

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI

**PERİFERİK SİNİR ONARIMLARINDA
TERS UÇ-YAN SİNİR GREFTLERİNİN
UÇ-UCA SİNİR GREFTLERİ İLE
KARŞILAŞTIRILMASI
(SIÇANLARDA DENEYSEL ÇALIŞMA)**

Dr. OZAN BALIK

Uzmanlık Tezi

Danışman

Doç. Dr. ADNAN MENDERES

İZMİR - 2008

Plastik Cerrahi eğitimim yanında, yaşama dair kazandırdıkları değerlerden dolayı hocalarıma sonsuz şükran ve minnetlerimi sunarım.

Dr. Ozan Balık

Bu günlere ulaşmamı sağlayan insana adanmıştır.

Anneme ...

İÇİNDEKİLER

1- ÖZET	1
2- GİRİŞ	4
• Periferik sinir onarımında tarihsel süreç	5
• Periferik sinirlerin morfolojisi	6
• Periferik sinir yaralanmaları ve rejenerasyonu	9
• Periferik sinir cerrahisi	15
• Sinir greftleri	17
• Uç-Yan sinir koaptasyonu	18
• Ters uç-yan sinir koaptasyonu	20
3- AMAÇ	24
4- GEREÇ – YÖNTEM	26
• Yürüme analizleri	26
• Elektromyografi	27
• Histomorfometrik değerlendirilmesi	28
• İstatiksel yöntemler	28
• Deneysel gruplar	29
4- SONUÇLAR	
• Yürüme analizleri	33
• Elektromyografi	37
• Histopatolojik Morfometrik İncelemeler	46
5- TARTIŞMA	59
6- KAYNAKLAR	72

dhh : Desert Hedgehog

NGF : Nerve Growth Factor (Sinir Büyüme Faktörü)

GGF : Glial Growth Factor (Glial Büyüme Faktörü)

IGF : Insulin Like Growth Factor (İnsulin Benzeri Büyüme Faktörü)

PDGF : Platelet Derived Growth Factor (Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü)

NT : Neurotrophin

BDNF : Brain Derived Neurotrophic Factor (Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör)

HRP : Horse Radish Peroksidaz (Karaturp peroksidaz)

EMG : Electromyography (Elektromiyografi)

Özet

Periferik sinirler, neoplazmlar, travmalar, kompresyon durumları, enflamatuar hastalıklar, enfeksiyonlar, cerrahi işlemler gibi çok çeşitli nedenlerden dolayı zarar görebilmektedir. Yaralanmanın etiyolojik özelliğine, şiddetine, yaralanmanın bulunduğu anatomik lokalizasyon bağlı olarak farklı yöntemlerle sinir onarımı yapılabilir. Klinikte aynı anda birden fazla hedef kas dokusunun tek bir intakt sinir ile nörotize edilmesini gerektiren klinik durumlarla karşılaşılabilir. Böyle bir probleme yönelik olarak literatürde uç-yan onarımın değişik modifikasyonları uygulanmaya çalışılmıştır. Genellikle de bu yöntemler çoklu veya seri uç-yan onarım şeklindedir.

Bu çalışmada ters uç-yan olarak literatürde tanımlanan yöntemi sinir grefti ile birlikte uygulayarak, tek bir intakt sinir ile iki ayrı hedef kas grubunu nörotize etmeyi hedefledik. Bu amaçla 6 deneysel grup planlandı:

- Grup 1: Kontrol grubu;
- Grup 2: Onarım yapılmayan grup;
- Grup 3: Uç-uca onarım grubu;
- Grup 4: Ters uç-yan onarım grubudur.

At nalı şeklindeki sinir greftinin ortasına açılan epinöral pencereye intakt sinirin ucu suture edilerek sinir greftinin iki ucunda da aksonal ilerleme sağlandı. Ters uç-yan onarımın fizyolojisini daha iyi değerlendirebilmek amacı ile Grup 5 ve Grup 6 oluşturuldu. Grup 5'te at nalı greftin uçlarına farklı hedef dokular suture edilirken Grup 6'da greftin bir ucu bağlanarak nörotropizm incelenmiştir.

Bu çalışmanın değerlendirilmesinde yürüme analizi, EMG ve elektron mikroskopisinde myelinli ve myelinsiz aksonların sayımı yapılmıştır.

Grup 4'ün (ters uç-yan onarım) yürüme analizleri ve EMG bulguları, Grup 3'te (uç-uca onarım) elde edilen bulgulara göre istatistiksel olarak daha anlamlı bulunmuştur. Sinir greftinin uçlarından alınan örneklerin elektron mikroskopik incelemesinde, ters uç-yan onarım yapılan grupta myelinsiz ve myelinli akson sayılarının, uç-uca onarımın yapıldığı gruba göre istatistiksel olarak daha fazla olduğu saptanmıştır.

Bu çalışmada, sinir dokusu, kas dokusu ve serbest bağlamanın nörotropizm açısından önceliği de değerlendirilmiş ve sinir dokusunun diğerlerinden daha baskın olduğu görülmüştür. Aksonal ilerleme açısından ideal bir ortam sağladığı nörotropizm çalışmaları için bu çalışma iyi bir model olabilir.

Sonuçlar göz önüne alındığında, tek bir intakt sinirin ters uç-yan onarım yöntemi ve sinir grefti kullanılarak iki hedef kası başarılı bir şekilde innerve edebileceği gösterilmiştir.

Summary

Peripheral nerves could be injured due to various etiologies such as neoplasm, trauma, compression status, inflammatory disease, infections, surgical procedures etc. Several nerve repairing methods can be used according to etiological properties of the injury, its severity, and anatomical localization. In clinical practice neurotization of more than one muscle through solely intact nerve may be required. In such cases, a number of modifications for the end-to-side repair have been tried in related literature. These modifications are usually multiple or serial types of end-to-side repair.

In this study, we aimed to neurotize two different muscles via solely an intact nerve, using nerve graft and reverse end-to-side repair that has been already introduced into the literature. For this reason, 6 experimental groups were designed:

- Group 1: Sham group;
- Group 2: Non-treatment group;
- Group 3: End-to-end repair group;
- Group 4: Reverse end-to-side repair group.

Intact nerve end was sutured to epineural window at the middle of the horseshoe shaped nerve graft and axonal sprouting was achieved through both ends of the nerve graft. In order to better assess the physiology of reverse end-to-side repair, Group 5 and Group 6 were created. In Group 5, the ends of the graft were sutured to different tissues and in Group 6, one of the ends of the graft was ligated in order to explore the processes neurotropism.

Walking analysis, EMG, and electron microscopical myelinated / non-myelinated axon count were used in the evaluation of the study.

Walking analysis and EMG findings were statistically significant in Group 4 (reverse end-to-side repair) comparing to Group 3 (end-to-end repair). In electron microscopical examination of the nerve biopsies obtained from the ends of the nerve graft, the number of the myelinated and non-myelinated axons was statistically greater in reverse end-to-side repair group (Group 4) compared to end-to-end repair group (Group 3).

In this study, the priority of neurotropism was also assessed among nerve, muscle tissue, and ligation. It was found that the affinity of the nerve tissue was superior than the other tissues. This study may be a good model for neurotropism studies where an appropriate environment has been provided for axonal progression.

When the results are evaluated, this study shows that two different muscles can be neurotized by solely intact nerve via using reverse end-to-side repair and a nerve graft.

Giriş

Gerek mikrocerrahi yöntemlerinin geliştirilmesi gerek moleküler biyolojideki gelişmeler periferik sinir onarımında başarı oranını arttırmıştır. Travmalar, enfeksiyonlar, tümör invazyonları, tuzak nöropatiler, cerrahi girişimler gibi birçok etiyolojik faktör nedeni ile periferik sinir hasarı oluşmaktadır. Bu hasarların çoğunluğu vücudun spontan iyileşme kapasitesini aşmaktadır. Bu nedenle periferik sinir cerrahisinde çeşitli onarım teknikleri, mikroenstrumanlar, kondüit tüpler, rejenerasyonu arttıran büyüme stimülatörleri, onarımın başarısını arttıran elektrofizyolojik ve histokimyasal metodlar geliştirilmiştir. Mükemmel denilebilecek yöntemlere henüz ulaşılamasa da periferik sinir onarımları birçok araştırmmanın konusu olmaya devam etmektedir.

Periferik sinir onarımlarında önemli bir yeri olan sinir greftlerinin yaygın olarak kullanılmasına rağmen akson filizlerinin greft içerisindeki yönelimi (tropizmi) ile ilgili biyolojik davranışları açıklık kazanmamıştır.

Yaygın olarak kullanılan koaptasyon tekniklerinden biri olan uç-yan onarımın ve tanımı yakın bir zamanda yapılmış olan ters uç-yan onarımın fizyolojik mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Bu konuda yapılacak olan çalışmalarla sinir onarım tekniklerinin ve sinir greftlerinin daha etkin kullanılması mümkün olacaktır.

Ters uç-yan onarım yönteminin sinir greftleri ile birlikte kullanımı sonucunda tek bir motor sinir lifi ile denerve olmuş iki ayrı hedef kası innerve etmek mümkündür. Literatürde bu amaçla yapılmış çalışmalar olmakla birlikte, ters uç yan onarım yönteminin kullanımına rastlanmamıştır.

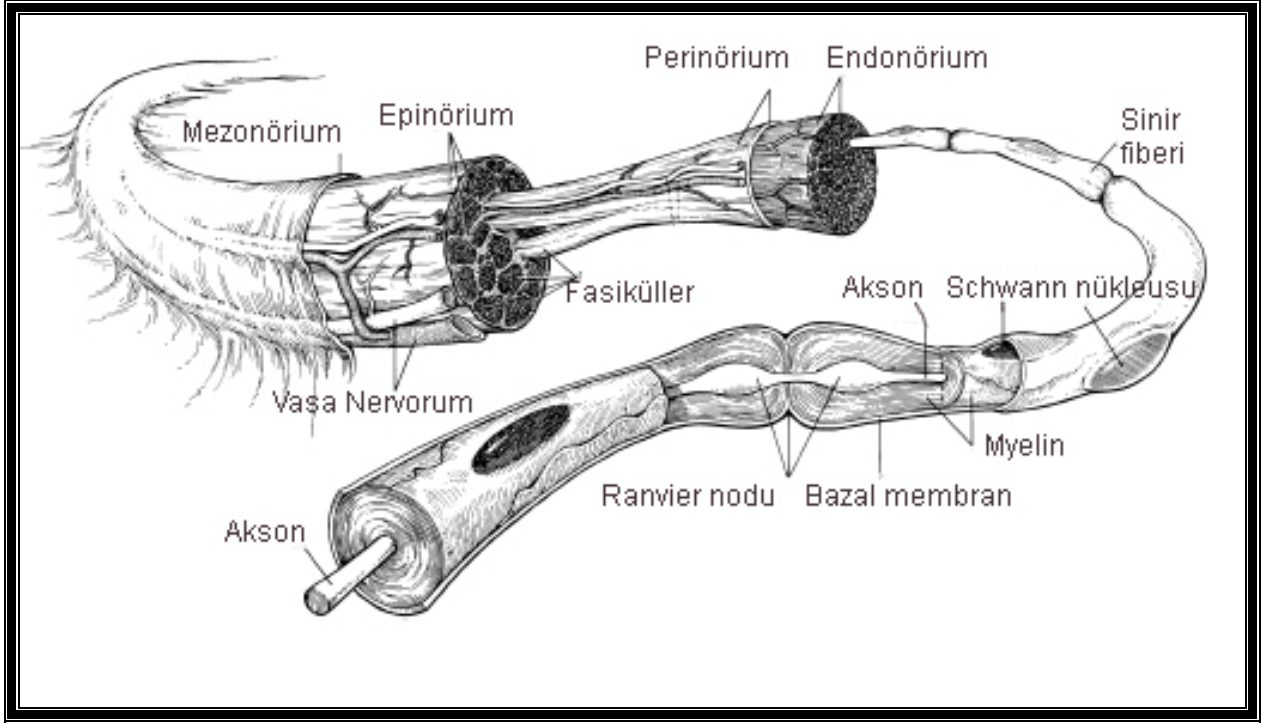
Ters uç-yan onarım tekniğinin fonksiyonel önemini ortaya koyabilmek, nörotizasyon ve nörotropizm üzerine etkilerini belirlemek üzere, mevcut görüşler göz önüne alınarak bu çalışma gerçekleştirilmiştir.

Periferik sinir onarımında tarihsel süreç

Sushruta (M.Ö. 1000) kendi okulunda n. vagus, n. glossofaringeusu ve n. recurrent laringeal'e ait fonksiyonların bir kısmını tanımlamıştır. Periferik sinir sisteminden ilk söz eden Hipokrat (M.Ö. 460–370) olup, bu sistemin yaralanmalarına ait en eski çalışmalar ise Galen'e aittir (M.S. 130–200). Galen bazı sinir yaralanmaları sonrasında duyunun, bazı sinir yaralanmalarında ise hareketlerin kaybolduğunu gözlenmiştir. Sinir dokusuna ilk dikiş 13.yy'da William Saliceto tarafından Bologna'da konulmuştur. Glisson (1597-1677) sinir yapılarının uyarılabilirliğini, Leewenhoek (1632-1723) sinirin mikroskobik yapısını, Galvani (1737-1798) fonksiyonlarını, W.C. Cruikshank (1745-1800) sinir dokusunun iyileşebileceğini, Fontana (1774-1842) akson ve myelin tabakalarını, Bell (1774-1842) anatomik organizasyonlarını, von Purkinje (1787-1869) akson ve nöron bağlantılarını göstermiştir. Sinir cerrahisi ile ilgili ilk çalışmalar 1828'de Flourens ile başlamıştır. Schwann, 1839'da kendi adı ile anılan hücreleri tanımlamıştır. Waller, 1850'de kendi adı ile anılan, yaralanmış sinirin distalindeki dejenerasyon fenomenini ortaya koymuştur ve bu fenomen sinir yaralanmalarını daha iyi anlamamızı sağlamıştır. Hueter, 1873'te epinöral dikiş tekniği ile ilk sinir onarımını yapmış ve bu uzun yıllar standart onarım metodu olmuştur. Hueter aynı zamanda dejenerasyonu takiben sinir lifleri içerisinde aksonların ilerlemesinden söz etmiştir. Hemholtz ve Duchenne sinirlerin elektriksel iletici kapasitelerini ölçmüş ve bunun klinik yansımaları konusunda çalışmalar yapmıştır. Golgi ve Cajal, 1906'da sinir sisteminin yapısını ve sinirlerin fonksiyonel bağlantılarını keşfederek Nobel Tıp Ödülü'nü kazanmışlardır. Hoffman ve Tinel 1915'te rejenere olan sinir duyu alanında parestezi oluşabileceğini bildirmiştir. Erlanger ve Gasser, 1945'te sinir liflerinin fonksiyonları ve elektrofizyolojik özelliklerini ortaya koydukları çalışmaları ile Nobel Tıp Ödülü'nü kazanmışlardır. Bu prensipler doğrultusunda, Larabee ve German'ın elektrofizyolojik çalışmaları rutin klinik uygulamalar arasına girmiştir. Günümüzde uygulanmakta olan sinir cerrahisinin temelleri Seddon tarafından II. Dünya Savaşı yıllarında atılmıştır. İlk defa Ballance tarafından kullanılmış olan sinir greftleri de bu dönemde Seddon tarafından popülerize edilmiştir. Seddon ve Holmes, 1945'te sinir iyileşme hızı üzerine de çalışmalar yapmıştır. Daha sonraki yıllarda Sunderland, Millesi ve Terzis'in sinir hücreleri, Schwann hücrelerinin rolü, sinirin yaralanmaları, aksona ait transport ve aksonal filizlenmeler konusundaki çalışmaları ile periferik sinir cerrahisinde önemli aşamalar kat etmemizi sağlamıştır (1,2,3).

Periferik sinirlerin morfolojisi

Periferik sinir sistemin yapıtaşını nöron denilen ektodermal kökenli hücreler oluşturmaktadır. Nöronlar akson ve dendrit denilen sitoplazmik uzantıları ile diğer nöronlar ve görev yaptığı son organ arasında fonksiyonel iletişim kurmaktadır. Dendritler sinaptik terminaller oluşturacak şekilde nöron yüzeyini kaplamıştır. Nöronlarda genellikle bir adet akson bulunur. Akson, aksolemma denilen trilaminar bir membran ile sarılıdır. Nöronun çekirdeği, endoplazmik retikulumu ve mitokondrisi dışındaki organelleri aksoplazmada yer alır. Ayrıca aksoplazmada nörotübüller ve mikrofilamanlardan oluşan bir transport sistemi vardır. Transport hem akson distaline (antegrad) hem de nörona doğru (retrograd) yönde gerçekleşmektedir. Nöronlardaki iletinin temelini oluşturan elektriksel aktivite Na-K ATP'az pompaları yardımı ile oluşan bir süreçtir. Bu pompa kapıları aksolemma'nın içi ve dışı arasında elektriksel bir gradient farkı yaratırlar ve sonuçta oluşan aksiyon potansiyeli akson boyunca ilerler. Bu impuls nöronun aksonla birleştiği konik bölgede başlamaktadır. Bu bölge myelinsiz bir bölgedir ve daha fazla Na-K ATP'az pompası içerir (1,4). Periferik sinir sistemi myelinli ve myelinsiz olarak da ikiye ayrılabilir. Myelin akson etrafına sirküler olarak sarılmış olan Schwann hücreleri tarafından oluşturulur. Bu myelin tabakası 1–2 mm ara ile kesintiler yapar. Bu kesintilere Ranvier nodu denilir. Myelinli sinirlerin hızlı ileti yapması Ranvier nodundan kaynaklanan saltatuar depolarizasyon ile oluşmaktadır. Aksiyon potansiyeli myelinli bölgeleri atlayarak bir noddan bir sonraki noda sıçramaktadır. (Şekil 1)



Şekil 1: Normal sinir lifi yapısı ve organizasyonu. (Myckatyn TM, Mackinnon SE. Microsurgical Repair of Peripheral Nerves and Nerve Grafts. Grabb and Smith's Plastic Surgery, Sixth Edition by Charles H. Thorne. S:74, 2007)

Myelinsiz nöronlarda Schwann hücresi çok sayıda nöronu sararken, myelinli sinirlerde tek bir nöron sarılmaktadır. Schwann hücreleri sayısal olarak artmamakla birlikte yaş ile hücre volümü genişlemektedir. Doğumda 0,23 mm olan internodal mesafe yaş ile artıp 1,8 mm ye ulaşabilmektedir. Myelinsiz aksonda ileti hızı 2 – 2,5 m/sn iken myelinli sinirlerde 3 – 150 m/sn dir (5–7).

Akson ve Schwann hücrelerinden oluşan periferik sinir lifleri birleşerek fasikül denilen küçük demetleri oluşturmaktadır. Bu sinir demetleri fibroblast, mast hücreleri, kapiller kan damarları ve kollajenöz ara maddelerden oluşan ve endonörium denilen bir kılıf ile sarılıdır. Endonörium çevreden izole iyonik bir ortam sağlamada önemlidir. Fasiküller perinörium denilen bağ doku ile sarılıdır. Perinörium hem mekanik bariyer hem de elektrolit dengesini sağlayan bir diffüzyon bariyeridir. Kan-beyin bariyeri periferik sinirin spinal korddan ayrıldığı yerden başlayan kan-nöron bariyeri ile devam etmektedir. Bu oluşumu distalde perinörium ve endotel tabakası yapar. Görevi nöral

beslenmeyi sürdürecektir mikroçevreyi oluşturmaktır (8–10). Epinörium ise fasiküllere hareketlerinde ve dış travmalara karşı destek görevi olan koruyucu bir bağ dokudur. İç ve dış olarak iki katmanı vardır. İç katman daha çok perinöral aralıklara septalarla tutunarak stabilizasyonu sağlarken, dış katman yoğun bağ dokusu ile koruyucu kılıfı oluşturmaktadır (11,13). Tüm bu yapıların oluşumunda Schwann hücreleri tarafından salınan “Desert Hedgehog” (dhh) molekülleri kilit fonksiyon göstermektedir. Çevre bağ dokuları tarafından dhh moleküllerinin algılanmasını takiben sinir liflerinin sarılması ile oluşmaktadır. Bir sinirin kesit alanının %25–85 kadar kısmı bağ dokudan oluşmaktadır (14–18). Mezonörium artık birçok Araştırmacı tarafından da kabul gören en dış katmanı oluşturmaktadır. Mezonörium, perinöral vasküler pleksusu taşımaktadır ve sinir fasikülünün hareketle sürtünmeden zarar görmesini engellemektedir. Periferik sinirlerin beslenme paterni Bridenbach ve Terzis tarafında araştırılmıştır. Bu çalışmada periferik sinirler, dominant pedikülün tek olması, olmaması veya çok sayıda olmasına göre sınıflandırılmıştır (19). Bu vasküler pediküller mezonörium içinde seyrederek ve valv benzeri yapılar taşırlar. Kan akımı bu damarlardan vazo nervorumlara akmaktadır (20).

Sinirdeki fasikül sayısı, sinir boyunca ve bireysel olarak farklılıklar göstermektedir ve birbirleriyle bağlantılar kurarak intranöral pleksuslar oluşturmaktadırlar (21,22). Duyu sinirleri özelleşmiş duyu reseptörlerinde, motor sinirler ise motor son plaklarda sonlanmaktadırlar. Sherington bir sinir lifi ve innerve ettiği kas lifi grubunu motor ünite olarak tanımlamıştır. Burada sözü edilen alfa motor siniri olup her bir sinir lifi için 10–1000 arası ektrafuzal kas lifi düşmektedir. Aralığın bu kadar geniş olması kas grubunun görev ve uyarılara yanıt verme hızına bağlıdır (1,2,3). Myelinli alfa motor nöronları kasa girdiği lokalizasyonda motor ünitenin fonksiyon özelliğine göre çok sayıda dala ayrılır. İntramüsküler dallanmadan sonra sinir lifleri myelinsizdir. Bununla birlikte Schwann hücreleri, akson uçlarını çevre bağ dokudan ayırmaya devam etmektedir. Akson terminalinde, aksosoma ile sarkosoma arasında 200–500 Å alanda sinaptik boşluk denilen bölgeler oluşturmaktadır. Bu terminal uçlar çok sayıda asetilkolin vezikülleri ve mitokondriler içermektedir. Bu motor son plaklar, aksonda oluşan depolarizasyonun kasa iletildiği fonksiyonel ünitelerdir (1,4,21,23,24).

Periferik sinir yaralanmaları ve rejenerasyonu

Sinir rejenerasyonunun başarısı, henüz kısmen tanımlanmış olan nörotrofik faktörler ve nöral mikroçevre ile ilişkili karmaşık bir sürece bağlıdır (23,25). Bu süreç aksonal filizlenme, büyüme, uygun hedef hücrelerin yeniden innervasyonu ve rejeneratif liflerin santral sinir sistemi ile entegrasyonunu içermektedir. Eğer uygun sayıda lif uygun hedeflere uygun zamanda ulaşırsa fonksiyonel iyileşme oluşmaktadır (26,27). Aksonal yaralanmayı takiben yaralanmanın proksimalinde ve distalinde farklı olaylar gözlenmektedir. Total keskiye uğrayan (transseksiyon) bir aksonun proksimal segmentinde, öncelikle birkaç Ranvier nodu kadar retraksiyon gerçekleşmektedir. Bu mesafe yaklaşık 1–3 mm. kadardır. Lezyonun proksimalinde, bir veya birkaç internodül segment boyunca Schwann hücrelerinin bazal lamina ve endonöral bağ dokusundan oluşan endonöral tüp boş bir silindir şeklinde kalarak akson kollabe olmaktadır. Bu olayda Ca^{++} iyonu rol oynar ve büyüme konisi oluşumunda önemlidir. Sinir yaralanması sonucu, aksoplazmik hacimde belirgin bir kayıp olurken hücre gövdesi bu kaybı karşılamak için hazırlık yapmaktadır. Hücre şişerken, çekirdek hücre periferine doğru hareket eder ve sitoplazmada bazofilik materyal kaybı gözlenir (28–31). Lezyonun ciddiyeti ve özelliğine bağlı olarak belirli bir gecikme dönemini takiben her proksimal güdük distale doğru ilerleyen terminal ve kollateral dallanmalar yapmaktadır. Kollateral dallanma aksonların sağlam olduğu Ranvier düğümünün proksimalinden başlamaktadır ve tüp boyunca bazal lamina'nın iç yüzeyince ilerlemektedir. Yaralanan aksonların proksimal uç kısımlarında bulunan büyüme konisi, sinir güdüklerinin büyümesinde yön ve oryantasyonu sağlanmaktadır. Etrafa yayılan çok sayıdaki yeni akson filizlerinden doğru periferik bağlantılar yapabilenler olgunlaşırken, distalde bir sinir veya kas dokusu gibi bir hedef organa ulaşamayanlar rezorbe olmaktadır (32). Sinir hücrelerinin gövdesinde bulunan Nissle cisimleri denilen yapılarda kromotolizis, sinir hücrelerinin çekirdeğinde kayma ve nükleer genişleme oluşmaktadır. Bu değişikliklerin uzaması ile sinir hücrelerinin yaşam süresi arasında yakın ilişki vardır. Dorsal kök ganglionlarında aksonlarda transeksiyonu takiben %50'sinde hızlı bir kayıp görülür. Transseksiyonu takiben sinir hücresi ölümü en erken duyu sinirlerinde olur ve ilk 24 saatte gerçekleşmektedir (33,44).

Yaralanmanın distalindeki aksonlarda proteolitik bir süreç olan Wallerian dejenerasyonu gelişmektedir (35,36). Bu sırada distal uç hızla kollabe olmaktadır. Bu dejenerasyon proliferatif olan Schwann hücreleri ve yaralanma bölgesine göç eden makrofajların akson artıklarını sindirmesi ile devam etmektedir (37,38). Schwann

hücreyi yaralanmanın erken evresinde proliferasyon olmaktadır ve myelinizasyon olmayan Schwann hücrelerinde bu olay daha hızlı gerçekleşmektedir (39,40).

Aksoplazmadaki Ca^{++} bağımlı enzimler ile mikrotübül ve nörofilamanlar parçalanmaktadır. Yaralanma bölgesine gelen makrofajlar ve Schwann hücreleri tarafından fagositosis edilmektedirler. Wallerian dejenerasyonunun hücresel kanıtları nöral reaksiyonlar, Schwann hücreyi cevabı ve hematogenik infiltrasyonlar olarak alt gruplara bölünebilmektedir (41). Aksonal devamlılığın bozulması ile birlikte retrograd sinyallerin indüklediği bir gen transformasyonu başlamaktadır. Hücre fizyolojisi büyüme moduna geçmektedir. Schwann hücreleri tarafından salınan spesifik yüzey molekülleri bazal membran boyunca dizilerek Büngner bantları denilen yapıları oluşturmaktadırlar (33,42). Buradaki bazal membranın ana yapısını, Schwann hücrelerinin ürettiği tip IV kollajen ve laminin oluşturmaktadır (43). Makrofajlar ve nöral temasın kurulmaması Schwann hücrelerini indüklemektedir. Makrofajlar interlökin-1'i arttırmaktadır ve bu mediatör de Schwann hücrelerinde NGF transkripsiyonunu ve reseptör yoğunluğunu arttırmaktadır (44,45). Periferik sinir gövdesinden en erken salınmaya başlayan ve uzun süre salınan modülatör faktör c-Jun geni tarafından ekspresyon edilir (46). Bunu takiben distalde Schwann hücreleri tarafından "akson ilişkili nörogulin" ailesinden GGF, erb-B2 ve erb-B3 reseptörleri üretilir ve bazal membranda ekspresyon edilir (47). Kronik denervasyonlarda erb-B ve daha az afiniteye sahip olan p75 reseptörlerinin sentezinde azalma olmaktadır. Büngner bantlarının yoğunluğunun azalmasının nedeni bu reseptörün sentezindeki azalmadır (48,49). Bunun yanında Schwann hücrelerinin inhibisyon aktivitesine sahip olan kondroitin sülfat gibi ekstraselüler matriks komponentlerini de sentezlediği görülmüştür (50). Sonuç olarak distal mikroçevrenin sinir iyileşmesine net yanıtı bu antagonistik etkiler arasındaki dengeye bağlıdır (51–53).

Belirgin morfolojik değişiklikler ve myelinin yok olması esas olarak ilk hafta içerisinde olur. Schwann hücrelerinin mitotik aktiviteleri artar ve hızla proliferasyon olurlar. Schwann hücrelerinde meydana gelen gen ekspresyonları, iyileşmekte olan sinir dokusuna kalıp görevi görecektir fenotipik bir değişim ortaya çıkarmaktadır (54,55). Bununla birlikte aksonal kontakt kurulmaması durumunda bu büyüme desteği kalıcı olmamaktadır (56–58). Aksonal kontakın kurulması sonrasında myelinizasyonun da dahil olduğu bir fenotipik değişim tekrar gerçekleşmektedir (55,59). Myelinli sinirlerde Schwann hücreleri bir veya birkaç aksonal filizi sarmaya başlar. Buna rejenerasyon ünitesi denir. Myelinizasyon sürecinin tamamlanması, aksonun tek bir Schwann

hücreleri ile sarılması anlamına gelmektedir. Oysa myelinsiz sinirlerde birçok akson tek bir Schwann hücreleri tarafından sarılmaktadır (60). Schwann hücreleri, Schwann prekürsör hücrelerinin tersine akson bağımlı değildirler ve sinir yaralanmalarının distalinde kalan Schwann hücreleri ölmemektedir. İnvitro çalışmalarda da bu görülmüştür (61). Schwann hücrelerinde canlılığın sürmesi otokrin etkili olarak yaşamsal geri besleme yapması ile ilgilidir. Bu olayda IGF-2, PDGF-BB ve NT-3 moleküllerinin öncelikli rol oynadığı görülmüştür (62). Schwann hücreleri sayısı, yaralanmanın 3. gününde en yüksek seviyeye ulaşmaktadır ve reinnervasyon sağlanamaz ise haftalar içinde azalma gösterir. Schwann hücrelerindeki bu aktivite artışı 6. ayda bazal seviye inmektedir. Bu nedenle 6-12 ay aralığında yapılan gecikmiş sinir onarımlarında akson sayısı erken dönem onarımlarına oranla 3 kat daha azdır (63). Schwann hücrelerinin bu çatı fonksiyonundaki en önemli destek yapı bazal laminasıdır (64). Yaralanmanın proksimal ucundan yeni gelişen aksonların, distalde Schwann hücrelerinin oluşturduğu çatıya ulaşarak kontakt kurmaları, Schwann hücreleri ilişkili moleküller olan L-1 ve N-CAM aracılığı ile olmaktadır. Bu olay NGF, BDNF ve NT-3 trofik faktörleri tarafından da düzenlenmektedir (65,66). Dejenerasyonun 4. gününde distal segmentte nöral ileti tamamen kaybolmuştur (67). Erişkinlerde nöral canlılık, silier nörotrofik faktör ve lösemi inhibitör faktör gibi uyarıcılar sayesinde devam etmektedir. Bu faktörler sadece parakrin etkili olmayıp direkt Schwann hücreleri ve nöronlar arasındaki iletişimde rol oynamaktadır (68-70). Yaralanmayı takiben motor son organda da dejenerasyon gerçekleşmektedir. Sinaptik yarıklar bir yıl kadar varlığını sürdürürken kaslarda stria bozulması 3. ayda saptanabilmektedir. Reinnervasyona yanıt en geç 12-18. aylarda görülebilmektedir (31, 71-73).

