preformed pseudosynovial tubes. A preliminary report of a new experimental model for studying the regeneration and reorganization capacity of peripheral nerve tissue. *J Hand Surg Am.* 1980 Jan, 5(1), s. 35-8.

16. **Lee S, de Macedo AR, Hweidi SA, Bacchi CE, Wolf P.** Efficacy of polyglycolic acid (Dexon) microsutures in peripheral nerve anastomoses in the rat: 2. Perineural suture. *Microsurgery*. 1984, 5(3), s. 123-6.
17. **Tze WC, Ming CY, ve ark.** Promoting regeneration of peripheral nerves in-vivo using new PCL-NGF/Tirofiban nerve conduits. *Biomaterials*. 2011, 32, s. 734-43.
18. **Nurden AT, Nurden P, Sanchez M, Andia S, Anitua E.** Platelets and wound healing. *Frontiers in Bioscience*. 2008, 13, s. 3525-3548.
19. **Anitua E, Andia I, Sanchez M, Azofra J, del Mar Zaldueño M, de la Fuente M et al.** Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture. *J Orthop Res*. 2005, 23(2), s. 281-6.
20. **Pietrzak WS, Eppley BL.** Platelet rich plasma: Biology and new technology. *J Craniofac Surg*. 2005, 16(6), s. 1043-54.
21. **Toth C, Martinez JA, Liu WQ, Diggle J, Guo GF, Ramji N et al.** Local erythropoietin signaling enhances regeneration in peripheral axons. *Neuroscience*. 2008 Jun, 154(2), s. 767-83.
22. **Ozkan M, Gokmen N, Yilmaz O, Erbayraktar S, Bagriyanik A.** Effect of erythropoietin on peripheral nerve regeneration. *J Neurol Sci[turk]*. 2010, 27(1), s. 35-42.
23. **Elfar JC, Jacobson JA, Puzas JE, Rosier RN, Zuscik MJ.** Erythropoietin accelerates functional recovery after peripheral nerve injury. *J Bone Joint Surg Am*. 2008 Aug, 90(8), s. 1644-53.
24. **Lykissas MG, Korompilias AV, Vekris MD, Mitsionis GI, Sakellariou E, Beris AE.** The role of erythropoietin in central and peripheral nerve injury. *Clin Neurol Neurosurg*. 2007 Oct, 109(8), s. 639-44.
25. **Myers RR.** Morphology of the peripheral nervous system and its relationship to neuropathic pain. Yaksh TL, Lynch III C, Zapol WM, Maze M, Biebuyck JF, Saidman LJ (eds), Lippincott-Raven, Philadelphia. *Anesthesia: Biologic Foundations*. 1998, s. 480-491.
26. **Shier D, Butler J, Lewis R.** Hole's Essentials of human anatomy and physiology. 9th ed. New York: McGraw Hill. 2006, s. 202-42.
27. **Snell RS.** Clinical Neuroanatomy for Medical Students. Second edition. Little Brown and Company, Boston, (1990). s. 47-75.
28. **Berry M, Bannister LH, Standring SM.** Nervous system. 38th ed. Williams P.L. Churchill Livingstone, Edingburgh. *Gray's anatomy*. 1995, s. 904.
29. **Dahlin LB.** The biology of nerve injury and repair. *J Am Soc Surg Hand*. 4(3), 2004, s. 143- 55.
30. **Garbay B, Heape AM, Sargueil F, et al.** Myelin synthesis in peripheral nervous system. *Prog Neurobiol*. 2000, 61, s. 267-304.
31. **Terzis JK, Smith KL.** Repair and grafting of the peripheral nerve. McCarthy JG, May JW, Litter WJ, editors. Philadelphia: WB Saunders. Volume 1. *Plastic surgery*. 1990, s. 630-97.

32. **Maggi SP, Lowe JB 3rd, Mackinnon SE.** Pathophysiology of nerve injury. *ClinPlast Surg.* 2003, 30(2), s. 109–26.
