TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

PREFABRİKE, ''SHAM'' VE VASKÜLERİZE OLMAYAN SIÇAN FEMORAL SİNİRİNİN FONKSİYONEL VE HİSTOPATOLOJİK OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI (DENEYSEL ÇALIŞMA)

Dr. ARSIN ULUÇ

PLASTİK, REKOSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. ZEKİ CAN

ANKARA
2009

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı

Tıpta uzmanlık çerçevesinde yürütülmüş olan Prefabrike, ''Sham'' ve Vaskülerize olmayan Sıçan Femoral Sinirinin Fonksiyonel ve Histopatolojik Olarak Karşılaştırılması başlıklı, Dr. Arsın ULUÇ'a ait olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **Tıpta Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez savunma tarihi: 28 /07/2009

Prof. Dr. Zeki Can
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı
Tez Danışmanı-Jüri Başkanı

Prof. Dr. Mustafa Rıza ÖZBEK
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik
Cerrahi Anabilim Dalı
Üye

Prof. Dr. Serdar Mehmet GÜLTAN
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik
Cerrahi Anabilim Dalı
Üye

ÖNSÖZ

Hayatımda bir dönüm noktası olan, büyük bir sevgi ve heyecanla başladığım Ankara Üniversitesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'ndaki eğitimim sırasında deneyim, bilgi, görgüleriyle en iyi şekilde yetişmemi sağlayan; tıp etiği ve ahlaklarıyla bana her zaman örnek olacak olan sayın hocalarım Prof. Dr. Erdem Yormuk, Prof. Dr. Mustafa R. Özbek, Prof. Dr. Kutlu Sevin, Prof. Dr. Serdar M. Gültan, Prof. Dr. Murat Emiroğlu ve Prof. Dr. Zeki Can'a sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Tezin her aşamasında yardım ve emeği bulunan Uzm. Dr. Savaş Serel'e, bana hep yol gösterici olan Prof. Dr. Zeki Can'a, elektrofizyolojik analizde değerli katkısı bulunan Doç Dr. Yıldırım Sara'ya, istatistiksel analizde yardımları olan binbaşı Mesut Akyol'a, yoğun çalışma temposuna rağmen özveride bulunup değerli patoloji bilgileriyle tezime katkıda bulunan Doç Dr. Aylin Okçu Heper'e teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay

Önsöz ii

İçindekiler iii

Şekiller v

Tablolar vii

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 3

2.1 Sıçan Femoral Arter Anatomisi 3

2.2 Sıçan Femoral Ven Anatomisi 5

2.3 Sıçan Femoral Sinir Anatomisi 6

2.4 Lenf Sistemi 8

2.5 Periferik Sinirler Hakkında Genel Bilgiler 9

2.6 Periferik Sinirde Mikrocerrahi 12

2.7 Sinir İyileşmesi 13

2.8 Sinir Grefti 14

2.9 Prefabrikasyon 15

3. GEREÇ VE YÖNTEM 19

3.1 Hayvan modeli 19

3.2 Gereçler 20

3.3 Yöntem 21

3.4 Elektrofizyolojik Çalışma 26

3.5 Patolojik İnceleme 31

3.6 İstatistik 32

4. BULGULAR 33

4.1 Dokunun Hazırlanması ve Mikroskopi 33

4.2 Elektrofizyolojik Kayıtlar 33

4.3 İstatistiksel Bulgular 36
4.4 Histopatolojik İncelemeler 38

5. TARTIŞMA 42

6. SONUÇ 45

7. ÖZET 47

8. SUMMARY 48

9. KAYNAKLAR 49

ŞEKİLLER DİZİNİ

		Sayfa
Şekil 2.1:	Sıçan karın içi büyük damarlar ve dalları	4
Şekil 2.2:	Bacak arterleri (anteriyor görünüm)	4
Şekil 2.3:	Bacak arterleri (derin görünüm)	5
Şekil 2.4:	Dolaşım sisteminin genel görünümü	6
Şekil 2.5:	Pleksus lumbosakralis	7
Şekil 2.6:	Femoral damarlar ve sinir	7
Şekil 2.7:	Lenf sisteminin genel görünümü	8
Şekil 2.8:	Bacak damarlarının anjiografik görünümü	17
Şekil 2.9:	Bacak ön yüzünün kadavrada görünümü	17
Şekil 2.10:	Sıçan femoral arterinin ligasyonu öncesi, 3 ve 21 gün sonrasındaki invaziv olmayan lazer ‘’doppler’’ perfüzyon görüntüleri	18
Şekil 3.1:	Cerrahi sahanın hazırlanması	22
Şekil 3.2:	Arter, ven, sinir paketinin şematik görünümü	22
Şekil 3.3:	Arter, ven, sinir paketinin diseksiyonu	23
Şekil 3.4:	Arter, ven, sinir paketinin ortaya konulması	23
Şekil 3.5:	Vaskülerize edilmeyen grupta femoral sinir	24
Şekil 3.6:	Vaskülerize edilmeyen grupta sinirin silastik tüple sarılması	24
Şekil 3.7:	Femoral sinirin arter ve ven ile prefabrikasyonu	25
Şekil 3.8:	Femoral sinirin arter ve ven paketine 10/0 ethilon ile sütürasyonu	25
Şekil 3.9:	Sinir prefabrikasyonu ve silastik tüple sarılması	26
Şekil 3.10:	Prefabrikasyon sonrasında silastik tüple izole edilen sinir	27

Şekil 3.11: Silastik tüp içindeki prefabrike arter, ven, sinir paketi 28

Şekil 3.12: Prefabrike arter, ven, sinir paketinin yakından görünüş. 28

Şekil 3.13: Prefabrikasyon sonrası damar sinir paketi 29

Şekil 3.14: Prefabrikasyon sonrası damar sinir paketinin yakından görünüşü 29

Şekil 3.15: Harvard Apparatus Homeotermik battaniye 30

Şekil 3.16: Sinirin elektrofizyolojik değerlendirilmesinde kullanılan mikroelektrod amplifikatör 30

Şekil 3.17: Dual Akımlı Ossiloskop 31

Şekil 4.1: Sinir iletim hızı ölçümü 34

Şekil 4.2: Dual akımlı ossiloskop ile sinir iletim hızının ölçümü. ortalamaları (standart sapma çizgileri ile birlikte) 35

Şekil 4.3: Femoral sinirin 3 ayrı gruptaki bileşik aksiyon potansiyellerinin karşılaştırılması. 35

Şekil 4.4: ‘’Sham’’ ve Vaskülerize gruplarda sinir iletim hızı ortalamaları (standart sapma çizgileri ile birlikte). 37

Şekil 4.5:‘’Sham’’ ve Vaskülerize gruplarda Bileşik Aksiyon Potansiyeli ortalamaları (standart sapma çizgileri ile birlikte). 38

Şekil 4.6: “Sham’’ grubu sıçan femoral sinir normal yapısı H-Ex100 39

Şekil 4.7: Vaskülerize edilmeyen grupta sinir greftinde yağlı vakuoler dejenerasyon, fokal miyelin parçalanması H-Ex100 39

Şekil 4.8: Vaskülerize edilmeyen grupta sinir greftinde ciddi myelin kaybı, myelin boyası x200 40

Şekil 4.9: Vaskülerize prefabrike grup femoral sinirde perinöral konjesyon, hafif düzeyde aksonal vakuolizasyon H-E x100. 40

Şekil 4.10: Vaskülerize prefabrike grupta myelin kaybı gözlenmedi, myelin boyası x200. 41

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1: Periferik sinir zararlanma sınıflamaları 12

Tablo 3.1: Deney Grupları 20

Tablo 4.1: Femoral sinir elektrofizyolojik değerlendirme sonuçları 34

Tablo 4.2: Gruplara göre tanımlayıcılar 36

Tablo 4.3: Normal dağılıma uygunluk testi sonuçları 36

1. GİRİŞ

Plastik ve rekonstrüktif cerrahinin gelişimi boyunca, çok önemli bir tartışma konusu olan yaygın sinir hasarı sonrasında uzun otogreftlere ihtiyaç duyulmaktadır. Ekspande edilebilecek donör sinir sahaları ise son derece sınırlıdır. Bu nedenle sinir transplantının etkin şekilde kullanılabilmesi önemlidir. Hasar gören periferik sinir için ideal tamir şekli primer olsa da çoğu yaralanmada bu mümkün olmamaktadır. Hasar görmüş periferik sinir onarımında otolog sinir grefti, allogreft, ksenogreft kullanılabilir. Otolog sinir greftleri altın standart olarak kabul edilse de çoğunlukla tam bir iyileşme sağlanamamaktadır. Fizyolojik olarak yaşayan Schwann hücrelerinden salınan pozitif nörotropik ve nörotrofik etkilerin yokluğunda allogreft rejenerasyonu durur ve rejeksiyon meydana gelir.

Hasar görmüş sinirlerde kullanılan otolog sinir greftleri konvansiyonel nonvaskülerize veya vaskülerize sinir greftlerinden oluşmaktadır. Kötü vasküler yatağa sahip ve skar dokusu içeren alıcı sahalarda vaskülerize sinir greftleri, konvansiyonel nonvaskülerize sinir greftlerinden daha iyi sonuç vermektedir. Yine de araştırmalar farklı sonuçlar verebilmektedir. Bazı araştırmalar vaskülerize sinir greftleri ile konvansiyonel sinir greftleri arasında fark olmadığını göstermektedir, diğerleri ise vaskülerize greftlerin sağlıklı alıcı sahada bile daha iyi sonuçlar verdiğini göstermektedir.

Prefabrikasyon kelime anlamı olarak önceden hazırlamak anlamına gelmektedir. Plastik cerrahide prefabrike flepler prensip olarak öncesinde random paternli vaskülerize flebi vaskülerize pedikül implantasyonu ile yeni neovaskülerize aksiyel flep oluşturmak ve neovaskülerizasyon sonrasında donor alandan alıcı sahaya mikrovasküler tekniklerle aktarılabilmesine olanak sağlamaktadır.Prefabrikasyonsayesinde şeçilen doku orjinal vasküler anatomisinden bağımsız şekilde izole arteriovenöz pedikülüyle aksiyel paternli ve diğer bölgelere aktarılabilir hale gelmektedir.

Vaskülerize sinir greftlerinin en önemli dezavantajları verici alanların sınırlı olması ve kompleks, uzun cerrahi operasyonlara gereksinim duymasıdır. Vasküler implantlarla prefabrike flep oluşturmak plastik ve rekonstrüktif cerrahide yeni ve zamanla daha çok cerrahın üzerinde araştırma yapmaya gereksinim duyduğu bir tekniktir. Ara iyileşme sürecinde bu metod alternatif kan akımı sayesinde daha kısa sürede neovaskülerizasyon sağlamaktadır. Sinir greftleri prefabrike edilerek yetersiz donör saha problemine bir çözüm üretilebilir. Literatürde periferik sinir greftlerinin prefabrikasyonu araştıran sadece birkaç araştırma yapılmıştır. Bu çalışmada sıçan sol femoral arter, ven mikrocerrahi tekniğine uygun şekilde vaskülerizasyonu sağlanarak prefabrike edilmiş, vaskülerize edilmemiş ve kontrol (“sham’’) gruplarında femoral sinirin makroskopik, fonksiyonel, histopatolojik, sinir iletim hızı, amplitüd ve frekansında oluşan farklılıklar dökümente edilmektedir. Periferal sinirin prefabrikasyonla vaskülerize edilip edilemeyeceği karşlaştırılmıştır.

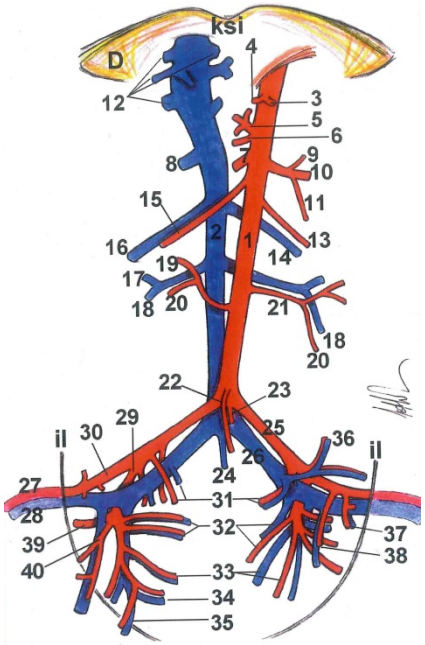
Burda amaçlanan hasara uğramış, sinir hasarı bulunan dokuların farklı bölgelerde hazırlanan sinirin prefabrikasyon ve mikrocerrahi tekniklerinin beraber kullanılmasıyla vaskülerize edilmesi ve fonksiyonel olarak ihtiyacı olan alana aktarılabileceğinin deneysel olarak sınanmasıdır. Çalışmada prefabrikasyon sayesinde sinirin bütünlük ve fonksiyonunun prefabrikasyonla korunarak mikrocerrahi tekniğiyle ihtiyaç bulunan sahaya aktarılabileceği hipotezini araştırlmaktadır. Bu deneyde elde edilen sonuçlar hızla ilerleyen tıp biliminin yakın gelecekte alıcının immünitesinin kontrollü olarak baskılanması veya daha ileri öncül tedaviler sonrasında sinir allogreftlerinin revaskülerize edilip aktarılabilmesinin mümkün olacağı fikirini deneysel olarak sınamaktadır.Anatomik kısıtlamaları ortadan kaldıran ve serbest sinir greftleri yerine yeni oluşturulmuş pediküllü veya vaskülerize sinir greftlerinin oluşturması için gerekli öncül bir çalışma olması amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sıçan Femoral Arter Anatomisi

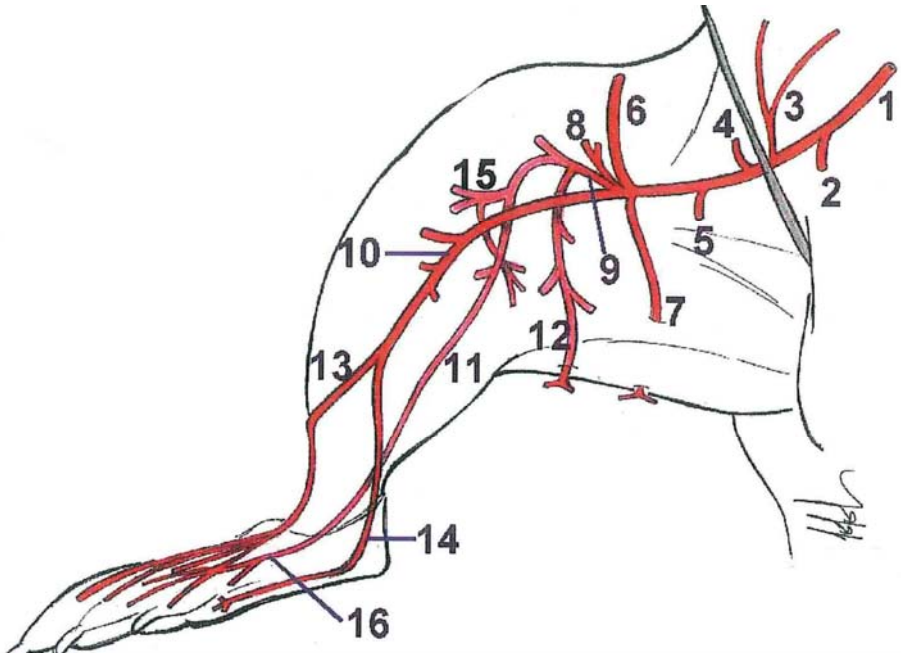
Eksternal iliyak arter ekstremite dolaşımının ana kaynağını oluşturur. İnguinal ligamentin altından geçtikten sonra femoral arter olarak devam edip mikrocerrahi çalışmalarında en çok kullanılan damar sistemini oluşturur. Femoral arter inguinal ligament altından geçtikten sonra bacağın iç yüzünden ilerleyerek adduktor brevis ile kaudo-femoral kasın arasından geçip popliteal fossaya ulaşır ve popliteal arter adını alarak diz altına doğru devam eder (Şekil 2.1-2.2). Seyri boyunca mikrocerrahi araştırmalara uygun önemli deri, kas ve kompozit doku fleplerini besleyen dallar verir (1-5).