Sinir iyileşmesini daha iyi anlaşılabilmesi için birçok deneysel konduit çalışmaları yapılmış, onarım bölgesinde çok çeşitli hücrelerin, büyüme ve yaralanma faktörlerinin kümelenmediği gösterilmiştir (74-76). Sinir yaralanmasının olduğu bölgede fibrin matriks oluşmaktadır ve bu matriks içerisinde makrofajlar gelişmektedir (77,78). Bu matriksin boyutları transeksiyona uğrayan uçlar arasındaki gap (aralık) ile ilişkilidir. Daha sonra bu matriks endotel hücreleri, kan damarları, bölgeye ilerleyen Schwann hücreleri ve son olarak da filizlenen akson tarafından invaze edilir. Yaralı akson proksimalinden sayısız filizlenmeler çıkmaktadır ve bu filizlenmelerin uçları genişleyerek büyüme konisini oluşturmaktadır (77,79). Yaralanma bölgesine en yakın proksimal intakt Ranvier nodlarının herbirinden 50-100 kadar filizlenme olmaktadır

(33,80). Fibrin matriksin de içinde bulunduğu mikroçevrede Schwann ve nöron hücreleri için biyokimyasal olarak çekici ve itici olan faktörler vardır. Bunlar genel olarak nörotrofik faktörler olarak adlandırılmaktadır. Nörotropizm Ramon y Cajal tarafından tanımlanmıştır (79). Kuffler, bir büyüme konisi için en çekici hedef organın distaldeki aksonun ucu olduğunu göstermiştir. Bunun nedenleri distal uçtan serbestlenen nörotrofik faktörler ve Schwann hücrelerinin migrasyonudur (81,82). Proksimal filizlenme distal uç ile bağlantılarını kurduktan sonra son organın innervasyonunu takiben Schwann hücreleri tarafından Ranvier junctional nodları (bileşke nodları) ve internodal (nodlararası) Schmidt-Lanterman yarıkları şekillenmektedir (83).

Bazı araştırmacılar tarafından Schwann hücreleri için topografik spesifisiteden söz edilmektedir. Politis ve ark. proksimaldeki kesik peroneal sinirden gelişen yeni aksonların, distalde tibial sinir yerine yine peroneal siniri tercih ettiği göstererek topografik spesifiteyi vurgulamıştır (84). Bununla birlikte başka çalışmacılar tarafından topografik spesifitenin her zaman gözlenmediği gösterilmiştir (85).

Motor aksonların duyu aksonları yerine yine motor aksonlara yöneldiği gösterilmiş bir diğer çalışmadır. Brushart ve birçok çalışmacı bu tropizmin distalde bulunan L2/HNK-1 gibi güçlü moleküllerce gerçekleştiğini göstermiştir. Yine bu moleküllerin distalde Schwann hücreleri ve denerve kas fibrilleri tarafından eksprese edildiği vurgulanmıştır (86-89). Son organ spesifitesi denildiğinde distalde akson yönelimi organize eden reseptör veya organ söz konusu olmaktadır (90). Birçok çalışmanın sonuçları, aksonların gerek iyileşmelerini gerekse nörotropizminin invivo ve invitro olarak stimüle edilebileceği yönündedir (91-93)

Duyu sinirlerinin yaralanmayı takiben apoptozise uğrama eğilimleri motor sinirlerden fazladır ve bu duyu sinirlerinde iyileşmeyi güçleştirmektedir (33). Duyu son organlardan biri olan, basınca duyarlı pacinian cisimciği dışındakilerde reinnervasyon kapasitesi mevcuttur. Duyu son organlardan fonksiyonel geri dönüş ilk olarak meissner korpüskülünde görülür (94-96).

Sinir yaralanmalarının klinik sınıflandırılması 1943'te Seddon tarafından nöropraksi, aksonotmesis ve nörotmesis olarak yapılırken, Sunderland 1951'de 5 dereceli sinir hasarı tariflemiştir. Mackinnon 1989'da Sunderland'ın sınıflamasına 6. derece yaralanmayı da ekleyerek sınıflamayı genişletmiştir (97-99).

Mackinnon'un önerdiği Sunderland'in modifiye edilmiş sinir yaralanması sınıflaması;

1. derece yaralanma (nöropraksi): Endonöral ve perinöral ödem ve bu bölgelerde demyelinizasyon mevcuttur. Tinel işareti pozitiftir. İyileşme birkaç gün ile 12 hafta arasında gerçekleşmektedir.

2. derece yaralanma (aksonotmesis): Aksonal hasar mevcut olup Wallerian dejenerasyonu gözlenir. Endonörium ve üzerindeki yapılar intaktır. Tinel işareti mevcut olup yaralanma boyuna göre, 1–3 mm/gün hızla akson ilerlemesini takiben iyileşme gözlenir.

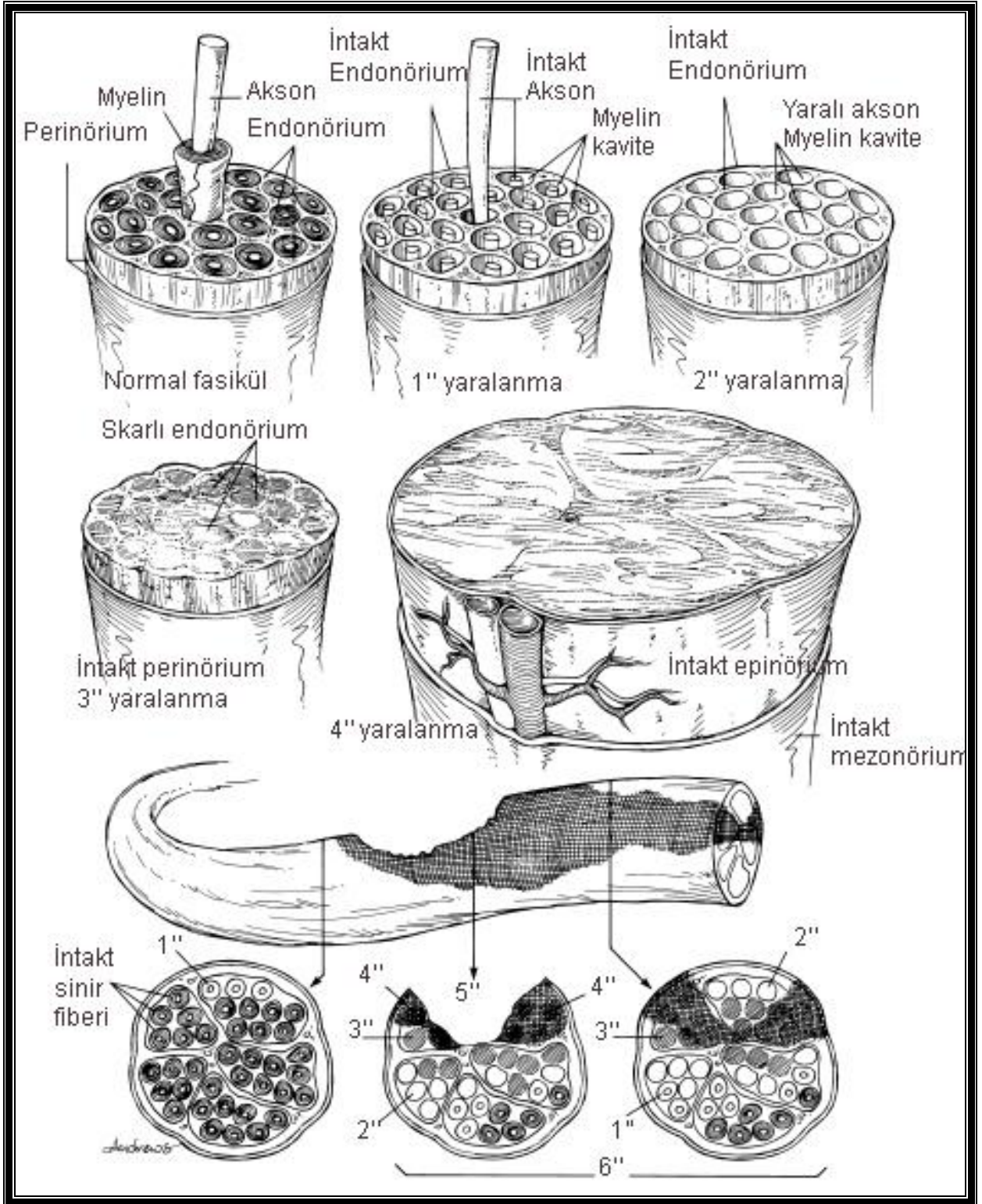
3. derece yaralanma (aksonotmesis): Akson ve endonöral kılıf hasarlıdır. Schwann bazal membran yaralanmıştır. Tinel işareti mevcut olup iyileşme süreci daha yavaştır.

4. derece yaralanma (anatomik devamlılıkla nörotmesis): Subepinöral tüm katmanla yaralanmıştır. Tinel işareti alınabilir fakat progresyonu kötüdür.

5. derece yaralanma (anatomik devamlılık olmaksızın nörotmesis): komplet sinir kesisidir. Tinel işareti yoktur.

6. derece yaralanma (miks yaralanma / neuroma in continuity): Değişik derecelerde kombine yaralanmalardır. Tedavisinde ileri mikrocerrahi yöntemler gerekmektedir.

(Şekil 2)



Şekil 2: Mackinnon tarafından önerilen sinir hasarlanmasına ilişkin sınıflamanın şematik gösterimi. (Myckatyn TM, Mackinnon SE. Microsurgical Repair of Peripheral Nerves and Nerve Grafts. Grabb and Smith's Plastic Surgery, Sixth Edition by Charles H. Thorne. S:75, 2007)

Periferik sinir cerrahisi

Hueter ilk olarak 1873'te epinöral dikiş tekniği ile uç-uca koaptasyonu sağlamıştır ve bu teknik uzun yıllar boyunca standart onarım yöntemi olmuştur. Langley ve Hashimoto tarafından, 1917'de önerilen perinöral ve fasiküler onarım yöntemlerinin ilk denemeleri başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Bu durum intranöral topografyanın daha iyi anlaşılmasına kadar devam etmiştir (1,100). Günümüzde epinöral dikiş mi, fasiküler onarım mı daha başarılıdır tartışması hala netlik kazanmamıştır. Prospektif çalışmalar yeterli sayıda değildir. Epinöral onarım ile fasiküler onarım arasında anlamlı fark bulunmadığını belirten çalışmalar mevcuttur (101). İntraoperatif elektrofizyolojik yöntemlerle fasiküler oryantasyonu başarılı olarak sağlayan bir grup %92 doğrulukla fasiküller onarım yapılabildiğini ve %78 oranında motor fonksiyon kazanımı elde edebildiklerini ifade etmiştir (102). Bazı araştırmacılar intraoperatif olarak fasikül oryantasyonu sağlanabildiği takdirde fasiküler onarımın tercih edilmesi gerektiği belirtilmiştir (104,105). Fasiküller arası oryantasyonu sağlamada intraoperatif olarak kullanılacak elektrofizyolojik yöntemlerin yanında immünohistokimyasal metodlar da mevcuttur (105,106). Fasiküler onarımın tartışılan dezavantajları fazla dikiş kullanımına bağlı olarak daha fazla skar dokusu oluşturması, operasyon süresini uzatması ve yöntemin teknik olarak daha zor olmasıdır (1,100,107). Dikişsiz koaptasyon amacı ile lazer kullanımına ilişkin birçok deneysel çalışma mevcuttur (108,109). Bir diğer çalışmada ise lazer uygulamalarındaki fazla ısının periferik termal hasar yarattığı ortaya konulmuştur (110). Narakas, fibrin glue kullanarak yaptığı brakial pleksus onarımları klasik dikiş tekniklerine oranla başarılı olduğu bildirilmiştir (111).

Hangi yöntem kullanılırsa kullanılsın onarım alanında skar gelişmektedir ve onarımın başarısını olumsuz yönde etkilemektedir. Epinöral skar oluşumu dikiş hattında aksonal büyümeyi engelleyen mekanik bir bariyer etkisi oluştururken, ektranöral skar oluşumu ise sinirlerin komşu dokulara yapışmasına neden olarak sinirin hareket kabiliyetini azaltmakta, sinirin vasküler pedikülünde vazospazma ve traksiyona bağlı yaralanmalara neden olmaktadır. Böylece sinirde iskemik değişiklikler ve geri dönüşümsüz hasarlanmalar oluşmaktadır. Endonörium ve perinöriumda fibroblast aktivitesi sonucu kollajen sentezi olmaktadır. Yeni oluşan endonöral kollajen Schwann hücre bazal laminasının dışındadır ve endonöral tüp kalınlığında artışa neden olur. Eğer reinnervasyon uzarsa kollajen daha yoğun bir hal alır ve endonöral tüp daralır. Skar dokusu oluşumu yara iyileşmesinin bir sürecidir

(112,113). Bu nedenle sinir onarımlarının başarısı erken dönemde onarımlarda daha yüksektir (115–121). Geciken onarımla birlikte son organ denervasyonu da geç yapılan onarımların başarısını düşürmektedir (122–129).

Rejenerasyon ünitesinin distale ilerlemesi kesi alanında geri kalır ve bu da skarda gecikme olarak adlandırılır. Bu süre sıçanlarda 48 saat iken insanlarda birkaç haftaya kadar uzayabilir. Aksonların rejenerasyon hızı türlere bağlı olarak değişir. Kemirgenlerde 2- 3,5 mm/gün iken insanlarda 1–2 mm/gün'dür. Geri dönüşümsüz sinir hasarını engellemek, aksonal rejenerasyonu arttırmak ve yapışıklıkları önlemek amacıyla pek çok yöntem ve madde kullanılmıştır. Onarım tekniklerinin gelişmesi, yapışıklık oluşumunu azaltabilse de tamamen ortadan kaldıramamıştır (21,22,114).

Günümüzde sinir onarımlarına yönelik birçok çalışma devam etmekle birlikte sinir onarımında temel prensipler ortaya konulmuştur:

- Preoperatif dönemde, motor ve duyu muayene sonuçlarının sayısal veriler olarak kaydedilmesi
- Uygun mikroskop ve mikrocerrahi araç gereçlerinin kullanımı
- Yaralanan uçların iyileşmeye izin verecek şekilde yeterli debridmanın yapılması
- Gerim olmaksızın onarım yapılması
- Mümkün ise primer onarım yapılması
- Gerimi azaltmak için postöral manevralar kullanılmaması. Bu manevralar dikiş hattında skar depozisyonu olarak geri dönecektir
- İleri derece yaralanmalarda onarımın ertelenmesi
- Güvenlik sınırları dahilinde postoperatif erken hareket ile sinirin kayma hareketi yapması. Bu şekilde erken dönem yapışıklıkları ve buna bağlı sekonder traksiyonlar önlenir
- Yaralanma bölgesinde 2,5 cm den fazla defekt var ise veya gerimsiz onarım mümkün olmayacaksa sinir greftleri kullanılması önerilmektedir. (5,97,130)

Sinir greftleri

Sinir onarımları arasında en iyi yöntem tartışmasız uç-uca koaptasyondur (160). Fakat defektin 2,5 cm üzerinde olduğu yaralanmalarda primer onarım mümkün olamamaktadır ve en kabul gören yöntem otolog sinir grefti uygulamasıdır (130,161). Philipeaux ve Vulpian, 1870'de sinir yaralanmalarında sinir grefti uygulanmasını önermiş ve 1885'te de Albert tarafından ilk başarılı deneysel uygulamalar yayınlanmıştır (162,163). Yüksek enfeksiyon oranları, yetersiz cerrahi teknikler ve sinir anatomisi konusundaki bilgi eksiklikleri nedeni ile I. ve II. Dünya Savaşı yıllarına kadar uygulamalar başarılı olamamış ve yöntem terk edilmiştir (164). Seddon, 1947'de bu yöntemi yeniden popülerize etmiştir (165). Ardından 1950'de Millesi ve arkadaşları sinir onarımında mikrocerrahi yöntemlerini tanımlamıştır (166). Anselin ve Davey, 1988'de sinir greftinin distal-proksimal oryantasyonunun önemsiz olduğunu göstermiştir (167). Sinir defektlerinin onarımında, sinir grefti uygulamaları altın standart olmasına karşın en iyi zamanlama, en iyi yöntemin ne olduğu, hangi mekanizmalarla işlev gördüğü, ne miktarda greftin kullanılabilirliği gibi birçok konu halen netlik kazanmamıştır (168). Motor fonksiyon sahip sinirlerin rejenerasyon kapasitesi sensoriyal fonksiyonu olan sinirlere oranla daha daha iyi olduğu gösterilmiştir (86). Aynı şekilde sinir defektlerinin onarımında duyu sinirlerinin greft olarak kullanımının daha başarılı olduğunu bildiren yayınlar olmasına rağmen genel kanı, motor veya miks sinirlerin greft olarak kullanılması saf duyu sinir greftlerinden daha başarılı olduğudur (87,169–171). Bunun nedenleri, aynı yayınlarda, motor sinirlerin myelinli olması ve schwann hücreleri ile birlikte bazal membranın konduit fonksiyonu göstermesine bağlanmaktadır. Seimionow ve ark. sinir defekti onarımlarında defekten daha küçük çapta ve defekte bulunan fasikül sayısından daha az fasikül kullanılarak daha başarılı sonuçlar alındığını vurgulamıştır(168). Amacı daha az donor saha morbiditesi olan bu çalışmada tek fasikül tekniğini de tanımlamıştır. Tek fasikül tekniğinin iskemi ve ödem eğiliminin daha az olduğu, beslenmesinin daha kolay olduğu düşünülmektedir(168). Sinir greftlerinin diğer konduit seçeneklerine en önemli üstünlüğü sadece bir kalıp olmayıp Bunker bandları aracılığı ile canlı schwann hücrelerinin rejenerasyon olan aksonlara rehberlik yapmasıdır (172). Günümüze kadar birçok araştırmacı sinir greftleri yerine konduit görevi görebilecek değişik sentetik yapılar yada otolog dokular denemişlerdir. Arter, ven, dura, fasya, kas, mezotelyum ve omentum gibi otojen dokular yanında çeşitli sentetik

maddeler kullanılmıştır . Fakat bunlardan hiçbiri yaygınlaşacak kadar talep görememiş ve başarı oranları sinir greftine göre düşük kalmıştır (1,24,25,173).

Uç-yan sinir koaptasyonu

Periferik sinirlerde oluşacak defeklerin primer onarılması her zaman mümkün olmamaktadır. Özellikle yaralanmış olan sinirin proksimal ucunun kullanılamaz halde olduğu durumlarda uç-yan sinir onarım tekniği akılda tutulmalıdır.

Uç-yan sinir onarım fikri ilk olarak 1903' te Ballance ve ark. tarafından ortaya atılmış ve fasiyal paralizisi olan bir olguda uygulanmıştır (131). Sonraki 90 yıl boyunca kabul görmeyen yöntem 1992'de Viterbo ve ark. tarafından tekrar tanıtılmış ve popülerize edilmiştir. Viterbo sıçanların peroneal sinirlerinde transseksiyon yaptıktan sonra distal ucu tibial sinire uç-yan koaptasyon yapmıştır. Denek grubunun %90'nında kaslarda reinnervasyonu göstermiştir (132,133). Bu çalışma, epinöral pencerenin açıldığı ve açılmadığı şeklinde iki ayrı model ile yapılmıştır. Sonucunda epinöral pencerenin açılmasının nöral filizlenmeyi arttırarak koaptasyonun başarısını olumlu yönde etkilediği göstermiştir. Viterbo tarafından bu yöntem klinikte fasiyal paralizili olgularda çapraz yüz (cross-face) operasyonu yaparken kullanılmış ve başarılı klinik sonuçlar alınmıştır (134). Yine Viterbo ve ark. tarafından intakt tibial sinir ile proksimali transekte edilmiş olan peroneal sinir arasına köprü olarak sinir grefti konmuş ve anterior tibial kasa köprü üzerinden iletinin gerçekleştiği gösterilmiştir (135). (Şekil 3)

Al Qattan ve ark. uç-yan sinir greftlemelerinde epinöral pencereyi atravmatik yöntemlerle açmışlar ve aksonal ilerlemenin oluşmadığını ortaya koymuşlardır. Bununla birlikte olumlu sonuç alan çalışmacıların en azından dikiş hattında veya epinöral pencere açılırken aksonların travmatize edildiğini ve uç-yan onarım hattından geçen aksonların bu yaralanma bölgesinden doğduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada perinöral onarım uygulanan grupta %50 aksonal ilerleme gözlenmiştir (60). Lundborg ve ark. distal sinir segmentinde akson nöroflamanlarını immünohistokimyasal olarak boyamış ve Viterbo'nun çalışmalarını doğrulamıştır (136). Trasidis ve ark. uç-yan koaptasyonla nörotize ettiği kas dokusuna HRP enjekte ederek bu boyanın koaptasyon yapılan sinir üzerinden retrograd olarak ilerleyerek medulla spinaliste toplandığını göstermiştir (137). Noah ve ark. safen siniri greft olarak siyatik sinir ile obturator sinir arasına proksimali uç-yan olacak şekilde koapte etmiş ve fonksiyonel sonucun başarılı olduğu rapor edilmiştir (138). Terzis ve ark.

uç-yan sinir koaptasyonunda koaptasyon alanına ILGF-II uygulayarak aksonal ilerlemenin arttırılabilineceğini göstermiştir (139). Berteli ve ark. uç-yan koaptasyonu fibrin yapıştırıcı kullanarak uygulamış ve bu tekniği alternatif bir yöntem olarak yayınlamıştır (140).

İki çeşit aksonal filizlenme olmaktadır. Bunlardan birincisi, yaralanan sinirin proksimal ucundan gerçekleşen terminal filizlenme ikincisi ise, yaralanma bölgesinin proksimalinde kalan Ranvier nodundan doğan kollateral filizlenmedir (141–146). Bu süreç distalinde Wallerian dejenerasyonuna uğrayacak olan sinire ait Schwann hücreleri tarafından stimüle edilmektedir (147). Matsumoto ve ark. Y şeklinde silikon tüp kullanarak direkt koaptasyon sağlamaksızın aksonal ilerlemeyi gözlemiştir. Bu çalışmada intakt tibial sinirden peroneal grefte aradaki boşluğa rağmen deneklerin %66'sında filizlerin ilerlediği görülmüştür. Bu bulgular distalde Wallerian dejenerasyona uğrayan peroneal sinirde bulunan Schwann hücrelerin proksimaldeki sinirden filizlenmeyi sağladığını düşündürmektedir (148). Lundborg da benzer şekilde kollateral filizlenmeyi incelemiş ve bunun denerve sinirden salınan nörotrofik faktörlerce modüle edildiğini belirtmiştir (136). Aksonal filizlenmede fibrillerin pencere açmaksızın epinörium, perinöriumu ve endonöriumu perfore edebildiği fakat Schwann hücrelerinin bunu başaramadığı önce Viterbo daha sonraları da Zhao tarafından bildirilmiştir (132–134,149). Fakat bu koaptasyonların başarısının pencere oluşturulan modellere göre yetersiz kaldığı da aynı yayınlarda söz edilmektedir. Noah ve ark. epinörium ve perinöriumun uç-yan koaptasyondaki önemini araştırmıştır. Bu çalışmada gruplar intakt sinirde epinöral ve perinöral pencere yok; epinöral pencere var perinörium intakt; hem perinöral hem de epinöral pencere var; perinöral ve epinöral pencere ile birlikte parsiyel nörektomi şeklinde planlanmıştır. Sonuçta epinöral ve perinöral pencerelerin birlikte olduğu gruplarda akson değerleri anlamlı olarak yüksek olduğu bildirilmiştir (150). Periferal sinirlerin epinöriumu ve perinöriumunun rejenere olan akson için bariyer olduğu gözlenmektedir. Bu konuların yüksek primatlarda ve uzun süreli takip gerektiren çalışmalar ile değerlendirilmesi gerekmektedir (151). Caderna ve ark. uç yan onarım sonrası verici sinirin innerve ettiği kaslardaki değişimleri değerlendirmiştir. Sonuçlarında ilk iki hafta içinde, sadece elektrofizyolojik yöntemlerle tespit edilebilen kas aktivite değişiklikleri gözlemlemiştir. Bu sonuçları onarım sahasındaki aksonal hasarlanma ile ilişkilendirmiştir ve herhangi bir fonksiyonel kayıp yaratmadığını bildirmiştir. Altıncı

aydaki geç dönem sonuçlarında kontrol grubundan herhangi bir farklılık gözlenmemiştir (152).

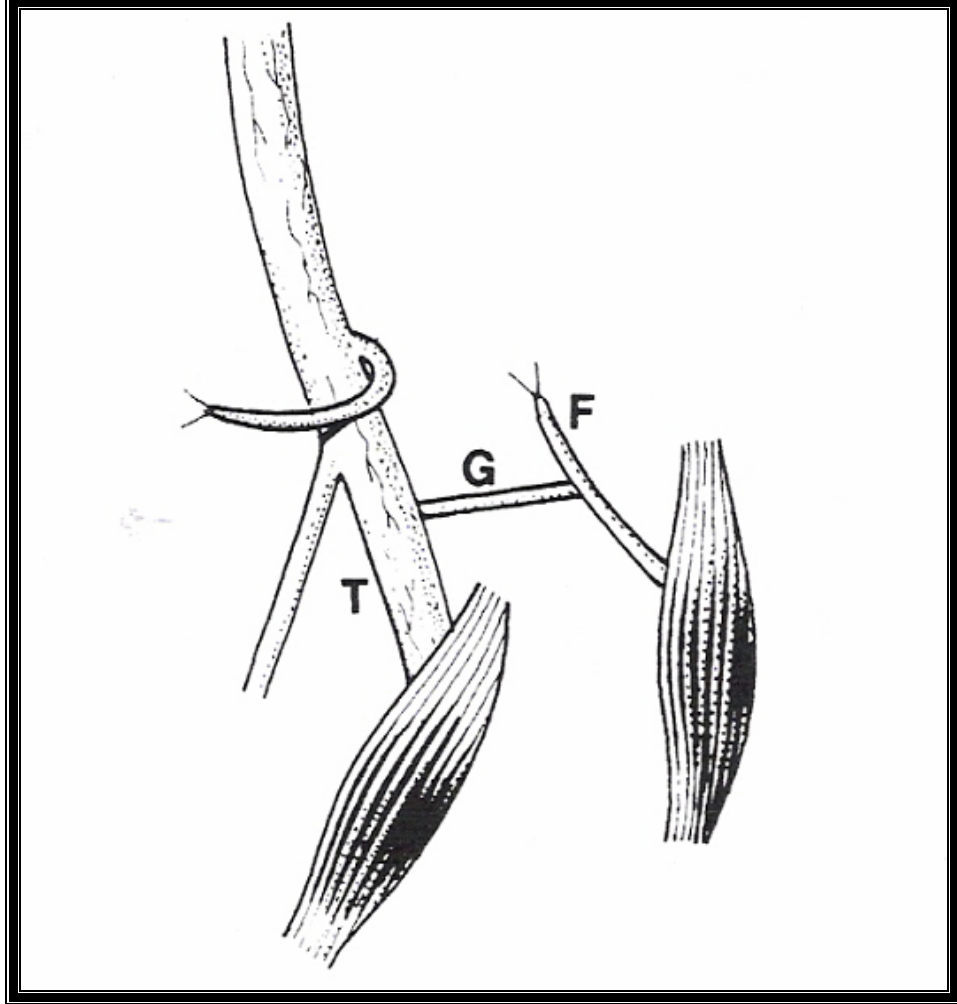
Ters uç-yan sinir koaptasyonu

Klasik uç-yan sinir koaptasyonunda yaralanmış sinirin distal ucu intakt donör sinirin gövdesine koaptasyonu sağlanmıştır. Oysa ters uç-yan koaptasyonda intakt sinir transeksiyonu yapıldıktan sonra yaralanmış bir sinirin yan duvarına koaptasyon yapılmaktadır. Ters uç-yan koaptasyon terminolojisi ilk olarak Isaacs ve ark. tarafından ortaya konulmuştur. Isaacs ve ark. tarafından sıçan tibial sinir proksimalini kestikten sonra, daha önce kesmiş olduğu peroneal sinirin gövdesinin yan duvarında perinöral pencere açarak koaptasyonu sağlanmıştır. Bu çalışmanın sonucunda fonksiyonel olarak primer onarılmış peroneal sinir hasarından farksız sonuçlar elde etmişlerdir (153).