33. **Brandt KE, Mackinnon SE.** Microsurgical repair of peripheral nerves and nerve grafts. 5th ed, Aston SJ, Beasley RW, Thorne CHM. (eds) Lippincott-Raven, Philadelphia. *Grabb and Smith's Plastic Surgery.* 1997, s. 80.
34. **Arthur C. Guyton, John E. Hall.** Membran Potansiyelleri ve Aksiyon Potansiyelleri. [çev.] Hayrünisa ÇAVUŞOĞLU. *Medical Physiology.* 10. baskı. Philadelphia, Pennsylvania : W.B. Saunders Company, 2001, 5, s. 52-65.
35. **Waxman SG.** Determinants of conduction velocity in myelinated nerve fibers. *Muscle Nerve.* 1980, 3(2), s. 141-50.
36. **BeMent SL.** Single myelinated peripheral nerve fibers -- anatomic and electrophysiologic studies relevant to conduction velocity and fiber diameter histogram prediction from surface recorded potentials. *Prog Clin Biol Res.* 1981, 52, s. 33-55.
37. **Lundborg G.** The nerve trunk. Nerve injury and repair. Churchill Livingstone, NY, 1988. s. 32-63.
38. **Winograd JM, Mackinnon SE.** Peripheral nerve injuries: Repair and reconstruction. In: Mathes SJ, editor. 2nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; Volume 7. *Plastic surgery.* 2006, s. 47–514.
39. **Lundborg G.** Structure and function of the intraneural microvessels as related to trauma, edema formation, and nerve function. ;. *J Bone Joint Surg Am.* 1975, 57(7), s. 938–48.
40. **Burnett MG, Zager EL.** Pathophysiology of peripheral nerve injury: A brief review. *eurosurge Focus.* 2004, 16(5), s. 15.
41. **Seddon HJ.** A Classification of Nerve Injuries. *Br Med J.* 1942 Aug, 29;2(4260), s. 237-9.
42. **Sunderland S.** A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. *Brain.* 1951 Dec, 74(4), s. 491-516.
43. **Sunderland S.** The anatomy and physiology of nerve injury. *Muscle Nerve.* 1990, 13(9), s. 771–84.
44. **Brushart TM.** Nerve repair and grafting. In. Green DP, Hotchkiss RN, Pederson WC, editors. 4th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; Volume 2;. *Green's operative hand surgery.* 1999, s. 1381- 403.
45. **Seckel BR.** Enhancement of peripheral nerve regeneration. *Muscle Nerve.* 1990, 13(9), s. 785–800.
46. **Brandt KE, Mackinnon SE.** Microsurgical repair of peripheral nerves and nerve grafts. [yazan] Grabb and Smith'. *plastic surgery.* 5th ed. Philadelphia : Lippincott-Raven, 1997.
47. **Robinson L.** Traumatic injury to peripheral nerves. *Muscle and Nerve.* 2000, 28, s. 863-873.

48. **Hall SM.** Regeneration in the peripheral nervous system. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 1989, 15(6), s. 513–29.
49. **Lundborg G.** A 25-year perspective of peripheral nerve surgery: Evolving neuroscientific concepts and clinical significance. *J Hand Surg [Am].* 2000, 25(3), s. 391–414.
50. **Chiu DT, Smahel J, Chen L, Meyer V.** Neurotropism revisited. *Neurol Res.* 2004 Jun, 26(4), s. 381-7.
51. **Gartner LP, Hiatt JL.** *Color textbook of histology.* 2nd ed. Philadelphia : Saunders Elsevier, 2001, s. 183-217.
52. **Frostick SP, Yin Q, Kemp GJ.** Schwann cells, neurotrophic factors, and peripheral nerve regeneration. *Microsurgery.* 1998;18(7):397–405.
53. **Gordon T.** The physiology of neural injury and regeneration: The role of neurotrophic factors. *J Commun Disord.* 2010 Jul-Aug, 43(4), s. 265-73.
54. **Johnson EO, Charchanti A, Soucacos PN.** Nerve repair: experimental and clinical evaluation of neurotrophic factors in peripheral nerve regeneration. *Injury.* 2008 Sep, 39 (3), s. 37-42.