Profunda femoris arteri femoral plandan çıkıp derin plana inen önemli bir daldır. Mikrocerrahi çalışma programlarında yanlışlıkla kesilip kanadığı için "Murphy dalı'' olarak da adlandırılan profunda femoris dalı femoral bölge kasları ve femurun endosteal dolaşımında önem taşıyan bir damardır. Femoral arter süperfisiyel epigastrik ve genu suprema dallarını verdikten sonra biri yüzeyel biri derin planda devam eden iki dala ayrılarak sonlanır. Femoral arterin adduktor kanaldan derine giden dalı popliteal, yüzeyel olarak aşağı kadar izlenebilen dalı ise safen arter olarak adlandırılır (Şekil 2.3). Safen arter tibiya mediyal yüzünden aşağı inerken mediyal tarsal dal ve komünikan dalları verir ve ayrıca mediyal malleol üzerinde üç dala ayrılarak ayağın hem dorsal hem de plantar yüzünü kanlandırır (4-9).

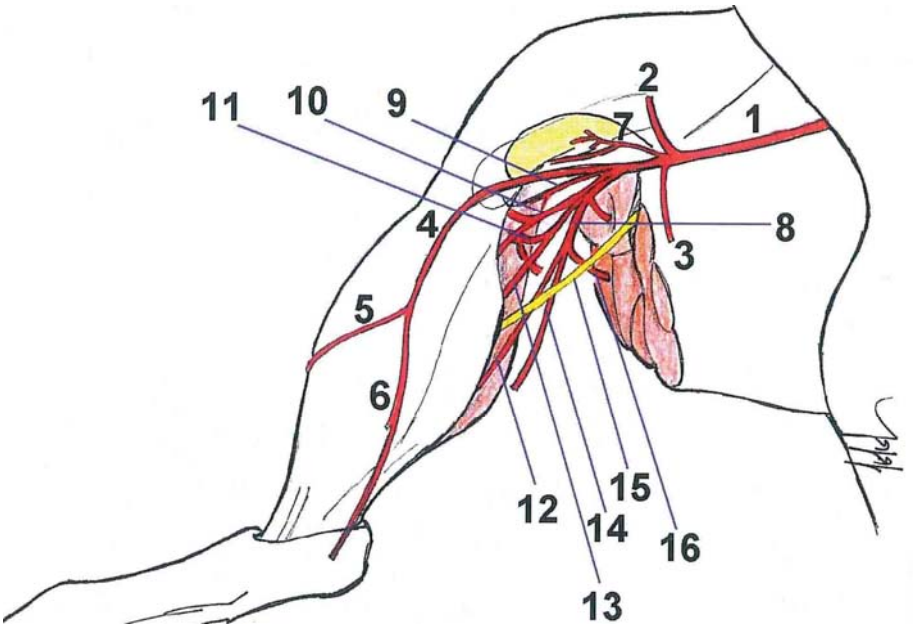


Şekil 2.1:Sıçan karın içi büyük damarlar ve dalları

(1-Abdominal aort, 2-İnferior vena kava, 27-Femoral arter, 28-Femoral ven)



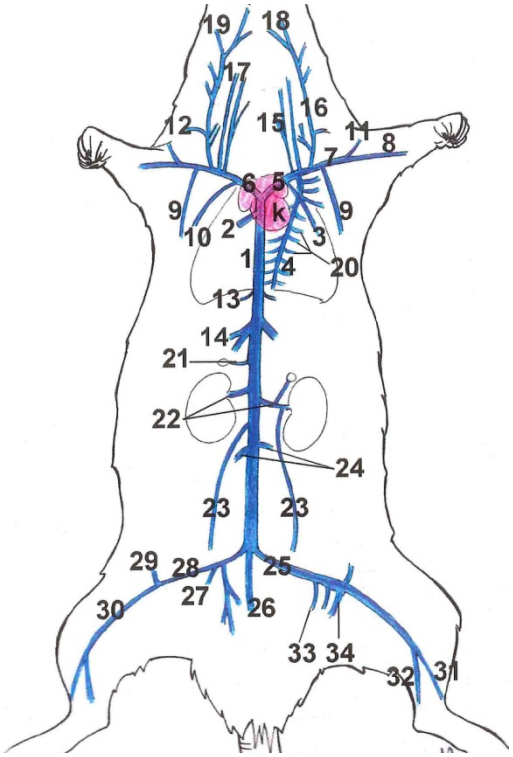
Şekil 2.2: Bacak arterleri (anterior görünüm)



Şekil 2.3: Bacak arterleri (derin görünüm)

2.2 Sıçan Femoral Ven Anatomisi

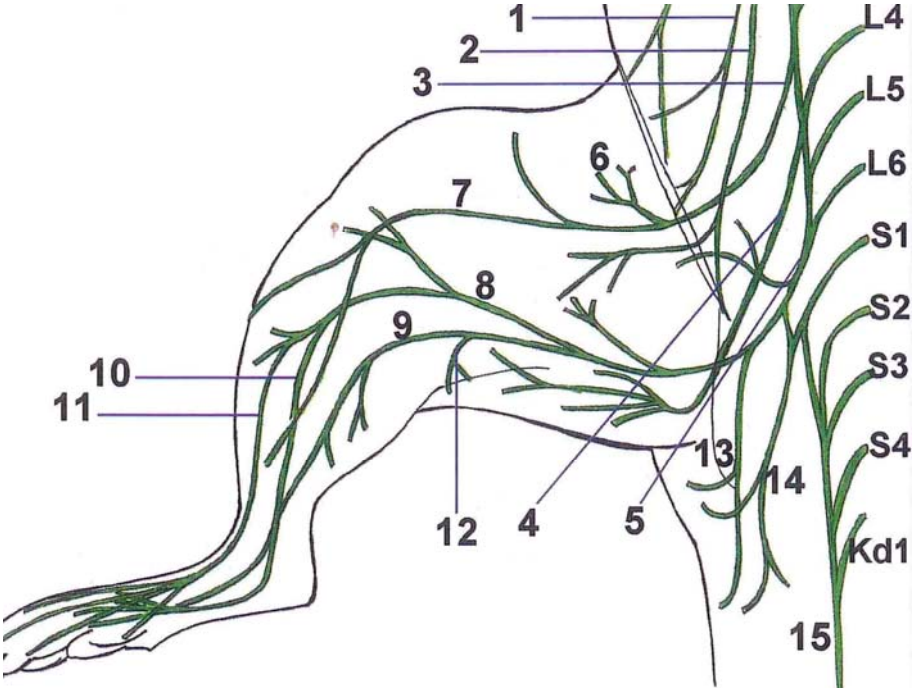
Venöz sistem büyük ölçüde arteryel ağaca eşlik eden bir anatomi sergiler (Şekil 2.4). Arterlerin yanında seyreden venler hemen her zaman ayni isimleri alır (9-14).



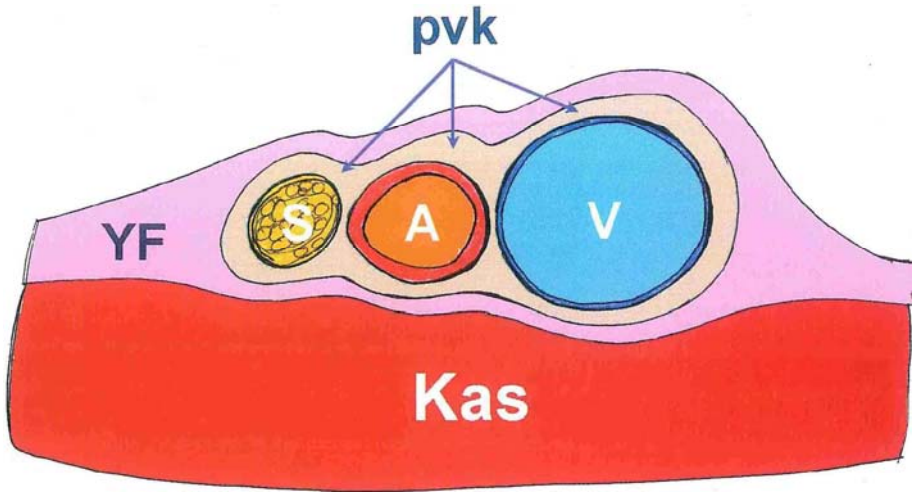
Şekil 2.4: Dolaşım sisteminin genel görünümü (30-Femoral ven)

2.3 Sıçan Femoral Sinir Anatomisi

Üçüncü ve dördüncü lomber spinal sinirler bazen beşinci lomber spinal sinirden gelen liflerin de katılımıyla femoral siniri oluşturur. Psoas minor ile iliyakus kasları arasından çıkıp eksternal iliyak damar eşlik ederek inguinal ligamanın altından geçer ve uyluk mediyal yüzüne ulaşır. Uyluğa gelmeden önce iliyakus ve hipogastrikus kaslarına giden müsküler dallar verir. Uylukta önce kuadriseps femoris kasına giden müsküler sinir dalları ve uyluk ortasında süperfisiyel epigastrik damarlarla birlikte ayrılan epigastrik dalı verip uyluk mediyalinden bacağa doğru safen sinir olarak ilerler. Yol boyunca önce femoral sonra da safen damarlarla yandaş seyir izler (Şekil 2.5). Yüzeyel fasiyada perivasküler kılıfta femoral sinir, arter,ven paketi içinde ilerler (Şekil 2.6). Diz seviyesinin altına inince medial krurial ve ayağa giden dallara ayrılıp sonlanır (14-19).



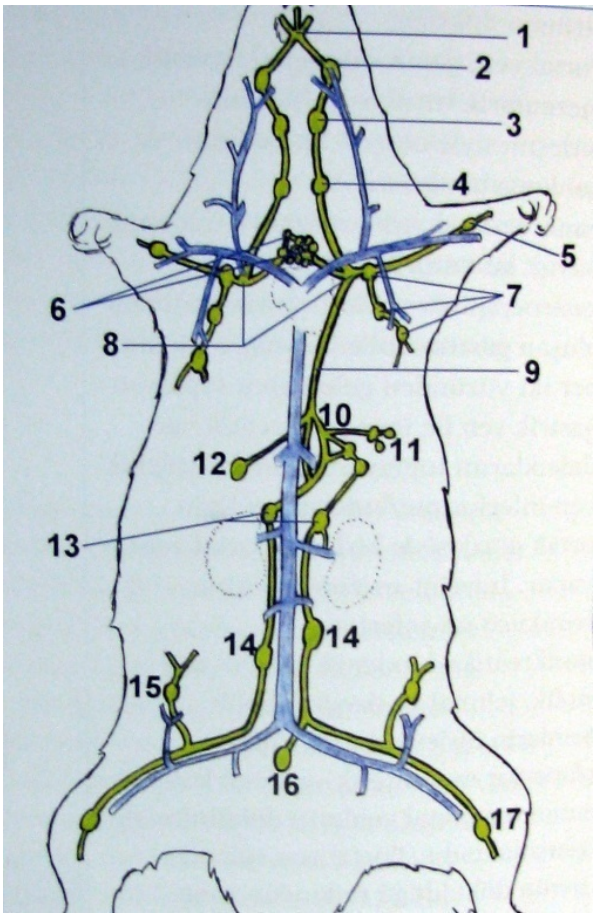
Şekil 2.5: Pleksus lumbosakralis



Şekil 2.6: Femoral damarlar ve sinir. (YF: Yüzeyel Fasiya, PVK: Perivaskuler kılıf)

2.4 Lenf Sistemi

İnguinofemoral lenf nodu; uyluk derisi, lateral karın duvarı, genital bölgeler, kuyruk kökünün lenfatik drenajını almaktadır (Şekil 2.7) (12, 20-23).