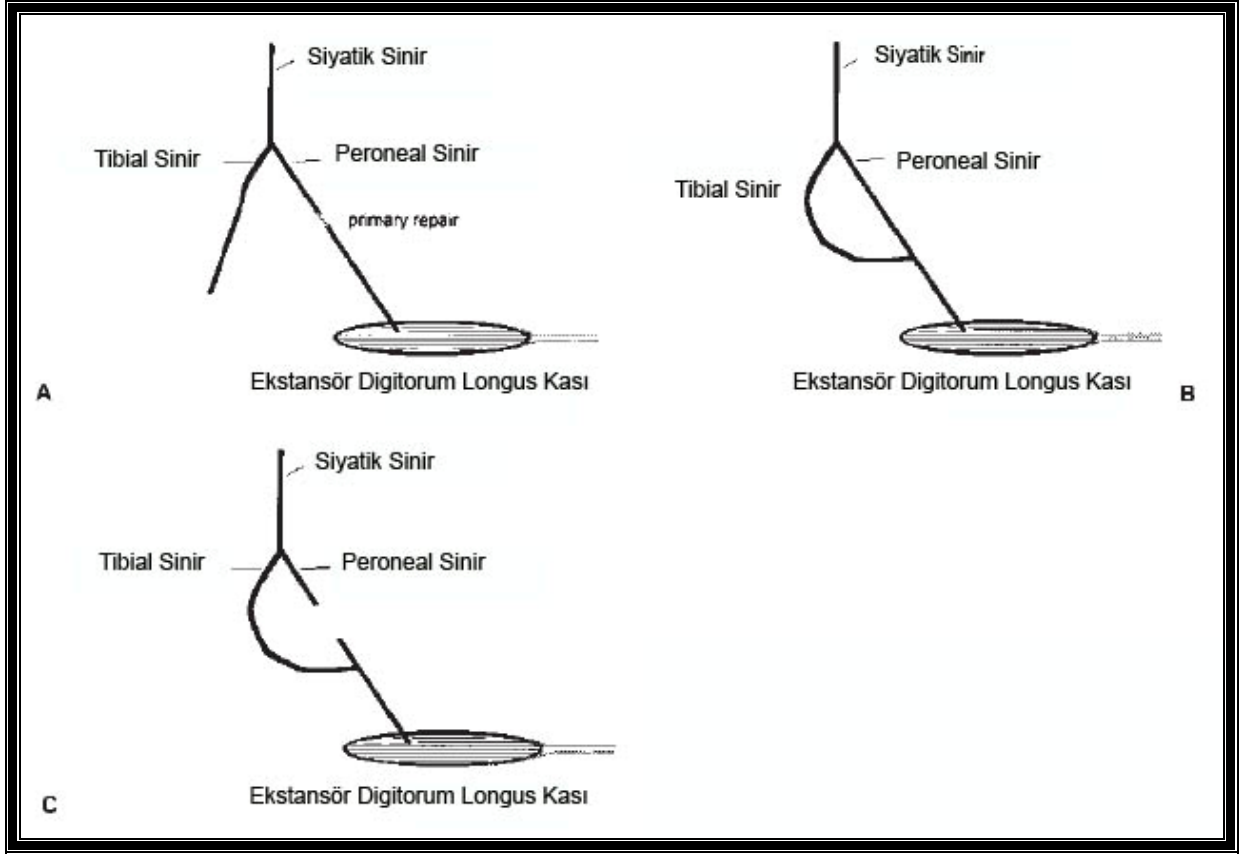
Viterbo ve ark. tarafından intakt tibial sinir ile proksimali kesilmiş olan peroneal sinir arasına köprü olarak sinir grefti konmuş ve anterior tibial kasa köprü üzerinden aksonların ilerlediği gösterilmiştir. Viterbo bu çalışmasını “iki uç-yan nörorafi “ olarak adlandırmıştır. Bu çalışmada gözlenen greftten peroneal sinire olan aksonal ilerleme Isaac ve ark. tanımladığı ters uç-yan koaptasyondur (135). (Şekil 3)

Şekil 3’te gösterilen şemada köprü greftinin (G ile gösterilen), tibial sinir (T) ile olan koaptasyonu klasik olarak tanımlanan uç-yan koaptasyondur. Sinir greftinin diğer ucunda peroneal sinir ile olan koaptasyon daha sonra Isaacs tarafından ters uç-yan onarım olarak adlandırılacak olsa da, Viterbo sadece “ iki uç-yan onarım “ olarak söz etmiştir. Viterbo’nun bu çalışmasından esinlenen Isaacs ve ark. sinir grefti ile peroneal sinir arasındaki koaptasyonun farklı bir onarım yöntemi olduğunu ve “ters uç-yan onarım” olarak adlandırılması gerektiğini söylemiştir. (Şekil 4) Bu çalışmada, ters uç-yan onarım tekniğinin kullanıldığı Grup C’nin kontrol grubundan fonksiyonel bir farklı olmadığı gösterilmiştir. Isaacs onarım Grup C’de onarım hattının her iki tarafına doğru immatür aksonların bulunduğunu belirtmesine rağmen, çalışmanın kurgusu sadece ekstansör digitorum longus kasının fonksiyonel değerlendirilmesi ve koaptasyon sahasının distalindeki sinirin histomorfometrik değerlendirilmesi üzerine planlanmıştır. Onarımın proksimalinde kalan sinir güdüğündeki değişiklikler çalışmanın hedefleri arasına alınmamıştır.

Yine Viterbo'nun Şekil 3'te gösterilen sinir grefti uygulamasında da "F" ile gösterilen peroneal sinirin bağlı tarafına doğru olan akson ilerlemelerinden söz edilmemiştir.



Şekil 3: Cerrahi prosedür. F: peroneal sinir, G: sinir grefti, T: tibial sinir. (Viterbo JC, Hoshino TK, Mazzoni A. Two end-to-side neurorrhaphies and nerve graft with removal of epineural sheet: experimental study in rats. Brit J Plast Surg 1994;47:75-80)

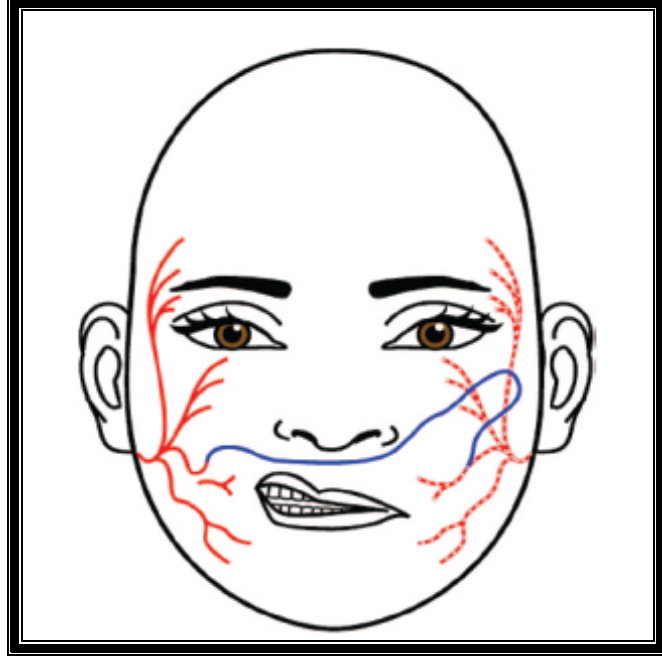


Şekil 4: Isaacs ve ark. tarafından “ Ters uç-yan nörotizasyon” adlı makalelerinde uyguladıkları cerrahi prosedürün şematik gösterimi. (Isaacs J, et al. Reverse End-to-Side Neurotization. Journal of Reconstructive Microsurgery, Volume 21, Number 1, 2005)

Birçok çalışmacı, nöromanın cerrahi tedavisinde nöromayı bypass edecek bir sinir grefti kullanmayı fonksiyonel morbiditeyi en aza indiren yöntem olarak önermektedirler (154–158). Bu prosedürlerde distaldeki koaptasyon teknik olarak ters uç-yan koaptasyon olduğu vurgulanmamıştır. Ayrıca bu koaptasyon tekniğinin histomorfometrik ve fonksiyonel değerlendirmesi amacı ile herhangi bir çalışma yapılmamıştır.

Benzer şekilde, Frey ve ark. tarafından tek tarafı inkomplet fasiyal paralizisi olan olgularda fonksiyonel iyileştirme (augmentasyon) amacıyla karşı taraftan sural sinir grefti ile karşı yüz operasyonu (cross face) yapılmıştır. Tek seansta yapılan operasyonda, alına sural sinir grefti sağlıklı tarafta skarifiye edilen bir fasiyal sinir dalına uç-uca koaptasyon sağlanırken, karşı tarafta fonksiyonel olarak zayıf olduğu tespit edilen fasiyal sinir dalına açılan epinöral pencere aracılığı ile koaptasyonu sağlanmıştır (159). (Şekil 5)

Frey ve ark. olguların sol taraflarında yaptıkları koaptasyonu “distal uç-yan nörorafi” olarak adlandırmaktadırlar. Teknik olarak bu yöntem daha önce Isaacs ve ark. tarafından yayınlanan çalışmadaki gruptan, Grup B’de ki deneysel model ile uyuşmaktadır (153). Her iki uygulamadaki tek fark, Frey ve ark. tarafından cerrahi uygulanan olgularda alıcı sinir fonksiyonel olarak parezi gelişmiş sinirlerdir.



Şekil 5: Frey ve ark. tarafından, fasiyal paralizili olgularda, sinirin fonksiyonel kapasitenin artırılması amacı ile yapılan cerrahi işlemin şematik gösterimi. (Frey M, et al. Functional Upgrading of Partially Recovered Facial Palsy by Cross-Face Nerve Grafting with Distal End-to-Side Neurorrhaphy. Plast. Reconstr. Surg. 117: 597, 2006)

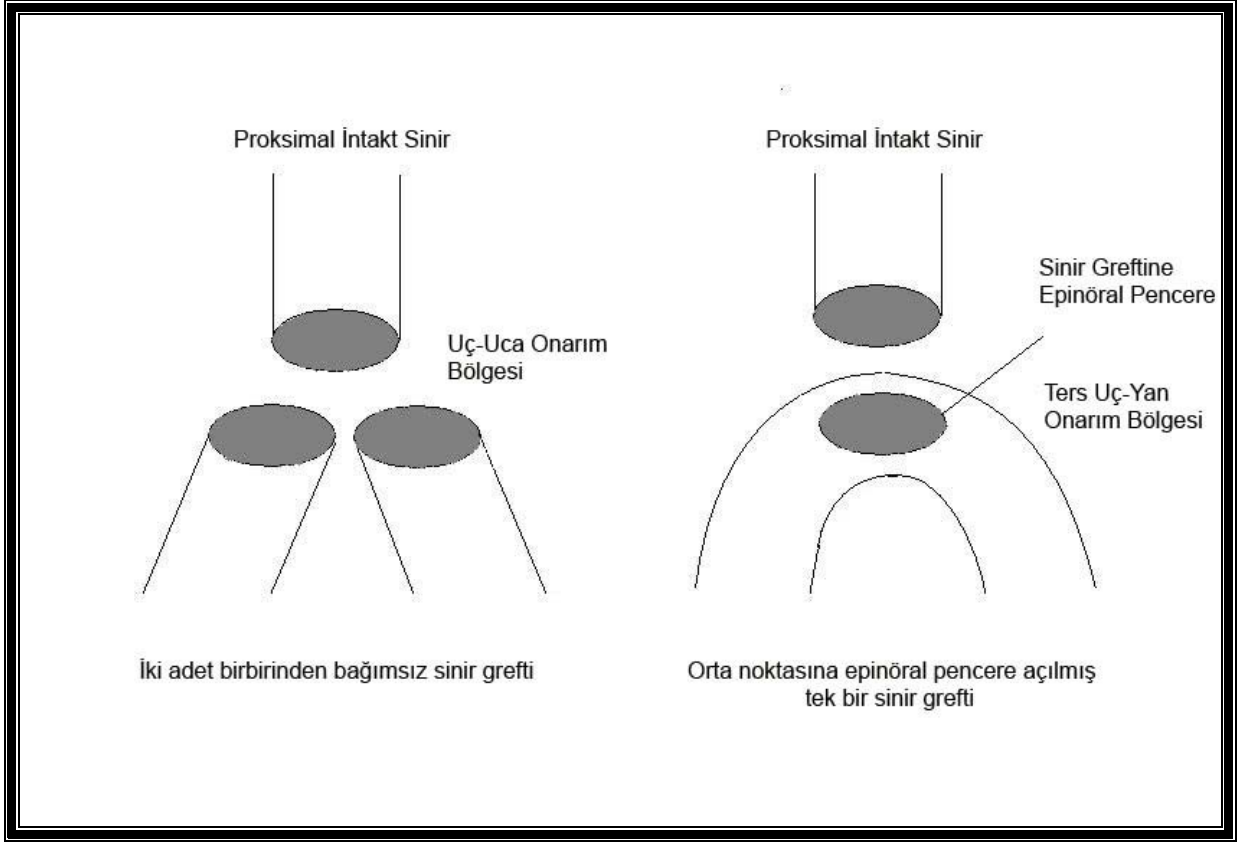
Literatürden de anlaşıldığı üzere ters uç-yan koaptasyon tekniği, henüz terminolojisi oluşturulmadan önce de kullanılmış ve halen değişik terminolojiler altında kullanılmaya devam edilmektedir.

Amaç

Günümüze kadar periferik sinir iyileşmesi ve onarım yöntemleri ile ilişkili birçok yöntem ve kavram geliştirilmiş olup, bunlardan biri olan ters uç yan onarım tekniğinin fonksiyonel özellikleri tam olarak çalışılmamıştır. Ters uç-yan onarımının uygulandığı çalışmalarda, filizlenen aksonların distalde kasa nasıl ulaştığına önem verilmiş fakat filizlenen aksonların proksimale doğru olan ilerlemeleri ihmal edilmiştir. Oysa bu yöntem, daha az intakt sinir harcanarak daha fazla hedef kasın innerve edilmesinin amaçlandığı klinik durumlarda yeni bir çözüm yöntemi olabilecektir.

Klinikte karşılaşılan periferik sinir hasarlanmalarında, bazen yaralanan siniri onaracak bir proksimal uç bulunamayabilir. Aynı zamanda birden fazla hedef kası nörotize etme ihtiyacı duyulabilir. Nörotize etmek istediğimiz her hedef kas için bir intakt sinirin sakrifiye edilmesi pratik bir uygulama olmayacaktır. Ters uç-yan onarım yöntemi kullanılarak, tek bir sinirin sakrifiye edilmesi ile, iki hedef kasın innervasyonu sağlanabilir. Böyle bir yaralanmada, uç-uca onarım yöntemi kullanılması halinde, hedef kasa ait sinirlerin her ikisi tek bir donör sinire kopatasyonu sağlanacak ve bunu takiben skar formasyonu nedeni ile oldukça fazla bir mekanik bariyer oluşacaktır. Çünkü yaralanma bölgesinde, proksimaldeki donör sinirin çapı distaldeki her bir sinirin çapı yaklaşık olarak eşittir. Bu nedenle distaldeki iki sinir greftinin transvers yüzey alanlarının toplamı proksimaldeki donör sinirin kesit alanından daha fazla olmaktadır. Bu tarz onarımın sonuçları iki sinir arasında yapılan uç-uca onarım gibi olmayacaktır. Oysa ters uç-yan onarımında bir sinir greftinin orta bölgesine açılacak pencere aracılığı ile herhangi bir çap uyumsuzluğu olmaksızın onarım yapılması mümkündür. Ancak bu şekilde proksimalden gelecek olan yani aksonların tümünü hedefe yönlendirilebilecektir.

(Şekil 6)



Şekil 6: Proksimalde tek bir intakt siniri kullanılarak, distaldeki iki hedef kasın innervasyonu amacı ile yapılan uç-uca koaptasyon ile ters-uç yan koaptasyonun teknik olarak karşılaştırılması. Neden uç-uca koaptasyonda çap uyumsuzluğu olduğu şematik olarak gösterilmektedir.

Ters uç-yan sinir onarımını histomorfometrik ve fonksiyonel olarak değerlendirmek üzere klinikte karşılaşılan problemlerin deneysel bir modelini oluşturduk. Bu model üzerindeki çalışmamızda intakt tek bir motor fasikül ile denerve edilmiş iki hedef kasın innervasyonunu amaçladık.

Bu işlem sırasında klasik uç-uca koaptasyon ile ters uç-yan koaptasyonu karşılaştırabilmek için gruplar oluşturulmuştur.

Ayrıca, ters uç-yan koaptasyonun uygulandığı grupta aksonların sinir grefti içerisinde ilerlerken nörotropizmden nasıl etkilendiğini gösterebilmek amacı ile de çalışmaya ek gruplar eklenmiştir.

Gereç - Yöntem

Çalışmamızda 48 adet 300–350 gr. Wistar cinsi erişkin dişi sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar deney süresince 'Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı Usul Ve İşleyiş Esasları' doğrultusunda D.E.Ü. Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda bakılmıştır.

Sıçan anestezisinde 10 mg/kg xylazine (Alfazine %2 20 mg/ml, Bayer) ve 100 mg/kg ketamin (Ketalar 50 mg/ml, Pfizer) kombinasyonu ile intraperitoneal uygulanarak anestezi sağlanmıştır. Anestezi altında sıçan sırtüstü pozisyonda operasyon masasına yatırılarak tespit edilmiştir. Operasyon alanı traş edilmiştir. Sol tarafta iliak krest posteriorundan femur lateral kondiline kadar cilt insizyonu yapıldıktan sonra, gluteal kas biceps femoris kasından lateral sınırı boyunca, tensor fasya lata kasının posterior sınırından diseke edilerek ayrılmıştır. Diseksiyonun ardından operasyon mikroskobu altında 25x büyütmede siyatik sinir dalları boyunca görülebilir halde ortaya konulmuştur. Siyatik sinirin sural dalı bağlanıp koterize edilerek çalışma dışı bırakılmıştır. Siyatik sinir epinöriumu peroneal sinir fasikülü boyunca diseke edilerek açılarak 2 cm peroneal sinir grefti alınmıştır. Bundan sonraki işlemler gruplara göre ayrılmaktadır.

Tüm sinir koaptasyonları steril şartlarda, operasyon mikroskobu altında 25 büyütmede ve 11–0 polyamide 66 monofilaman dikiş kullanılarak yapılmıştır. yapılmıştır. Deneklere tek doz antibiyotik (alfasilin 100 mg/kg) uygulanmıştır.

Opere edilen tüm sıçanlar 12. haftada aynı yöntemle anestezi uygulandıktan sonra direkt sinir görülerek EMG çalışması yapıldıktan sonra eter fanusunda sakrifiye edilmiştir. Operasyon bölgesinde enfeksiyon, otomutilasyon veya doku nekrozu gelişen sıçanlar çalışma dışı bırakılmıştır.

Çalışmanın değerlendirilmesinde fonksiyonel değerlendirmede yürüme analizi, elektrofizyolojik testlerden EMG, histomorfometrik analiz amacı ile de elektron mikroskobisi yapılmıştır.

Yürüme Analizleri

Deneklerin 4., 8. ve 12. haftalarda EMG analizlerinden hemen önce tüm sıçanların yürüme analizleri yapılmıştır. Bu amaçla, 12x25 cm ebatlarında 15 cm yüksekliğinde tabanı cam ile kapalı kutu ve altında 45 derece açı ile aynadan oluşan görüntüleme sistminde sıçanların arka ayakların statik görüntüleri dijital fotoğraf makinası (Canon Powershot A 430) kullanılarak kaydedilmiştir. Görüntüler, bilgisayar

ortamında Image-J v1,37 yazılımı kullanılarak, Bervar tarafından önerilen statik siyatik indeks (SSI) parametreleri ölçülmüştür. Ölçümler SSI formülünde yerine konularak her sıçan için hesaplamalar yapılmıştır. Topuk yarası olan denekler ve parmak pulpaları hesaplanamayacak kadar kapalı kalan denekler hesaplama dışında bırakılmıştır. Değerlendirmede 0 ile (-)100 arası sonuçlar elde edilmiştir. 0 puan normal, (-)100 ise total siyatik sinir hasarı olarak kabul edilmiştir.

$$\text{SSI} = (108,44 \times \text{TSF}) + (31,85 \times \text{ITSF}) - 5,49$$

$$\text{TSF} = (\text{OTS} - \text{NTS}) / \text{NTS}$$

$$\text{ITSF} = (\text{OITS} - \text{NITS}) / \text{NITS}$$

SSI : Statik Siyatik İndeks

TSF: 1. ve 5. parmaklar arası mesafe (Toe Spread Factor)

ITSF: 2. ve 4. parmaklar arası mesafe (Intermediate Toe Spread Factor)

TS : 1. ve 5. parmaklar arası

ITS : 2. ve 4. parmaklar arası

O : Opere edilmiş taraf

N : Normal taraf

Elektromiyografik (EMG) Değerlendirme

Deneklerin EMG değerlendirmeleri Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D. tarafından yapılmıştır. Yöntemde tarif olduğu üzere anestezi uygulanan deneklerde postoperatif 4. haftada kapalı iğne tekniği ile EMG yapıldı. Onikinci haftada siyatik sinir aynı cerrahi yöntemlerle direkt olarak ortaya konuldu ve çevre dokudan ayırmak amacı ile askıya alınarak EMG yapıldı. Bu yöntemde çengel elektrotlarla askıya alınan siyatik sinirden uyarı verilerek ve kaslardan iğne elektrotlar (biopac EL451, SantaCruz, ABD) aracılığıyla her iki taraftan EMG kayıtları alınmıştır. Stimülatör elektrot koaptasyon alanının yaklaşık 10 mm. proksimalinde yerleştirilirken kayıt elektrodu tibial tüberkülün yaklaşık 10 mm. distalinde gastroknemius ve eksternal digitorum longus kaslarına saplanarak her iki kas grupları eş zamanlı olarak değerlendirilmiştir. Dördüncü hafta perkütan iğne tekniği ile yapılan elektromiyografi (EMG) uygulamalarında her denek için supramaksimal uyarı hesaplanarak ölçümler buna göre yapılmıştır. Deneklerin 12. hafta sonunda yapılan açık EMG uygulamalarında her denekte maksimum kas uyarısını sağlayan minimum uyarı şiddeti kullanılmıştır. Kayıtlarda gastroknemius ve ekstansör digitorum longus kasına

ulaşan uyarının erken latans süreleri ve kaslarda meydana gelen tepe-tepe potansiyel (peak-to-peak) kas cevapları ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

EMG uygulamalarında standart anestezi derinliği, açık yapılan deneklerde standart cerrahi ve standart hemostatik uygulamalar yapılmıştır. Bu standartların dışına çıkan deneklerin kayıtları hesaplama dışında bırakılmıştır. Kayıt ve analiz aşamalarında 4 kanallı poligraf sistemi (Biopac MP35, SantaCruz, ABD) ve bilgisayar programı (Biopac BSL Pro Software 3.7, SantaCruz, ABD) kullanılmıştır.

Histomorfometrik Değerlendirme

Histomorfometrik analizler Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakóltesi Histoloji-Embriyoloji A.D. tarafından yapılmıştır.

Postoperatif 12. haftada eter fanusunda sakrifiye edilen sıçanlarda operasyon sahası açılarak koaptasyon bölgesinin 5 mm proksimalinde tibial sinirden ve koaptasyonun 5mm distalinde atal yapan uçların her iki tarafından transvers olarak sinir kesitleri alınmıştır. Toloudin mavisi ile boyanan kesitler, ışık mikroskopunda 40x büyütmeyle veelektron mikroskopunda 10.000x büyütmeyle değerlendirildi. Elektron mikroskopisinde, rastgele seçilen 5 bölgeden 900 μ^2 alanında görüntüler fotoğraflanmıştır. Bu dijital fotoğraflar üzerinde İmage J v1,37 yazılımı kullanılarak myelinsiz aksonların sayısı, myelinli aksonların sayısı ve myelin kalınlıkları hesaplanmıştır.

İstatistiksel Yöntemler

Sonuçların istatistiksel analizinde SigmaStat v3,5 programı kullanılmıştır. Veriler non-parametrik testlerden Kruskal-Wallis testi ile analiz edilmiştir. En az bir grupta farklılık olduğu görölen analizlerde, gruplar ikişerli olarak yine non-parametrik testlerden olan Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir.

Deneyisel gruplar

Grup 1 (n = 8): Kontrol grubudur. Siyatik sinir 2 cm mezonörium boyunca ortaya konulmuş fakat sinir hasarı oluşturulmamıştır.

Grup 2 (n = 8): Negatif kontrol grubudur. Sol bacakta siyatik sinir total transeksiyon yapılarak 2 cm sinir defekti oluşturulmuş fakat onarım yapılmamıştır.

Grup 3 (n = 8): Uç-uca koaptasyonun uygulandığı gruptur. Alınan 2 cm peroneal sinir grefti orta noktasından 2 eşit parçaya bölünerek, her biri 1'er cm. olan 2 adet sinir grefti elde edilmiştir. Her iki greftin proksimal uçları, proksimalde tibial sinire distalde peroneal ve tibial sinirin kesik uçlarına 11-0 polyamide 66 monofilaman dikiş ile epinöral teknik kullanılarak koaptasyonu yapılmıştır. Proksimalde 4 adet, distalde her iki uca 3 dikiş ile uç-uç koaptasyon yapılmıştır.

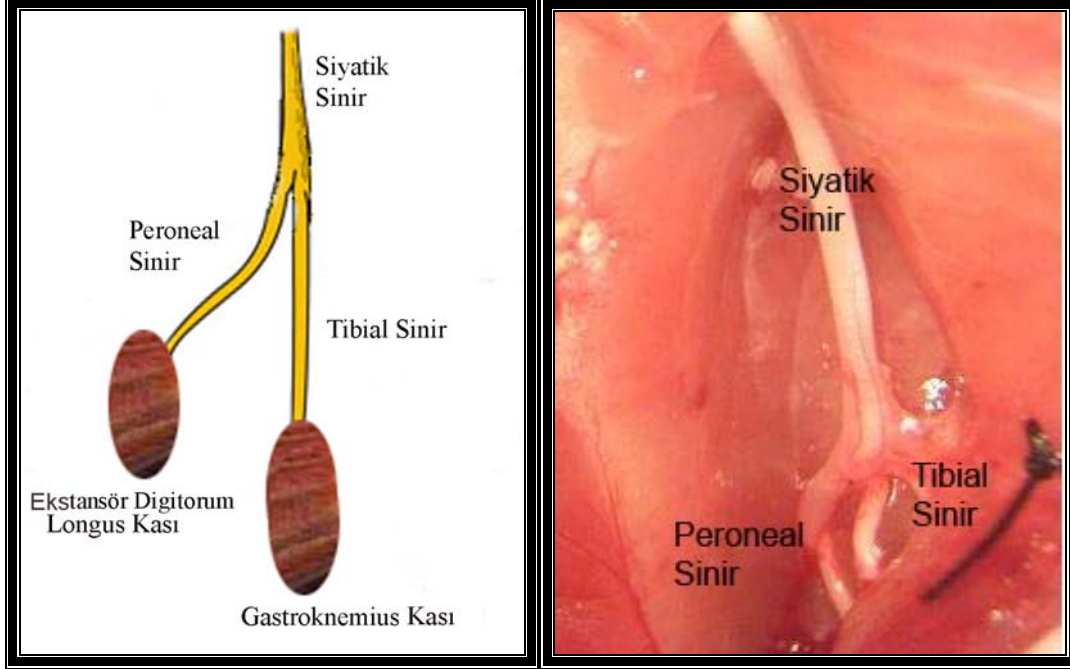
Grup 4 (n = 8): Ters uç-yan onarımın uygulandığı gruptur. Alınan 2 cm peroneal sinir grefti bütünlüğü korunmuştur. Orta noktasından açılan epinöral pencere açılmış ve proksimalde tibial sinir ile ters uç-yan olarak koaptasyon sağlanmıştır. Distaldeki uçlara Grup 3'teki işlemin aynısı uygulanmıştır.

Grup 5 (n = 8): Grup 4'teki işlemin benzeri uygulanmıştır. Grup 4'ten farklı olarak, sinir greftinin tibial tarafında sinir koaptasyonu yapmak yerine, gastroknemius kasının süperioruna direkt olarak dikilmiştir.

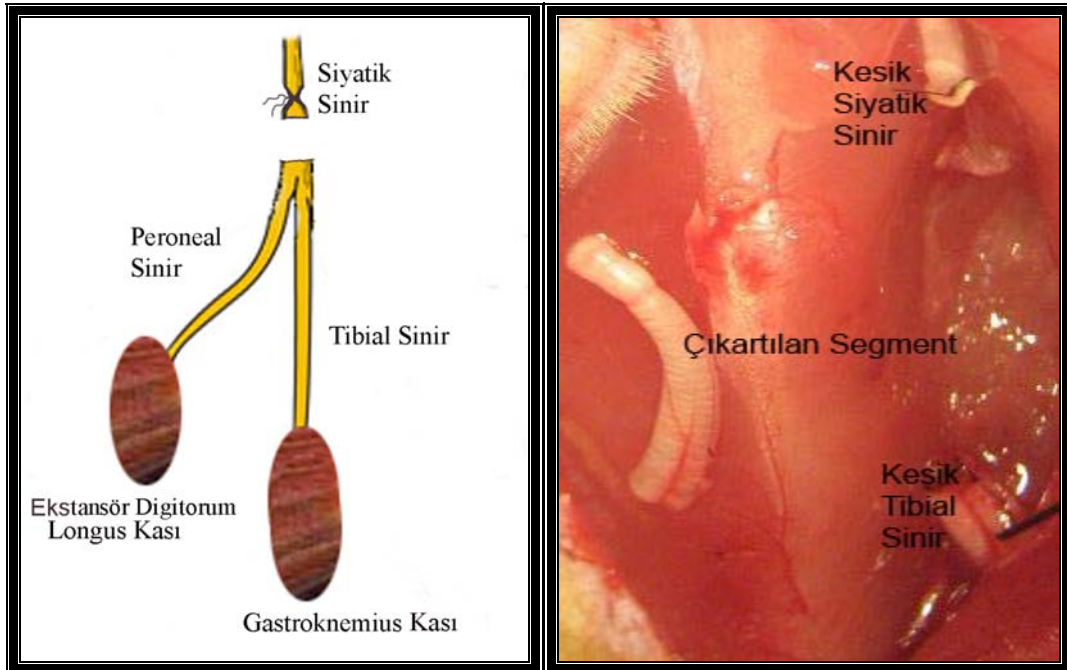
Grup 6 (n = 8): Grup 4'teki işlemin benzeri uygulanmıştır. Grup 4'ten farklı olarak, sinir greftinin tibial tarafında herhangi bir dokuya nörotizasyon yapılmaksızın serbest olarak bağlanmıştır.