55. **Levi-Montalcini R, Hamburger V.** Selective growth stimulating effects of mouse sarcoma on the sensory and sympathetic nervous system of the chick embryo. *J Exp Zool.* 1951 Mar, 116(2), s. 321-61.
56. **Zhuk ON, Kalyunov VN.** Effect of nerve growth factor on the regeneration of fibers in the rat sciatic nerve. *Neurosci Behav Physiol.* 1997, 27(5), s. 541–4.
57. **Renno WM, Saleh F, Klepacek I, Al-Awadi F.** Talin immunogold density increases in sciatic nerve of diabetic rats after nerve growth factor treatment. *Medicina (Kaunas).* 2006, 42(2), s. 147–63.
58. **Whitworth IH, Brown RA, Doré CJ, Anand P, Green CJ, Terenghi G.** Nerve growth factor enhances nerve regeneration through fibronectin grafts. *J Hand Surg [Br].* 1996, 21(4), s. 514–22.
59. **Yin Q, Kemp GJ, Frostick SP.** Neurotrophins, neurones and peripheral nerve regeneration. *J Hand Surg [Br].* 1998, 23(4), s. 433–7.
60. **Boyd JG, Gordon T.** A dose-dependent facilitation and inhibition of peripheral nerve regeneration by brain-derived neurotrophic factor. *Eur J Neurosci.* 2002, 15(4), s. 613–26.
61. **McCallister WV, Tang P, Smith J, Trumble T.** Axonal regeneration stimulated by the combination of nerve growth factor and ciliary neurotrophic factor in an endo- side model. *J Hand Surg [Am].* 2001, 26(3), s. 478–88.
62. **Yamamori T, Fukada K, Aebersold R, Korsching S, Fann MJ, Patterson PH.** The cholinergic neuronal differentiation factor from heart cells is identical to leukemia inhibitory factor. *Science.* 1989 Dec, 246(4936), s. 1412-6.
63. **Zang DW, Cheema SS.** Leukemia inhibitory factor promotes recovery of locomotor function following spinal cord injury in the mouse. *J Neurotrauma.* 2003, 20(11), s. 1215–22.

64. **Stenberg PE, Hill RJ.** Platelets and megakaryocytes. In: Lee GR, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM, editors. 10th ed. Egypt, Volume 1. *Wintrobe's clinical hematology*. 1999, s. 615–60.
65. **Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T.** Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol.* 2009 Mar, 27(3), s. 158-67.
66. **Haynesworth S.** Platelet-rich plasma stimulates stem cell chemotaxis, proliferation and potentiates osteogenic differentiation. *The Spine Journal.* 2006, 2(5), s. 68-72.
67. **Whitman, D.H. et al.** Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 1997, 55, s. 1294–1299.
68. **Özbayoğlu AC.** *Deneyisel sıçan siyatik sinir ezilme tarzı yaralanma modelinde sinir rejenerasyonunda trombositler zengin plazmanın etkileri.* Eskişehir : Uzmanlık Tezi, 2008.
69. **Sariguney Y, Yavuzer R, Elmas C, Yenicesu I, Bolay H, Atabay K.** Effect of platelet-rich plasma on peripheral nerve regeneration. *J Reconstr Microsurg.* 2008 Apr, 24(3):, s. 159-67.
70. **Piskin A, Kaplan S, Aktaş A, Ayyildiz M, Raimondo S, Aliç T ve ark.** Platelet gel does not improve peripheral nerve regeneration: an electrophysiological, stereological, and electron microscopic study. *Microsurgery.* 2009, 29(2), s. 144-53.
71. **Marx RE.** Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004, 62(4), s. 489–96.
72. **Anitua E.** Plasma rich in growth factors: Preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999 Jul, 14(4), s. 529–35.
73. **Marx RE.** Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent.* 2001, 10(4), s. 225–8.