Şekil 2.7:Sıçan lenf sisteminin genel görünümü. Büyük lenf yolları ve istasyonları

2.5 Periferik Sinirler Hakkında Genel Bilgiler

Sinir sisteminin temel birimi nörondur ve hücre gövdesinin sitoplazmik uzantıları dendrit ve aksonları oluşturur. Genellikle her hücrenin bir aksonu olup, sinir hücresinin özelliğine göre 50μ'dan birkaç metreye kadar uzunlukta olabilir. İleti sinapslar yoluyla bir nörondan diğerine aktarılarak akar. Yani, hücresel düzeyde nöronlar arasındaki bir bağlantı bir nöronun aksonu ile diğerinin dendritik uzantısı ya da hücre gövdesi arasındaki ilişkilerle sağlanır. Sıkıca paketlenmiş aksonlar sinir liflerinden aksonlar oluşturur ve bunların merkezi sinir sisteminden çevre dokulara uzananları periferik sinirler olarak adlandırılır (12,17, 24-29, 63-65) (Daniel & Terzis, 1977). Periferik sinirler, sinir hücreleri, bağ dokusu elemanları, lenfatikler, kan damarlarından oluşan ve merkezi sinir sistemi ile motor ya da duyusal son-organlar arasında bağlantıları sağlayan kablolardır. Yani başka bir tanımla periferik sinir sistemi; merkezi sinir sistemi ile deri ve kaslar arasındaki iletişim yollarını oluşturur. Periferik sinirler bir ya da daha fazla fasikül demetinden oluşurlar. Her bir demetin içinde oranları değişmekle birlikte motor, duyusal ve sempatik lifler bulunur. İçerden dışarıya doğru sinir hücreleri lifleri ve lif demetlerini, bağ dokusu kılıfları sarmalamaktadır. Sinir hücresinin uzantısı olan aksonlar Schwann hücreleri tarafından sağlanan çok tabakalı miyelin kılıfı ve bunları çevreleyen bir bazal membran ile sarmalanır ve bu lifler görev alanları ve erim noktalarına göre araları ince bir endonöryumla doldurulmuş fasikül adını alan kablo grupları oluştururlar. Fasikülün çevresinde perinöryum adını alan ince ancak güçlü bir kılıf bulunur. Fasikülleri birarada tutan ise nispeten gevşek bir bağ dokusu yapısındaki epinöryumdur. Epinöryumun gevşek dokusu fasiküllerden oluşan sinir gövdesine hareket serbestisi kazandırır ve dış etkenlere karşı fasikülleri koruyan bir yastık görevi üstlenir. Fasiküller arası bölgeyi dolduran epinöryumun miktarı bireyler arasında, sinir tipleri arasında ve hatta aynı sinirin değişik düzeylerinde farklılıklar gösterir. Epinöral bağ dokusu insanda ulnar sinirin humerus medial epikondili seviyesindeki enine kesitinde %22'lik bir alan kaplarken, siyatik sinirin gluteal bölgeden alınan kesitinde bu oran %88'e çıkmaktadır. Ancak bu istisnalar bir kenara bırakılırsa genel olarak bu oran %30 ile 75 arasındadır (27-29, 70, 78) (Sunderland,

1978; O'Brien & Morrison, 1987). Sinirlerin distal bölgelerinde bu gevşek bağ dokusundan yararlanarak fasikülleri belirli uzunluklara göre diseke edebilmek olanaklıdır. Ancak, proksimal düzeylere çıkıldıkca fasiküller arasındaki dal bağlantıları sıkılaşmakta ve fasiküllerin uzun mesafeli diseksiyonu zorlaşmaktadır (Jabaley ve ark., 1980).

Sinir gövdesinin diğer anatomik bileşenleri ise kan damarları ve lenfatiklerdir. Sinirlerin yandaş seyirli damarlardan aldıkları besleyici dallar, arter ve venler vasa nervosum adını alıp en dış planda epinöryumu çevreleyen dış (yüzeyel; ekstrensek) damar ağını oluşturur. Mezonöryum kan damarlarını ve epinöryumu çevreleyen ayrı, gevşek bir kılıf olarak tanımlanmasına rağmen (Brand ve MacKinnon, 1997) bunun ayrı bir yapı olmayıp bir diseksiyon artefaktı olabileceği de ileri sürülmüştür (Lundborg, 1970; Sunderland, 1978). Bu yüzeyel damar ağı fasiküller çevresinde dağılan derin damar ağıyla bağlantılar yapıp sinir boyunca uzanmakta ve sinir tabakalarının beslenmesini sağlamaktadır. Bununla birlikte tüm çevresel bağlantılar kesilip en dıştaki damarsal kaynaklar ortadan kaldırılsa bile derin (ya da intrensek) damar ağının uzun sinir segmentlerinin beslenmesine yetebildiği deneysel olarak gösterilmiştir (Lundborg ve Branemark, 1968). Vasa nervosumlar sempatik sinir liflerinin uyarısı altındadır ve sinirde geçen kan akımı miktarını bu sistem ayarlar (27,29,30-32, 36,37,42,51).

Perinöryum dışında ve endonöryum içinde klasik anlamda olmasa bile lenfatik damarların ya da en azından lenfatiklere benzer taşıma görevi yapan kanalların varlığı bilinmekte ancak bunların epinöral alandaki gerçek lenfatiklerle bağlantılı olmadığı düşünülmektedir. Perinöryum ise enfeksiyonlara gerçek bir bariyer görevi yapar. Perinöryum sağlam olduğu sürece infeksiyon ortamından geçen sinirlerin bile infeksiyondan doğrudan etkilenmediği belirtilmiştir (33-37, 39 70, 78) (Sunderland, 1978).

Periferik sinir lifleri kalınlık ve ileti özelliklerine göre başlıca üç gruba ayrılır: A, B ve C lifleri. A lifleri en hızlı iletilen en kalın miyelinli liflerdir. Kas iğciklerinden gelen afferent lifler derinin kalın miyelinli hızlı ileten duysal afferentleri ve omurilik ön boynunda yer alan motor hücrelerin kaslara giden efferent

lifleri bu gruptadırlar. B lifleri daha ince miyelinli olup preganglionik otonomik efferent lifleri içerir. C lifleri küçük çaplı miyelinsiz lifleri içerir. Postganglionik otonomik efferent lifler ve ağrı, ısı duyumunda görevli somatik afferent liflerin çoğunluğu bu gruptadırlar.

Periferik sinirlere her tür travma (ateşli silah yaralanması, tümör cerrahisi, kesici aletle yaralanma, elektrik çarpması, yanıklar, ezilmeler gibi) en hafifinden en ağırına değişik derecelerde sinir yaralanmasına yol açar. Periferik sinir içindeki tüm sinir lifleri aynı derecede yaralanmaya uğrayabileceği gibi, yaralanmanın şiddetine ya da tipine göre, aynı sinir içindeki farklı lifler farklı türde yaralanmaya da uğrayabilir. Seddon (1947) ve Sunderland (1951) bu tür yaralanmalar için sınıflamalar önermişlerdir. Bazı yazarlar Sunderland sınıflamasına "Altıncı Derece" yaralanmayı eklemeyi önerirler. Bu, kimi liflerde akson kaybının kimi liflerde ise ileti bloğunun olduğu miksyaralanmalardır. Bu tür lezyonlar olasılıkla çok yaygındır ve pür akson kayıplı lezyonlardan ayırım için dikkatli elektrodiyagnostik inceleme gerektirir.

Seddon sınıflamasına göre en hafif yaralanma türü "nörapraksi" olup motor ve duysal kayıp olabilmekle birlikte Walleryen dejenerasyonu bulgusu yoktur. Yaralanma distalinde sinir normal iletir. İleti bloğu söz konusudur. Saatler, günler, haftalar veya aylar içinde düzelir. "Aksonotmezis" trafik kazalarında veya silahlı yaralanmalarda daha yaygın görülen bir zararlanmadır. Akson ve miyelin kılıfı hasarlıdır fakat çevreleyen doku kısmen veya tamamen sağlamdır. Walleryen dejenerasyonu oluşur fakat düzelme çevre dokulardaki hasara ve kasa uzaklığa göre değişir. Sunderland sınıflamasına göre daha ayrıntılı prognoz belirlenmesi yapılabilir. "Nörotmezis" ise sinirin ya tümüyle kopması ya da aksonal rejenerasyonu olanaksız kılacak denli bir nedbe dokusu oluşumunu tanımlar. Cerrahi tamir olmadıkça düzelme olanaksızdır (tablo 2.1).

Seddon Sınıflaması	Sunderland Sınıflaması	Patoloji	Prognoz
Nörapraksi	Birinci derece	Miyelin hasarı	Haftalar, aylar içinde mükemmel düzelme
Aksonotmezis		Akson kaybı Değişik derecede bağ doku hasarı	Destek dokuların bütünlüğünün korunmasına ve kasa olan mesafeye bağlı olarak iyiden kötüye değişebilen prognoz
	İkinci derece	Akson kaybı Endonöral tüpler sağlam Perinöryum sağlam Epinöryum sağlam	Kasa olan mesafeye bağlı olarak iyi progroz
	Üçüncü derece	Akson kaybı Endonöral tüpler hasarlı Perinöryum sağlam Epinöryum sağlam	Kötü prognoz Aksonlar hatalı yöne gidebilir Cerrahi gerekebilir
	Dördüncü derece	Akson kaybı Endonöral tüpler hasarlı Perinöryum hasarlı Epinöryum sağlam	Kötü prognoz Aksonlar hatalı yöne gidebilir Cerrahi sıklıkla gerekir
Nörotmezis	Beşinci derece	Akson kaybı Endonöral tüpler ağır hasarlı Perinöryum ağır hasarlı Epinöryum ağır hasarlı	Spontan iyileşme olmaz Cerrahi gereklidir Cerrahiden sonra prognoz belirlenir

Tablo 2.1: Periferik sinir yaralanma sınıflamaları

2.6 Periferik Sinirde Mikrocerrahi

Yaralanmış bir sinirde onarımın hedefi fonksiyonel ileti ünitesi olan fasiküllerde devamlılığın sağlanması için bu yapıların cerrahi olarak doğru konumlarda karşılıklı getirilmesi yani ‘’sinir uçlarının koaptasyonu’’dur. Bu sayede periferik sinir iyileşmesi için gerekli ortam yaratılır. Onarımda iki temel teknik kullanılmaktadır. Sinir koaptasyonu için ya dikişler epinöral tabakadan geçilip sinir gövdesi bütün olarak ağızlaştırılır ya da perinöral tabakadan geçen dikişlerle tek tek fasiküller ya da birkaç fasikül grubu bir arada koapte edilir. Bu tekniğin karışımı olan epinöral teknik ise aslında perinöral tekniğin bir uyarlaması gibi kabul edilebilir. Benzer bir uyarlama olan fasikül gruplarının onarımı da daha çok klinik ortamda

başvurulan bir tekniktir. İki temel teknikten epinöral ve fasiküler onarımlar karşılaştırıldığında birbirine karşı belirgin bir üstünlüğü gösterilememiştir (38-40, 43, 47). Halen sahip olduğumuz bilgi ve olanaklarla teknik olarak yapılabilecek en mükemmel onarımlarda bile sinir fonksiyonu tam olarak ya da başka bir deyişle %100 geri kazanılamamaktadır. Her bir fasikül demetinin içinde altı ile on iki bin akson bulunduğu ve bunların bire bir iyileşmelerini sağlayabilecek ideal bir yöntemin henüz mevcut olmadığı düşünülürse sorunu anlamak kolaylaşır. Yine de başarılı bir sinir onarımıyla geri dönen işlevler, kayıpların gözardı edilebileceği kazanımlar sağlamaktadır (41-44, 46, 48).

2.7 Sinir İyileşmesi

Hücre zarının her iki yanındaki iyon konsantrasyonu farklılıkları aksolemmal zar boyunca elektriksel uyarıyı üretip arttıran en önemli nedendir. Aksonları muhafaza eden endonöral boşluklar iletim işlevinin bozulmaması için metabolitlerin ulaşamadığı korunaklı bir ortam halinde olmalıdır. Bu ortamı sağlamak için merkezi sinir sisteminden bildiğimiz ‘’kan-beyin bariyeri’’nin eşdeğeri olan ve dışarda perinöryum içerde de endonöral kapillerin özel yapıdaki endotelinin oluşturduğu “kan-sinir bariyeri’’ adı verilen diffüzyon bariyeri mevcuttur. Bu bariyerin ortadan kalkması sinir ileti fonksiyonlarını bozacaktır. Akson lifleri içinde bulunan aksoplazma ise iletiye yardımdan çok sinir hücresi, reseptör organ metabolizması ve fonksiyonu için gerekli nörotrofik maddelerin taşınmasına yaramaktadır (45-49, 53, 56). Nöronların canlılığını ve rejenerasyon yeteneğini sürdürebilmesi için hedef hücrelerden süreklilik içinde gelen nörotrofik faktörlere gereksinim duyması kuvvetli bir olasılıktır (51-53). Hasar ortaya çıktıktan sonra rejenere olan aksonlar (miyelinli ya da miyelinsiz) distalde boşalmış olan eski endonöral tüplerin ya da Schwan hücreleri tarafından hazırlandığı düşünülen yeni kanalların içine doğru ilerler (54-58). Aynı şekilde rejenere olan aksonlar kendilerine yol gösteren yapay tüpler hazırlanması durumunda bu kanallları izleyerek karşıdaki kesik uçlara uzanabilirler. “Yönlendirilmiş doku yenilenmesi’’ (“Guided tissue regeneration’’) olarak tanımlanan süreçte aralarında mesafe bulunan kesik sinir uçları damar grefti gibi

doğal ya da silikon veya PTFE (Politetrafloroetilen) gibi sentetik tüplerle birleştirilmekte ve tüpün içinden ilerleyen aksonlar birbirine kavuşabilmektedir. Yönlendirilmiş doku yenilenmesindeki cerrahi ilke çevreden gelen yumuşak dokuların kesik sinir uçlarının arasına girip aksonların ilerlemesine engel olmaması için sinir uçların arasına bir tüp yerleştirmektir. Rejenerasyon sonunda endonöryum içinde perinöral ve epinöral kılıflarla sarılı, miyelinli ya da miyelinsiz, normal anatomiye sahip yeni sinir dokusu geliştiği gösterilmiştir (55, 58). Tüpler içindeki rejenerasyonda nörotrofik maddelerin önemli rolü olduğu ve özelleşmiş duyusal "end organ''ların yenilenen sinir liflerinin yönünü tayin ettiği de deneysel olarak gösterilmiştir (57, 60). Walleryen dejenerasyonda rol alan aktif makrofajlar gibi rejenerasyonda rol alan nörotrofik faktörlerin de kaynağı büyük olasılıkla Schwann hücreleridir (50-54, 56, 59).

2.8 Sinir Grefti

Sinir grefti klinikte sık kullanılan bir tekniktir. Uzun sinir defektlerinde ve fasiyal reanimasyondaki kullanımı dışında gergin bir primer koaptasyondan kaçınmak için bile tercih edilebilir. Bunun geçerli bir nedeni vardır. Uzun segmentler halinde sinir diseksiyonu anatomik trasenin değiştirilmesi ve uçların biraz gerginlik altında yaklaştırılıp dikilmeleri epinöral damarları zedeleyip sinir dolaşımını bozan işlemlerdir. Gerginlik altında yeterli kan alamayan sinir uçlarında iyileşme şartları ideal olmamakta ve sinir işlevlerinde beklenen kazanım sağlanamamaktadır (55-59, 62, 65).

Sinir greftlerinin kesik periferik sinir uçları arasında uygun bir köprü olacağı fikri 1870 yılında Philipeaux ve Vulpian tarafından ortaya atılmıştır. 1878 ve 1885'de Albert mediyan sinir defektinde ampute ekstermiteden aldığı sinir greftini koyarak, 1932'de Ballance ve Duel fasiyal ve digital sinirleri sinir grefti ile onararak bu konunun klinikteki öncülüğünü yapmışlardır. 1919'da Eden yaptığı köpek deneylerinde sinir homogreftleri konusundaki ilk denemeleri yaparken, Sheldon ve arkadaşları da 1947 ve 1951 yıllarındaki "iki aşamalı sinir grefti'' olarak adlandırdıkları klinik girişimleriyle vaskülerize sinir greftlerinin ilk örneklerini

vermişlerdir (Lee, 1987). Mikrovasküler anastomozlarla kan dolaşımı sağlanarak aktarılan ilk sinir greftini ise Taylor ve Ham 1976 yılında bildirmişlerdir (39, 60-64).