Grupların Şematik Gösterimi ve Fotoğrafları

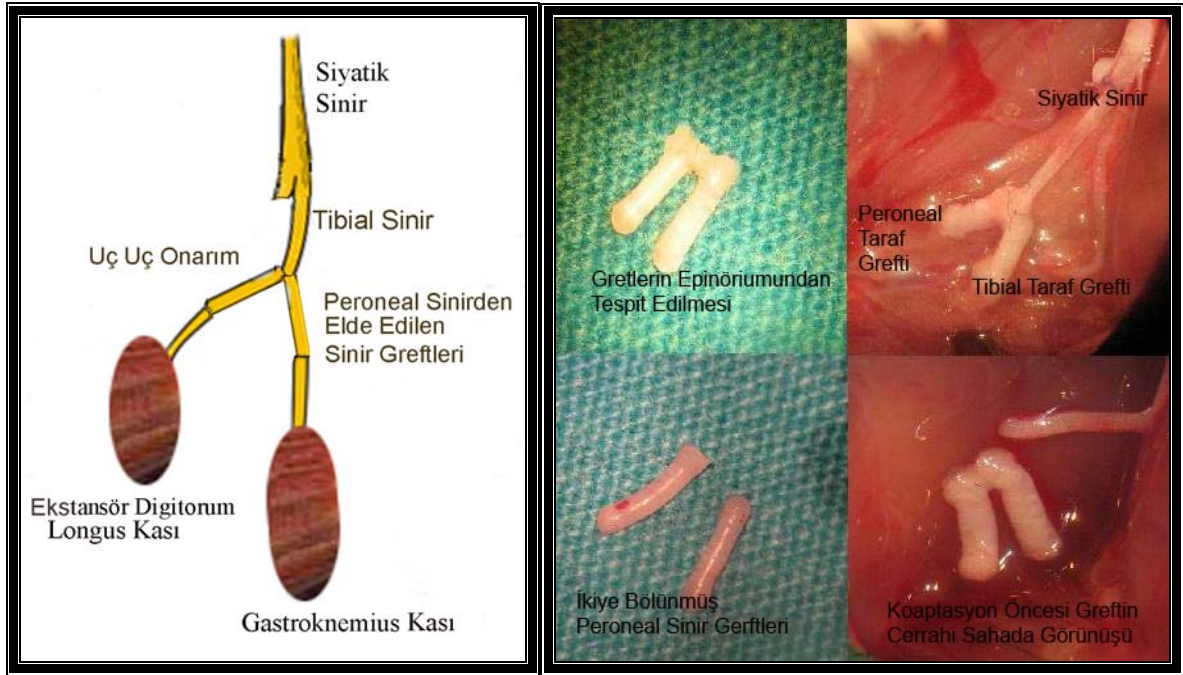
Grup 1 cerrahi işlemin şeması ve fotoğrafı



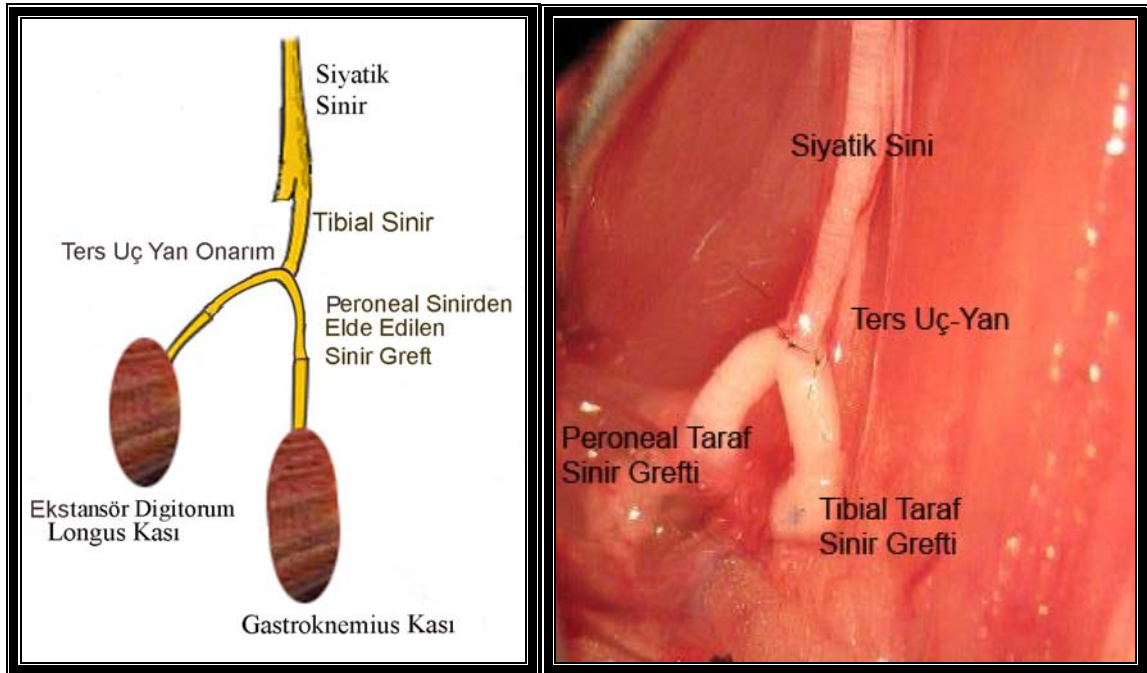
Grup 2 cerrahi işlemin şeması ve fotoğrafı



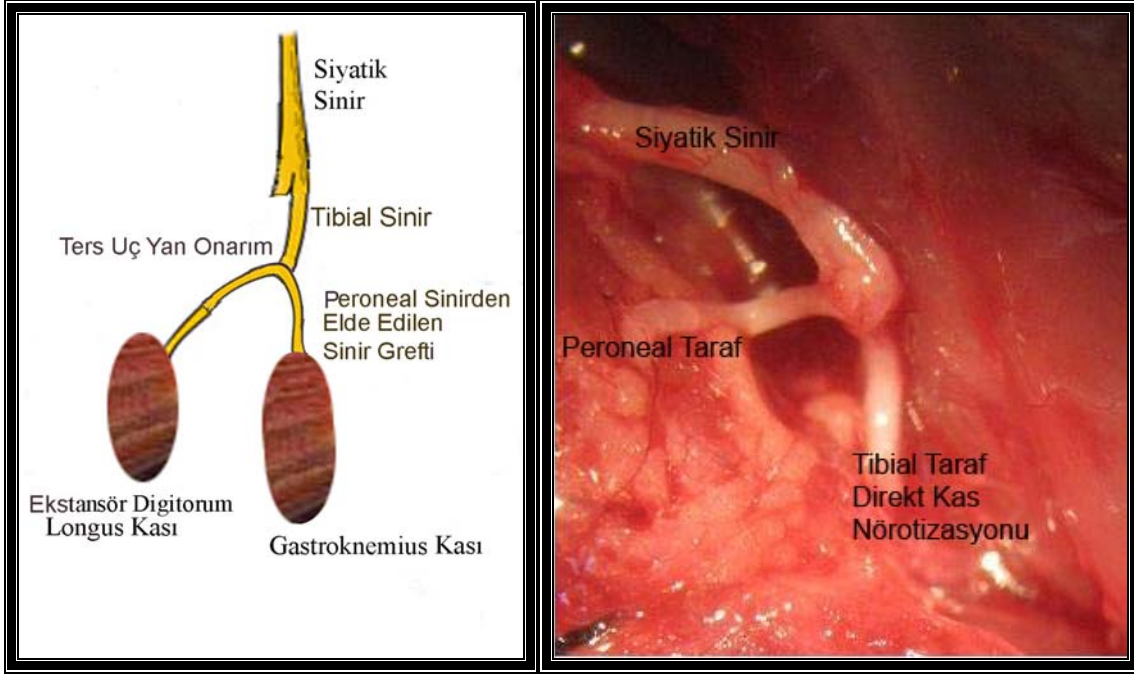
Grup 3 cerrahi işlemin şeması ve fotoğrafı



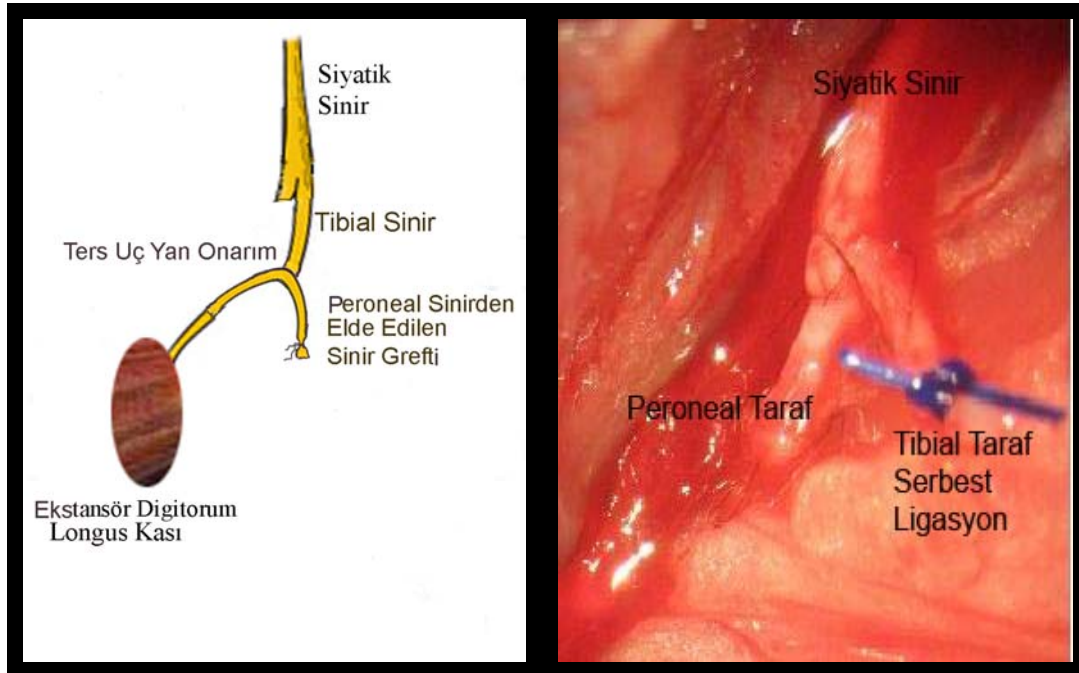
Grup 4 cerrahi işlemin şeması ve fotoğrafı



Grup 5 cerrahi işlemin şeması ve fotoğrafı



Grup 6 cerrahi işlemin şeması ve fotoğrafı



SONUÇLAR

Yürüme Analizleri

Deneklerin 4.hafta sonunda yapılan statik siyatik indeksi (SSI) sonuçları Kruskal - Wallis testi ile analiz edildi ve en az bir grupta farklılık olduğu görülmüştür ($p<0,001$). Bunun üzerine Grup 1 değerlendirme dışında bırakılarak aynı istatistik tekrar yapıldığında ise gruplar arasında herhangi bir istatistiksel fark oluşmadığı görülmüştür ($p=0,289$). (Tablo 1)

Deneklerin 8. hafta sonunda yapılan SSI sonuçları Kruskal-Wallis testinde gruplardan en az biri farklı olduğu görülmüştür ($p < 0,001$). Bunun üzerine Grup 1 değerlendirme dışında bırakılarak aynı istatistik tekrar yapıldığında ise gruplar arasında herhangi bir istatistiksel fark oluşmadığı görülmüştür ($p=0,486$). (Tablo 2)

Deneklerin 12. hafta sonunda yapılan SSI sonuçları Kruskal-Wallis testinde gruplardan en az biri farklı olduğu görülmüştür ($p= <0,001$). Bunun üzerine Grup 1 değerlendirme dışında bırakılarak aynı istatistik tekrar yapıldığında ise gruplar arasında istatistiksel fark oluşmuştur ($p<0,001$). Bu oluşan farklılığın kaynağını bulmak amacı ile onarım yapılmayan grup olan Grup 2 de analiz dışında tutularak test tekrarlanmış ve farklılığın onarım grupları arasında devam ettiği gözlenmiştir ($p= 0,022$). Bunun üzerine tedavi grupları ikişerli gruplar olarak Mann-Whitney U testi ile analiz edilmiştir. Grup 3 ve Grup 4 istatistiksel olarak farklı olup Grup 4'ün daha başarılı olduğu bulunmuştur ($p= 0,036$). Bununla birlikte Grup 3, Grup 5 ($p= 0,127$) ve Grup 6'dan ($p= 0,838$) istatistiksel olarak farksız bulunmuştur.

(Tablo 3)

(Fotoğraf 1)

4. Hafta SSI Değerleri						
Denek no	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
1	5,44	-102,99	-106,66	-103,16	-99,56	-104,87
2	-8,07	-99,23	-110,74	-102,54	-103,25	-99,65
3	-3,45	-100,56	-92,85	-77,49	-101,33	-98,69
4	-13,53	-96,65	-101,71	-92,35	-99,87	-102,21
5	-4,90	-92,56	-97,40	-93,60	-93,33	-98,56
6	-4,00	-96,42	-101,87	-93,83	-96,86	-95,65
7	-3,15	-98,07	-101,36	-94,65	-97,65	-96,87
Ortalama	-4,53	-98,07	-101,80	-93,95	-98,84	-99,50
SD	5,72	3,09	5,82	8,49	8,54	10,34

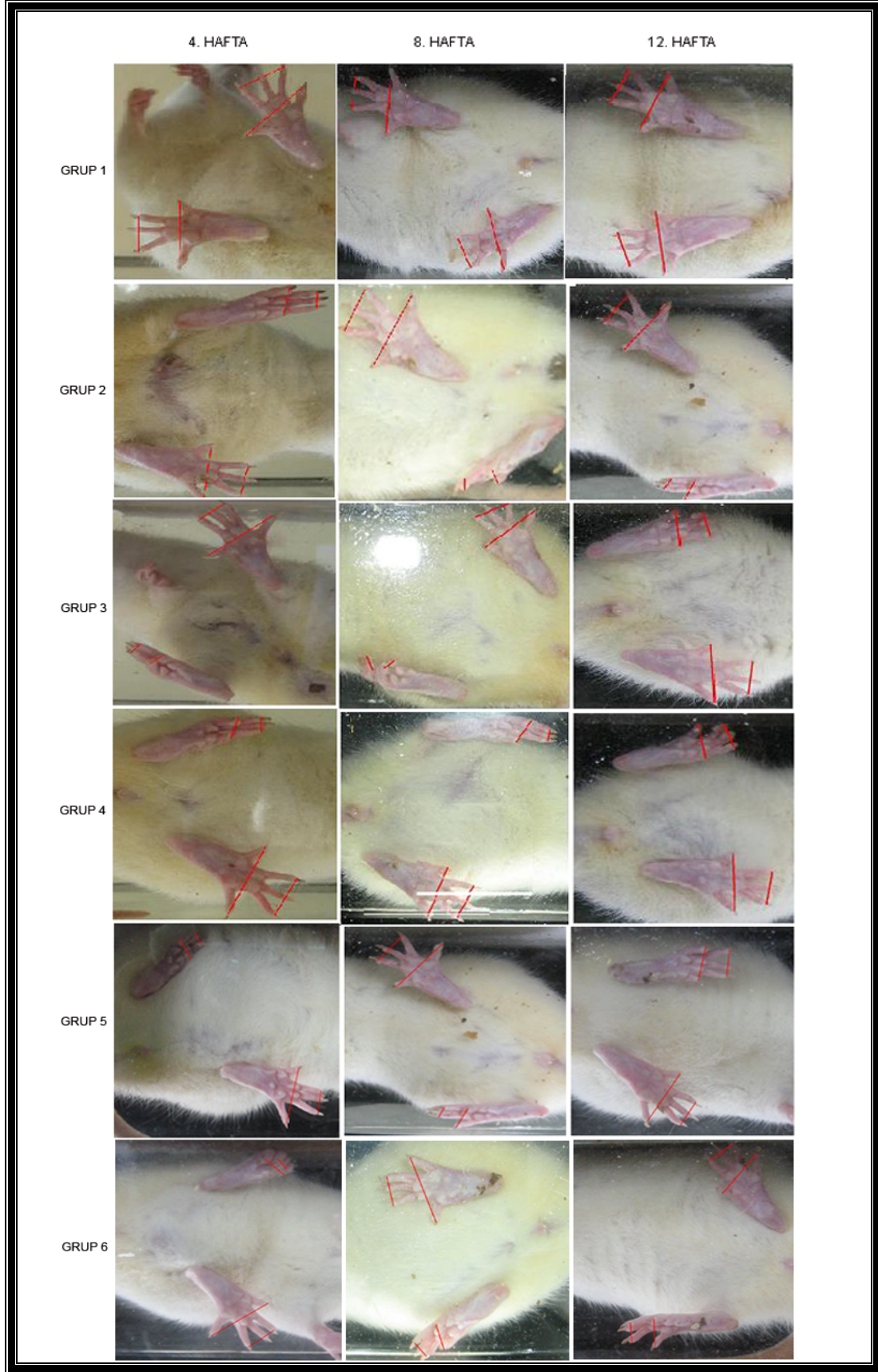
Tablo 1: Dördüncü hafta yürüme analizi SSI değerleri

8. Hafta SSI Değerleri						
Denek no	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
1	5,44	-89,60	-90,23	-80,81	-109,24	-95,32
2	-8,07	-91,24	-73,04	-79,78	-72,63	-88,87
3	-13,53	-84,37	-91,07	-86,25	-89,43	-90,23
4	-12,66	-87,21	-90,88	-88,58	-75,18	-79,65
5	-7,21	-89,37	-90,06	-75,19	-86,62	-92,12
6	-6,24	-98,12	-87,06	-82,12	-87,70	-91,84
Ortalama	-7,04	-89,98	-82,12	-82,12	-86,80	-89,67
SD	6,80	4,24	4,78	4,36	13,02	2,53

Tablo 2: Sekizinci hafta yürüme analizi SSI değerleri

12. Hafta SSI Değerleri						
Denek no	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
1	-6,02	-92,90	-54,43	-58,47	-60,24	-71,36
2	-3,45	-90,34	-70,23	-36,14	-56,33	-68,10
3	-13,53	-83,42	-85,21	-63,13	-70,93	-69,84
4	-12,66	-81,23	-79,80	-56,77	-58,78	-70,96
5	-8,92	-86,89	-75,99	-67,20	-71,33	-80,51
6	-5,69	-86,96	-73,13	-65,31	-69,94	-72,15
Ortalama	-8,38	-86,96	-73,13	-57,84	-64,59	-72,15
SD	4,06	3,92	10,55	15,25	19,94	24,64

Tablo 3: Onikinci hafta yürüme analizi SSI değerleri



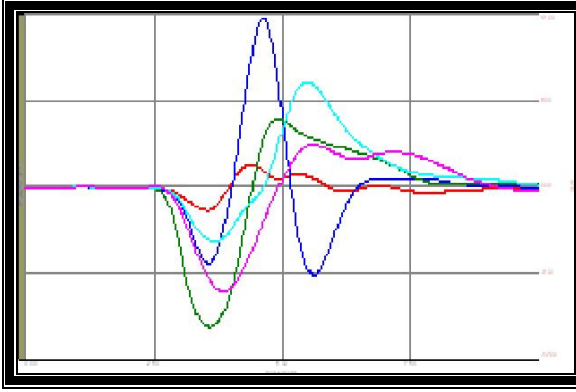
Resim 1: Sıçanların ayak tabanı görüntülerinin aylara göre dağılımı. Ölçüm yapılan mesafeler gösterilmiştir. Grup 4'te pençe genişliği dikkat çekmektedir.

Elektromiyografi

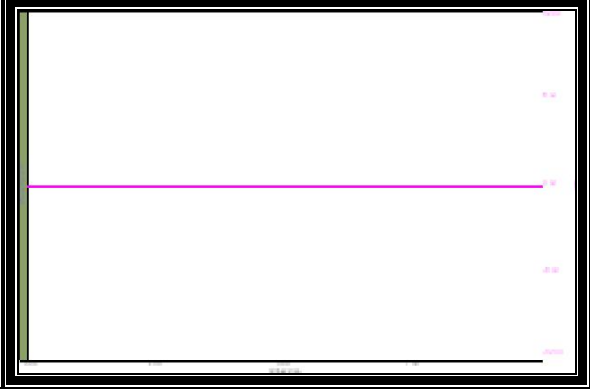
Onarımın yapılmaksızın sinir defekti oluşturulmuş olan grup 2'ye ait EMG kayıtlarında anlamlı düzeyde veri sağlamamış ve kaydedilebilir bir sinir iletisi bulunamamıştır. Bu nedenle istatistiksel olarak tüm gruplardan anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p < 0,000$).

Grupların 12. haftada açık olarak yapılan EMG analizleri sonucunda Biopac BSL Pro Software v3.7 ile alınan kayıt grafikleri Şekil 7(a) ve Şekil 7(b)'de gösterilmiştir.

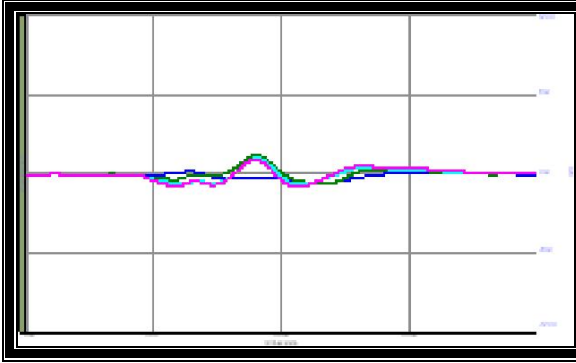
Grup 1



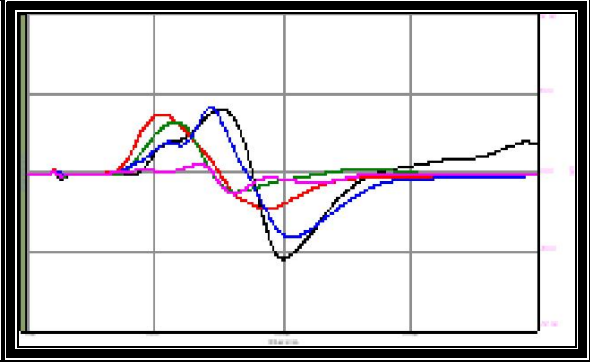
Grup 2



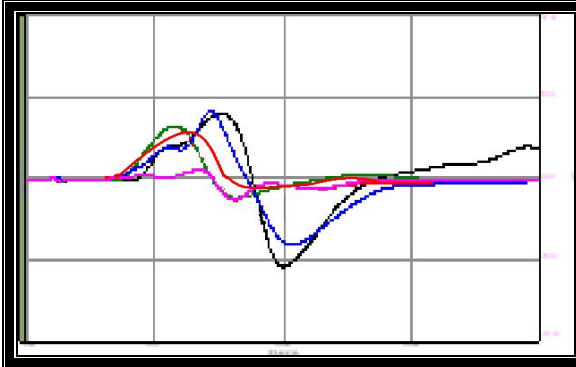
Grup 3



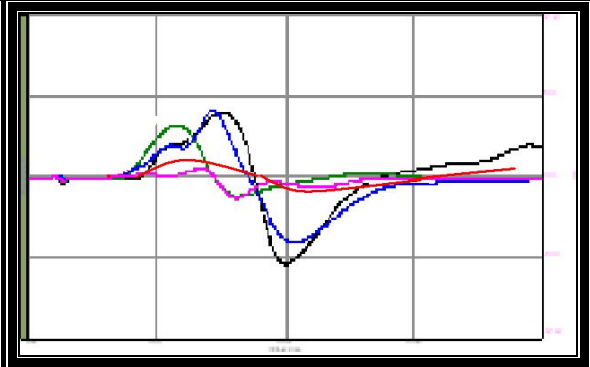
Grup 4



Grup 5

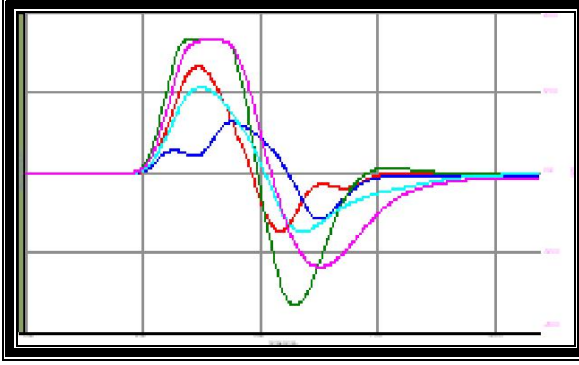


Grup 6

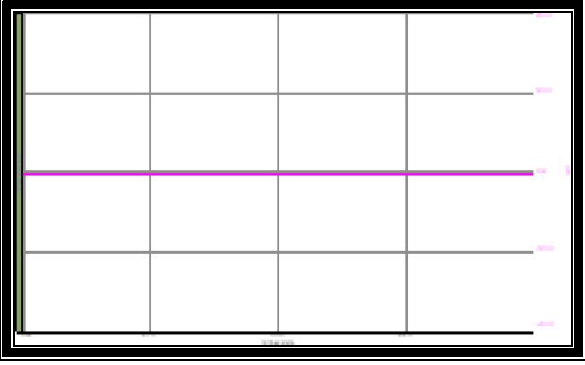


Şekil 7(a): Biopac BSL Pro Software 3.7 ile alınan ekstansör digitorum longus kasına ait kayıt grafikleri görülmektedir. Her bir grafik çizgisi deneklere uygulanan ardışık 100 impulsun matematiksel ortalamasıdır.

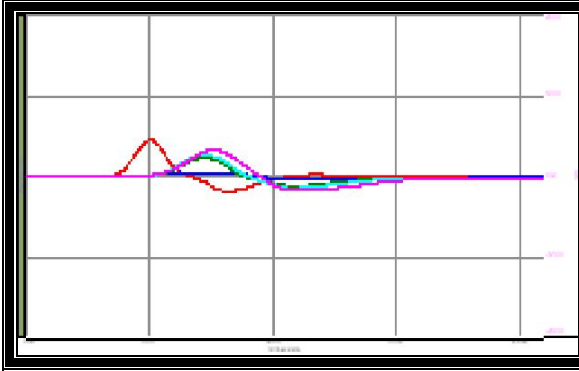
Grup 1



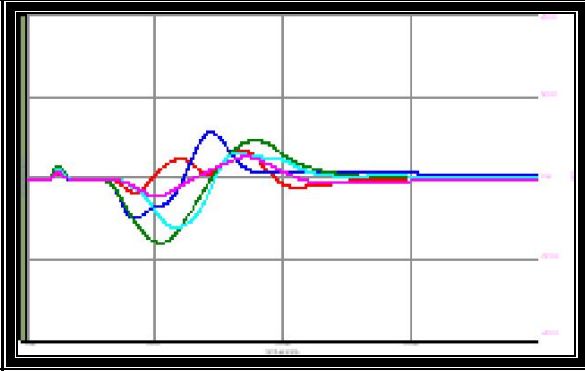
Grup 2



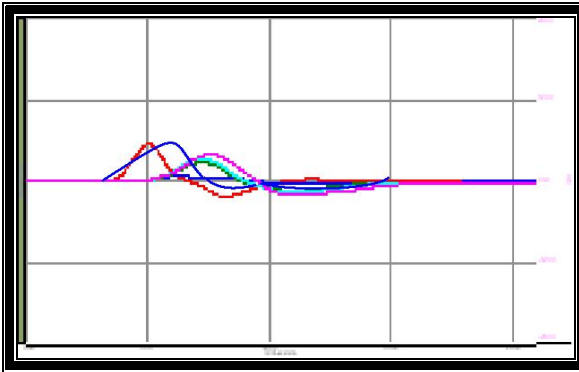
Grup 3



Grup 4



Grup 5



Şekil 7(b): Biopac BSL Pro Software 3.7 ile alınan gastroknemius kasına ait kayıt grafikleri görülmektedir. Her bir grafik çizgisi deneklere uygulanan ardışık 100 impulsun matematiksel ortalamasıdır.

a) 4.hafta sonunda yapılan perkutan EMG sonuçları:

Latans süresi analizleri

Gastroknemius kasına ait latans sürelerinin Kruskal-Wallis testi ile analizinde gruplar arası istatistiksel farklılık açıkça mevcuttur ($p < 0,001$). Bu farklılığın kaynağını tespit etmek üzere kontrol grubu olan Grup 1 dışarıda bırakılarak analiz tekrarlandığında farklılığın onarım grupları arasında da devam ettiği gözlenmiştir ($p < 0,001$). Farklılığın kaynağı Grup 5'te gastroknemius kasına direkt sinir nörotizasyonu yapılmış olmasıdır. Bu grupta sinir iletiminin kasa iletilmesinde gecikme olmaktadır. Grup 4 ve Grup 3 arasında 4. haftada istatistiksel bir fark oluşmamıştır ($p = 0,988$).

Ekstansör digitorum longus kasına ait latans sürelerinin Kruskal-Wallis testi ile analizinde en az bir grubun farklılık gösterdiği görülmüştür ($p < 0,001$). Grup 1 dışarıda bırakılarak analiz tekrarlandığında farklılığın onarım grupları arasında da devam ettiği gözlenmiştir ($p = 0,004$). Grupların ikiyeşerli olarak Mann-Whitney U testi ile analizinde Grup 3 ve Grup 4 arasında fark gözlenmemiştir ($p = 0,056$). Buradaki analizlerde Grup 5 ($p = 0,043$) ve Grup 6 ($p < 0,001$), Grup 3'ten istatistiksel olarak daha başarılı bulunmuştur. Bu sonuçlar peroneal tarafın Grup 5 ve Grup 6 da nörotropizm açısından daha baskın olması şeklinde açıklanabilir. Grup 4, Grup 5 ve Grup 6 kendi içinde istatistiksel olarak farksız bulunmuştur ($p = 0,056$).

Kontrol grubunda ($p = 0,768$) olduğu gibi Grup 4'te de siyatik sinirin uyarımını takine tibial ve peroneal taraftan ölçülen gec süreleri istatistiksel olarak farksız olduğu bulunmuştur ($p = 0,236$). Oysa Grup 3'te peroneal tarafta latans süresi istatistiksel olarak ta uzamıştır ve tibial taraftan farklıdır ($p = 0,028$). (Tablo 4)

Gastroknemius Kasının Latans süreleri (ms)						
Denek	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
1	1,44	yok	1,38	1,28	2,12	yok
2	1,18	yok	1,34	1,3	1,9	yok
3	1,22	yok	1,58	1,70	1,86	yok
4	1,18	yok	1,56	1,36	1,92	yok
5	1,34	yok	1,38	1,18	2,08	yok
6	1,40	yok	1,37	1,44	2,2	yok
7	1,38	yok	1,44	1,78	2,6	yok
Ortalama	1,31		1,44	1,43	2,13	
SD	0,10		0,09	0,21	0,24	

Ekstansör Digitorum Kasının Latans süresi (ms)						
Denek	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
1	1,22	yok	1,64	1,62	1,52	1,48
2	1,38	yok	3,4	1,48	1,62	1,46
3	1,32	yok	2,78	1,86	1,56	1,52
4	1,40	yok	1,66	1,34	1,48	1,38
5	1,32	yok	3,72	1,64	1,41	1,38
6	1,32	yok	1,52	1,56	1,63	1,4
7	1,28	yok	1,62	1,46	1,45	1,42
Ortalama	1,32		2,33	1,57	1,52	1,43
SD	0,06		0,88	0,15	0,08	0,05

Tablo 4: Deneklerin 4.haftada perkutan olarak yapılan latans süresi ölçümlerinin değerleri

Tepe-tepe potansiyeli (Peak-to-peak) analizleri

Gastroknemius kasına ait tepe-tepe potansiyeli değerlerinin Kruskal-Wallis testi ile analizinde gruplar arası istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p= <0,001$). Grupların ikişerli olarak Mann-Whitney U testi ile analizinde Grup 3 ve Grup 4 arasında istatistiksel bir farklılık ilk 4 hafta içerisinde oluşmamıştır ($p= 0,136$). Gastroknemiusun direkt nörotize edildiği Grup 5, Grup 3 ($p= <0,001$) ve Grup 4 ten ($p= <0,001$) istatistiksel olarak daha düşük tepe-tepe potansiyel farkı göstermiştir. Kontrol grubu ise tüm gruplardan istatistiksel olarak farklı sonuçlanmıştır.