74. **DelRossi AJ, Cernaianu AC, Vertrees RA, Wacker CJ, Fuller SJ, Cilley JH et al.** Platelet-rich plasma reduces postoperative blood loss after cardiopulmonary bypass. *J Thorac and Cardiovasc Surg.* 1990, 100, s. 281–286.
75. **Bose B, Balzarini MA.** Bone graft gel: Autologous growth factors used with autograft bone for lumbar spine fusions. *Adv Ther.* 2002, 19(4), s. 170–5.
76. **Lowery GL, Kulkarni S, Pennisi AE.** Use of autologous growth factors in lumbar spinal fusion. *Bone.* 1999, 25(2), s. 47S-50S.
77. **Carter CA, Jolly DG, Worden CE Sr, Hendren DG, Kane CJ.** Platelet-rich plasma gel promotes differentiation and regeneration during equine wound healing. *Exp Mol Pathol.* 2003, 74(3), s. 244–55.
78. **Aspenberg P, Virchenko O.** Platelet concentrate injection improves Achilles tendon repair in rats. *Acta Orthop Scand.* 2004, 75(1), s. 93–9.

79. **Sánchez M, Anitua E, Azofra J, Andía I, Padilla S, Mujika I.** Comparison of surgically repaired Achilles tendon tears using platelet-rich fibrin matrices. *Am J Sports Med.* 2007 Feb, 35(2), s. 245-51.
80. **Sarıgüney Y.** *Periferik sinir yaralanmalarının onarımında trombositten zengin plazmanın sinir rejenerasyonu üzerine etkisi.* Ankara : Uzmanlık tezi, 2006.
81. **Heldin CH, Westermark B.** Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor. *Physiol Rev.* 1999, 79(4), s. 1283–316.
82. **Greenhalgh DG.** The role of growth factors in wound healing. *J Trauma.* 1996, 41(1), s. 159–67.
83. **Ohno M, Sasahara M, Narumiya S, Tanaka N, Yamano T, Shimada M et al.** Expression of platelet-derived growth factor B-chain and beta-receptor in hypoxic/ischemic encephalopathy of neonatal rats. *Neuroscience.* 1999, 90(2), s. 643–51.
84. **Allamargot C, Pouplard-Barthelaix A, Fressinaud C.** A single intracerebral microinjection of platelet-derived growth factor (PDGF) accelerates the rate of remyelination in vivo. *Brain Res.* 2001, 918(1–2), s. 28–39.
85. **Eccleston PA, Funa K, Heldin CH.** Expression of platelet-derived growth factor (PDGF) and PDGF alpha- and beta-receptors in the peripheral nervous system: an analysis of sciatic nerve and dorsal root ganglia. *Dev Biol.* 1993, 155(2):, s. 459–70.
86. **Oya T, Zhao YL, Takagawa K, Kawaguchi M, Shirakawa K, Yamauchi T et al.** Platelet-derived growth factor-b expression induced after rat peripheral nerve injuries. *Glia.* 2002, 38(4), s. 303–12.
87. **Davis JB, Stroobant P.** Platelet-derived growth factors and fibroblast growth factors are mitogens for rat Schwann cells. *J Cell Biol.* 1990, 110(4), s. 1353–60.
88. **Storkebaum E, Carmeliet P.** VEGF: A critical player in neurodegeneration. *J Clin Invest.* 2004, 113(1), s. 14–8.
89. **Corral CJ, Siddiqui A, Wu L, Farrell CL, Lyons D, Mustoe TA.** Vascular endothelial growth factor is more important than basic fibroblastic growth factor during ischemic wound healing. *Arch Surg.* 1999, 134(2), s. 200–5.
90. **Hobson MI, Green CJ, Terenghi G.** VEGF enhances intraneural angiogenesis and improves nerve regeneration after axotomy. *J Anat.* 2000, 197(4), s. 591–605.
91. **Sondell M, Lundborg G, Kanje M.** Vascular endothelial growth factor has neurotrophic activity and stimulates axonal outgrowth, enhancing cell survival and Schwann cell proliferation in the peripheral nervous system. *J Neurosci.* 1999, 19(14), s. 5731–40.