2.9 Prefabrikasyon

Prefabrikasyon terimi ilk olarak 1982 yılında Shen tarafından vasküler pedikül implantı sonrasında neovasküler pedikülün mikrocerrahi tekniğiyle transferi sonrasında kullanılmıştır. Arter ve eşlik eden venden oluşan vasküler pedikül flep tranferi için en küçük ünite olarak kabul edilmektedir. Flep transferiyle veya onun en küçük ünitesi olan vasküler pediküle doku neovaskülerizayonun tarihçesi 1930'larda Beck ve Tichy'nin miyokardiyal perfüzyonu arttırmak amacıyla gerçekleştirdikleri sol ventriküle pektoral kası transfer etmelerine uzanmaktadır. 1936 yılında O'Shaughnessy kalbin kollateral kan dolaşımını desteklemek için omentum transferi yapmıştır (66-68, 73). Bundan 10 yıl sonra 1946 yılında Vinberg internal mammaryan vasküler pedikülün transferini popülerize etmiş ve koroner arterlerle implante pedikül arasında anastomozların geliştiğini bildirmiştir (69). 1971 yılında Washio köpek modelinde mukozal dokuyu çıkararak abdominal dokuya aktarmış ve neovaskülerizasyonu sağlamıştır (76). Erol tavşan modelinde femoral vasküler demet üzerine parsiyel kalınlıkta cilt greftini koymuş ve bunu ada flep haline çevirmeyi başarmıştır. Sonrasında Erol ve Spira omentumu kullanarak cilt ada flebini neovaskülerize etmeyi başarmışlardır (19, 71). Shen bağlanmış vasküler pedikül üzerinden ada flebi eleve ederek vasküler pedikül implantı, neovaskülerizasyon ve sonrasında tranferini içeren işleme prefabrikasyon terimini ilk kullanan kişi olmuştur (66-68). O zamandan itibaren cilt, kas, kemik ve kompozit dokudan oluşan prefabrike flepler klinik ve deneysel olarak gösterilmiştir. Khouri tarafından da vurgulandığı gibi literatürde basit bir delay işleminden doku genişletmeye, biyomühendisliğe kadar pekçok işleme yanlış olarak prefabrikasyon terimi kullanılmıştır (22, 71, 74). Prefabrikasyon Shen'in de ilk olarak tanımladığı gibi yeni bir alana vasküler pedikül implantasyonu ve maturasyon, neovaskülerizasyon sonrasında implante edilmiş olan pedikül tabanlı olarak farklı bir bölgeye aktarılmasıdır. Prelaminasyon işleminde ise

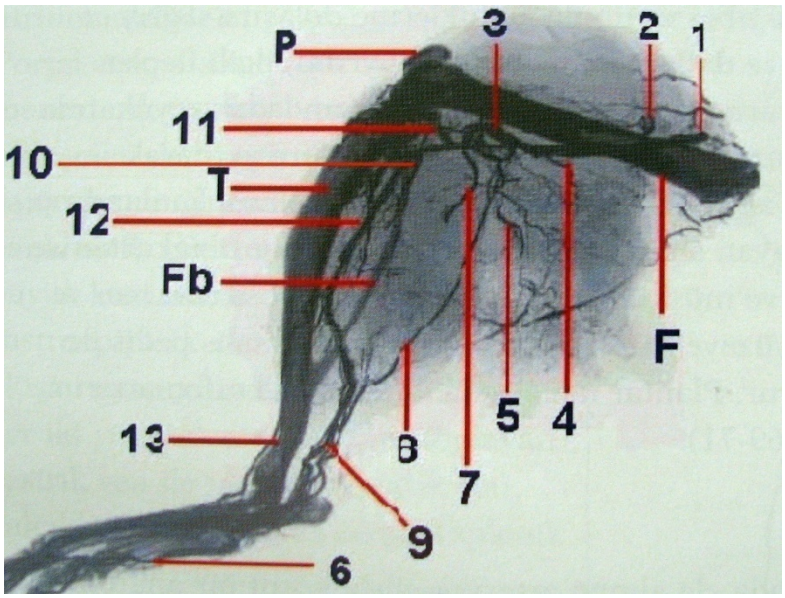
transfer edilecek vasküler alana önceden doku veya izole edecek madde yerleştirilir. Flep prelaminasyonunda kanlanma manipüle edilmemektedir.

Flep prefabrikasyonu iki aşamada gerçekleştirilir:

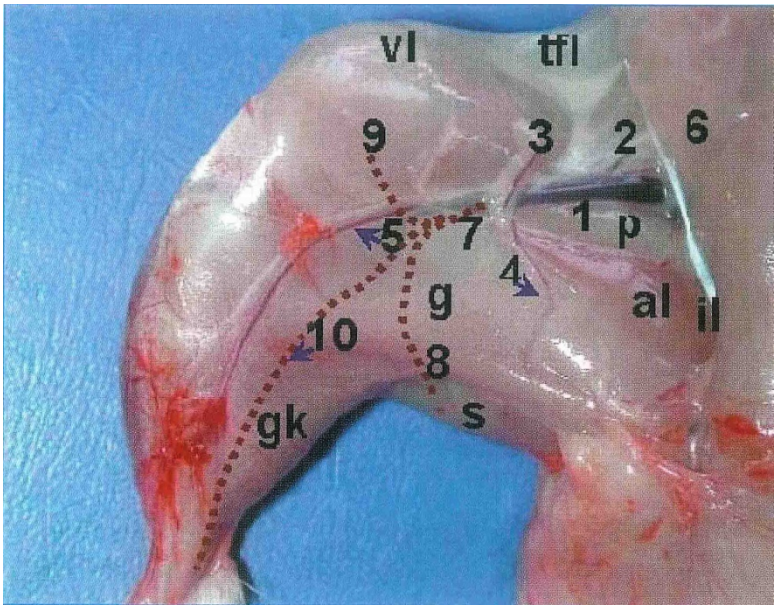
1) Birinci aşama vasküler pedikülün yerleştirilmesidir. Vasküler pedikül (en azından vasküler pedikül eşlik eden ven adventisiyal dokuyla sarılmış halde içermelidir, fasya da içerebilir) distal ucu bağlanmış şekilde aktarılması planlanan dokuya anastomoz yapılmadan transfer edilir. Spontan olarak implante edilen pedikül ile etraf doku arasında vasküler bağlantı oluşur böylece yeni vasküler saha yaratılır.

2) İkinci aşama ise flep transferidir. Matürasyon sonrasında neovaskülerize doku implante edilen pedikül tabanlı olarak transfer edilir. Teorik olarak prefabrikasyon işlemi herhangi bir dokunun vücudun istenen başka bir bölgesine aktarılması mümkün kılmaktadır.

Prefabrikasyon arter, vena komitantes ve çevresindeki adventisyanın neovaskülerize edilemek istenen sahaya transferini içermektedir. İmplante vasküler pedikül etrafındaki dokunun matürasyon sonrasında flep şeklinde eleve edilebilir ve lokal veya serbest flep olarak istenilen sahaya aktarılabilir. Hasar görmüş alıcı sahalarda güvenilir verici oluşturmak için etkilidir. Bu teknik baş boyun bölgesinde oluşan yanıklara uzak sahadan ince flep transfer edilmesi için de kullanılabilir. Prefabrike edilen dokuda yeterli inoskülasyon ve neovaskülerizayonun gelişmesi için ortalama 3 hafta beklenmelidir. Prefabrikasyon tekniği potansiyel olarak herhangi bir dokunun istenen alıcı sahaya transferini mümkün kılmakta dolayısıyla rekonstüktif seçenekleri belirgin olarak arttırmaktadır. Prefabrike edilen bu flepler ada pediküllü flepler şeklinde transfer edilmektedir. Bu lokal vasküler pediküller ek neovasküler doku transferi için tekrar kullanılabilirler. Böyle bir çalışmada sıçan bacağının ve damarlarının anatomisini iyi bilmek esastır (Şekil 2.8-2.10). Literatürde sinir prefabrikasyonu ile ilgili son derece sınırlı sayıda çalışma bulunmakta ve femoral sinir gibi 1 mm kadar küçük çapta bir sinirle yapılan prefabrikasyon çalışması bulunmamaktadır.

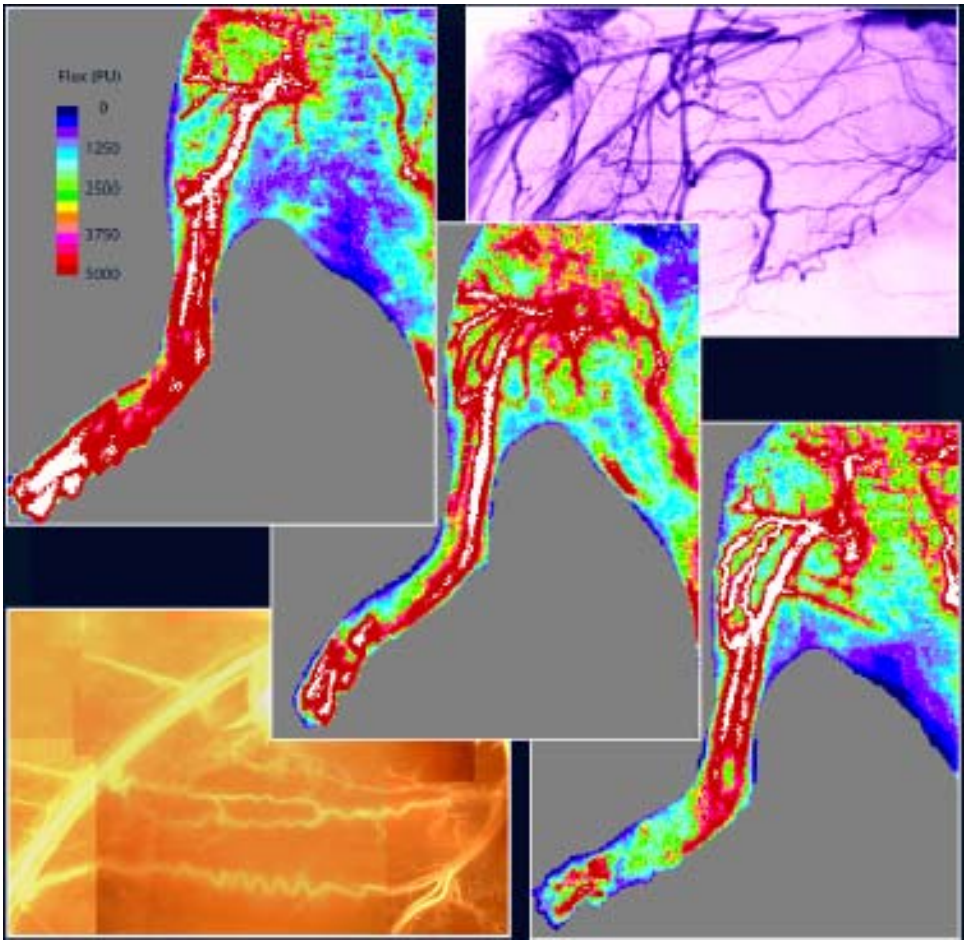


Şekil 2.8: Bacak damarlarının anjiografik görünümü (1-Femoral arter)



Şekil 2.9: Bacak ön yüzünün kadavrada görünümü

(1-Femoral arter ve ven, gk: m. Gastrokinemius, g: m. Grasilis)



Şekil 2.10: Sıçan femoral arterinin ligasyonu öncesi, 3 ve 21 gün sonrasındaki invaziv olmayan lazer ‘’doppler’’ perfüzyon görüntüleri (merkezde bulunan görüntüler sırasıyla soldan sağa). Distal safen arter ile lateral kaudal femoral arter arasındaki kollaterallere dikkat ediniz. Akım hızı 16 farklı renkle sembolize edilmiştir. (Perfüzyon birimi (“Perfusion Unit’’)=0-5000). Sağ üst ve sol alttaki şekiller ligasyondan 21 gün sonra maksimal dilatasyon sonrası post-mortem arteriyel damarların barium sülfatla doldurulmasını takiben sıçanın mediyal adduktor bölgesinin anjiografi ve renkli fotomikrografi görüntüleridir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Deneysel çalışma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı ve Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmokoloji ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı olanakları ile Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan 06.11.2006 tarih ve 1-17 sayılı etik kurul onayı alınmasını takiben başlanmıştır. Çalışmaya başlanmadan önce bölgesel anatomiye adaptasyon, femoral sinir bazal sinir iletim hızının tespiti, prefabrike sinirinde erken dönem mikroskopik değişikliklerin ve deney prefabrikasyon modelinin çalışıp çalışmadığının tespiti amacıyla 11 adet sıçan üzerinde pilot çalışma yapılmıştır.

3.1 Hayvan modeli

Çalışmada ağırlıkları 250-350 gram arasında, toplam 36 adet Wistar albino erkek sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar deney gününden 5 gün önce Farmokoloji ve klinik Farmokoloji Anabilim Dalı'na getirilerek deney gününe kadar Anabilim Dalı hayvan odasında, uygun kafeslerde, 21±2 ºC sıcaklık ve ışıkların sabah saat 7:00'da yakılarak 12 saat karanlık-12 saat aydınlık ortamın sağlandığı koşullarda barındırıldı. Sıçanlar standart yemle beslendi ve herhangi bir diyet ya da su kısıtlaması yapılmadı.

Deney için kullanılacak toplam 36 adet sıçan aynı genetik soydan, aynı beslenme şartlarına sahip, aynı fiziksel ortamda yetişen ve yaklaşık aynı ağırlıkta hayvanlardır. Her bir grupta 12 adet olmak üzere sıçanlar, randomizasyon yöntemi ile öncelikle 3 gruba ayrılmıştır (tablo 3.1). İlk grupta yer alan sıçanlar "sham'' (femoral sinire cerrahi müdahale yapılmayan) grubunu, ikinci grupta yer alan sıçanlar vaskülerize prefabrike sinir grefti ve üçüncü grupta vaskülerize olmayan

(prefabrikasyon işlemi uygulanmamış) sinir grefti grubunu temsil etmektedir. Sıçanlar deneye başlarken bulundukları kafeslerden alınıp tek başlarına ayrı bir kafese konulup, intraperitoneal yolla verilen 80 mg/kg ketamin + 10 mg/kg ksilazin ile anestezi sağlanmıştır.