Ekstansör digitorum kasına ait tepe-tepe potansiyeli değerlerinin Kruskal-Wallis testi ile analizinde gruplar arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p<0,001$). Grupların ikişerli olarak Mann-Whitney U testi ile analizinde Grup 3 ve Grup 4 arasında istatistiksel olarak bir farklılık gözlenmemiştir ($p= 0,165$) . Ters uç-yan onarımın uygulandığı Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'da ekstansör digitorum longus kasının tepe-tepe potansiyellerinde istatistiksel bir farklılık ilk 4 haftada oluşmamıştır ($p= 0,308$). (Tablo 5)

Gastroknemius Kası Tepe-Tepe Potansiyeli (Peak-to-Peak)(mV)						
Denek	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
1	13,22	yok	5,89	6,9	1,2	yok
2	10,22	yok	10,99	9,6	0,32	yok
3	15,24	yok	9,74	4,96	0,41	yok
4	9,39	yok	9,5	5,34	0,26	yok
5	9,34	yok	6,52	8,05	0,8	yok
6	14,64	yok	8,7	5,66	0,6	yok
7	14,86	yok	5,2	2,72	0,24	yok
Ortalama	12,42		8,08	6,18	0,55	
SD	2,48		2,04	2,08	0,33	

Ekstansör Digitorum Kası Tepe-Tepe Potansiyeli (Peak-to-Peak) (mV)						
Denek	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
1	7,72	yok	0,75	1,9	1,8	0,96
2	4,69	yok	0,52	0,86	0,98	1,40
3	9,56	yok	0,69	2,22	0,9	1,80
4	8,48	yok	0,98	1,22	1,42	0,86
5	8,27	yok	0,98	0,92	1,2	2,12
6	11,26	yok	1,08	0,35	0,95	1,94
7	6,65	yok	0,43	1,44	1,2	2,26
Ortalama	8,09		0,78	1,27	1,21	1,62
SD	1,93		0,23	0,59	0,30	0,52

Tablo 5: Deneklerin 4.haftada perkutan olarak yapılan kas tepe-tepe potansiyeli ölçümlerinin değerleri

b) 12. hafta sonunda yapılan EMG sonuçları:

Latans süresi analizleri

Gastroknemius kasına ait latasların Kruskal-Wallis testi ile analizinde en az bir grubun farklılık gösterdiği görülmüştür ($p < 0,001$). Grupların ikişerli olarak Mann-Whitney U testi ile analizinde kontrol grubu (Grup 1), Grup 3 ($p < 0,001$) ve Grup 4'ten ($p = 0,005$) istatistiksel olarak farklı derecede daha kısa süreli latans süresine sahip olduğu gözlemlendi. Grup 4'te gastroknemius kasına ait latans süresinin kontrol grubuna (Grup1) daha yakın olduğu ve Grup 3 ten istatistiksel olarak farklı olduğu da gösterilmiştir ($p = 0,003$). Grup 3, gastroknemiusun direkt nörotize edildiği Grup 5'e göre istatistiksel olarak daha kısa süreli latans süresine sahip olduğu görülmüştür ($p = 0,003$).

Ekstansör digitorum longus kasına ait latasların Kruskal-Wallis testi ile analizinde en az bir grubun farklılık gösterdiği görülmüştür ($P = < 0,001$). Grupların ikişerli olarak Mann-Whitney U testi ile analizinde kontrol grubu (Grup 1) Grup 3 ve Grup 4'ten istatistiksel olarak farklı derecede daha kısa süreli latans süresine sahip olduğu gözlemlendi ($p < 0,001$). Grup 4'te ekstansör digitorum longus kasına ait latans süresinin kontrol grubuna (Grup1) daha yakın olduğu ve Grup 3 ten istatistiksel olarak farklı olduğu da gösterilmiştir ($p = 0,018$). Ters uç-yan onarımın uygulandığı Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'da ekstansör digitorum longus kasının latans sürelerinde istatistiksel bir farklılık oluşmamıştır ($p = 0,088$).

Grup 4'te her iki bacağın karşılaştırılmasında da aksiyon potansiyelinin simetrik bir hızla yayıldığı görülmüş, tibial ve peroneal taraf sinir greftleri üzerinden latans süreleri istatistiksel olarak farksız bulunmuştur ($p = 0,263$). Oysa Grup 3'te tibial tarafta latans süresi istatistiksel olarak ta uzamış ve tibial taraftan farklıdır ($p = 0,004$).

Gastroknemius Kasının Latans Süreleri (ms)						
Denek	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
1	2,68	yok	4,06	3,24	8,04	yok
2	3,47	yok	5,26	4,24	6,86	yok
3	2,84	yok	6,24	4,08	9,60	yok
4	2,72	yok	6,22	4,80	8,62	yok
5	2,94	yok	6,64	3,20	10,2	yok
6	2,93	yok	5,68	3,91	6,88	yok
Ortalama	2,93		5,68	3,91	8,37	
SD	0,26		0,85	0,56	1,26	

Ekstansör Digitorum Kasının Latans Süresi (ms)						
Denek	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
1	2,54	yok	4,62	6,50	4,22	4,02
2	2,58	yok	5,40	4,28	4,65	3,98
3	2,60	yok	4,82	4,76	3,8	3,84
4	2,68	yok	4,98	4,52	4,32	4,21
5	2,88	yok	4,82	3,52	5,12	4,16
6	2,56	yok	4,93	4,72	4,8	3,20
Ortalama	2,64		4,93	4,72	4,49	3,90
SD	0,12		0,24	0,90	0,43	0,34

Tablo 6 : Deneklerin 12.haftada açık olarak yapılan latans süresi ölçümlerinin değerleri

Tepe-tepe Potansiyeli (Peak-to-peak) analizleri

Gastroknemius kasına ait tepe-tepe potansiyeli değerlerinin Kruskal-Wallis testi ile analizinde gruplar arası istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($P = <0,001$). Grupların ikiyeşerli olarak Mann-Whitney U testi ile analizinde ne Grup 3 ne de Grup 4 kontrol grubu (Grup 1) kadar etkin kas tepe-tepe potansiyeli oluşturamamıştır (Her ikisi için $p = <0,001$). Bununla birlikte Grup 4, Grup 3'ten daha başarılı kas tepe-tepe potansiyeli oluşturabildiği istatistiksel olarak gösterilmiştir ($p = 0,018$). Ayrıca Grup 5 te gastroknemius kasına direkt nörotizasyon yapılmış olmasına karşın proksimaldeki

sinir grefti ters uç-yan onarılmasının sonucu olarak Grup 3'ten daha başarılı kas tepe-tepe potansiyeli oluşturmuştur ($p= 0,059$).

Ekstansör digitorum logus kasına ait tepe-tepe potansiyeli değerlerinin Kruskal-Wallis testi ile analizinde gruplar arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir ($p<0,001$). Grupların ikişerli olarak Mann-Whitney U testi ile analizinde ne Grup 3 ($p<0,001$), ne de Grup 4 ($p= 0,007$) kontrol grubu (Grup 1) kadar etkin kas tepe-tepe potansiyeli oluşturamamıştır. Ayrıca Grup 4, Grup 3'ten daha başarılı kas tepe-tepe potansiyeli oluşturabildiği istatistiksel olarak gösterilmiştir ($p= 0,016$). Ters uç-yan onarımın yapıldığı Grup 4, Grup 5 ve Grup 6 ekstansör digitorum logus kasına ait tepe-tepe potansiyeli değerleri açısından istatistiksel farklılık göstermektedir ($p= 0,024$). Grup 5, Grup 3 ile karşılaştırıldığında ekstansör digitorum logus kasında daha başarılı kas tepe-tepe potansiyeli oluşturduğu ($p<0,001$) fakat yine de kontrol grubu (Grup1) kadar etkin olamadığı görülmüştür. ($p= 0,005$). Grup 6'ya bakıldığında ekstansör digitorum logus kasına ait tepe-tepe potansiyeli değerleri kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı değildir. Bu durumda grubun en başarılı ekstansör digitorum logus kasına ait tepe-tepe potansiyeli değerlerine Grup 6'da ulaşılmıştır.

Gastroknemius Kası Tepe-Tepe Potansiyeli (Peak-to-Peak)(mV)						
Denek	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
1	24,77	yok	7,73	12,71	2,1	yok
2	24,59	yok	1,17	15,04	3,9	yok
3	39,77	yok	4,16	5,86	2,86	yok
4	29,81	yok	4,97	11,04	3,26	yok
5	34,14	yok	6,08	5,07	2,89	yok
6	28,62	yok	4,82	9,94	1,90	yok
Ortalama	30,28		4,82	9,94	2,82	
SD	5,33		1,99	3,54	0,68	

Ekstansör Digitorum Kası Tepe-Tepe Potansiyeli (Peak-to-Peak) (mV)						
Denek	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
1	13,19	yok	4,99	11,35	8,4	11,02
2	17,05	yok	2,97	7,16	6,78	12,65
3	14,4	yok	1,88	5,3	9,8	10,54
4	11,09	yok	2,03	9,79	10,23	10,73
5	10,19	yok	2,05	2,23	7,86	9,67
6	11,18	yok	4,38	7,17	8,78	10,61
Ortalama	12,85		3,05	7,17	8,64	10,87
SD	2,35		1,22	2,95	1,16	0,90

Tablo 7: Deneklerin 12.haftada açık olarak yapılan kas tepe-tepe potansiyeli ölçümlerinin değerleri

Histopatolojik Morfometrik İnceleme

a) Myelinsiz aksonların değerlendirilmesi:

Her grup kendi içinde peroneal ve tibial taraf sinir greftinden alınan örneklerdeki myelinsiz akson sayıları Mann-Whitney U testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi. Grup 5 ve Grup 6 dışındaki gruplarda greftlerin bacakları arasında myelinsiz akson sayıları açısından fark bulunmadı.

Grupların peroneal taraf sinir greftlerinin myelinsiz sinir sayılarına bakıldığında, gruplar arasında, Kruskal-Wallis testine göre istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p < 0,001$). Onarım yapılan tüm gruplar arasında peroneal taraf myelinsiz akson sayıları değerlendirilmiş ve istatistiksel farklılık olduğu görülmüştür ($p < 0,001$). Grup 3, ters uç-yan onarım yapılan gruplarla kıyaslandığında daha yetersiz bir myelinsiz akson artışı gösterdiği istatistiksel olarak gösterilmiştir. Grup 4 ile Grup 5 arasında istatistiksel bir farklılık görülmemiştir ($p = 0,424$). Tibial tarafı serbest olarak bağlanmış olan Grup 6 ise hem Grup 4 ($p = 0,005$), hem de Grup 5'den ($p = 0,033$) daha fazla myelinsiz akson içerdiği gözlenmiştir.

Grupların tibial taraf sinir greftlerinin myelinsiz sinir sayılarının Kruskal-Wallis testi ile analizinde gruplar arası istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p < 0,001$). Grupların ikili olarak Mann-Whitney U testi ile analizinde Grup 3, ters uç-yan onarım yapılan gruplarla kıyaslandığında daha yetersiz bir myelinsiz akson artışı gösterdiği

istatistiksel olarak gösterilmiştir. Tibial tarafta direkt kas nörotizasyonu yapılmış olan Grup 5, Grup 4'ten istatistiksel olarak daha az ($p= 0,002$) myelinsiz akson sayısına sahip olduğu görülmüştür. Bununla birlikte tibial tarafı bağlanmış, herhangi bir dokuyu nörotize etmeyen Grup 6 da ise myelinsiz akson sayısı Grup 4'ten daha az olduğu gözlenmiş ve istatistiksel farklılık ortaya konulmuştur. Grup 4'ün tibial tarafında sayılan myelinsiz akson Grup 5'ten anlamlı olarak farklı olduğu görülmüştür ($p= 0,002$). Grup 5 ile Grup 6 'nın tibial tarafındaki myelinsiz akson sayıları arasında istatistiksel bir farklılık gözlenmemiştir ($p= 0,097$).

Grupların ana trunkuslarındaki myelinsiz sinir sayılarının Kruskal-Wallis testi ile analizinde gruplar arası istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p = <0,001$). Grupların ikili olarak Mann-Whitney U testi ile analizinde Grup 3 ve Grup 4 arasında istatistiksel bir farklılık gözlenmemiştir ($p= 0,485$). Oysa Grup 5 ve Grup 6'da Grup 3'ten daha fazla myelinsiz akson olduğu gözlenmiştir ($p= 0,005$ ve ($p<0,001$)). Grup 4 ile Grup 5 ana trunkusları karşılaştırıldıklarında istatistiksel bir farklılık gözlenmemiştir ($p= 0,127$). Grup 4 ile Grup 6 karşılaştırıldığında Grup 6'nın daha fazla myelinsiz akson içerdiği gösterilmiştir ($p= 0,026$). (Tablo 8)

Peroneal Taraf Myelinsiz Aksonlar						
Denekler	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
1	11	0	38	32	38	42
2	14	1	26	36	41	52
3	20	2	29	37	42	74
4	20	0	25	42	59	53
5	10	0	28	49	32	65
6	49	1	14	38	44	57
Ortalama	20,67	0,67	26,67	39	42,67	57,17
SD	13,26	0,75	7,06	5,35	8,24	10,16

Tibial Taraf Myelinsiz Aksonlar						
Denekler	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
1	21	0	25	36	8	3
2	16	1	21	30	6	2
3	18	1	32	41	8	5
4	24	0	29	52	5	6
5	19	0	24	32	2	3
6	40	1	22	41	6	4
Ortalama	23	0,50	25,50	38,67	5,83	3,83
SD	8	0,5	3,86	7,25	2,03	1,34

Ana Trunkus Myelinsiz Aksonlar						
Denekler	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
1	15	yok	18	20	51	43
2	15	yok	17	37	38	32
3	13	yok	28	34	33	41
4	12	yok	22	35	26	43
5	17	yok	24	14	32	42
6	16	yok	23	22	34	36
Ortalama	14,67		22	27	35,67	39,50
SD	1,70		3,70	8,72	7,72	4,11

Tablo 8: Myelinsiz aksonların elektron mikroskopisi sırasında alınan randomize 5 ayrı kesitte $900 \mu^2$ başına düşen myelinsiz aksonların sayısal ortalaması

b) Myelinli aksonların değerlendirilmesi:

Her grup kendi içinde peroneal ve tibial taraf sinir greftinden alınan örneklerdeki myelinli akson sayıları Mann-Whitney U testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi. Grup 5 ve Grup 6 dışındaki gruplarda greftlerin bacakları arasında myelinli akson sayıları açısından fark bulunmadı.

Grupların peroneal taraf sinir greftlerinin myelinli sinir sayılarının Kruskal-Wallis testi ile analizinde gruplar arası istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p < 0,001$).

Grupların ikili olarak Mann-Whitney U testi ile analizinde Grup 3, ters uç-yan onarım yapılan gruplarla kıyaslandığında daha yetersiz bir myelinli akson artışı gösterdiği istatistiksel olarak gösterilmiştir. Grup 4, Grup 3 ten anlamlı olarak daha fazla sayıda myelinli akson içerdiği gösterilmiştir ($p= 0,006$). Grup 5 ve Grup 6'da Grup 3'ten daha fazla myelinli akson içermektedir ($P = <0,001$) ve ($P = <0,001$)). Grup 6'nın peroneal taraf myelinli aksonlarının sayısı Grup 4'ten istatistiksel olarak anlamlı olarak fazladır ($p= 0,035$).

Grupların tibial taraf sinir greftlerinin myelinli sinir sayılarının Kruskal-Wallis testi ile analizinde gruplar arası istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p = <0,001$). Grupların ikili olarak Mann-Whitney U testi ile analizinde Grup 3, ters uç-yan onarım yapılan gruplarla kıyaslandığında daha yetersiz bir myelinli akson artışı gösterdiği istatistiksel olarak gösterilmiştir. Grup 4, Grup 3 ten anlamlı olarak daha fazla myelinli aksonlar içerdiği saptanmıştır ($p= 0,007$). Tibial taraf myelinli akson sayısı direkt kas nörotizasyonunun yapıldığı Grup 5'te, Grup 3 ($p<0,001$) ve Grup 4'ten ($p<0,001$) daha az sayıda olduğu, herhangi bir nörotizasyonun yapılmadığı Grup 6'dan fazla olduğu gözlenmiştir ($p= 0,042$).

Grupların ana trunkuslarındaki myelinli sinir sayılarının Kruskal-Wallis testi ile analizinde gruplar arası istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p<0,001$). Grupların ikili olarak Mann-Whitney U testi ile analizinde Grup 3 ve Grup 4 arasında istatistiksel bir farklılık olduğu ortaya konulmuştur. Grup 4'te ana trunkus daha fazla myelinli akson içermektedir ($p= 0,002$). Grup 4'ün, Grup 5 ($p= 0,362$) ve Grup 6 ($p= 0,349$) ile karşılaştırılmasında istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır. Bununla birlikte Grup 6'daki myelinli akson sayısının, Grup 5 ile karşılaştırıldığında sayısal olarak fazla oluşu istatistiksel olarak anlam kazanmıştır ($p= 0,036$).

(Tablo9)

Peroneal Taraf Myelinli Aksonlar						
Denekler	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
1	11	0	38	32	45	53
2	14	1	26	36	46	40
3	20	2	29	37	35	52
4	20	0	25	42	44	49
5	10	0	28	49	49	47
6	20	1	28	48	46	57
Ortalama	15,83	0,67	29	40,67	44,17	49,67
SD	4,34	0,75	4,24	6,26	4,38	5,34

Tibial Taraf Myelinli Aksonlar						
Denekler	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
1	21	0	25	36	16	16
2	16	1	21	30	18	11
3	18	1	32	41	13	4
4	24	0	29	52	18	10
5	19	0	24	32	14	15
6	22	2	26	39	15	11
Ortalama	20	0,67	26,17	38,33	15,67	11,17
SD	2,6458	0,75	3,53	7,18	1,89	3,90

Ana Trunkus Myelinli Aksonlar						
Denekler	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
1	14	yok	8	29	27	38
2	13	yok	5	43	23	34
3	13	yok	12	26	18	23
4	15	yok	13	17	22	41
5	15	yok	11	17	18	19
6	15	yok	12	24	24	32
Ortalama	14,17		10,17	26	22	31,17
SD	0,90		2,80	8,80	3,22	7,82

Tablo 9: Myelinli aksonların elektron mikroskopisi sırasında alınan randomize 5 ayrı kesitte 900 μ^2 başına düşen myelinsiz aksonların sayısal ortalaması

c)Myelin kalınlıkları

Her grup kendi içinde peroneal ve tibial taraf sinir greftinden alınan örneklerdeki myelin kalınlıkları Mann-Whitney U testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi. Hiçbir grupta greftlerin bacakları arasında myelin kalınlıkları açısından fark bulunmadı.

Grupların peroneal taraf sinir greftlerinin myelin kalınlıklarının Kruskal-Wallis testi ile analizinde gruplar arası istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p<0,001$). Grupların ikili olarak Mann-Whitney U testi ile analizinde onarım grupları içerisinde arasında istatistiksel bir fark olmadığı görülmüştür ($p= 0,875$).

Grupların tibial taraf sinir greftlerinin myelinkalınlıklarının Kruskal-Wallis testi ile analizinde gruplar arası istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p<0,001$). Grupların ikili olarak Mann-Whitney U testi ile analizinde onarım grupları arasında istatistiksel bir fark olmadığı görülmüştür ($p= 0,197$).

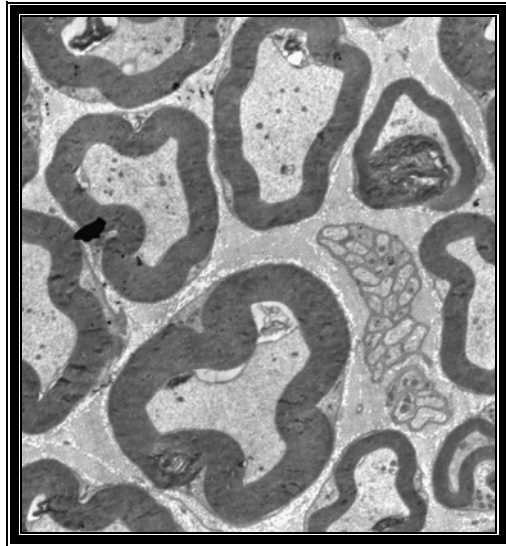
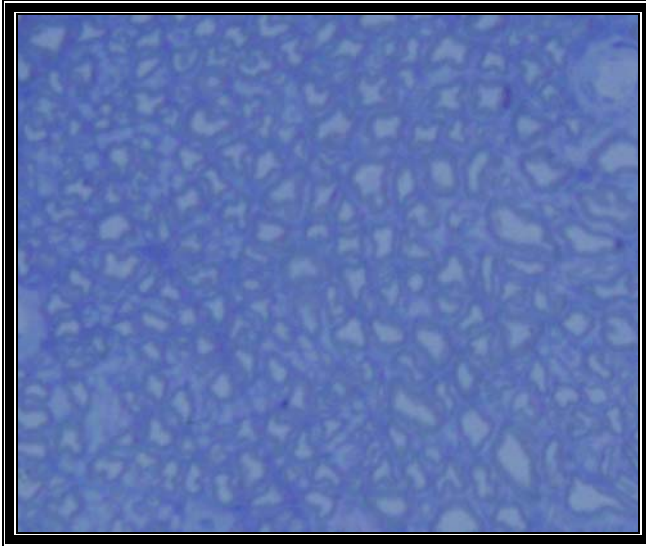
Tüm onarım gruplarında hem peroneal hem de tibial taraf myelin kalınlıklarının kontrol grubundan (Grup 1) daha ince olduğu istatistiksel olarak ortaya konulmuştur. Bununla birlikte onarım yapılmamış olan Grup 2'de transeksiyonun distalinden alınan sinir kesitlerinde yapılan elektron mikroskopik değerlendirmelerde az sayıda myelinli aksonlara rastlanmakla birlikte, bu myelinlerin kalınlıklarının onarım yapılan grupların hiçbirinden istatistiksel olarak farklı olmadığı gözlenmiştir (Tibial taraf için ($p= 0,483$), peroneal taraf için ($p= 0,073$)).

(Tablo 10)

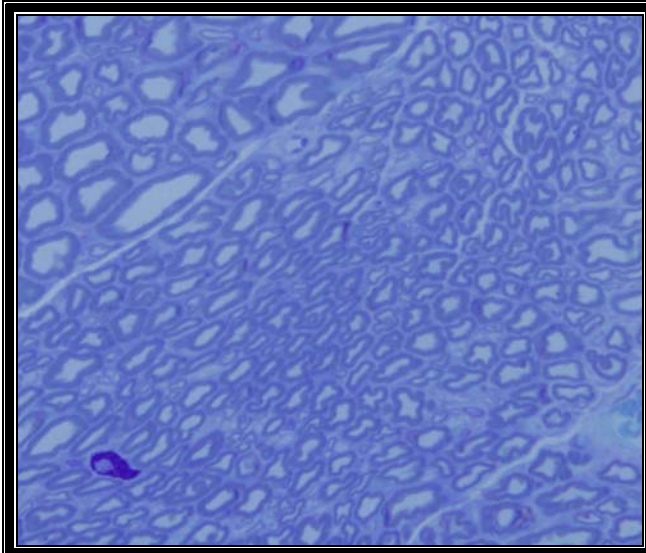
Peroneal taraf myelin kalınlıkları (nm)						
Denekler	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
1	1383,2	802,12	786,31	605,97	657,36	635,36
2	1184,2	827,16	683,84	728,29	856,12	785,15
3	1260	802,12	528,51	576,79	754,61	465,75
4	1317,9	698,69	554,59	301,69	652,32	489,65
5	1610,3	799,96	426,65	807,97	499,65	748,33
6	1542,3	801,47	658,69	532,19	637,26	532,13
Ortalama	1383	788,59	606,43	592,15	676,22	609,40
SD	150,50	41,34	117,02	159,95	109,64	123,70

Tibial taraf myelin kalınlıkları (nm)						
Denekler	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
1	1233,2	554,59	708,63	584,89	812,84	731,23
2	1238,9	641,23	967,1	856,98	569,56	687,45
3	1216,2	862,14	832,83	407,85	696,25	598,36
4	1294,7	741,36	426,65	541,11	714,21	700,25
5	1584,7	597,42	730,44	429,98	689,41	803,23
6	1454,9	806,56	841,23	798,96	511,02	678,98
Ortalama	1337,10	700,55	751,15	603,30	665,55	699,92
SD	136,65	111,41	167,81	170,82	98,88	61,32

Tablo 10: Myelinli aksonların elektron mikroskopisi sırasında alınan randomize 5 ayrı kesitte $900 \mu^2$ başına düşen myelinli aksonların myelin kalınlıklarının sayısal ortalaması (nm)



Grup 1 peroneal taraf (40x ve 10.000x büyütmelerde)



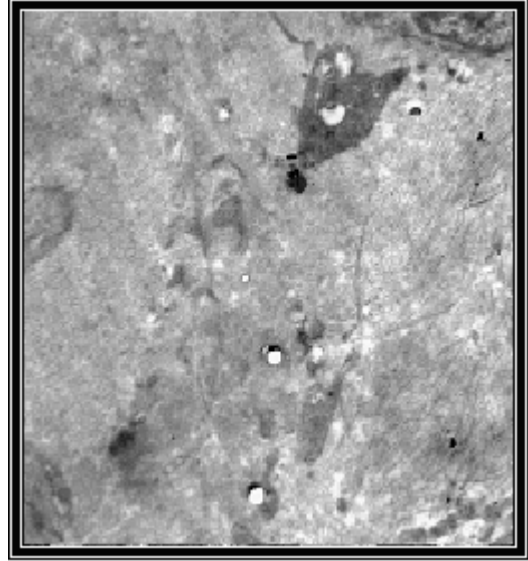
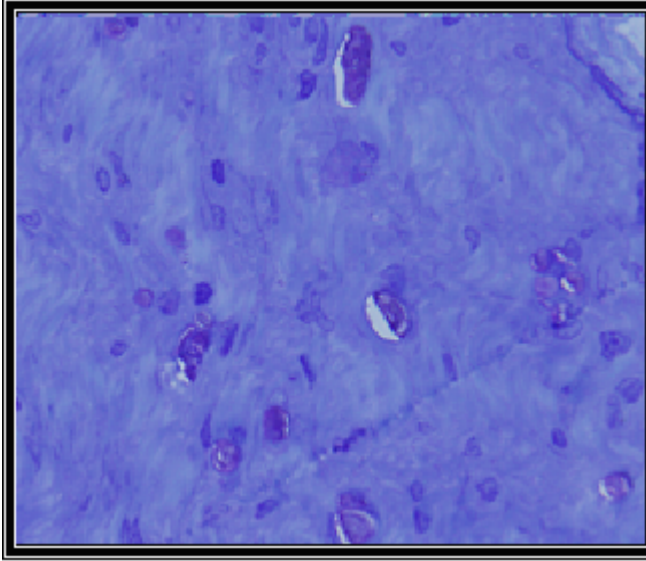
Grup 1 tibial taraf (40x ve 10.000x büyütmelerde)

Grup 1 peroneal taraf

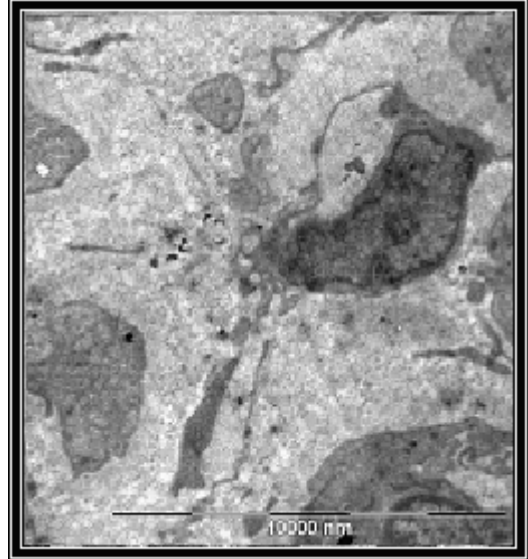
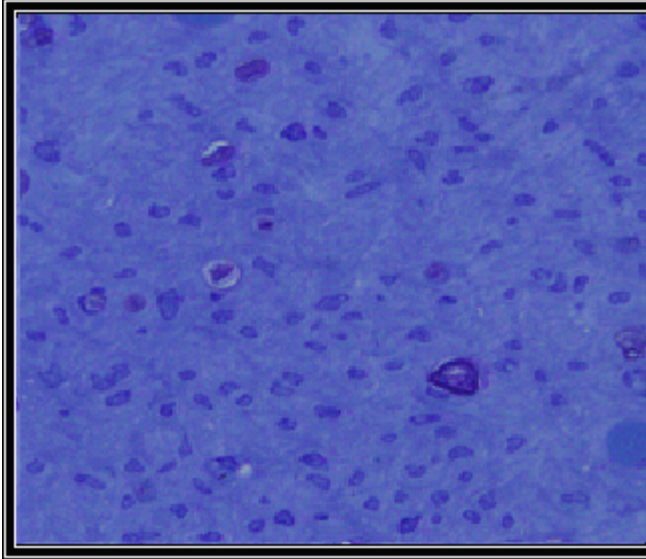
Normal sınırlarda sinir dokusu

Grup 1 tibial taraf

Normal sınırlarda sinir dokusu



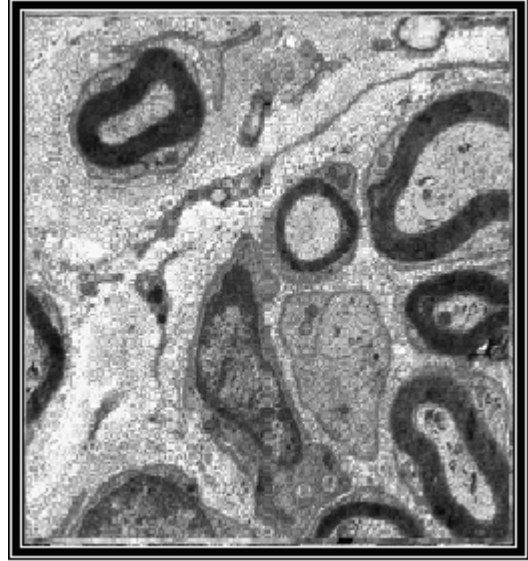
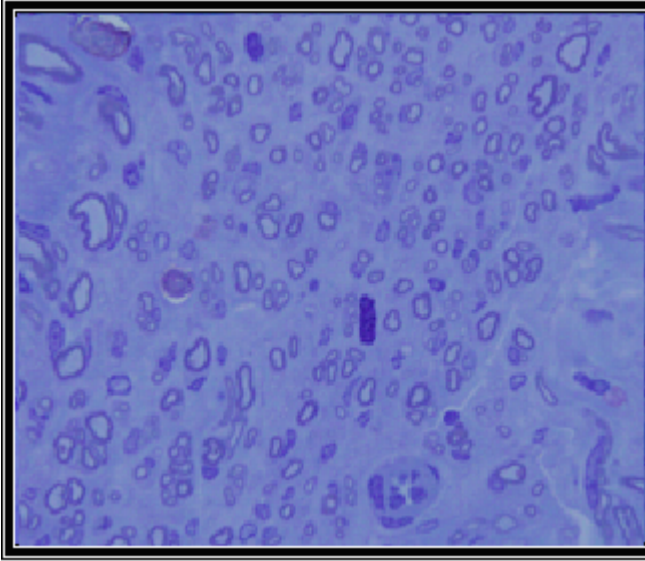
Grup 2 peroneal taraf (40x ve 10.000x büyütmelerde)



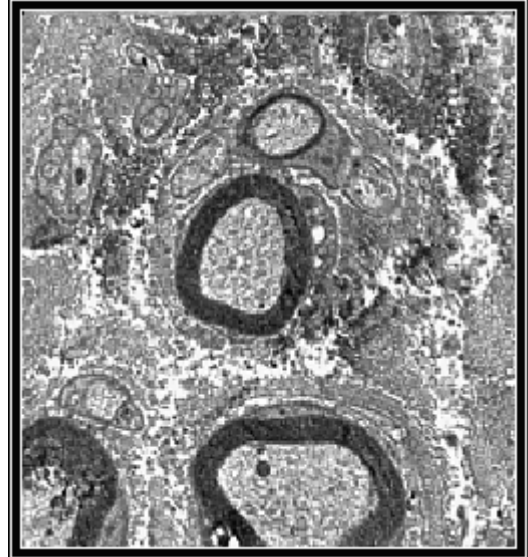
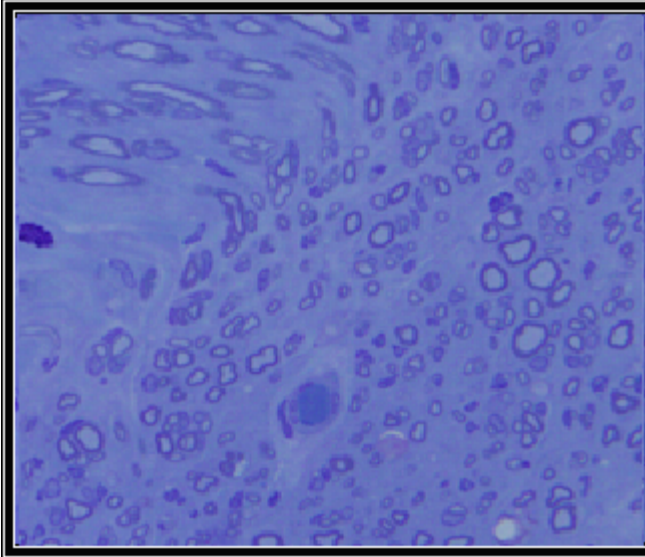
Grup 2 tibial taraf (40x ve 10.000x büyütmelerde)

Grup 2 proneal ve tibial taraf

Tüm alanlarda yoğun kollagen demetleri ve yaygın fibroblastlar dokuya hakim olduğu görülmektedir. Az alanlarda myelinli ve myelinsiz lifler gözlenmektedir.