92. **Pierce GF, Mustoe TA, Lingelbach J, Masakowski VR, Griffin GL, Senior RM et al.** Platelet-derived growth factor and transforming growth factor-beta enhance tissue repair activities by unique mechanisms. *J Cell Biol.* 1989, 109(1), s. 429–40.
93. **Grazul-Bilska AT, Johnson ML, Bilski JJ, Redmer DA, Reynolds LP, Abdullah A et al.** Wound healing: the role of growth factors. *Drugs Today (Barc).* 2003, 39(10), s. 787–800.

94. **Emel E, Ergün SS, Kotan D, Gürsoy EB, Parman Y, Zengin A ve ark.** Effects of insulin-like growth factor-I and platelet-rich plasma on sciatic nerve crush injury in a rat model. *J Neurosurg.* 2011 Feb, 114(2), s. 522-8.
95. **Lutz BS, Wei FC, Ma SF, Chuang DC.** Effects of insulin-like growth factor-1 in motor nerve regeneration after nerve transection and repair vs. nerve crushing injury in the rat. *Acta Neurochir (Wien).* 1999, 141(10), s. 1101-6.
96. **Wildering WC, Hermann PM, Bulloch AG.** Lymnaea epidermal growth factor promotes axonal regeneration in CNS organ culture. *J Neurosci.* 2001, 21(23), s. 9345-54.
97. **Dubuisson AS, Beuermann RW, Kline DG.** Sciatic nerve regeneration across gaps within collagen chambers: The influence of epidermal growth factor. *J Reconstr Microsurg.* 1993, 9(5), s. 341-6.
98. **Campana WM, Myers RR.** Erythropoietin and erythropoietin receptors in the peripheral nervous system: changes after nerve injury. *Faseb J.* 2001, 15(10), s. 1804-1806.
99. **Brines ML, Ghezzi P, Keenan S, Agnello D, de Lanerolle NC, Cerami C, et al.** Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2000, 97(19), s. 10526-10531.
100. **Campana WM, Myers RR.** Exogenous erythropoietin protects against dorsal root ganglion apoptosis and pain following peripheral nerve injury. *The European journal of neuroscience.* 2003, 18(6), s. 1497-1506.
101. **Celik M, Gokmen N, Erbayraktar S, Akhisaroglu M, Konak S, Ulukus C, et al.** Erythropoietin prevents motor neuron apoptosis and neurologic disability in experimental spinal cord ischemic injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2002, 99(4), s. 2258-2263.
102. **Sekiguchi Y, Kikuchi S, Myers RR, Campana WM.** ISSLS prize winner: Erythropoietin inhibits spinal neuronal apoptosis and pain following nerve root crush. *Spine.* 2003, 28(23), s. 2577-2584.
103. **Thomas PK, Berthold CH, Ochoa J.** Microscopic anatomy of the peripheral nervous system,. [yazan] Dyck P. *Peripheral Neuropathy.* 3rd edition. Philadelphia : WB Saunders, 1993, s. 28-80.
104. **Molander H, Engkvist O, Hugglund J.** Nerve repair using a polyglactin tube and nerve graft, an experimental study in the rabbit. *Biomaterials.* 1983, 4, s. 276-80.
105. **Bora FW.** Peripheral nerve repair in cats. The fascicular stich. *J Bone joint Surg.* 1967, 49A, s. 659.
106. **Wilgis EFS, Brushart TM.** Nerve repair, 3rd edition. ed: Green DP., Churchill Livingstone, New York,. *Operative Hand Surgery.* 1993, s. 1315-40.
107. **Birch R, Bonney G, Wynn Parry CB.** *Surgical disorders of the peripheral nerves.* 1st ed. Edinburgh : Churchill Livingstone, 1998, s. 23.

108. **Lundborg G, Dahlin LB.** Structure and function of peripheral nerve. [yazan] Gelberman RH. *Operative Nerve Repair and Reconstruction*. Philadelphia : JB Lippincott, 1991, s. 3-15.