Grup Adı	Grup açıklaması	Gruptaki Sıçan Sayısı (n)
Grup 1	"sham'' grubu	12
Grup 2	Prefabrikasyon işlemi uygulanmış grubu	12
Grup 3	Prefabrikasyon işlemi uygulanmamış grubu	12

Tablo 3.1 : Deney Grupları

3.2 Gereçler

Araştırmada kullanılan cerrahi gereçler ve sarf malzemeleri:

1-Temel cerrahi gereçler (bistüri, penset, portegü, vb.)

2-Mikrovasküler cerrahi gereçler

a) Mikroportegü

b) Kuyumcu penseti

c) Mikromakas

3-Cerrahi ''loupe'' (Carl Zeiss 3.5x)

4-Isıtmalı cerrahi masa

5-Canon Pro S5 IS fotoğraf makinesi

6-Ketamin

7-Ksilazin

8-Batikon

9-4/0 cerrahi ipek sütür

10-10/0 Ethilon mikrocerrahi sütür

11- Bipolar sinir elektrodu (Model SIU-5A, Grass Instruments Co., Quincy, MA, USA)

12- Stimülatör (Model S48, Grass Instruments Co., Quincy, MA, USA)

13- Amplifiye edici devreye (Model P15, Grass Instruments Co.)

3.3 Yöntem

Sıçanlar deneye başlarken bulundukları kafesten alınıp tek başlarına ayrı bir kafese kondular. Daha sonra intraperitoneal yolla verilen 80 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin ile anestezi verildi. Sıçan süpin pozisyonda sabitlenerek femoral arter, ven, sinir paketinin bulunduğu cilt traşlanarak povidon iyotla cerrahi temizliği takiben insizyon yapıldı (Şekil 3.1-3.2). Longitidunal insizyonla femoral arter, ven, sinir ekspoze edildi (Şekil 3.3). ''Sham'' grubunu temsil eden grupta cilt insiyonu sonrasında femoral sinir ekspoze edildi ve ek cerrahi müdahale yapılmadan cilt sütüre edilerek operasyon sonlandırıldı (Şekil 3.4). Vaskülerize prefabrike sıçanlarda femoral arter ven izole edildikten sonra femoral arter ve ven femoral sinire 3 cm'lik segment işaretlenip ortasına 10/0 ethilon ile sütüre edildi. Dışardan bir kaynaktan neovaskülerizasyonu engellemek için silikon tüp ile femoral arter, ven, sinir demeti izole edildi. Sonrasında cilt 4/0 ipekle sütüre edildi ve sıçanlar ayrı kafeslere yerleştirildi. Prefabrikasyon için tüm hayvanların sol tarafı kullanıldı. Vaskülerizasyon uygulanmayan sıçanlarda sol femoral sinirin 3 cm'lik segmenti greft olarak kesilip eş zamanlı olarak mikrocerrahi olarak 10/0 ethilon ile anastomoz yapıldı (Şekil 3.5-3.6). Prefabrikasyon ile vaskülerize edilen yapılan sıçanlar 3 hafta sonra 3 cm'lik vaskülerize sinir segmenti kesilip eş zamalı olarak 10/0 ethilon ile mikrocerrahi olarak anastomoz yapıldı (Şekil 3.7-3.9).Deney her aşamada ayrıntılı

olarak fotografik olarak dökümente edildi. Vaskülerize edilen, vaskülerize edilmeyen gruplar anastomozdan üç hafta sonra ve kontrol (“sham’’) grubu izolasyondan üç hafta sonra histopatolojik, makroskopik, sinir iletim hızı açısından karşılaştırıldı. Tüm cerrahi aşamalar aynı cerrah tarafından steril mikrocerrahi teknikle uygulandı. Deney protokolü sona erince sıçanlar yüksek doz eter inhalasyonu ile sakrifiye edildiler.



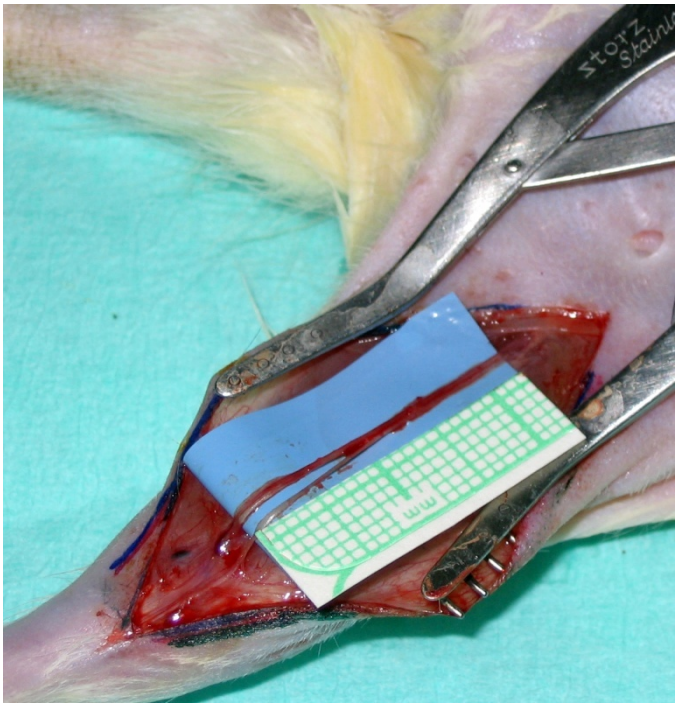
Şekil 3.1: Cerrahi sahanın hazırlanması



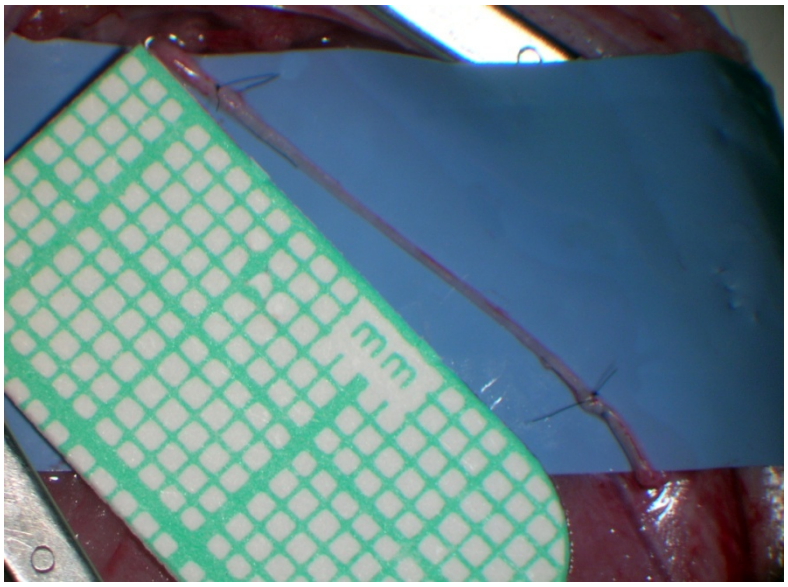
Şekil 3.2: Arter, ven, sinir paketinin şematik görünümü



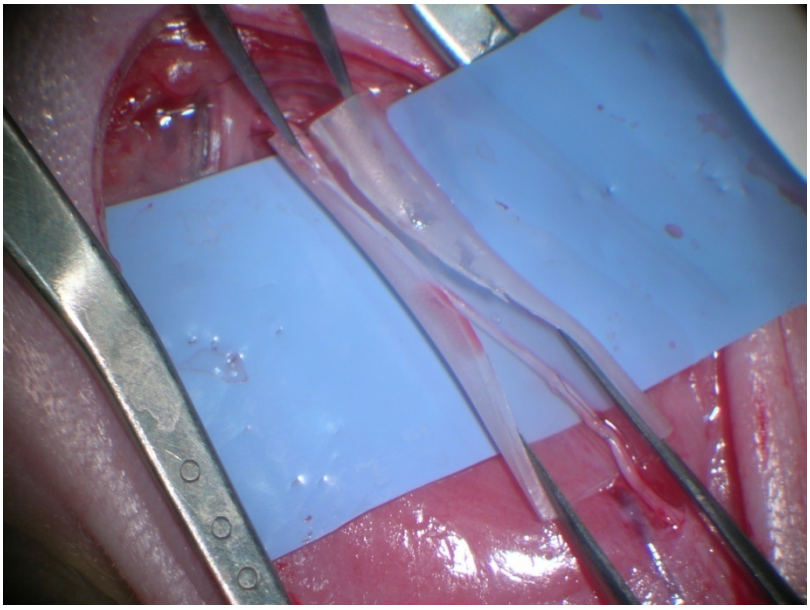
Şekil 3.3: Arter, ven, sinir paketinin diseksiyonu



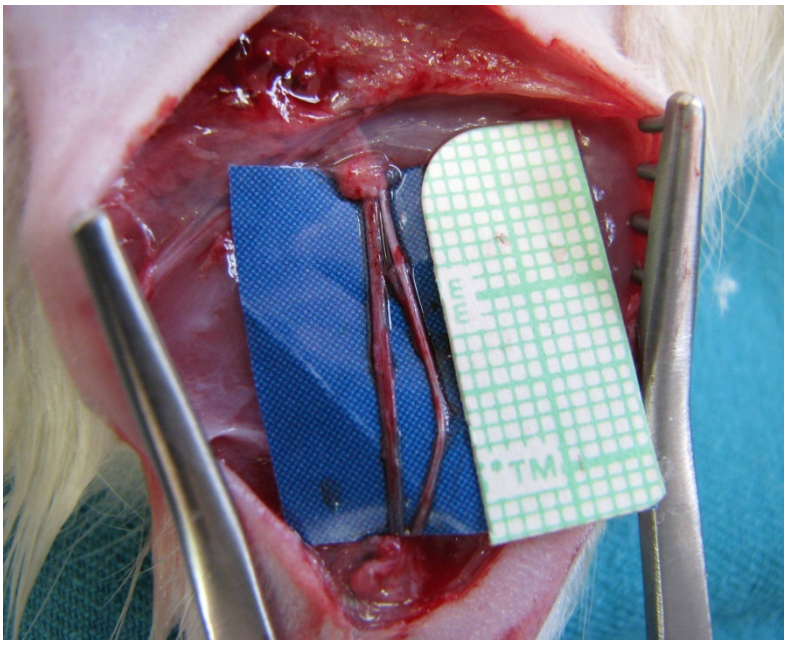
Şekil 3.4: Arter, ven, sinir paketinin milimetrikortaya konulması



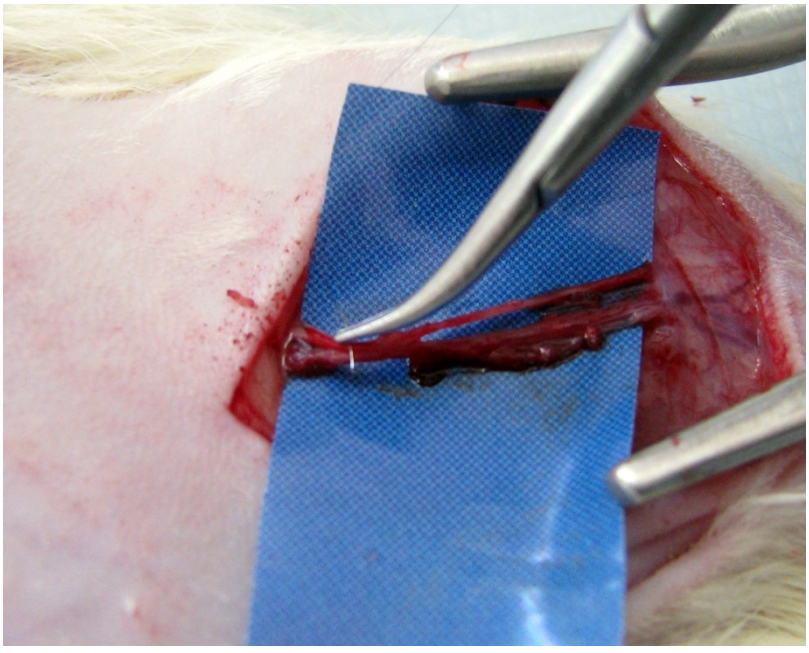
Şekil 3.5: Vaskülerize edilmeyen grupta femoral sinir



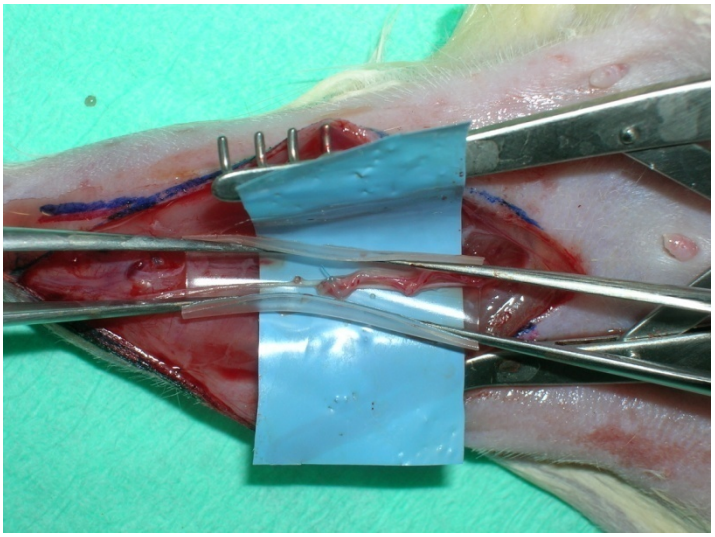
Şekil 3.6: Vaskülerize edilmeyen grupta sinirin silastik tüple sarılması



Şekil 3.7: Femoral sinirin arter ve ven ile prefabrikasyonu



Şekil 3.8: Femoral sinirin arter ve ven paketine 10/0 ethilon ile sütürasyonu



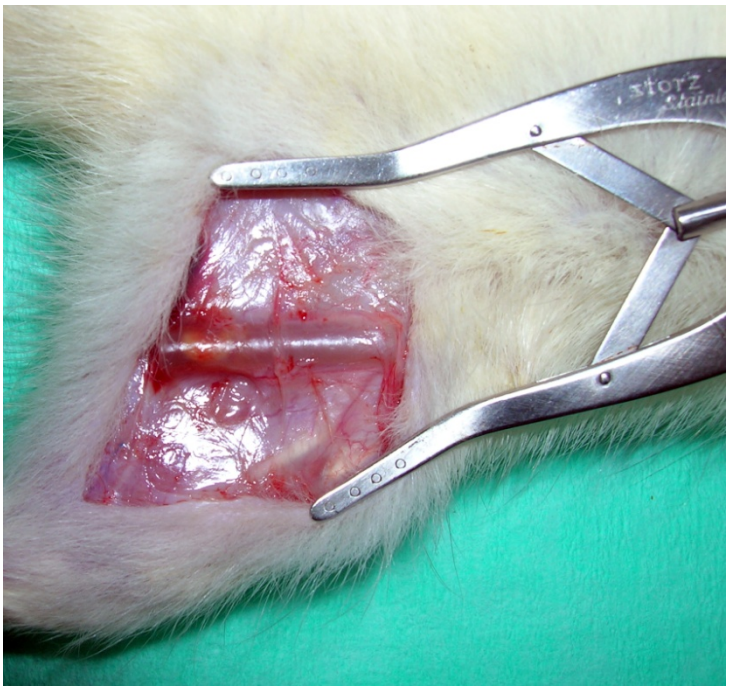
Şekil 3.9: Sinirin prefabrikasyonu ve silastik tüple sarılması