Grup 3 peroneal taraf (40x ve 10.000x büyütmelerde)



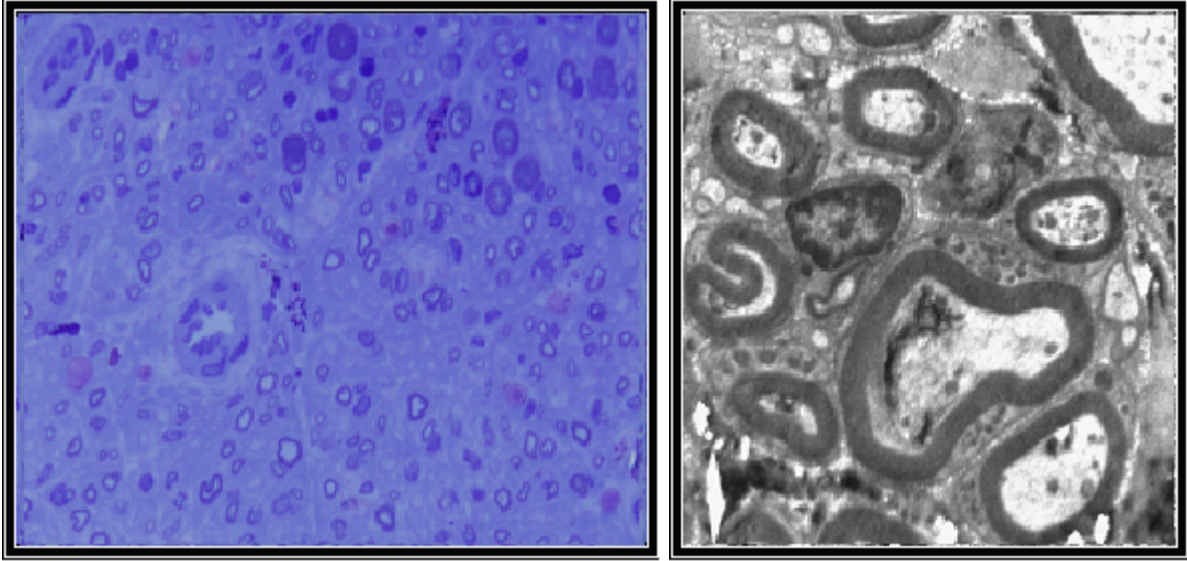
Grup3 tibial taraf (40x ve 10.000x büyütmelerde)

Grup 3 peroneal taraf

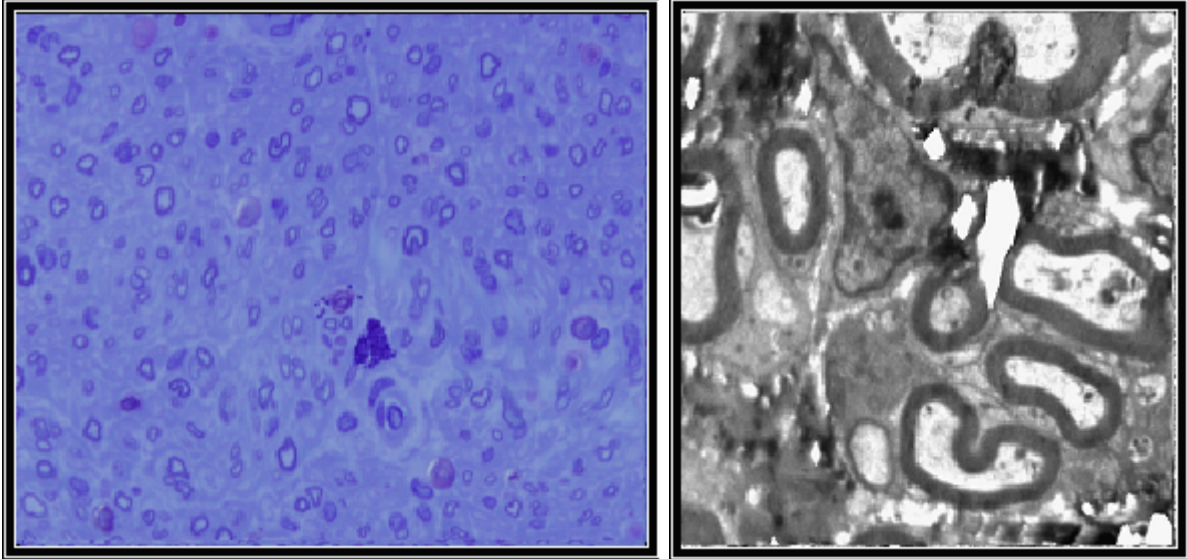
Fibroblast ve Schwann hücre proliferasyonu mevcuttur. Fibroblastik aktivite gözlenmektedir. Myelinizasyon mevcuttur ve akson myelinizasyonu gözlenmektedir. Çok sayıda perivasküler, peri ve endoneural bölgede mast hücreleri vardır.

Grup 3 tibial taraf

Endoneuriumda belirgin bağ dokusu artışı mevcuttur. Bağ dokusu lifleri içerisine gömülmüş çok sayıda myelinsiz sinir lifleri gözleniyor. Myelinizasyon belirgindir.



Grup 4 peroneal taraf (40x ve 10.000x büyütmelerde)



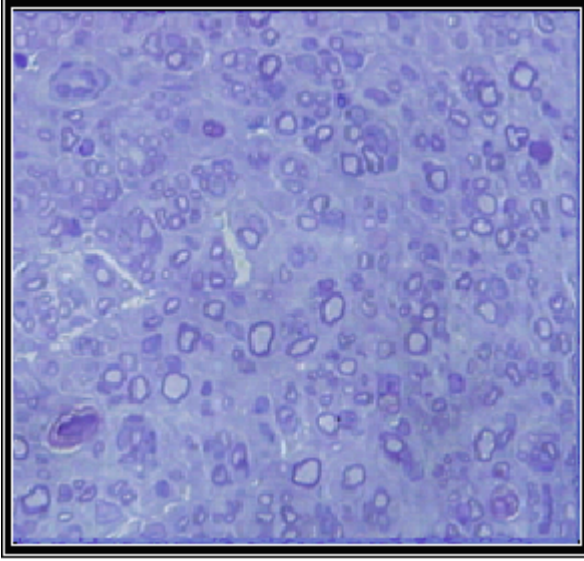
Grup 4 tibial taraf (40x ve 10.000x büyütmelerde)

Grup 4 peroneal taraf

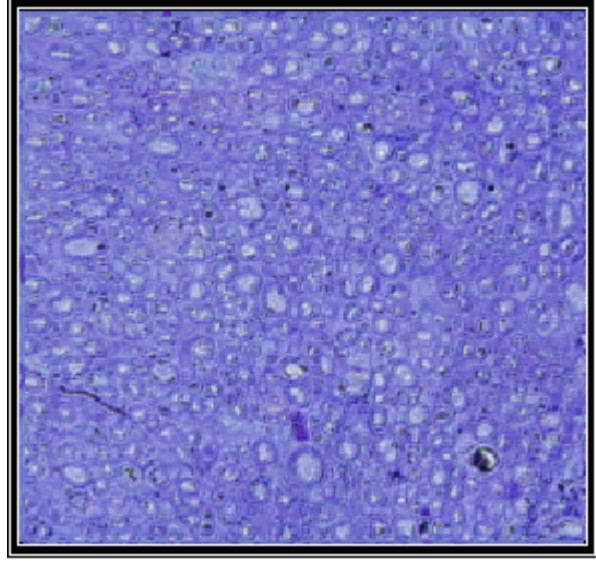
Az miktarda aksonal çekilme mevcut olup, myelin lameller dejenerasyon yoktur. Ancak aksonal çekilmeye paralel düzensizlik görülmüştür. Myelinsiz lifler çok sayıda ve Schwann hücreleri ile ilişkilidir. İç ve dış mezakson belirgindir.

Grup 4 tibial taraf

Schwann hücre sayısı fazla (proliferasyon). Myelinizasyon belirgin. Aksonal çekilme yoktur. Myelin lameller dejenerasyon yoktur. Myelin Şekil boşluğu mevcuttur. Myelinsiz lifler gözlenmekte ve Schwann kolaylıkla seçilmektedir. Perinörium ve endoneuriumda mast hücreleri gözlenmektedir.



40x kasa dikilmiş taraf



40x sinir koaptasyon tarafı

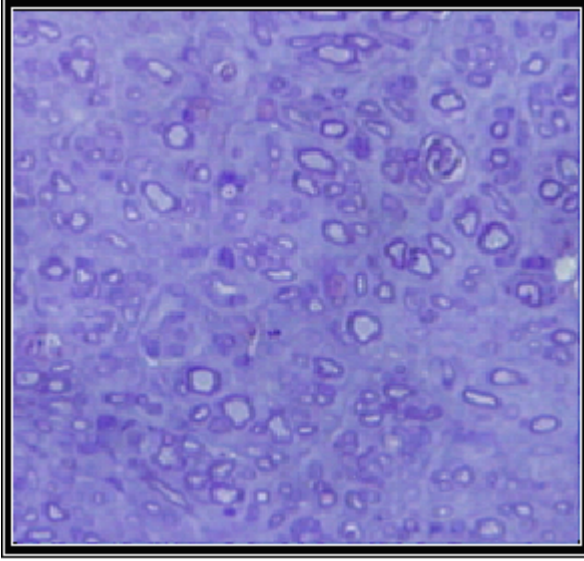
Grup 5

Grup 5 kas tarafı

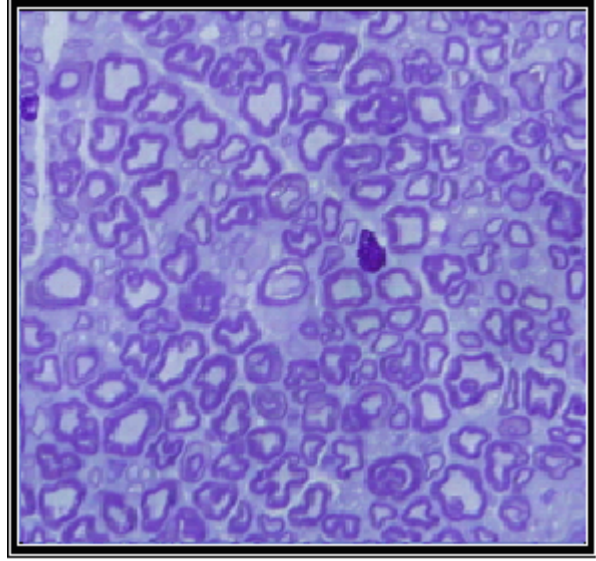
Aksonal çekilme ve mitokondrial kristaller mevcuttur. İç ve dış mezakson belirgindir.

Grup 5 sinir tarafı

Aksonda vakuolizasyon, aksonal çekilme, fibroblastik aktivitede ve kollagen liflerinde artış mevcuttur.



40x serbest bağlama yapılan taraf



40x sinir koaptasyonu yapılan taraf

Grup 6

Grup 6 serbest taraf

Aksonal çekilme mevcuttur. Yoğun kollagen demetleri ve yaygın fibroblastlar dokuya hakimdir. Myelinizasyon az miktarda görülmektedir. İleri derecede fibrozis ve fibroblast hücre artışı gözlenmektedir.

Grup 6 sinir tarafı

Normal periferik sinir yapısında fibroblastik aktivitede ve kollagen liflerinde artış mevcuttur.

Tartışma

Periferik sinirler, neoplazmlar, travmalar, kompresyon durumları, enflamatuar hastalıklar, enfeksiyonlar, cerrahi işlemler gibi çok çeşitli nedenlerden dolayı zarar görebilmektedir. Yaralanmanın etiyolojik özelliğine, şiddetine, yaralanmanın bulunduğu anatomik lokalizasyon göz önüne alınarak farklı şekillerde onarımlar yapılabilir.

Bazen yaralanma bölgesinde primer onarım mümkün olamamaktadır ve bu durumda en çok tercih edilen yöntem otolog sinir grefti ile onarımdır (130,161). Bu yöntemin getirdiği problemler arasında intakt sinir ile sinir grefti arasındaki çap uyumsuzluğu, cerrahi uygulama zorluğu, fibrozis ve greftin vaskülarizasyonu ile ilgili sıkıntılar sayılmaktadır. Donör sinirden alınan greftin defektli sinire koaptasyonun yapıldığı bölgede meydana gelen fibröz doku akson rejenerasyonunu olumsuz yönde etkilemektedir. Bu fibrotik bölge mekanik olarak proksimalden gelen yeni akson filizleri koaptasyon bölgesinin distaline geçişi sınırlandırmaktadır. Sinir grefti ile alıcı sinir arasındaki çap farkını ortadan kaldırmak için çoklu kablo greftler kullanılmaktadır fakat bu işlem beraberinde birden fazla sinir koaptasyonu ve dolayısı ile daha fazla fibrozis anlamına gelmektedir (130).

Endonörium ve perinöriumda fibroblast aktivitesi sonucu kollajen sentezi olur. Yeni oluşan endonöral kollajen Schwann hücre bazal laminasının dışında oluşur ve endonöral tüp kalınlığında artışa neden olur. Eğer reinnervasyon uzarsa kollajen daha yoğun bir hal alır ve endonöral tüp daralır. Skar dokusu oluşumu yara iyileşmesinin bir sürecidir (112,113). Rejenerasyon ünitesinin distale ilerlemesi kesi alanında geri kalır ve bu da skarda gecikme olarak adlandırılır. Bu süre sıçanlarda 48 saat iken insanlarda birkaç haftaya kadar uzayabilir. Aksonların rejenerasyon hızı türlere bağlı olarak değişmektedir. Kemirgenlerde 2- 3,5 mm/gün iken insanlarda 1–2 mm/gündür (21,22,114).

Sinir yaralanmalarında onarım seçeneklerinden biri olan uç-yan sinir onarım fikri ilk olarak 1903' te Ballance ve ark. tarafından ortaya atılmış ve fasiyal paralizisi olan bir olguda uygulanmıştır (131). Sonraki 90 yıl boyunca kabul görmeyen yöntem 1992'de Viterbo ve ark. tarafından tekrar tanıtılmış ve popülerize edilmiştir. Yine Viterbo ve ark. tarafından intakt tibial sinir ile proksimali transekte edilmiş olan peroneal sinir arasına köprü olarak sinir grefti konmuş ve anterior tibial kasa köprü üzerinden iletinin gerçekleştiği gösterilmiştir (135). (Şekil 3)

Daha sonraları, Isaacs ve ark. tarafından, Viterbo'nun bu çalışmasında sözedilen sinir grefti ile peroneal sinir arasındaki koaptasyonun farklı bir onarım yöntemi olduğunu ve "ters uç-yan onarım" olarak adlandırılması gerektiğini söylemiştir. Isaacs ve ark. tarafından sıçan tibial sinir proksimalini kestikten sonra, daha önce kesmiş olduğu peroneal sinirin gövdesinin yan duvarında perinöral pencere açarak koaptasyonu sağlanmıştır. Bu çalışmanın sonucunda fonksiyonel olarak primer onarılmış peroneal sinir hasarından farksız sonuçlar elde etmişlerdir (153). (Şekil 4)

Yine bu çalışmanın tartışmasında Viterbo ve ark. iki sinir arasında "köprü" olarak adlandırdıkları sinir greftinden de söz edilmektedir. Viterbo'nun bu çalışmasında distaldeki kesik bir siniri onarmak üzere sağlam sinir ile yaralı sinir distal ucu arasına sinir grefti konulmuş, her iki uçta sinir koaptasyonu yapılmıştır (135). Isaacs ve arkadaşları bu köprü greftin distalindeki onarımın aslında bir ters uç-yan onarım olduğunu fakat kendi çalışmalarında greft kullanmaması ile farklı bir çalışma yaptıklarını belirtmiştir. Bununla birlikte ne Isaac ne de Viterbo iki ayrı kas grubunun innervasyonunu amaçlamadığı için koaptasyon noktasından hedef kas grubunun bulunmadığı diğer uca aksonal ilerleme olup olmadığını değerlendirmemiştir.

Ters uç-yan terminolojisi içerdiği "uç" ve "yan" ifadeleri açısından son derece şanssız bir ifadedir. Görüldüğü üzere uç-yan sinir onarımlarında grefti intakt sinir duvarına koaptasyonu yapılmakta ve normal trasesinde ilerleyen aksonların bu grefte saparak ilerlemeleri beklenmektedir. Oysa ters uç-yan sinir onarımında intakt sinirin tamamı sinir greftine açılan pencereye yönlendirildiğinden yeni aksonların yönlendirildikleri hedef organa ulaşmaktan başka bir alternatifi kalmamaktadır. Birçok Araştırmacı bu nedenlerden dolayı, bilerek veya bilmeyerek ters uç-yan terimini kullanmaktan kaçmaktadır. Isaac ve ark. son derece açık olarak, bu onarımı ve terminolojiyi literatüre bu şekilde kazandırdığından çalışmamız süresince "ters uç-yan onarım" ifadesi kullanılmıştır. Sözünü ettiğimiz terminolojik karışıklık nedeni ile literatürde, ters uç-yan onarım uygulamalarını takip etmek zordur.

Bazı çalışmacılar nöromanın cerrahi tedavisinde nöromayı bypass edecek köprü amaçlı bir sinir grefti kullanmayı fonksiyonel morbiditeyi en aza indiren yöntem olarak önermektedirler (154-158). Özellikle "neuroma-in-contunity" olgularında, nöromanın disseksiyonu sırasında genellikle kitlenin içerisinde yer alan intakt sinir lifleri de hasar görebilmektedir. Nöroma fonksiyonel önemi olan bir

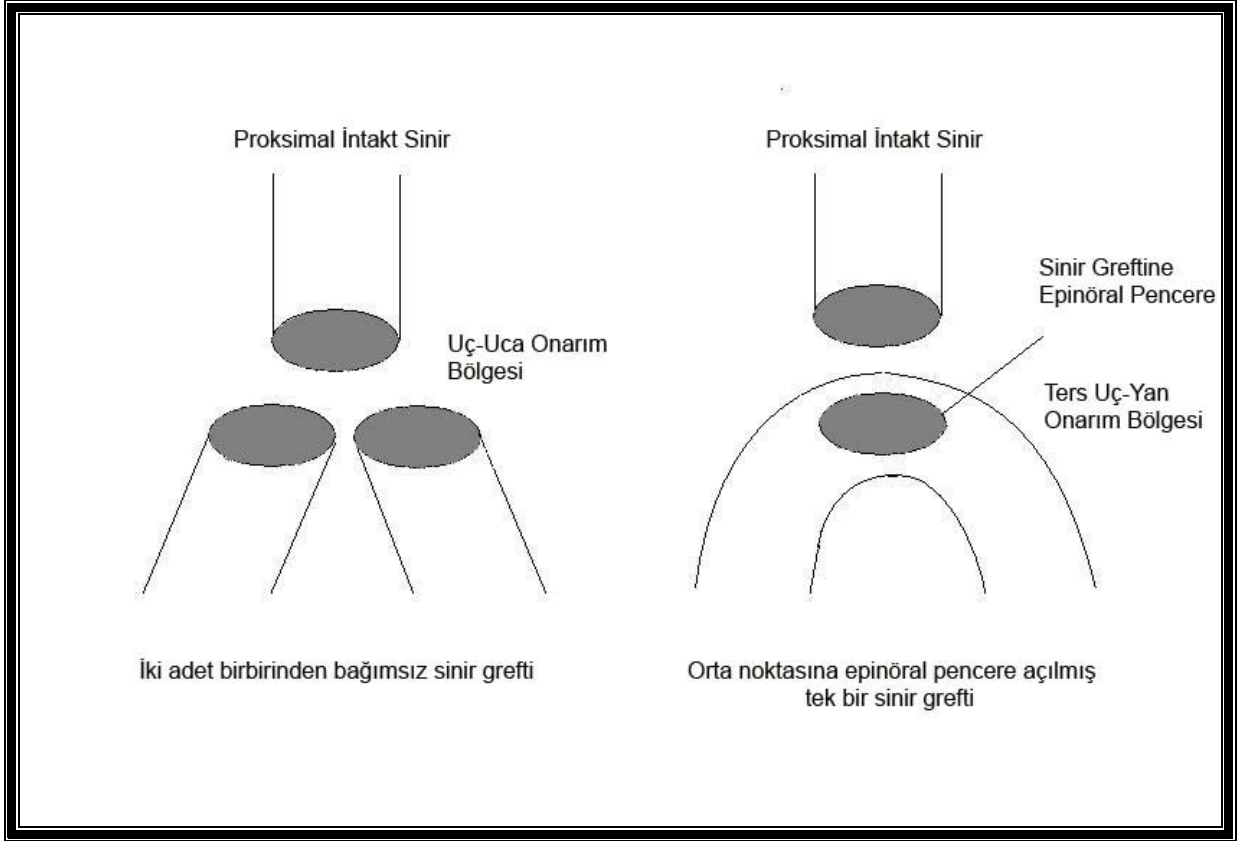
lokalisasyonda ve ek cerrahi morbiditeden kaçınılmak isteniyorsa nöromanın bypass edilmesi önerilmektedir. (154–158). Bu prosedürlerde koaptasyonun distaldeki bacağı teknik olarak ters uç-yan koaptasyon olduğu vurgulanmamıştır. Yine bu çalışmaların amacı dışında olduğundan distaldeki ters uç-yan onarım sahasından akson filizlerinin nöromaya doğru retrograd ilerlemesi olup olmadığı araştırılmamıştır.

Frey ve ark. tarafından tek taraf inkomplet fasiyal paralizisi olan olgularda fonksiyonel augmentasyon amaçlı olarak karşı taraftan sural sinir grefti ile çapraz yüz ameliyatı (cross face) yapmış ve ikinci basamakta ise distal ucu paralizili tarafta hipoaktif sinire uç-yan koaptasyon yapmıştır. Paralizili tarafa uzanan sural sinir grefti hipoaktif fasiyal sinir dalınına yandan açılan epinöral pencere ile koaptasyonu yapılmıştır. Çalışmacı bu onarımı “distal end to side” nörorafi olarak adlandırmıştır, oysa bu yöntem daha önce de Isaacs ve ark. tarafından tanımlanan ters uç-yan koaptasyondur. Yine bu çalışmada distal uç-yan onarım yapılan tarafta aksonal ilerlemenin distale yani denerve kasa doğru olduğunu, proksimale doğru aksonal bir ilerleme olmadığı ifade edilmektedir (159). Frey ve ark. bu çalışmada histomorfometrik ve elektrofizyolojik bir çalışma yapmamışlardır. Ortaya attıkları bu görüşü için, McCallister ve ark. intakt sinir gövdesini köprü olarak kullandıkları bir çalışmayı kaynak göstermişlerdir (192). Bu çalışmada ters uç yan onarım yapılan noktanın proksimaline aksonal ilerleme olup olmadığı değerlendirilmemiştir. Özbek, McCallister’ın sözünü ettiğimiz çalışmasının bazı parametrelerini değiştirerek tekrarlamış ve proksimal koaptasyonun ne kadar etkili olduğunu araştırmışlardır. Bu çalışmanın da sonucunda yeni aksonal ilerlemenin ters uç-yan koaptasyon sahasının proksimaline doğru da olmadığı yönünde bir bilgi bulunmamaktadır. Sadece distalde hedef organa doğru ilerleme gösterilmiştir. Bu sonuç son derece doğaldır çünkü çalışma sadece distale doğru olan aktiviteleri değerlendirmek üzere kurgulanmıştır (193).

Periferik sinir onarımlarındaki bir diğer sorun birden fazla hedef kasın innerve edilmesi amaçlandığında klasik çözüm seçenekleri yetersiz kalabilmektedir. Zhang ve ark. sıçanlarda yaptığı deneysel çalışmada muskulokutanöz ve ulnar sinirleri insize etmiş ve her ikisini ulnar sinire uç-yan olarak koaptasyonu sağlanmıştır. Araştırmacı bu çalışmada tek bir uç-yan onarım yapılan gruplarla iki uç-yan onarım yaptığı bu grubu karşılaştırmış ve sonuçları farksız bulmuştur. Bu çalışmada sonuçların başarısı için perinöral pencere açılmasının önemli olduğu ek olarak vurgulanmıştır (194). Zang ve ark. bu çalışmasında fazladan yapılan koaptasyonların oluşturacağı skar

formasyonuna değinilmemiştir. Ayrıca klinikte bu tarz yaralanmalarda genellikle sinir greft uygulaması gerekmekte olup Zang ve ark. çalışmasında sinir greftleri kullanılmamıştır.

Klinikte karşılaşılan periferik sinir hasarlanmalarında, bazen yaralanan siniri onaracak bir proksimal uç bulunamayabilir. Aynı zamanda birden fazla hedef kası nörotize etme ihtiyacı duyulabilir. Nörotize etmek istediğimiz her hedef kas için bir intakt sinirin sakrifiye edilmesi pratik bir uygulama olmayacaktır. Ters uç-yan onarım yöntemi kullanılarak, tek bir sinirin sakrifiye edilmesi ile, iki hedef kasın innervasyonu sağlanabilir. Böyle bir yaralanmada, uç-uca onarım yöntemi kullanılması halinde, hedef kasa ait sinirlerin her ikisi tek bir donör sinire kopatasyonu sağlanacak ve bunu takiben skar formasyonu nedeni ile oldukça fazla bir mekanik bariyer oluşacaktır. Çünkü yaralanma bölgesinde, proksimaldeki donör sinirin çapı distaldeki her bir sinirin çapı yaklaşık olarak eşittir. Bu nedenle distaldeki iki sinir greftinin transvers yüzey alanlarının toplamı proksimaldeki donör sinirin kesit alanından daha fazla olmaktadır. Bu tarz onarımın sonuçları iki sinir arasında yapılan uç-uca onarım gibi olmayacaktır. Oysa ters uç-yan onarımında bir sinir greftinin orta bölgesine açılacak pencere aracılığı ile herhangi bir çap uyumsuzluğu olmaksızın onarım yapılması mümkündür. Ancak bu şekilde proksimalden gelecek olan yani aksonların tümümü hedefe yönlendirilebilecektir. (Şekil 6)



Şekil 6: Proksimalde tek bir intakt siniri kullanılarak, distaldeki iki hedef kasın innervasyonu amacı ile yapılan uç-uca koaptasyon ile ters-uç yan koaptasyonun teknik olarak karşılaştırılması. Neden uç-uca koaptasyonda çap uyumsuzluğu olduğu şematik olarak gösterilmektedir.

Ters uç-yan sinir onarımını histomorfometrik ve fonksiyonel olarak değerlendirmek üzere klinikte karşılaşılan problemlerin deneysel bir modelini oluşturduk. Bu model üzerindeki çalışmamızda intakt tek bir motor fasikül ile denerve edilmiş iki hedef kasın innervasyonunu amaçladık.

Sıçan periferik sinirinin anatomik yapısının iyi bilinmesi, kolay çalışılabilir olması ve histolojik yapısının insan periferik sinirlerine benzemesinden dolayı, sıçanlar periferik sinir cerrahisi çalışmalarında sıkça kullanılmaktadır. (175,176) Bizde bu çalışmamızda Wistar cinsi erişkin dişi sıçanlar kullandık.