109. **Jobe MT, Martinezv SF.** Periferik sinir yaralanmaları. [yazan] S.Terry Canale. [çev.] Hayrettin Kesmezacar, Işık Akgün. *Campbell's Operative Orthopaedics*. Philadelphia, Pennsylvania : Mosby, 2003, Cilt 4/4, s. 3221-83.
110. **Edshage S.** Peripheral nerve suture. A technique for improved intraneural topography. Evaluation of some suture materials. *Acta Chir Scand Suppl.* 1964, 15, s. 331.
111. **Diao E, Peimer CA.** Sutureless methods of nerve repair.ed: Gelberman RH, JB Lippincott, Philadelphia. *Operative Nerve Repair and Reconstruction*. 1991, s. 305-311.
112. **Smahel J, Meyer VE, Bachem U.** Glueing of peripheral nerves with fibrin, experimental studies. *J Reconstr Microsurg.* 1987, 3, s. 211-20.
113. **Menovsky T, Beek JF.** Laser, fibrin glue, or suture repair of peripheral nerves, a comparative functional, histological and morphometric study in the rat sciatic nerve. *J Neurosurg.* 2001, 95(4), s. 694-9.
114. **Kim E. Barrett, Scott Boitano, Susan M. Barman, Heddwen L. Brooks.** Excitable Tissue: Nerve. *Ganong's Review of Medical Physiology*. 23rd edition. : Lange, 2010, II, s. 79-92.
115. **Pehlivan, F.** *Biyofizik (Biophysics)*. Ankara : Hacettepe-Tas Kitapçılık, 1997.
116. **Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM.** Principles of Neural Science. 4th ed. : McGraw-Hill Companies, 2000, s. 73.
117. **Tuncer S.** *Deneysel tip 1 diyabetin sıçan periferik sinirleri üzerine etkisinin numerik analiz yöntemleri ile incelenmesi*. Biyofizik Anabilim Dalı, Selçuk Üniversitesi. Konya : Yüksek Lisans Tezi, 2008.
118. **Dalkilic N, Pehlivan F.** Derivatives and Integrals of Compound Action Potential of Isolated Frog Sciatic Nerve. *J of Ankara Medical School.* 1994, 16, s. 634-646.
119. **Dalkiliç N, Pehlivan F.** Comparison of fiber diameter distributions deduced by modeling compound action potentials recorded by extracellular and suction techniques. *Int J Neurosci.* 2002, 112(8), s. 913-30.
120. **Ayaz M, Kiziltan E, Tuncer S, Dalkilic N, Demirel I, Bariskaner H ve ark.** Sexual dependency of rat sciatic nerve fiber conduction velocity distributions. *Int J Neurosci.* 2007, 117(11), s. 1537-49.
121. **Hall S.** The response to injury in the peripheral nervous system. *J Bone Joint Surg (Br).* 2005, 87B, s. 1309-19.
122. **Tuncer S, Dalkilic N, Esen HH, Avunduk MC.** An early diagnostic tool for diabetic neuropathy: conduction velocity distribution. *Muscle Nerve.* 2011 Feb, 43(2), s. 237-44.
123. **Yu W, Wang J, Yin J.** platelet-rich plasma: a promising product for treatment of peripheral nerve regeneration after nerve injury. *international journal of neuroscience.* 2011, 121, s. 176-180.

124. **Sanchez M, Anitua E, Cugat R, Azofra J, Guadilla J, Seijas R et al.** Nonunions treated with autologous preparation rich in growth factors. *J Orthop Trauma*. 2009 Jan, 23(1), s. 52-9.

125. **Wang-Saegusa A, Cugat R, Ares O, Seijas R, Cuscó X, Garcia-Ballebó M.** Infiltration of plasma rich in growth factors for osteoarthritis of the knee short-term effects on function and quality of life. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2011 Mar, 131(3), s. 311-7.

126. **Molina-Miñano F, López-Jornet P, Camacho-Alonso F, Vicente-Ortega V.** The use of plasma rich in growth factors on wound healing in the skin: experimental study in rabbits. *Int Wound J*. 2009 Apr, 6(2), s. 145-8.