3.4 Elektrofizyolojik Çalışma

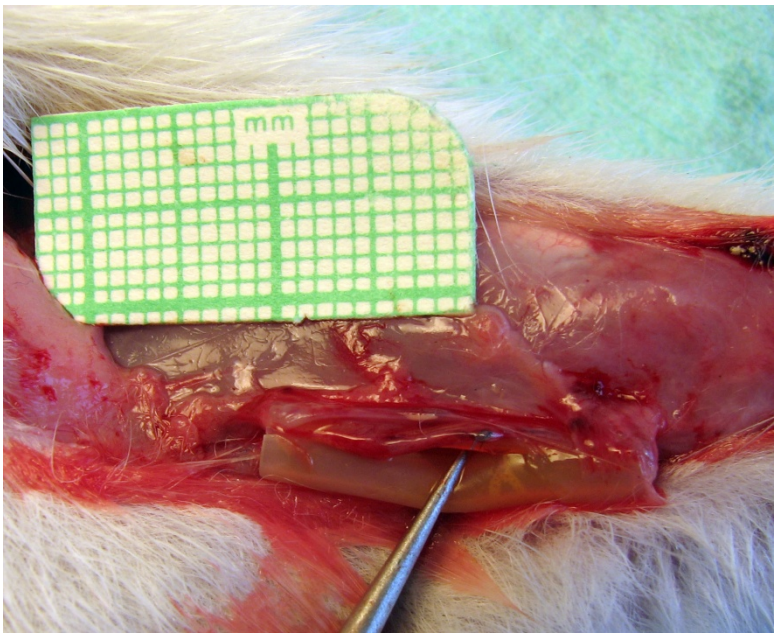
6 haftalık iyileşme dönemini takiben sıçanlar intraperitoneal yolla verilen 80 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin ile anestezi edildiler. Femoral arter, ven, sinir hayvanlara yapılan longitidunal insizyonla tekrar ekspoze edildiler. Elektrofizyolojik ölçümler yapılmadan önce 3 cm mesafeden makro fotograf çekildi (Canon ProS5 IS 8mp, Canon Inc.). Sol femoral arter, ven ve sinir paketi hizasına yapılan insizyonla silikon tüpe ulaşıldı ve silikon tüp çıkarılarak prefabrike edilen sinir ortaya çıkarıldı. Deney grubunda prefabrike femoral sinir, vasküler arter ve ven cerrahi olarak sinir travmatize edilmeden izole edildi (Şekil 3.10-3.14). Femoral sinir proksimali, aksiyon potansiyellerinin retrograd olarak medulla spinalise ulaşmasını engellemek amacıyla 5/0 ipek sütür ile sıkıca bağlandı. Wistar albino sıçanların vücut sıcaklıkları deney süresince elektrikli battaniye ve termostat sistemi ile 37° C'de sabit tutuldu (Şekil 3.15) (Harvard Apparatus Homeotermik Battaniye, Harvard medical).

Sinirin kurumasını önlemek için çevresindeki cilt dokusu ile havuz oluşturuldu ve oluşturulan havuz 37° C'deki sıvı vazelin ile dolduruldu. İn vivo olarak, bipolar platin stimülasyon ve kayıt elektrodları ilebileşik aksiyon potansiyelleri (BAP) elde edildi**.** Proksimal sinir ucu platin bipolar elektrodlarla

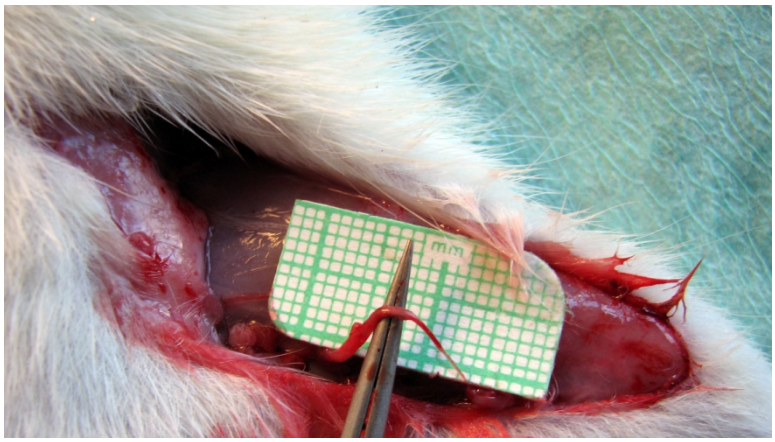
(Model SIU-5A, Grass Instruments Co., Quincy, MA, USA) monofazik 3-12 V amplitüdlü ve 100 μs devam süreli kare dalgalar ile her 10 saniyede bir stimülatör (Model S48, Grass Instruments Co., Quincy, MA, USA) ile uyarıldı. Uyarı ampitüdü eşik ve maksimal uyarı ampitüdlerinin ulaşılması için aşamalı olarak arttırıldı. Kontrol ölçümlerde prefabrike edilmemiş femoral sinirdeki iletim hızları ölçüldü. Elektriksel uyarı ile oluşturulan aksiyon potansiyelleri, bir (Model P15, Grass Instruments Co.) DC amfi ile kayıt edildi (Şekil 3.16-3.17). Analog sinyaller powerlab sistemimi (MacLab, Avustralya) ile dijital hale dönüştürüldükten sonra ve "chart 5.0'' programı (MacLab, Avustralya) kullanılarak veriler depolandı ve analiz edildi.



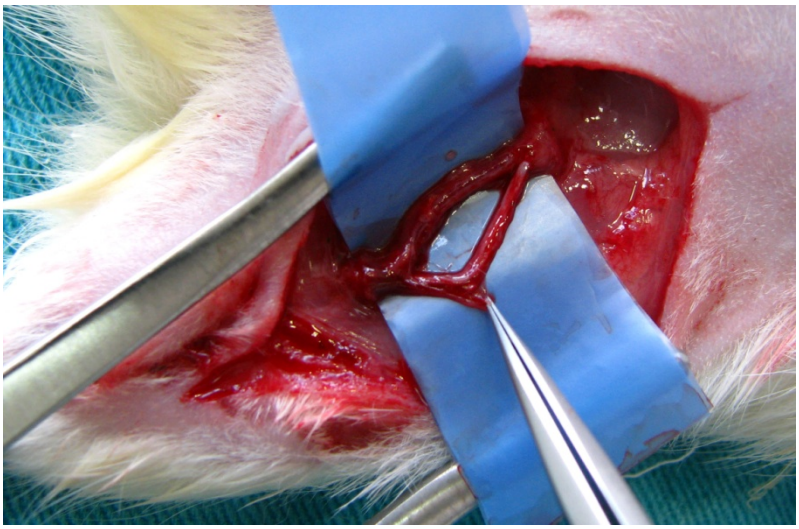
Şekil 3.10: Prefabrikasyon sonrasında silastik tüple izole edilen sinir



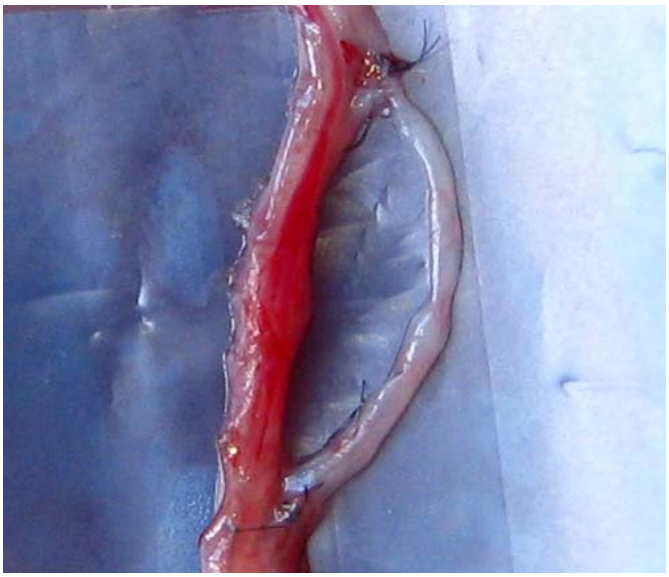
Şekil 3.11: Silastik tüp içindeki prefabrike arter, ven, sinir paketi



Şekil 3.12: Prefabrike arter, ven, sinir paketinin yakından görünüş.



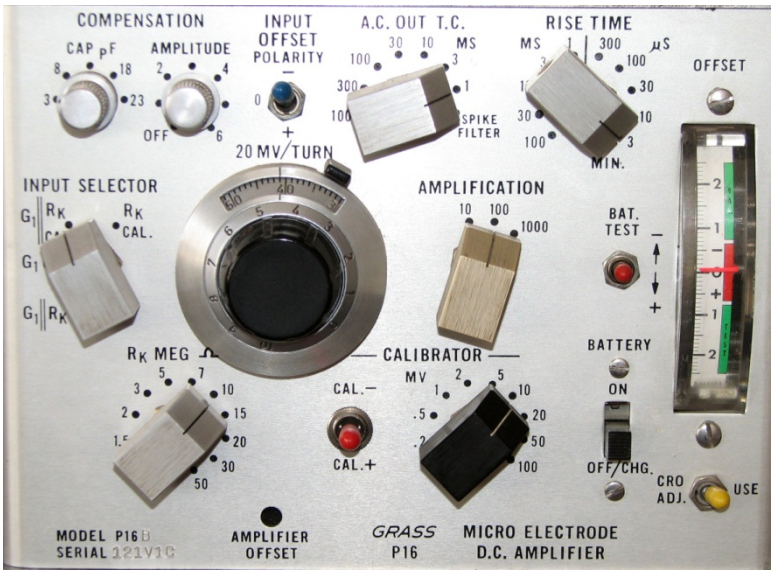
Şekil 3.13: Prefabrikasyon sonrası damar sinir paketi.



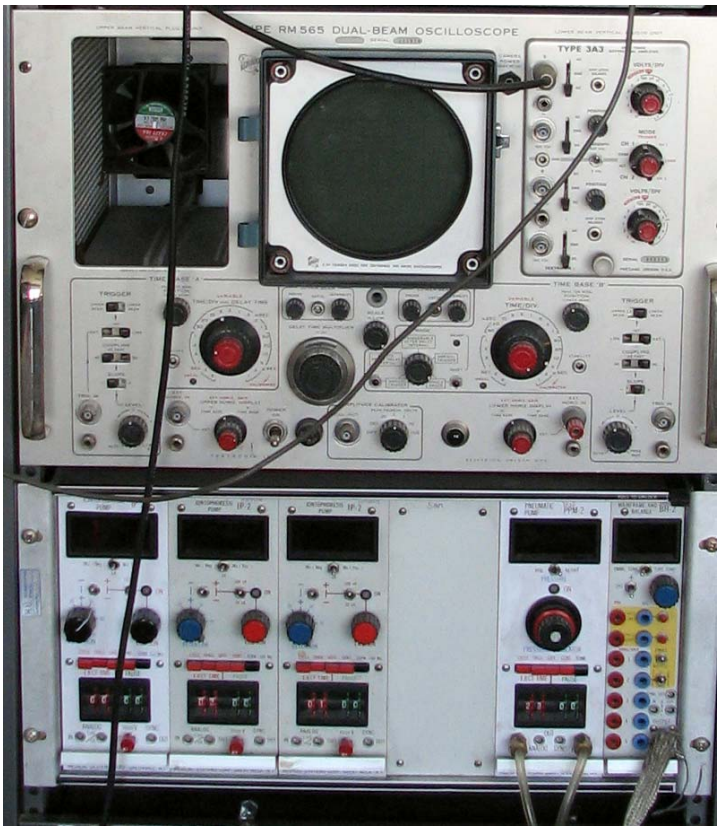
Şekil 3.14: Prefabrikasyon sonrası damar sinir paketinin yakından görünüşü



Şekil 3.15: Harvard Apparatus Homeotermik battaniye



Şekil 3.16: Sinirin elektrofizyolojik değerlendirilmesinde kullanılan mikroelektrod amplifikatör



Şekil 3.17: Dual Akımlı Ossiloskop

3.5 Patolojik İnceleme

BAP kayıtları yapıldıktan sonra prefabrike sinirler ve kontrol siyatik sinirlerden alınan örnekler histopatolojik olarak incelendi. Formaldehit (%10'luk) tespiti ve rutin parafin takibi sonrasında materyallerden enine ve boyuna kesitler hazırlanarak H-E ve Luxol Fast Blue myelin boyaları uygulandı ve ışık mikroskobunda incelendi. Değerlendirme sırasında periferik sinir kesitindeki morfolojik değişiklikler ile myelin varlığı ve dağılımı incelendi.

Deney protokolünün uygulanmasından sonra atıklar Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Yetiştirme Laboratuvarına nakledilerek ortadan kaldırılmaları sağlandı.

3.6 İstatistiksel Analizler:

SİH (Sinir İletim Hızı) ve BAP (Bileşik Aksiyon Potansiyeli) verilerinin normal dağılıma uygunluğu grafiksel olarak ve Shapiro-Wilktestiile incelendi. Her iki ölçüm değerinin de normal dağılıma uymadıkları gözlendi. Tanımlayıcı istatistikler verilirken ortalama ± standart sapma ile birlikte ortanca ve IQR (‘‘Interquartile Range’’) değerleri de gösterildi. Sham ve vaskülerize gruplararası karşılaştırmalar için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Tüm istatistiksel analiz ve hesaplamalar Ms-Excel ve SPSS for Win. Ver. 15.00 (SPSS Inc., Chicago, IL., USA) paket programlarında çalışıldı. İstatistiksel kararlarda $p \leq 0.05$ düzeyi anlamlı farklılığın göstergesi olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 Dokunun Hazırlanması ve Mikroskopi

Elektrofizyolojik kayıtlar tamamlandıktan sonra prefabrike edilen, vaskülerize olmayan ve hiçbir işlem uygulanmamış "Sham''sinirler proksimal ve distal kısımlarından ayrılarak histopatolojik olarak incelendi. Sinir preparatları formaldehit içinde 24 saat fikse edildikten sonra parafin bloklar içine gömüldü. Hemotoksilen-Eozin ve Luxol ile boyanarak 5 mikrometrelik kesitler alındı.