Burada sunduğumuz çalışmada Grup 4'te sıçanın siyatik siniri dallarına ayrıldığı noktadan peroneal sinir insize edilerek 2 cm sinir grefti alınmıştır. Ardından tibial sinir distalinden kesilmiştir. Tibial sinirin proksimaldeki serbest ucu, sinir greftinin ortasında açılan perinöral pencereye koaptasyonu sağlanmıştır. Bu şekilde sinirin her

iki ucuna doğru aksonal ilerlemenin olduğu ortaya konmuştur. Sinir greftin serbest olan iki ucu distalde kesik olan peroneal ve tibial sinire uç-uca koaptasyonu sağlanmıştır. Proksimalde yaptığımız koaptasyon daha önce Isaacs ve ark. tarafından ters uç-yan onarım olarak tanımlanmış olmasına rağmen, bizim burada uyguladığımız gibi, bir sinir grefti aracılığı ile kullanımına literatürde rastlanılmamıştır.

Ters uç-yan onarımın etkinliğini karşılaştırabilmek amacı ile aynı klinik problemin çözümü için Grup 3'te sinir greftinin uç-uç olarak koaptasyonu sağlanmıştır. Öncelikle tüm gruplarda olduğu gibi peroneal sinirden 2 cm sinir grefti alınmış ve tibial sinirin distali insize edilmiştir. Sinir grefti ortadan ikiye bölünerek 1 cm' lik 2 adet sinir grefti elde edilmiştir. Distaldeki onarım Grup 4'te olduğu gibi tibial ve peroneal sinirin insize edilmiş uçlarına uç-uç olarak koaptasyon yapılırken proksimalde her iki sinir grefti de tibial sinirin serbest ucuna uç-uç olarak koaptasyonu yapılmıştır. Kabul edilen görüşler doğrultusunda uç-uç onarım en iyi onarım yöntemidir (1,100). Bunun yanında, burada tartışılan klinik problemde klasik bir uç-uca onarım ile uygun bir fiziksel temas yüzeyi oluşmamaktadır ve bu durum onarımın başarısını olumsuz yönde etkilemektedir. Bir koaptasyonun amacı proksimalden gelecek yeni aksonların koaptasyon sahasından rahat geçişine imkan tanımaktır. Burada tartışılan problem klinikte nispeten az rastlanan bir durumdur fakat klasik uygulamalardan daha farklı bir yaklaşım gerektirmektedir. Çünkü klasik uç-uca onarım planlanır ise (Grup 3'te olduğu gibi) koaptasyonun sağlanması gereken 3 adet sinir ucu bulunacaktır. (Şekil 6)

Grup 3'e baktığımızda, proksimalde intakt alıcı sinir olarak bulunan tibial sinir ve distaldeki sinir greftlerinin her biri yaklaşık aynı çapa sahiptir. Bu durumda proksimalde tibial sinirin insize ucunun sahip olduğu geometrik yüzey alanı 2 adet sinir greftinin yüzey alanlarının toplamı ile uç-uca koaptasyonu sağlanmaya çalışılmaktadır. Bu durumda sinir greftlerinin yaklaşık %50'si koaptasyon alanının dışına taşma eğilimindedir. Bu çap uyumsuzluğunu gidermek üzere taşan kısımların epinöriumu ile tibial sinir epinöriumu arasında destek dikişler konulmuştur. Yabancı cisim reaksiyonunu ve travma etkisini en alt seviyede tutmak için dikiş konulurken 11/0 polipropilen ip kullanılmıştır. Koaptasyonlarda genellikle 4 adet dikiş konulmuştur. Bazı deneklerde çap uyumsuzluğunu giderebilmek amacıyla 5. dikiş konulması gerekmiştir. Az sayıda dikiş ve atravmatik yaklaşıma rağmen koaptasyon sahası makroskopik olarak Grup 4'e göre daha irregüler görünmektedir. Oysa Grup 4'e bakıldığında peroneal sinir greftinin ortasına açılan epinöral pencerenin yüzey

alanı tibial sinirin kesit uç alanına eşit olması mekanik olarak düzgün sınırlı bir onarıma imkan tanımıştır. Dört adet dikiş bu onarım için ihtiyaç fazlası olmakla birlikte, yabancı cisim yükünü gruplar arasında eşit tutmak amacı ile dikiş sayısı ve dikiş materyali tüm gruplarda eşit tutulmuştur.

Siyatik sinir hasarında fonksiyonel geri dönüşümü değerlendirecek mükemmel tek bir yöntem yoktur (177). Medinaceli'nin tanımladığı ve Bain tarafından hesaplamaları düzenlenen siyatik fonksiyonel indeks en sık kullanılan metodlardan biridir (174,178). Yöntemin uygulanmasına ilişkin birçok Araştırmacı tarafından modifikasyonlar önerilmiştir (178,179,180). 1978'de Hasegawa 1. ve 5. parmaklar arası mesafenin (TS) ve 2. parmak ve 4. parmak arası mesafenin (ITS) parametrelerinin siyatik sinir fonksiyonu ile ilişkili bağımsız faktörler olduğunu ortaya koymuştur (181). Bervar tarafından, daha hızlı ve pratik olarak uygulanabilen statik siyatik indeks (SSI) kavramı oluşturulmuş ve matematiksel formülü ortaya konulmuştur. Plantar görüntüler bir kamera ile tespit edilmektedir (182). Yeni formülde, eski ölçümlerdeki en tartışmalı parametre olan baskı uzunluğu (PL) formül dışı bırakılmıştır. Sonuçlar klasik SFI ile mükemmel korelasyon gösterdiği ve siyatik sinir fonksiyonun değerlendirilmesinde başarılı olduğu ortaya konulmuştur.

Bu çalışmada süresince denekler postoperatif 4., 8. ve 12. haftalarda statik siyatik indekslerinin (SSI) hesaplanabilmesi amacıyla arka ayak taban fotoğrafları alınmış ve SSI formülüne uygun olarak hesaplamalar yapılmıştır. Çalışma sonuçlarında görüldüğü üzere ilk 8 hafta içerisindeki yürüme analizleri onarım yapılmayan Grup 2 ile onarım grupları arasında istatistiksel bir farklılık görülememiştir. Bununla birlikte, onarım yapılmamış olan Grup 2'de de yürüme analizlerine göre bir iyileşme süreci gözlenmektedir. Bununla birlikte histomorfometrik çalışmamızın sonuçları bu iyileşmeyi açıklayabilecek düzeyde değildir. Elektron mikroskopik değerlendirmelerinde son derece az sayıda myelinli akson mevcuttur. Bu az sayıdaki myelinli aksonlardaki myelin kalınlıklarına bakıldığında, yeni gelişmekte olan bir myelinizasyonu düşündürmektedir. Sözünü ettiğimiz bu yeni aksonların, aradaki defekte rağmen, proksimaldeki bağlanmış siyatik sinirden oluşabilecek kaçaklardan kaynaklandığı düşünülmüştür. Bu nedenle Grup 2'deki iyileşme eğilimi, sıçanların yeni durumlarına uyum sağlayarak daha düzgün olarak basmalarına ve serebral plastisite geçirebileceklerini düşündürmektedir. Ancak 8-12 hafta aralığında onarım grupları, onarım yapılmayan Grup 2'den istatistiksel olarak anlamlı ölçüde farklılaşmıştır. Onarım gruplarından ters uç-yan onarım yapılan grup (Grup 4) uç-uç

onarım yapılmış olan (Grup 3) gruptan daha başarılı sonuçlar vermiştir ($P = 0,036$). Grup 5'te gastroknemius kasının sinir pedikülü olmamasına ve Grup 6'da gastroknemiusun hiç nörotize edilmemesine rağmen Grup 3'ten daha başarılı görünmesinin ekstansör digitorum kasının daha etkin nörotize olması ile açıklanabilir. Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'da peroneal tarafta sinir greftinin koaptasyonunun sağlandığı sinir pedikülü sıçanın bacak ekstansör kompartmanının ana motor sinirinin oluşturmaktadır. Ekstansör kompartmanın daha aktif olması parmaklar arası mesafeyi SSI değerlerinin olumlu yönde etkileyeceği açıktır. Sinir onarımı yapmak için tibial taraf, yani fleksör kompartmanı seçilmesi halinde Grup 5 ve Grup 6'nın başarısı bu sonuçlar kadar açık olmayabilir. Gerek sinir koaptasyonu için seçilen taraf gerek sıçanların serebral plastisite faktörünün yürüme analizi ile ilişkisi literatürde daha önce tartışılmamıştır ve konumuz dışındaki başka çalışmalara konu olabilir.

Ayrıca tüm denekler 4. hafta ayak tabanı fotoğraflamalarının ardından perkutan iğne elektrotlar ile EMG kayıtları alınmıştır. Perkutan EMG analizinde her denek için supramaksimal uyarı değeri belirlenerek ölçümler buna göre yapılmıştır. Supramaksimal uyarıda siyatik sinirin çevre dokudan izole edilmesi mümkün olmadığından yumuşak dokudan elektriksel ileti olmaktadır ve verilerin oluşan elektriksel parazitlerden arındırılması mümkün olmamıştır. Değerlendirme sonucunda gastroknemius kası tepe-tepe potansiyeli değerlerinde gruplar arasında farklılıklar görülmemiştir. Bu sonucun parazit yapan elektriksel iletiler sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Diğer parametrelere bakıldığında Grup 3 ve Grup 4'ün birbirinden farksız olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar perkutan EMG uygulamalarının güvenli olmadığını düşündürmektedir. Oysa 12. haftada açık olarak yapılan EMG de siyatik sinir yumuşak dokudan tamamen izole edildi ve hem gastroknemius kası hemde ekstansör digitorum ortaya konularak parazitlenme olmaksızın kayıtlar alınmıştır. Verilerin analizinde Grup 4'ün, gerek ekstansör digitorum longus kası gerekse gastroknemius kası için latans süreleri ve tepe-tepe potansiyel değerleri açısından Grup 3'ten daha etkin bir iyileşme gösterdiği istatistiksel olarak ortaya konulmuştur. Bununla birlikte, Grup 4'e ait veriler, kontrol grubunun (Grup 1) verileri kadar başarılı olamamıştır. Grup 5 te gastroknemiusa ait tepe-tepe potansiyel değerleri, Grup 3'ten daha başarılı bulunmuştur. Grup 5'te gastroknemius kasına ait bir sinir pedikülü olmamasına ve kasın direkt nörotize edilmesine rağmen Grup 3'ten daha başarılı kas tepe-tepe değerlerinin oluşması proksimaldeki sinir onarımının ters uç-yan şeklinde olmasına bağlanabilir. Bu onarım ile daha etkin bir aksonal ilerleme ve sonucunda

daha etkin bir aksiyon potansiyeli iletimiyle birlikte daha etkin kas tepe-tepe potansiyeli olduğu düşünülmektedir. Grup 5'e bakıldığında ekstansör digitorum longus kasına ait tepe-tepe potansiyeli değerlerinin Grup 3'ten daha başarılı sonuçlandığı görülmüştür. Bunun nedeni, yeni akson liflerinin peroneal taraftaki sinir dokusunu tibial taraftaki kas dokusundan nörotropizm açısından daha çekici bir hedef doku olarak algılamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yine bu varsayım, Grup 6'da daha da ön plana çıkarak kontrol grubu ile istatistiksel farklılığı olmayacak düzeyde başarılı bir ekstansör digitorum longus kası tepe-tepe potansiyeli oluşturmuştur. Tibial tarafın herhangi bir nörotropik çekiciliği olmaması nedeni ile oluşan yeni akson lifleri peroneal tarafta bulunan ekstansör digitorum longus kasına yönelmiştir. Burada söz edilen varsayımlar histomorfometrik olarak da doğrulanmıştır. Yöntemin çelişkilerinden biri sinkinezidir. İntakt sinir kaynağının tek olması ve iki ayrı hedef kasın birbirine zıt kompartmanda olması fonksiyonel bir problem yaratabileceği öngörülse de çalışmamız süresince hiçbir grupta bu yönde bir bulguya rastlanılmamıştır. Ayrıca sinkineziyi değerlendirecek ek parametreler çalışmanın amaçları dışındadır. Sinkinezinin deneysel olarak değerlendirilmesi ile ilgili çalışmalara literatürde de rastlanmamıştır.

Rejenerasyon ünitesi kavramı, myelinli aksondan kaynaklanan ve endonöral tüp içerisine doğru ilerleyen aksonal filizlenmelerden oluşmaktadır. Sinir onarım bölgesinde histolojik olarak çok sayıda akson görülebilmektedir ancak bu aksonlar uygun reseptörlere ulaşmadıkları takdirde fonksiyonel iyileşme tam olmamaktadır (177). Ancak yeterli sayıda ve nitelikte akson, doğru duysal/motor hedefe ulaşırsa fonksiyonel iyileşme oluşmaktadır (27). Akson sayısı deneysel grupta fazla çıkabilir, aksonlar distal hedeflerle uygun bağlantı yaptıktan sonra, gereğinden fazla ve uygunsuz olanlar (uygun uç organı bulamayan ve fasikül dışına yönelenler) atrofiye gitmektedirler. Bu süreç yıllar içerisinde oluşabilmektedir. Sıçan modelinde sinir onarımının distalindeki aksonların sayısının, onarımı takiben ilk birkaç ayda belirgin olarak arttığı, 3. ayda normalin iki katına çıktığı ve sinir onarımı sonrası ancak 2 yıl içinde göreceli olarak normal değerlere düştüğü gösterilmiştir (183). Akson çapı sinirin kaynağına ve olgunluğuna bağlıdır. Myelinizasyonun derecesi de aksonun olgunluğu ile ilişkili olabilmektedir (184). Myelinizasyon, akson hedef organa ulaşmadan önce oluşur ve fonksiyon ile ilişkili olmayabilir. O nedenle myelinli aksonların oranı rejenerasyon sürecinin değerlendirilmesinde daha iyi bir göstergedir (185,186).

Çalışmamızın 12. haftasında deneklerin sakrifikasyonunu takiben alınan peroneal taraflardan alınan sinir örneklerini elektron mikroskopik incelemesinde myelinsiz sinir lifleri sayısının Grup 4'te Grup 3'ten istatistiksel olarak daha fazla olduğu gösterilmiştir. Peroneal taraf myelinsiz sinir sayıları açısından Grup 4 ve Grup 5 arasında bir fark bulunmamıştır. Grup 6 ise hem Grup 5 hemde Grup 4'ten daha fazla myelinsiz sinir içermekte olduğu anlaşılmıştır. Grup 6'daki cerrahi prosedüre bakıldığında tibial tarafta yeni oluşan aksonların ilerlemesi için nörotrofik bir hedef organ olmaması nedeni ile peroneal tarafa doğru ilerlediği düşünülmektedir. Aynı şekilde benzer durum Grup 5 peroneal taraf myelinsiz akson sayılarında da mevcuttur. Grup 5'te akson sayısının Grup 6 kadar fazla olmadığı ve Grup 4'ten ise daha fazla olması, Grup 5'te direkt nörotize edilen gatrokinemius kasının Grup 4'teki sinir dokusundan daha az fakat Grup 6'daki serbest bağlamadan daha fazla nörotropik etkisi olduğunu düşündürmektedir. Benzer bulgular tibial tarafın değerlendirilmesinde de gözlenmektedir. Grup 4'te Grup 3'ten daha fazla myelinsiz sinire rastlanmıştır. Grup 5'te direkt kas nörotizasyonunun yapılmasına bağlanan bir myelinsiz akson sayısında azalma mevcuttur. Bununla birlikte Grup 5, Grup 6'dan daha fazla myelinsiz akson içerir. Bu sonuçlar da Grup 6 tibial tarafında serbest olarak serbest olarak bağlanmış olan sinir greftinde myelinsiz sinirlerin az rastlanmasının yine nörotrofik faktörlerin bu uçta yetersiz olması ile ilişkilendirilebilir. Myelinli aksonların değerlendirilmesinde de herhangi bir farklı durum yoktur. Yine Grup 4 te hem peroneal hem de tibial taraf myelinli akson sayıları Grup 3'ten istatistiksel olarak fazladır. Grup 5'te peroneal tarafta sinir koaptasyonu olduğundan aksonal ilerleme peroneal tarafı daha fazla seçmekle kalmamış burada myelinizasyonu da arttırmıştır. Grup 6'da ise, tibial tarafta nörotrofik özelliği olan herhangi bir dokunun olmaması nedeni ile aksonal ilerleme olmamış ve myelinizasyon peroneal tarafta daha fazla gelişmiştir.

Ana trunkusların karşılaştırılmasında myelinsiz akson sayıları açısından Grup 3 ve Grup 4 arasında istatistiksel bir farklılık bulunmazken Grup 5 ve Grup 6 Grup 3'ten daha fazla myelinsiz akson içermektedir. Myelinli aksonların sayımında ise ters uç-yan onarım yapılmış olan Grup 4, Grup 5 ve Grup 6, Grup 3'ten istatistiksel olarak daha fazla olduğu görülmüştür. Literatürde sinir onarımlarının proksimalindeki intakt sinire yönelik histomorfometrik değerlendirmelere nadiren rastlanmaktadır. Bir sinir yaralanmasını takiben kesinin proksimaldeki 1-2 Ranvier nodundan çok sayıda akson filizlenmesi oluşmaktadır ve ancak hedefe ulaşıp olgunlaşma sürecine girenler

myelinizasyona tabi olmaktadırlar (183–185). Ters uç-yan onarım yöntemi, aksonların distaldeki hedef kasa en ideal şekilde, skarsız ortamlardan ve atravmatik olarak taşınmasını sağladığı gibi distaldeki nörotrofik etkileşimlerin geribildirim mekanizmalarının da (retrograd nöro-transport) daha etkin çalışmasına neden olduğunu düşünmekteyiz. Ters uç-yan onarım yapılan gruplarında ana trunkusta gözlenen akson artışı bu hipotezle ilişkilendirilebilir.

Hangi şekilde olursa olsun ters uç-yan sinir onarımının akson hareketlerine, yönelimlerine olumlu yönde destek olduğu, ideal bir mikroçevre oluşturduğu görülmektedir. Hem myelinli hem de myelinsiz sinir liflerinin sayımlarında Grup 4'ün Grup 3'ten daha üstün değerler ortaya koyması ile istatistiksel olarak da gösterilmiştir. Grup 5 ve Grup 6'daki verilerin değerlendirilmesiyle de ters uç-yan onarımın ne kadar esnek bir sinir iyileşme ve büyüme ortamı oluşturduğu anlaşılmıştır.

Burada sunduğumuz çalışmamızda Grup 6'ya bakıldığında sinir ucunun serbest olarak bağlandığı tarafta dahi aksonal ilerleme mevcuttur. Bu uç nörotrofik açıdan baskın bir dokuya dikildiğinden ilerlemenin artacağı Grup 5 ve Grup 4'e ait hem elektromyografik hem de histomorfometrik verilerde gösterilmiştir. Nörotrofik açıdan en güçlü intrinsik dokunun yine bir sinir dokusu olduğu kabul görüşünden yola çıkılarak Grup 4'te koaptasyonun her iki tarafına eşit aksonal ilerlemenin olduğu gösterilmiştir.

Aynı anda iki ayrı hedef kas dokusunun tek bir intakt sinir ile nörotize edilmesi daha önce de birçok çalışmanın konusu olmuştur. Zhan ve ark uç-yan onarım tekniği ile ana sinir gövdesine birden fazla koaptasyon yaparak distaldeki birden fazla hedef kası innerve etmiştir (194). Yine Özbek ve ark uç yan koaptasyon onarımı ile distal sinir uçlarını birbirine 1 cm ara ile seri bağlamışlar ve distalde iki hedef kası başarılı bir şekilde innerve etmişlerdir. Bu yöntemi proksimal ucu kaybedilmiş çoklu sinir yaralanmalarında kullanılabileceği önerilmiştir (195). Her iki yöntemde yapılan klasik uç-yan onarım tekniğidir. Bir intakt sinire açılan epinöral pencereden koaptasyon yapılmıştır. Bir çok yayında aksonların bu epinöral pencereden kısıtlı geçişlerinden söz edilmektedir (60,149,151). Burada sunmuş olduğumuz ters uç-yan metodu ile iki hedef kasın innervasyonu modelinde intakt sinir grefte açılan epinöral pencere aracılığıyla koaptasyon yapılmaktadır ve ilerleyecek aksonların grefte mekanik olarak yönlendirilmesi söz konusudur. Böylece klasik uç-yan onarımda sıkça tartışılan,

nörotizasyonu sağlayacak aksonların kaynağı ile ilgili olumsuz hipotezler ekarte edilmiş olmaktadır.

Ters uç-yan onarımı sinir grefti ile birlikte uygulanması sonucunda intakt sinirden doğacak aksonların nörotrofik faktörlerden nasıl etkileneceği, distalde koaptasyon yapacak sinir ucu bulunmadığı durumlarda direkt kas nörotizasyonu uygulayıp uygulayamayacağımız konusunda fikir vermesi amacı ile Grup 5 ve Grup 6 çalışmaya eklenmiştir. Nörotropizm daha önce birçok şekilde çalışılmıştır. Genellikle uygulanan metod “Y “şeklinde bir tübularize yapı kullanılmış, bu “Y “ şeklindeki yapının ana bacağına intakt siniri, diğer 2 bacağı farklı dokulara dikmiştir. Ana bacadan uzayacak yeni akson filizlerinin hangi dokuya daha fazla yönelimi olduğu değerlendirilmiştir (187). Farklı araştırmacılar tarafından buradaki tübularize yapı yerine arter, denerve kas, silikon veya kas ile doldurulmuş ven gibi değişik yapılar konduit olarak kullanılmıştır (14–17). Sinir defekti onarımı için yapılan konduit çalışmalarından bilindiği gibi aksonlar en iyi bir sinir grefti içinde ilerlemektedir (160). Bu kabul gören bilgiye rağmen, sinir greftleri nörotropizm çalışmalarında konduit olarak sinir grefti kullanımına literatürde rastlanmamaktadır. Ters uç-yan sinir onarımı mantığını bir sinir grefti ile birleştirerek Grup 5 ve Grup 6’da tanımladığımız nörotropizm çalışma modeli elde edilmiştir. Bu şekilde aksonlar yönelimlerini en doğal haliyle gösterebileceği bir mikroçevre oluşturulmuştur. Çalışmamızın Grup 5’te sinir ucuna koaptasyonun yapıldığı greft tarafındaki hem myelinsiz hemde myelinli akson sayısı kasa dikilen taraftaki greftte gözlenen değerlerden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır. Ayrıca, akson sayılarında artış sinir onarımı yapılan tarafa lehinedir. Benzer şekilde, Grup 6 da sinir ucuna koaptasyonun yapıldığı greft tarafındaki hem myelinsiz hem de myelinli akson sayısı sinirin serbest olarak bağlandığı taraftaki greftte gözlenen değerlerden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır. Bununla birlikte, akson sayılarında artış sinir onarımı yapılan tarafa lehinedir. Ayrıca Grup 5 ve Grup 6’da sinir onarımı yapılan taraf sinir greftlerinde yapılan myelinsiz ve myelinli aksonların istatistiksel karşılaştırılmasında Grup 6’daki değerlerin anlamlı olarak fazla olduğu görülmüştür. Bunu veriler ana trunkus olan siyatik sinirden gelen yeni akson filizlerinin at nalı şeklindeki sinir greftinin heriki ucuna eşit miktarda yönelmediğini hatta Grup 6’da görüldüğü gibi serbest olarak bağlanan uçta daha az nörotropizm olduğundan diğer bacağına daha fazla yönelim olduğu şeklinde açıklanabilir.

Sonuç olarak bu çalışmada birden fazla hedef organın tek bir sinir fasikülü kullanarak innerve edilebileceği ve bu innervasyonun uç-uca onarım yönteminden daha başarılı olduğu gösterilmiştir. Terminolojik çağrışımlar nedeni ile klasik uç yan onarımı akla getirirse de ters uç-yan sinir onarımının sinir iyileşme mekanizmaları üzerine etkisi klasik uç-yan onarım yöntemlerinden tamamen farklıdır. Minimal travma, daha az skar, kolay manipülasyonları nedeni ile klinik uygulamada yer bulabileceği düşünülmektedir. Aynı çalışmanın, çok fasiküllü sinir greftlerinde tekrarlanması ile bu konudaki bilgilerimiz daha da arttırılabilecektir.

Grup 5 ve Grup 6'da gösterildiği üzere nörotropizm çalışmalarında kullanılmak üzere yeni bir model de tanımlanmış olmaktadır. Ana sinir gövdesinden distale ilerleyen akson filizleri sinir grefti uçlarındaki hedef organın özelliğine göre yönelimini seçmekte ve bu yönelim akson sayısı gibi kantitatif bir veriye dönüştürülebilmektedir. Bu model üzerinden yapılacak olan yeni çalışmalar ile hangi dokunun veya ekstrinsik ajanın ne derecede nörotropizmi etkileyeceğinin sayısal bir cetveli oluşturulabilecektir.

Bu çalışmamızda ters uç-yan ile birden çok hedef kasın inervasyonu sağlanırken, kontrol grubu olarak sağlıklı denekler ve uç-uç koaptasyon yöntemi kullanılmıştır. Literatüre bakıldığında ise tek bir sinir ile distalde birden çok hedef kas nörotizasyonunu amaçlayan çalışmalarda en sık kullanılan yöntem uç-yan onarım yöntemini modifiye etme şeklinde olduğu görülmektedir. Bu nedenle ters uç-yan onarımının sonuçlarını literatürde de rastladığımız çoklu uç-yan onarımları ile karşılaştırılmasının yeni çalışmalara konu olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmadaki grupların tümünde cerrahi işlemler tek seansta yapılmıştır. Hedef kas dokuları önceden denerve değildir. Burada sunduğumuz ters uç-yan sinir sinir grefti onarımı modeli kullanılarak, denerve edilmiş kas dokusunun nörotizasyona cevabı karşılaştırmalı olarak araştırılabilecek diğer bir konudur.

Periferik sinir yaralanmaları son derece ağır fonksiyonel ve estetik sıkıntıları olan patolojilerdir. Her geçen gün sinir iyileşmesi ve cerrahisi ile ilgili bilgilerimizin artmasına rağmen halen mükemmel sonuçlardan ulaşamamıştır. Yapmış olduğumuz deneysel çalışmanın sonuçları göz önüne alındığında, tek bir intakt sinirin ters uç-yan onarım yöntemi ve sinir grefti kullanılarak iki hedef kası başarılı bir şekilde innerve edebileceği gösterilmiştir. Yöntemin, klinik uygulamalara yeni kapılar açacağı ve başka çalışmalara temel oluşturabileceği kanısındayız.

Kaynaklar:

1. Terzis JK, Smith KL. Repair and grafting of the peripheral nerve. In McCarty (Ed) Plastic Surgery, WB Saunders, Philadelphia. 1990;Ch 19: 630 – 697.
2. Donaghy R. History of microsurgery, in Wilkins RH, Rengachary SS (eds) Neurosurgery. New York, McGraw-Hill Book Co. 1985,20 – 26.
3. Seddon HJ (ed). Peripheral Nerve Injuries, Medical Research Council Special Report No.282. London Her Majesty's Stationery Office, 1954
4. Thomas PK, Ochoa J, Berthold CH, et al. Microscopic anatomy of the peripheral nervous system. In Dyck PK(eds) Peripheral Neuropathy, WB Saunders, Philadelphia 1993;Ch (2)2:28–92.
5. Watchmaker G, Mackinnon SE. Nerve injury and repair. In Peimer CA, ed: Surgery of hand and upper extremity. New York, Mc Graw-Hill, 1996:1251–1276.
6. Vizoso AD. The relationship between internodal length and growth in human nerves. J Anat 1984;84: 342.
7. Koester JP. Functional consequences of passive membrane properties of the neuron. In Kandel ER, Schwartz JH, eds: Principles in neuroscience. New York, Elsevier, 1985;222–243.
8. Stanthaveerappa TR, Bourne GH. Perineural epithelium: a new concept of its role in the integrity of the peripheral nervous system. Science 1966;154:1464
9. Olsson Y, Rees T. Permeability of vasa nervorum mouse sciatic nerve studies by fluorescence and electron microscopy. J Neuropathol Exp Neurol 1971;30:105–119.
10. Larson DL, Rodin AE, Robertson DK, et al. Peripheral lymphatics: myth or fact. Am J Surg 1966;12:488.
11. Avcı G, Akan M, Yıldırım S. Sinir onarımı ve greftleme. T Klin J Med Sci 2002;22:428- 437.
12. Lundborg G. The nerve trunk. Nerve injury and repair. Churchill Livingstone, New York,s 1988;32-63.
13. Lundborg G, Dahlin L, Danielsen N, Zhao Q. Trophism and specificity in nerve regeneration. J. Reconstr. Microsurg. 1994;10:345–352.
14. Bitgood MJ, McMahon AP. Hedgehog and Bmp genes are coexpressed at many diverse sites of cell-cell interaction in the mouse embryo, Dev. Biol. 172 (1995);126–138.
15. Bunge MB, Wood PM, Tynan LB, et al. Perineurium originates from fibroblasts: demonstration in vitro with a retroviral marker, Science 243 (1989);222–231.

16. Olsson Y, Microenvironment of the peripheral nervous system under normal and pathological conditions, *Crit. Rev. Neurobiol.* 5 (1990);265–311.
17. Parmantier E, Lynn B, Lawson D, et al. Schwann cell-derived Desert Hedgehog controls the development of peripheral nerve sheaths, *Neuron* 23 (1999);713–724.
18. Stone D.M, Hynes M, Armanini M, et al. The tumor suppressor gene patched encodes a candidate receptor for Sonic hedgehog, *Nature* 384 (1996);129–134.
19. Bridenbach WC, Terzis JK. The blood supply of vascularized nerve grafts. *J Reconstr Microsurg* 1986;2: 689–707.
20. Del Pinal F, Taylor GI. The venous drainage of nerves, anatomical study and clinical applications. *J Hand Surg Br* 1990;43: 511.
21. Seckel BR. Enhancement of peripheral nerve regeneration. *Muscle Nerve* 1990;13:785–800.
22. Loescher AR, Robinson PP. The effect of surgical medicaments on peripheral nerve function. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1998;36:327–332.
23. Carroll WR. Nerve grafting and neuromuscular transfers. *Otolaryngol Clin North Am* 1994;27:125–138.
24. Wong BJ, Crumley RL. Nerve wound healing. An overview. *Otolaryngol Clin North Am* 1995;28(5):881–895.
25. Shenaq SM, Rabinovsky ED. Gene therapy for plastic and reconstructive surgery. *Clin Plast Surg* 1996;23(1):157– 171.
26. Stoll G, Müller W. Nerve injury, axonal degeneration and neural regeneration: basic insights. *Brain Pathol* 1999;9:313–325.
27. Saray A, Can B, Akbıyık F. Ischemia reperfusion injury of the peripheral nerve. *Microsurg* 1999;19:374–380.
28. Geddis MS, Rehder V. Initial stages of neural regeneration in *Helisoma trivolvis* are dependent upon PLA2 activity. *J Neurobiol* 2003;54:555–565.
29. Yawo H, Kuno M. Calcium dependence of membrane sealing at the cut end of the cockroach giant axon. *J Neurosci* 1985;5:1626–1632.
30. Lieberman A. The axon reaction: a review of the principal features of perikaryal response to axonal injury. *Int Rev Neurobiol* 1971;14:99–124.
31. Cajal RY. Degeneration and regeneration of the nervous system. London. Oxford Univ. Pres, 1928.
32. Lundborg G. Nerve regeneration and repair. *Acta Orthop Scand* 1987;58: 145–169.

33. Fu SY, Gordon T. The cellular and molecular basis of peripheral nerve regeneration. *Mol Neurobiol* 1997;14:67–116.
34. Nicholls DG, Budd SL. Mitochondria and neuronal survival. *Physiol Rev* 2000;80:315–360.
35. George EB, Glass JD, Griffin JW. Axotomy-induced axonal degeneration is mediated by calcium influx through ion specific channels. *J Neurosci* 1995;15:6445–6452.
36. Schlaepfer WW, Bunge RP. Effects of calcium ion concentration on the degeneration of amputated axons in tissue culture. *J Cell Biol* 1973;59:456–470.
37. Hirata K, Kawabuchi M. Myelin phagocytosis by macrophages and nonmacrophages during Wallerian degeneration. *Microsc Res Tech* 2002;57:541–547.
- 38 Perry VH, Brown MC. Macrophages and nerve regeneration. *Curr Opin Neurobiol* 1992;2:679–682.
39. Salonen V, Aho H, Roöytta M, Peltonen J. Quantitation of Schwann cells and endoneurial fibroblasts-like cells after experimental nerve trauma. *Acta Neuropathol (Berl)* 1988;75:331–336.
40. Clemence A, Mirsky R, Jessen KR. Non-myelin-forming Schwann cells proliferate rapidly during Wallerian degeneration in the rat sciatic nerve. *J Neurocytol* 1989;18:185–192.
41. Griffin JW, Hoffman PN. Degeneration and regeneration of the peripheral nervous system. In: *Peripheral neuropathy*. 3rd edn. Dyck P, Thomas PK (editors). Philadelphia: WB Saunders 1993;361–376.
42. Gillen C, Korfhage C, Müller HW. Gene expression in nerve regeneration. *Neuroscientist* 1997;3:112–122.
43. Strauch B, Rodriguez, Diaz J, et al. Autologous Schwann cells drive regeneration through a 6-cm autogenous venous nerve conduit. *J Reconstr Microsurg* 2001;17:589–595.
44. Lindholm D, Heumann R, Meyer M, Thoenen H. Interleukin–1 regulates synthesis of nerve growth factor in nonneuronal cells of rat sciatic nerve. *Nature* 1987;330:658–659.
45. Taniuchi M, Clark HB, Johnson JEM. Induction of nerve growth factor receptor in Schwann cells after axotomy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986;83:4094–4098.

46. Leah JD, Herdegen T, Bravo R. Selective expression of Jun proteins following axotomy and axonal transport block in peripheral nerves in the rat: evidence of a role in the regeneration process. *Brain Res* 1991;566:198–207.
47. Carroll SL, Miller ML, Frohner PW, Kim SS, Corbett JA. Expression of neuregulins and their putative receptors, erbB2 and erbB3, is induced during Wallerian degeneration. *J Neurosci* 1997;17:1642–1659.
48. Li H, Terenghi G, Hall SM. Effects of delayed re-innervation on the expression of c-erbB receptors by chronically denervated rat Schwann cells in vivo. *Glia* 1997;20:333–347.
49. You S, Petrov T, Chung PH, Gordon T. The expression of the low affinity nerve growth factor receptor in long-term denervated Schwann cells. *Glia* 1997;20:87–100.
50. Zuo J, Hernandez YJ, Muir D. Chondroitin sulfate proteoglycan with neurite-inhibiting activity is upregulated following peripheral nerve injury. *J Neurobiol* 1998;34:41–54.
51. Junghans U, Koops A, Westmeyer A, et al. Purification of a meningeal cell-derived chondroitin sulfate proteoglycan with neurotrophic activity for brain neurons and its identification as biglycan. *Eur J Neurosci* 1995;7:2341–2350.
52. Kappler J, Junghans U, Koops A, et al. Chondroitin/dermatan sulfate promotes the survival of neurons from rat embryonic neocortex. *Eur J Neurosci* 1997;9:306–318.
53. Werner M.H, Guido S. Nerve injury and regeneration: basic insights and therapeutic interventions. *Curr Opin Neurol*, 1998(5);557–562.
54. Mirsky R, Jessen KR. The neurobiology of Schwann cells. *Brain Pathol* 1999;9:293–311.
55. Scherer SS, Salzer JL. Axon-Schwann cell interactions during peripheral nerve degeneration and regeneration, in Jessen KR, Richardson WD (eds): *Glial Cell Development*. Oxford, UK, Bios Scientific, 1996;169–196.
56. Pellegrino RG, Spencer PS: Schwann cell mitosis in response to regenerating peripheral axons in vivo. *Brain Res* 1985;341:16–25.
57. Taniuchi M, Clark HB, Schweitzer JB, Johnson EMJ. Expression of nerve growth factor receptors by Schwann cells of axotomized peripheral nerve: Ultrastructural location, suppression by axonal contact, and binding properties. *J Neurosci* 1988;8:664–681.

58. Weinberg HJ, Spencer PS. The fate of Schwann cells isolated from axonal contact. *J Neurocytol* 1978;7:555–569.
59. Jessen K.R, Mirsky R. Schwann cells: early lineage, regulation of proliferation and control of myelin formation, *Curr. Opin. Neurobiol.* 2 (1992);575–581.
60. Al-Qattan M.M., Al-Thunyan A. Variables affecting axonal regeneration following end- to-side neurorrhaphy. *Bri J Plas Surg.*1998;51:238–242.
61. Jessen K.R, Brennan A, Morgan L, Mirsky R, Kent A, et al. The Schwann cell precursor and its fate: a study of cell death and differentiation during gliogenesis in rat embryonic nerves, *Neuron* 12 (1994) 509–527.
62. Meier C, Parmantier E, Brennan A, Mirsky R, Jessen KR. Developing Schwann cells acquire the ability to survive without axons by establishing an autocrine circuit involving IGF, NT–3 and PDGF-BB, *J. Neurosci.* 19 (1999);3847–3859.
63. Fu SY, Gordon T. Contributing factors to poor functional recovery after delayed nerve repair: prolonged axotomy. *J Neurosci* 1995;15:3886–3895.
64. Nguyen QT, Sanes JR, Lichtman JW. Pre-existing pathways promote precise projection patterns. *Nat Neurosci* 2002;5:861–867.
65. Fawcett J.W, Keynes R.J. Peripheral nerve regeneration, *Annu. Rev. Neurosci.* 1990(13);43–60.
66. Nadim W, Anderson P.N, Turmaine M. The role of Schwann cells and basal lamina tubes in the regeneration of axons through long lengths of freeze-killed nerve grafts, *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 1990(16);411–421.
67. Dyck PJ, Nukada H, Lais CA, Karnes J. Permanent axotomy: a model of chronic neuronal degeneration produced by axonal atrophy, myelin remodeling and regeneration. In: Dyck PJ, Thomas PK, Lambert EH, Bunge R, editors. *Peripheral neuropathy.* Philadelphia: WB Saunders; 1984;660—690.
68. Jessen KR, Mirsky R. Schwann cells and their precursors emerge as major regulators of nerve development. *Trends Neurosci* 1999;22:402–410.
69. Shy ME, Shi Y, Wrabetz L, Kamholz J, Scheren SS. Axon-Schwann cell interactions regulate the expression of c-jun in Schwann cells. *J Neurosci Res* 1996;43:511–525.
70. Jessen KR, Mirsky R. Signals that determine Schwann cell identity. *J Anat* 2002;200:367–376.

71. Sunderland H, Naora H, Hashimoto R, et al. Development of the innervation pattern in the upper limb of staged human embryos. *Acta Anat (Basel)* 1990;138:265-269.
72. Cancilla PA: General reactions of muscle to injury. In Heffner RR, ed: *Muscle Pathology. Contemporary Issues in surgical pathology*. New York, Churchill Livingstone, 1984;15-30.
73. Gorio A, Carmignoto G. Reformation, maturation and stabilization of neuromuscular junctions in peripheral nerve regeneration. In Gorio A, Millesi H, Mingrino S, eds: *Post-traumatic peripheral nerve regeneration*. New York Raven Press, 1981;481-492.
74. Danielsen N, Dahlin LB, Thomsen P. Inflammatory cells and mediators in the silicone chamber model for nerve regeneration. *Biomaterials* 1993;14:1180-1185.
75. Danielsen N, Varon S. Characterization of neurotrophic activity in the silicone chamber model for nerve regeneration. *J Reconstr Microsurg* 1995;11:231-235.
76. Longo FM, Skaper SD, Manthorpe M, et al. Temporal changes of neuronotrophic activities accumulating in vivo within nerve regeneration chambers. *Exp Neurol* 1983;81:756-769.
77. Dahlin LB, Zhao Q, Bjursten LM. Nerve regeneration in silicone tubes: distribution of macrophages and interleukin-1 in the formed fibrin matrix. *Restor Neurol Neurosci* 1995;8:199-203.
78. Zhao Q, Dahlin LB, Kanje M, Lundborg G. Repair of the transected rat sciatic nerve: matrix formation within silicone tubes. *Restor Neurol Neurosci* 1993;5:197-204.
79. Ramon y Cajal SR. *Degeneration and regeneration of the nervous system*. London: Oxford University Press, 1928.
80. Ranson SW. Degeneration and regeneration of nerve fibers. *J Comp Neurol* 1912;22: 487-546.
81. Kuffler D. Promoting and directing axon outgrowth. *Mol Neurobiol* 1994;9:233-243.
82. Lundborg G, Dahlin LB, Danielsen N, Nachemson AK. Tissue specificity in nerve regeneration. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1986;20:279-283.
83. Fenrich K, Gordon T. Canadian Association of Neuroscience review: axonal regeneration the peripheral and central nervous systems — current issues and advances. *Can J Neurol Sci* 2004;31:142—56.

84. Politis MJ. Specificity in mammalian peripheral nerve regeneration at the level of the nerve trunk. *Brain Res* 1985; 328:271-276.
85. Iwabuchi Y, Maki Y, Yoshizu T, Narisawa H. Lack of topographical specificity in peripheral nerve regeneration in rats. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 1999;33:181-185.
86. Brushart TME. Motor axons preferentially reinnervate motor pathways. *J Neurosci* 1993(13):2730-2738.
87. Brushart TME. Preferential reinnervation of motor nerves by regenerating motor axons. *J Neurosci* 1988(8);1026-1031.
88. Brushart TME, Seiler WA. Selective reinnervation of distal motor stumps by peripheral motor axons. *Exp Neurol* 1987;97:289-300.
89. Madison RD, Archibald SJ, Lacin R, Krarup C. Factors contributing to preferential motor reinnervation in the primate peripheral nervous system. *J Neurosci* 1999;19:11007-11016.
90. Brushart TME. Trophic and tropic influences on peripheral nerve regeneration. In: Omer G, Spinner M, Van Beak A, eds. *Management of peripheral nerve problem*. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1998;235-242.
91. Dahlin LB, Danielsen N, Ochi M, Lundborg G. Axonal growth in mesothelial chambers: effects of a proximal preconditioning lesion and/or predegeneration of the distal nerve stump. *Exp Neurol* 1988;99:655-663.
92. Widerberg A, Kanje M, Dahlin LB. Tourniquet compression: a non-invasive method to enhance nerve regeneration in nerve grafts. *Neuroreport* 2002(13);371-375.
93. Menderes A, Yılmaz M, Vayvada H, Özer E, Barutçu A. Effects of nerve growth factor on the neurotization of denervated muscles. *Ann Plast Surg* 2002(48);415-422
94. Krishnamurti a, Kanagasuntheram R, Vij S. Failure of reinnervation of pacinian corpuscle after nerve crush. *Acta Neuropathol (Berl)* 1973(23);338.
95. Dellon AL, Curtis RM, Edgerton MT: Evaluation recovery of sensation in the hand following nerve injury. *Johns Hopkins Med J* 1972;130:235-243.
96. Gelberman RH, Urbaniak JRBright DS, Levin LS. Digital sensibility following replantation. *J Hand Surg Am* 1978(3);313-319.
97. Mackinnon SE. New directions in peripheral nerve surgery. *Ann Surg* 1989;22: 257-273.
98. Seddon HJ. Three types of nerve injury. *Brain* 1943;66:237.

99. Sunderland S. A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. *Brain*.1951;74:491.
100. Dellon AL. Wound healing in nerve . *Clin Plast Surg*. 1990(17):3,545-570.
101. Young L, Wray RC, Weeks PM: A randomized prospective comparison of fascicular and epineural digital nerve repairs. *Plast Reconstr Surg* 1981;68:89-92.
102. Kato H, Minami A, Kobayashi H: Functional results of low median and ulnar nerve repair with intraneural fascicular dissection and electrical fascicular orientation. *J Hand Surg Am* 1998;23:471-482.
103. Williams HB, Terzis JK: Single fascicular recordings: an intraoperative diagnostic tool for the management of peripheral nerve lesions. *Plast Reconstr Surg* 1976(57);562-569.
104. Gruber H, Zenker W: Acetylcholinesterase: histochemical differentiation between motor and sensory nerve fibers. *Brain Res* 1973(51);207-214
105. Szabolcs MI, Gruber H, Schade GE, et al: Selective fascicular nerve repair: a rapid method for intraoperative motor sensory differentiation by acetylcholinesterase histochemistry. *Eur J Plast Surg* 1991;14:21.
106. Riley DA, Lang DH: Carbonic anhydrase activity o human peripheral nerves: a possible histochemical aid to nerve repair.. *J Hand Surg Am* 1984(9);112-120.
107. Birch R, Bonney G, Parry CB: Principles of nerve repair. In Birch R, Bonney G, Parry CB, eds: *Surgical Disorders of the peripheral nerves*. New York, Churchill Livingstone,1998;:102-104
108. Fischer DW, Beggs JL, Kenshalo DL Jr, et al: Comparative study of microepineurial anastomoses with the use of CO₂ laser and suture techniques in rat sciatic nerves. Part 1. *Neurosurgery* 1985(17);300-308
109. Scrober R, Ulrich F, Sander T, et al: Laser induced alteration of collagen substructure allows microsurgical tissue welding. *Science* 1986(232);1421-1422.
110. Maragh H, Mayer BS, Davenport D, et al: Morphofunctional evaluation of fibrin glue versus microsuture nerve repairs. *J Reconstr Microsurg* 1990(6);331-337
111. Narakas A: The use of fibrin glue in repair of peripheral nerves. *Orthop Clin North Am* 1988(19);187-199.
112. Lundborg G. A 25 year perspective of peripheral nerve surgery: Evolving neuroscientific concepts and clinical significance. *J Hand Surg* 2000; 391-414.
113. Lin YK, Posnick JC, Vasjar J. Fetal nerve healing: An experimental study. *Plast Reconstr Surg* 1994; 93(7): 1323-1332.

114. Hatano I, Suga T, Diao E. Adhesions from flexor tendon surgery: An animal study comparing surgical techniques. *J Hand Surg* 2000;252-259.
115. Kline DG, Hudson AR: *Nerve Injuries: Operative Results from Major Nerve Injuries, Entrapments, and Tumors*. Philadelphia, WB Saunders Co., 1995.
116. Kline DG, Kim D, Midha R, Harsh C, Tiel R: Management and results of sciatic nerve injuries: A 24-year experience. *J Neurosurg* 1998(89);13–23.
117. Samii A, Carvalho GA, Samii M: Brachial plexus injury: Factors affecting functional outcome in spinal accessory nerve transfer for the restoration of elbow flexion. *J Neurosurg* 2003(98);307–312.
118. Samii M, Carvalho GA, Nikkhah G, Penkert G: Surgical reconstruction of the musculocutaneous nerve in traumatic brachial plexus injuries. *J Neurosurg*. 1997(87);881–886.
119. Seddon HJ: *Surgical Disorders of the Peripheral Nerves*. Baltimore, Williams & Wilkins, 1972.
120. Sunderland S: *Nerve and Nerve Injuries*. Edinburgh, Churchill-Livingstone, 1978.
121. Sunderland S: *Nerve Injuries and their Repair: A Critical Appraisal*. Melbourne, Churchill Livingstone, 1991.
122. Bowden REM, Gutmann E: Denervation and re-innervation of human voluntary muscle. *Brain*. 1944(67);273–313.
123. Hall SM, Kent AP, Curtis R, Robertson D: Electron microscopic immunocytochemistry of GAP-43 within proximal and chronically denervated distal stumps of transected peripheral nerve. *J Neurocytol* 1992(21);820–831.
124. Hynes NM, Bain JR, Thoma A, Veltri K, Maguire JA: Preservation of denervated muscle by sensory protection in rats. *J Reconstr Microsurg* 1997(13);337– 343,
125. Kobayashi J, Mackinnon SE, Watanabe O, Ball DJ, Gu XM, Hunter DA, Kuzon WM: The effect of duration of muscle denervation on functional recovery in the rat model. *Muscle Nerve* 1997(20);858–866.
126. Love FM, Thompson WJ: Schwann cells proliferate at rat neuromuscular junctions during development and regeneration. *J Neurosci* 1998;18:9376–9385.
127. Son YJ, Thompson WJ: Schwann cell processes guide regeneration of peripheral axons. *Neuron* 1995(14)125–132.
128. Sunderland S. Capacity of reinnervated muscles to function efficiently after prolonged denervation. *Arch Neurol Psychiat* 1950(64);755–771.

129. Trachtenberg JT, Thompson WJ. Schwann cell apoptosis at developing neuromuscular junctions is regulated by glial growth factor. *Nature* 1996(379);174–177.
130. Mackinnon SE, Dellon AL: *Surgery of the peripheral nerve*. New York, Thieme, 1988.
131. Balance CA, Balance HA, Stewart P. Remarks on operative treatment of chronic facial palsy of peripheral origin. *Br. J Med* 1903(2);1009-1013
132. Viterbo F, Trinade JC, Hoshino K, Mazzoni Neto A. Latero-terminal neurorraphy without removal of epineural sheath : experimental study in rats. *Rev Paul Med.* 1992(110);267 – 275
133. Viterbo F, Trinade JC, Hoshino K, Mazzoni Neto A. End-to-side neurorraphy with removal of epineural sheath : experimental study in rats. *Plast Reconstr Surg* 1994(94);1038-1047
134. Viterbo F, A new method for treatment of facial palsy: the cross-face nerve transplantation with end-to- side neurorrhaphy. *Rev Soc Bras Cir Plast Estet Reconstr* 1993(8);85.
135. Viterbo J.C., Trinade K, et al. Two end-to-side neurorrhaphies and nerve graft with removal of the epineural sheath : experimental study in rats. *Brit.J.Plast Surg* 1994;47:75-80
136. Lundborg G, Zhao Q, Kanje M, et al. Can sensory and motor collateral sprouting be induced from intact peripheral nerve by end-to-side anastomosis ? *J Hand Surg [Br]* 1994(19);277–282.
137. Taradis G, Watanabe O, Mackinnon SE, et al. End-to-side neurorraphy: a long term study of neural regeneration in a rat model. *Otolaringol Head Neck Surg* 1998(119);337–341.
138. Noah EM, Williams A, Fortres W, Terzis JK. A new animal model to investigate axonal sprouting after end-to-side neurorraphy. *J Reconstr Microsurg* 1997(13);317-325.
139. Caplan J, Tiangco DA, Terzis JK. Effect of IGF-II in a new end-to-side model. *J Reconstr Microsurg* 1999(15);351–358.
140. Berteli JA, dos Santos AR, Calixto JB. Is axonal sprouting able to transverse the conjunctival layers of peripheral nerve? A behavioral, motor, and sensory study of end-to-side nerve anastomosis. *J Reconstr Microsurg* 1996(12);559 – 563.

141. Edds MV. Collateral nerve regeneration. *Quart Res Biol* 1953;28: 260 – 276
142. Hoffman HL. Local reinnervation in the partial-denervated muscle: a histophysiological study. *Aust J Exp Bio Med Sci* 1950(28);383.
143. Cotman CW, Nieto Sampedro M, Haris EW. Synapse replacement in the nerve System of adult vertebrates. *Physiol Res* 1981(61);684 – 784.
144. Hopkins WG, Brown MC, Keynes RI. Nerve growth from nodes of Ranvier in inactive muscle. *Brain Res* 1981(222); 125 – 128.
145. Hopkins WG, Slack JR. The sequential development of nodal sprouts in mouse muscle in response to nerve degeneration. *J Neurocytol* 1981(10);537 – 556.
146. Slack JR, Hopkins WG, Williams MN. Nerve sheets and moto-neurone collateral sprouting. *Nature* 1979(282);506 – 507.
147. Torigoe K, Tanaka HG, Takahashi A, Hashimoto K. Early growth of regeneration neurites in acrilamide neurotrophic mice: application of a film model. *Brain Res* 1997(746);269-274.
148. Matsumoto M, Hirata H, Nishiyama M, et al. Schwann cells can induce collateral sprouting from intact axons: experimental study of end-to-side neurorrhaphy using a Y-chamber model. *J Reconstr Microsurg* 1999(15);281 – 286.
149. Zhao J, Chen ZW, Chen T. Nerve regeneration after terminolateral neurorrhaphy: experimental study in rats. *J Reconstr Microsurg* 1997(13);31 – 37.
150. Noah EM, Williams A, Jorenson C, et al. End-to-side neurorrhaphy: a histologic and morphometric study of axonal sprouting into an end-to-side nerve graft. *J Reconstr Microsurg* 1997(13);99 - 106
151. Zhang F, Fischer KA. End-to-side neurorrhaphy. *Microsurgery* 2002(22);122 –127.
152. Cederna P.S., Kalliainen L.K, Urbanchek M.G., Rovak J.M., Kuzon W.M., Jr. “Donor” Muscle Structure and Function after End-to-Side Neurorrhaphy. *Plast. Reconstr. Surg.* 2001(107); 789.
153. Isaacs J, Allen D, Chen LE, Nunley J 2nd. Reverse end-to-side neurotization. *J Reconstr Microsurg.* 2005 (21);43-48.
154. Ashley L, Stallings JO. End-to-side nerve flap for treatment of painful neuroma: a 15-year follow-up. *J Am Osteopath Assoc* 1988(88);621-624.

155. Shah MH, Kasabian AK, Karp NS, Kolker AR, Dublin BA, Zhang L, Sakuma J. Axonal regeneration through an autogenous nerve bypass: an experimental study in the rat. *Ann Plast Surg* 1997;38:408-414.
156. Kasabian A, Karp N, Margiotta M. Treatment of a neuroma-in continuity of the peroneal nerve with nerve bypass grafts—a case report. *Ann Plast Surg* 1999(42);449-451.
157. Low CK, Chew SH, Song IC, Ng TH, Low YP. End-to-side anastomosis of transected nerves to prevent neuroma formation. *Clin Orthop* 1999(369);:327-332.
158. Aszmann OC, Korak KJ, Rab M, Grunbeck M, Lassmann H, Frey M. Neuroma prevention by end-to-side neurorrhaphy: an experimental study in rats. *J Hand Surg [Am]* 2003(28);1022-1028.
159. Frey M., Giovanoli P., Michaelidou M. Functional Upgrading of Partially Recovered Facial Palsy by Cross-Face Nerve Grafting with Distal End-to-Side Neurorrhaphy. *Plast. Reconstr. Surg.* 2006(117); 597.
160. Grabb WC, Bement SL, Koepke GH, et al. Comparison of methods of peripheral nerve suturing in monkeys. *Plast Reconstr Surg.* 1970(46);31–38.
161. Miyamoto Y. Experimental studies on repair for peripheral nerves. Effects of tension at suture site on intraneural circulation. *Hiroshima J Med Sci.* 1979(28);13.
162. Philipeaux J-M, Vulpian A. Note sur des essais de greffe d'un troncon du nerf lingual entre les deux bouts du nerf hypoglosse, apres excision d'un segment de ce derniernerf. *Arch Physiol Norm Path Paris.* 1870; 618–620.
163. Albert E. Einige Operationem an Nerven. *Wien Med Wochenschr.* 1885(26);1285.
164. Woodall B, Beebe WG. Peripheral Nerve Reconstruction: A Follow-up Study of 3,656 World War II Injuries. Department of Veterans Affairs Medical Monograph. Washington, DC: US Government Printing Office; 1956.
165. Seddon HJ. The use of autogenous grafts for repair of large gaps in peripheral nerves. *Br J Surg.* 1947;3535:151.
166. Millesi H, Ganglberger J, Berger A. Erfahrungen mit der Microchirurgie peripher Nerven. *Chir Plast.* 1967(3);47.
167. Ansselin AD, Davey DF. Axonal regeneration through peripheral nerve grafts: the effect of proximo-distal orientation. *Microsurg* 1988(9);103-113.
168. Siemionow M, Zielinski M, Meirer R. The single – fascicle method of nerve grafting. *Ann.Plast Surg* 2004(52);72-79.

169. Madison, R.D., Archibald, S.J., Brushart, T.M.,. Reinnervation accuracy of the rat femoral nerve by motor and sensory neurons. *J. Neurosci.* 1996(16); 5698– 5703.
170. Madison, R.D., Archibald, S.J., Lacin, R., Krarup, C.,. Factors contributing to preferential motor reinnervation in the primate peripheral nervous system. *J. Neurosci.* 1999;19:11007– 11016.
171. Kanje M, Arai T . Lundborg G.E . Collateral sprouting from sensory and motor axons into an end to side attached nerve segment. *NeuroReport* 2000;11:2455-2459
172. Fansa J, Keilhoff G, Plogmeier K, et al. Successful implantation of Schwann cells in acellular muscle. *J Reconstr Microsurg* 1999(15);61-65.
173. Lolley RD, Bose WJ, Bastian F, Bassam B, Meyer FN, Anderson LD. Vein, silastic, polyglycolic acid fine mesh: a comparative study in peripheral nerve repair. *Ann Plast Surg* 1995(35);266-271.
174. Bain JR, Mackinnon SE, Hunter DA. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconstr Surg* 1989(83); 129-136.
175. Valero-Cabre´, A. and Navarro, X. Functional impact of axonal misdirection on muscle reinnervation after peripheral nerve resection and graft or tube repair. *J. Neurotrauma* 2002(19);1475–1485
176. Valero-Cabre´, A. et al. Peripheral and spinal motor reorganization after nerve injury and repair. *J. Neurotrauma* .2004(21);95–108.
177. Kanaya F, Firrell JC, Breidenbach WC. Sciatic function index, nerve conduction tests, muscle contraction, and axon morphometry as indicators of regeneration. *Plast Reconstr Surg* 1996(98);1264–1274.
178. de Medinaceli L, Freed WJ, Wyatt RJ. An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. *Exp Neurol* 1982(77);634–643.
179. Dijkstra JR, Meek MF, Robinson PH, Gramsbergen A. Methods to evaluate functional nerve recovery in adult rats: walking track analysis, video analysis and the withdrawal reflex. *J Neurosci Methods* 2000;96:89–96.
180. Hruska RE, Kennedy S, Silbergeld EK. Quantitative aspects of normal locomotion in rats. *Life Sci* 1979(25);171–179.
181. Hasegawa K. A new method of measuring functional recovery after crushing the peripheral nerves in unanesthetized and unrestrained rats. *Experientia* 1978(34);272–273.

182. Bervar M. Video analysis of standing – an alternative footprint analysis to assess functional loss following injury to the rat sciatic nerve. *J Neurosci Methods* 2000(102); 109–116.
183. Mackinnon S, Dellon A, O'Brien J. Changes in nerve fiber numbers distal to a nerve repair in the rat sciatic nerve model. *Muscle Nerve* 1991(14);1116-1119.
184. Zenzai K, Shibata M, Okado H. Newly formed axonal branches of rat sciatic neurons sprouting in the spinal cord after peripheral axotomy. *Scand J Plast Surg Hand Surg* 2004(38); 1-6.
185. George L, Myckatyn T, Jensen J. Functional recovery and histomorphometric assessment following tibial nerve injury in the Mouse. *J Reconstr Microsurg* 2003(19);41-47.
186. Keilhoff G, Fansa H. Successful intramuscular neurotization is dependent on denervation period. A histomorphological study of the gracilis muscle in rats. *Muscle Nerve* 2005(31); 221–228.
187. Weiss P, Taylor C. Further experimental evidence against “neurotrophism” in nerve regeneration. *J Exp Zoology* 1944(95);233–257.
188. Anderson PN, Turmaine M. Axonal regeneration through arterial grafts. *J Anat* 1986(147);73–82.
189. Politis MJ, Ederle K, Spencer PS. Tropism in nerve regeneration in vivo. Attraction of regenerating axons by diffusible factors derived from cells in distal nerve stumps of transected peripheral nerves. *Brain Res* 1982(253);1–12.
190. Mackinnon SE, Dellon L, Lundborg G, Hudson AR, Hunter D. A study of neurotrophism in a primate model. *J Hand Surg* 1986(11A); 888–894.
191. Abernethy DA, Rud A, Thomas PK. Neurotropic influence of the distal stump of transected peripheral nerve on axonal regeneration: absence of topographic specificity in adult nerve. *J Anat* 1992(180);395–400.
192. McCallister WV, Cober SR, Norman A, et al. Using intact nerve to bridge peripheral nerve defects: an alternative to the use of nerve grafts. *J Hand Surg (Am)*. 2001(26A);315–325.
193. Özbek S, Özcan M, Noyan B, Kurt MA, et al. End-to-Side nerve coaptation is an additional proximal coaptation Useful When Available? *Ann Plast Surg* 2005(55); 281–288.
194. Zhang, Z. Chen, L.-E. Seaber, A. Urbaniak, J. One donor nerve with two sites of end to side neurorrhaphy. Transactions of the annual meeting – Orthopedic research

Society. 2002, Edit 48; Sect 2, pages 642 (Zhang Z. One donor nerve with two recipient sites of end-to-side neurorrhaphy. 8th congress of IFSSH, Istanbul, 2001 195. Ozbek S, Kurt MA. Simultaneous end-to-side coaptations of two severed nerves to a single healthy nerve in rats. J Neurosurg Spine. 2006 (4);43-50.