4.2 Elektrofizyolojik Kayıtlar

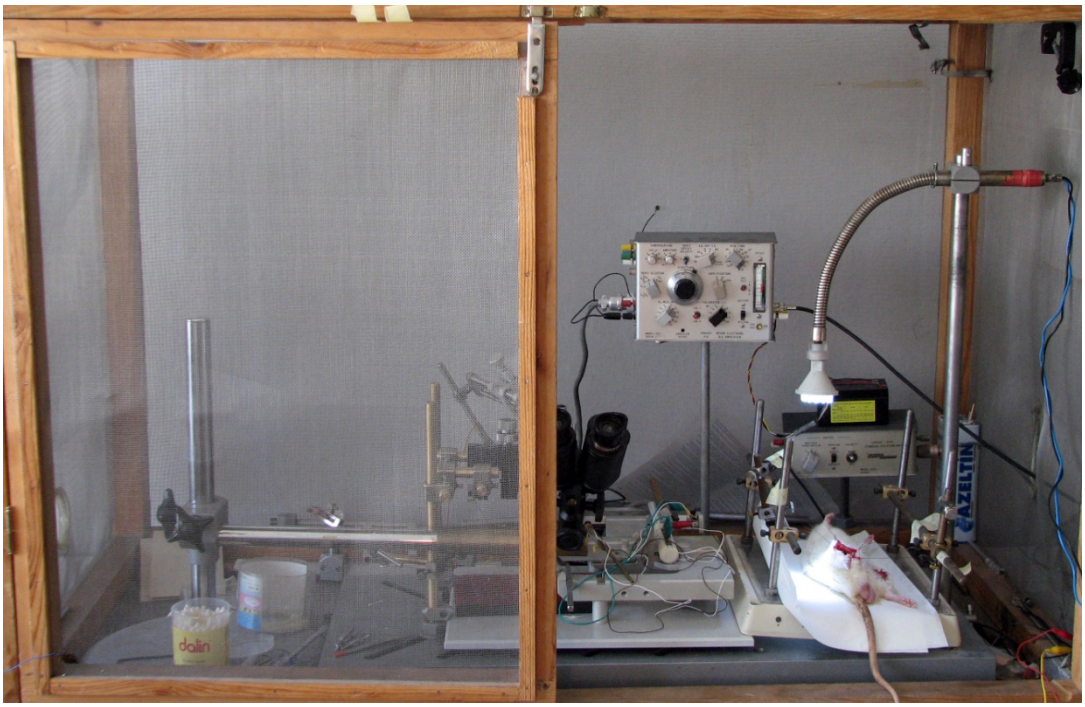
"Sham", vaskülerize ve vaskülerize olmayan femoral sinir greft grubu sıçanlar cerrahi işlemi takiben 3 haftalık sinir iyileşme süresinden sonra fonksiyonel ve mikroskopik olarak değerlendirmeye alındılar. Üçhaftalık iyileşme döneminin tamamlanmasından sonra hayvanların genel durumları arasında belirgin bir fark gözlenmedi. Sıçanların cerrahi öncesi ortalama ağırlıkları "sham", vaskülerize ve vaskülerize olmayan femoral sinir grefti gruplarının için sırası ile 259±10.6g, 262±11.1g ve 265±9.8g olarak saptandı. İyileşme dönemi sonrası ağırlıklarında anlamlı bir farklılık gözlenmedi ("sham", vaskülerize ve vaskülerize olmayan femoral sinir grefti gruplarının için sırası ile 262±13g, 258±17g ve 261±15g).

"Sham", vaskülerize ve vaskülerize olmayan femoral sinir greftlerinin iletim hızları ve amplitüdleri elektrofizyolojik olarak değerlendirildi (Şekil 4.1-4.3). "Sham" grubunda ortalama iletim hızı 36.57 ± 1.13 m/s ve ortalama BAP amplitüdü 3.02 ± 0.3 mV olarak ölçüldü (n=12). Vaskülerize femoral sinir grefti grubunda ortalama iletim hızı "sham" grubu ile benzer değerlerde bulundu (35.08 ± 1.34 m/s, n=12). Vaskülerize femoral sinir grefti grubunda ortalama BAP amplitüdlerinin "sham"

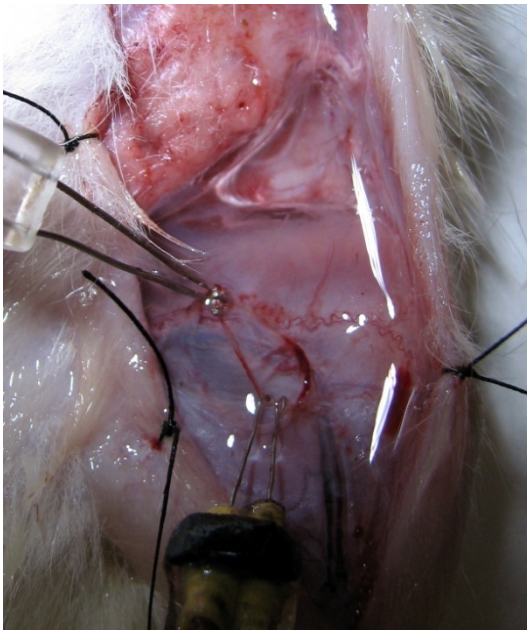
gubundan yaklaşık %80 düşük olduğu saptandı (0.49 ± 0.11 mV, *P*>0.01). Bunun yanında vaskülerize edilmeyen gruptaki yapılan sıçanların hiçbirisinde BAP'leri saptanamadı (tablo 4.1) (n=12).

Grup Adı	İletim Hızı	BAP Amplitudu
Grup 1 ("Sham'')	36.57 ±0.81 m/s	3.02 ± 0.18 mV
Grup 2 (Vaskülerize)	35.08 ± 0.58 m/s,	0.49 ± 0.10 mV
Grup 3 (Non-vaskülerize)	-	-

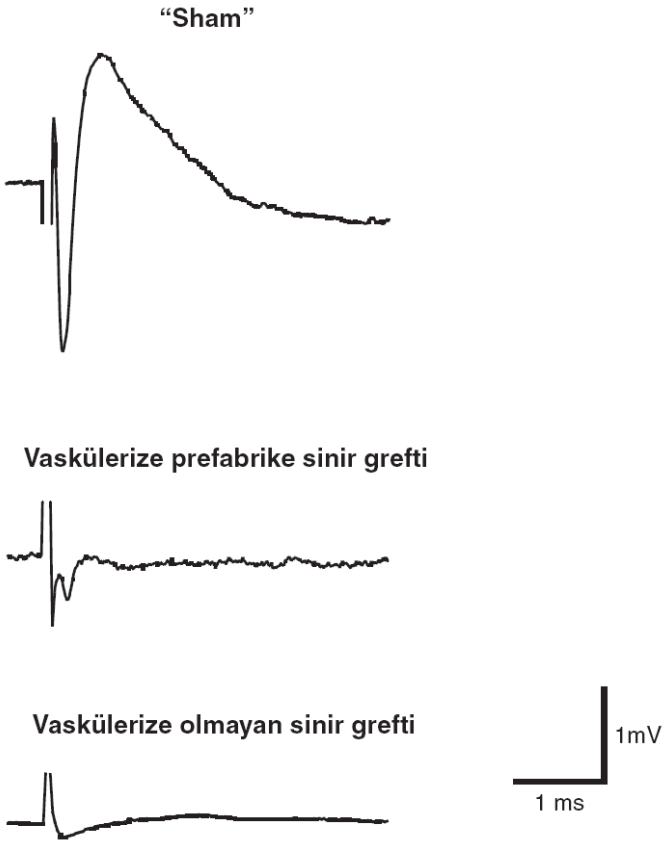
Tablo 4.1: Femoral sinir elektrofizyolojik değerlendirme sonuçları.



Şekil 4.1: Sinir iletim hızı ölçümü



Şekil 4.2: Dual akımlı ossiloskop ile sinir iletim hızının ölçümü.



Şekil 4.3: Femoral sinirin 3 ayrı gruptaki bileşik aksiyon potansiyellerinin karşılaştırılması.

4.3 İstatistiksel Bulgular

Vaskülerize ve "Sham" gruplarının gruplara göre tanımlayıcıları ve normal dağılıma uygunluk testi sonuçları (tablo 4.2-4.3).

Parametre	Grup	Ortalama	Std. Sapma	% 95 Güven Aralığı		Ortanca	Çeyreklikler arası sapma (IQR)
				Alt	Üst		
iletim	"Sham"	36.57	0.81	36.05	37.09	36.89	0.91
	Vaskülerize	35.12	0.58	34.73	35.52	34.89	0.91
BAP	"Sham"	3.02	0.18	2.91	3.13	2.98	0.29
	Vaskülerize	0.49	0.10	0.42	0.55	0.52	0.20

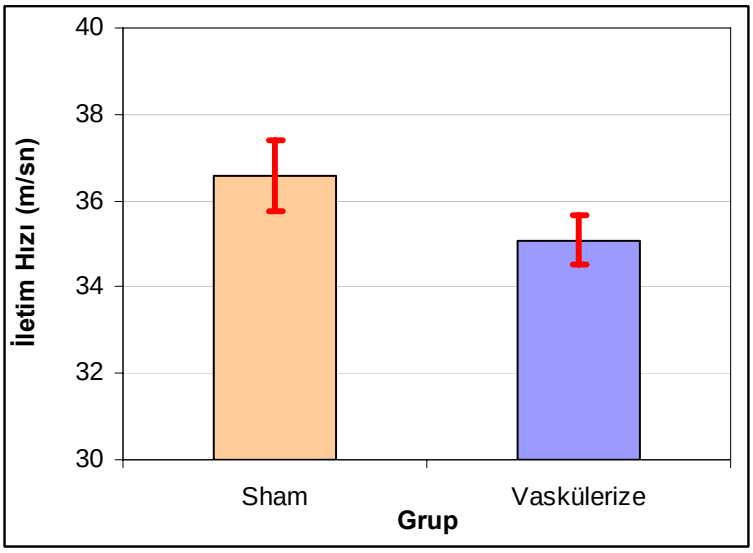
Tablo 4.2: Gruplara göre tanımlayıcılar.

	Shapiro-Wilk		
	İstatistik	df	Sig.
SİH	,895	23	,020
BAP	,732	23	,000

Tablo 4.3: Normal dağılıma uygunluk testi sonuçları

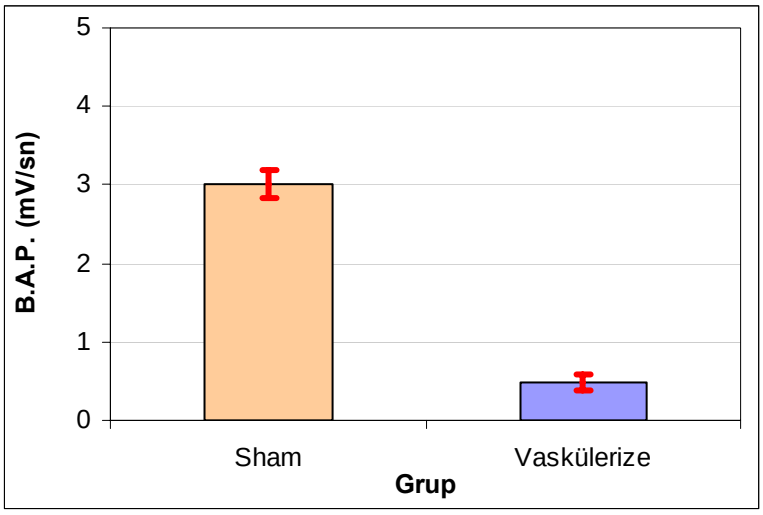
Gruplar arasında karşılaştırmalar

Sham grubu ile vaskülerize grubun iletim hızı sıra numaraları ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($Z=3.292$; $p<0.001$). Sham grubu vaskülerize gruba göre daha yüksek iletim hızına sahiptir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4: ‘’Sham’’ ve Vaskülerize gruplarda sinir iletim hızı ortalamaları (standart sapma çizgileri ile birlikte).

Bileşik aksiyon potansiyeli açısından incelendiğinde ise; Sham grubu iletim hızına benzer şekilde vaskülerize gruba göre daha yüksek aksiyon potansiyeline sahipti. Sham ve vaskülerize grup arasındaki BAP sıra numaraları ortalaması arasındaki fark istatistiksel olarak da anlamlıdır ($Z= 4.064$; $p<0.001$) (Şekil 4.5).

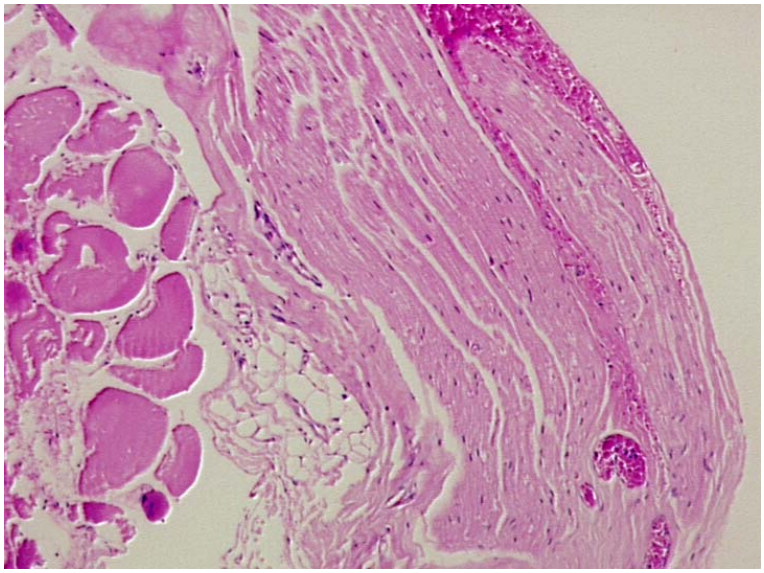


Şekil 4.5: ‘’Sham’’ ve Vaskülerize gruplarda Bileşik Aksiyon Potansiyeli ortalamaları (standart sapma çizgileri ile birlikte).

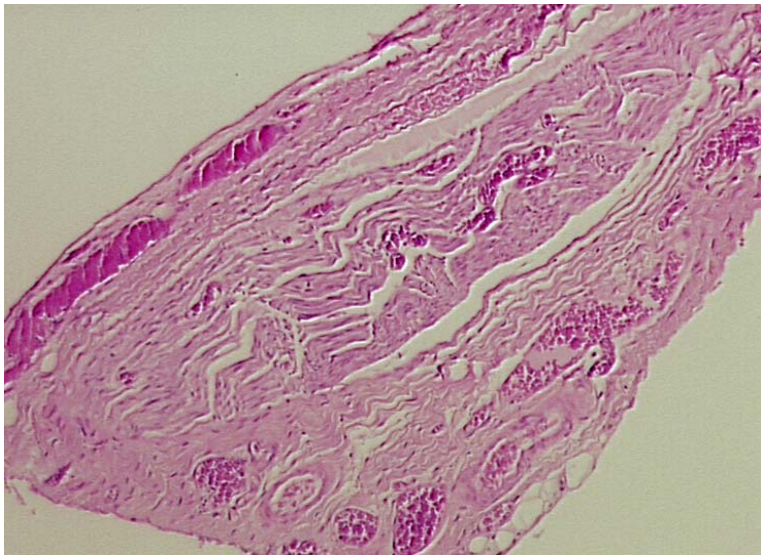
4.4 Histopatolojik İncelemeler

“Sham’’, vaskülerize ve vaskülerize olmayan gruplarından postoperatif 3. haftada alınan biyopsiler histopatolojik olarak incelendi.

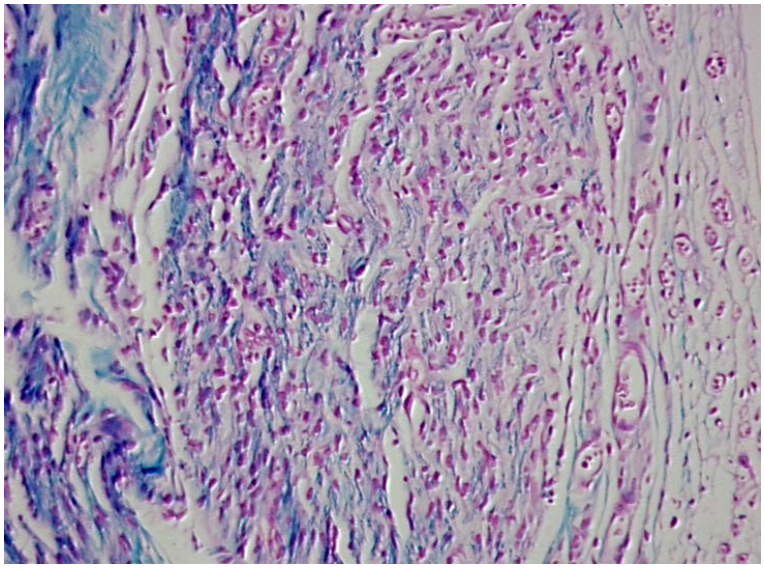
Histopatolojik incelemelerde“sham” femoral sinir grubunun morfolojik olarak, myelin varlığı ve dağılımı açısından normal görünümde periferik sinirler içerdiği izlendi (Şekil 4.3).Vaskülerize olmayan sinir grefti materyalinde yaygın ve şiddetli vakuoler dejenerasyon, myelin kaybı ve vasküler proliferasyon izlendi ayrıca periferik sinir dokusunun belirgin olarak azaldığı, yaygın hasar bulunduğu, kalsifikasyon, histiyosit infiltrasyonu, konjesyon, nekroz bulunduğu gözlendi (Şekil 4.4). Miyelin boyası ile incelemede periferik sinir dokusunun bulunduğu alanlarda ciddi miyelin kaybı ve fokal miyelin parçalanması izlendi. (Şekil 4.5). Deney grubunu temsil eden vaskülerize sıçan femoral sinirinden alınan 3 hafta biyopsilerinde periferik sinir dokusunda kaybın az miktarda olduğu, hafif perinöral konjesyon olduğu gözlendi, nekroz bulgusu saptanmadı. Miyelin boyası ile incelemede minimal miyelin kaybının olduğu gözlendi (Şekil 4.6-4.7).



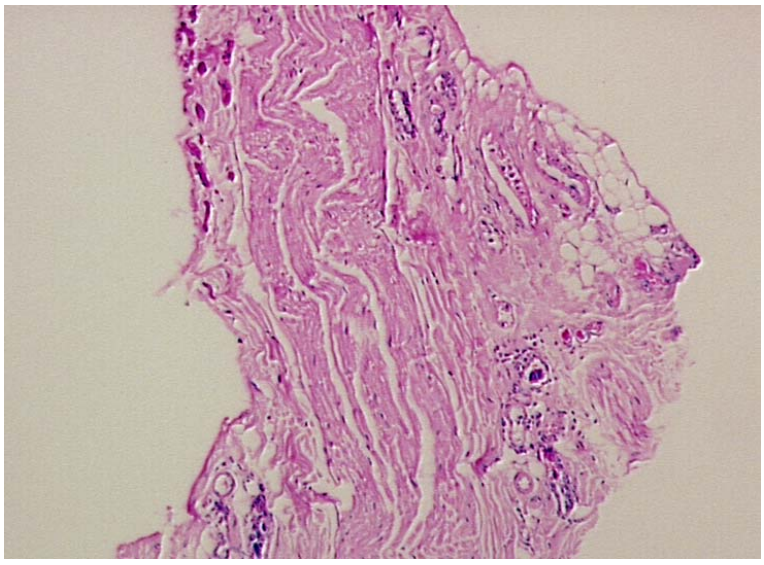
Şekil 4.6:“Sham’’ grubu sıçan femoral sinir normal yapısı H-Ex100.



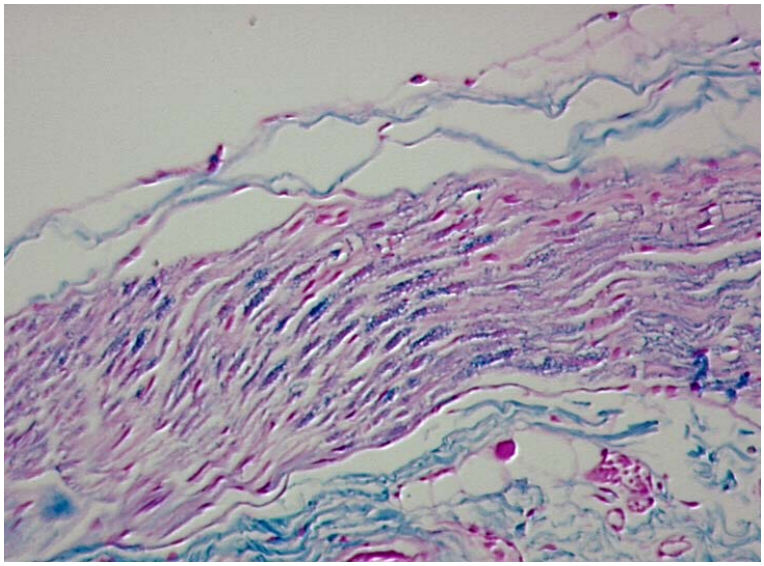
Şekil 4.7: Vaskülerize edilmeyen grupta sinir greftinde yağlı vakuoler dejenerasyon, fokal miyelin parçalanması H-Ex100.



Şekil 4.8: Vaskülerize edilmeyen grupta sinir greftinde ciddi myelin kaybı, myelin boyası x200.



Şekil 4.9: Vaskülerize prefabrike grup femoral sinirde perinöral konjesyon, hafif düzeyde aksonal vakuolizasyon H-E x100.



Şekil 4.10: Vaskülerize prefabrike grupta myelin kaybı gözlenmedi, myelin boyası x200.

5. TARTIŞMA

Rekonstrüktif cerrahi hızla ilerleme gösterse de özellikle alıcı saha skarlı ve kötü vasküler beslenmeye sahipse periferik sinir rekonstrüksiyonunda yüksek başarı oranına sahip bir teknik bulunmamaktadır (70-76, 79). Periferik sinir defektlerinin onarımında otojen sinir greftleri haricinde tatmin edici sonuçlar veren bir yöntem bulunmamaktadır (77-80).

Periferik sinir hasarı sıklıkla travma, tümör cerrahisi ve hastalıkar sonrasında görülmektedir (81-84, 88). Periferik sinir distalinde Walleryan dejenerasyonu denen sayısız moleküler ve hücresel değişiklikler görülmektedir. Sinir distalini işgal eden makrofajlar aksonu ve miyelin kılıfı ortadan kaldırmaktadırlar. Schwann hücreleri hayatta kalır, prolifere olur ve bazal lamina tübülleri içinde Bünger kolonlarını oluşturur (83-86, 89).

Hasarlanan sinirde devamlılık korunmuş veya mikrocerrahi tekniklerle yenilendiyse proksimal sinirdeki aksonlar maternal gövdeleri ile distal uçtaki Schwann hücre kolonlarına doğru rejenere olur. Periferik sinir morfolojilerine (miyelinize ve miyelinize olmayan) ve fonksiyonlarına (motor, afferent ve otonom) göre karakterize farklı tiplerde aksonlar taşır (85-89, 91).

Hasarlanmış periferik sinirde fonksiyonel rejenerasyon esnasında rejenere olan aksonlarla ve onların hücresel veya hücresel olmayan çevresindeki nörotropik ve nörotrofik faktörlerle yakın etkileşim olmaktadır (18, 90, 92, 93). Schwann hücreleri ve onların ekstrasellüler matriksi aksonal rejenerasyonda ve akson maturasyonunda çok önemlidir (43, 78, 83).

Otojen duyu sinirleri haricinde tatmin edici sonuçları olan alternatif tekniklerin arayışı sürmektedir. İlk olarak yüzyılın başında arteriyel greftlerin uygun iletim ortamını oluşturduğu kanıtlanmıştır. Venlerin sinir onarımında kullanılabileceğini ilk olarak Wrede tariflemiştir. Wang ve diğ. ven greftini ters yüz

etmişler ve bu tekniğin teorik olarak hem sinir greftine hem de standart ven greftine olan avantajlarını göstermişlerdir.

Sunderland rejenere olan aksonlar için endonöral tüplerin veya bazal membranın önemini vurgulamıştır.Bazı araştırmacılar ise yapay tüpler, büyüme faktörleri içeren yapay tüpler ve Schwann hücrelerini sinir rejenerasyonuna olan etkileri üzerine çalışmışlardır (17, 70, 77, 87).

Yapılan çalışmanın amacı sıçanda prefabrike neovaskülerize sinir grefti oluşturmaktır. Başarılı sinir greftinin kilit anahtarı düzgün cerrahi teknik kullanmak ve yeterli kanlanmanın sağlanmasıdır. Bu klasik şekilde verici sahadaki vaskülerize olmayan sinir greftinin alıcı sahadaki vasküleriteden faydalanması ile gözlenebilir. Vaskülerize olmayan sinir grefti kanlanma için alıcı sahadaki kan akımına muhtaçtır. Alıcı sahadaki skarlı veya travmaya uğramış doku çoğunlukla sinir greftinin klinik olarak başarısız sonuç vermesine neden olabilmektedir. Serbest sinir greftinin prefabrikasyonla revaskülerize edilmesinin doku yatağından neovaskülerizasyonunu hızlandırabileceği düşünülmektedir. Prefabrikasyonun temel amacı alıcı doku ile vasküler taşıyıcı doku arasında vasküler bağ kurulmasıdır. Prefabrike sinir dokusu aksiyel vasküler pediküle mikrocerrahi ile ihtiyaç olan alanlara aktarılabilen tek bir ünite haline gelmiş olmaktadır (24, 57, 69). Bu model aynı zamanda ileride, yüz transplantında olduğu gibi immün süpresyon uygulanan hastalarda allogreft sinir prefabrikasyonu için de bir model oluşturmaktadır.

Kullandığımız yöntemle sinirde vasküler proliferasyon olmuş ve sinirin morfolojik bütünlüğü korunarak fonksiyonel bir greft elde edilmiştir. Cavadas ve Vera-Sempere'nin sinir prefabrikasyonu için kullandıkları aksonun gövdeden ayrılmadan vaskülerizasyonun sağlandığı yöntemde başarılı olunmuş olması trofik faktörlerin etkisini düşündürmektedir. Bu konuda daha fazla çalışma yapılması fonksiyonel sinir prefabrikasyonu için yol gösterici olacaktır. Sinir greftinde başarı defektin uzunluğu, sinir greftinin boyutu, alıcı ve verici sahadaki vaskülerite gibi pekçok faktörle ilişkilidir (3, 4, 17, 18, 72). Bu bilgiler ışığında vasküler sinir greftleri; vasküler olmayan greftler göre daha başarılı fonksiyonel sonuçlar vermektedir. Sinir greftini vasküler beslenmesi ile aktarmak teknik olarak zordur ve

verici sahalar son derece sınırlıdır (4,5,12). Prefabrikasyon tekniği kısa bir hazırlık süreci sonrasında random paternli vasküler dokularda neovaskülerizasyonu sağlamaktadır. Prefabrikasyon tekniği kullanılarak kas, kemik, kartilaj gibi dokular aksiyel tabanlı şekilde vasküler olarak aktarılabilir (19-22). Hasarlanmış periferik sinirin rekonstrüksiyonunda nonvaskülerize sinir greftine göre prefabrike sinir greftinin aktarımı etkili bir teknik olabilir. Periferik sinirin rekonstrüksiyonunda uygun greft materyalinin elde edilmesi için 2 aşamaya ihtiyaç duyulmaktadır. Birinci aşama vaskülerize sinir greftinin prefabrikasyonudur.Vaskülerize sinir greftini prefabrike etmek için ilk deney 1994 yılında Cadavas ve Vera-Sempre tarafından bildirilen Wistar sıçan modelinde kasık bölgesinde otolog ven greftleri ile siyatik sinirde arteriyovenöz şant oluşturulmuş ve siyatik sinire aktarılmıştır.Saray ve arkadaşları arteriyovenöz demeti kullanarak otojen sinir greftini vaskülerize etmişlerdir. Bu deney sonucunda sinir greftinin ve schwann hücrelerinin bütünlüğü korunduğu histolojik olarak gösterilmiştir (24).

Sinir iletim hızı açısından burda tartışılan deney değerlendirilecek olursa“Sham” ile vaskülerize grupta anlamlı fark olmaması prefabrikasyon ile kurtarılan sinirlerin normal fonksiyon gördüğünü göstermektedir. Bileşik aksiyon potansiyellinin amplitüdününvaskülerize grupta “Sham” grubuna göre düşük olması vaskülerize grupta ancak belirli bir kısım sinir liflerinin hayatta kalabildiğini kanıtlamaktadır. Vaskülerize olmayan grupta hiç aksiyon potansiyeli saptanamaması hiçbir sinir lifinin kurtulamadığını göstermektedir.

6.SONUÇ

Vaskülerize prefabrike, vaskülerize edilmeyen ve kontrol gruplarındaki sıçan femoral sinirinin fonksiyonel ve histopatolojik etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada elde edilen veriler şöyle özetlenebilir:

1. Makroskopik ve histopatolojik incelemeler sonucunda vaskülerize prefabrike femoral sinirde minimal hasar geliştiği vaskülerize edilmeyen sinirlerin tamamen fibrotik hale geldiği saptanmıştır.

2. Fonksiyonel değerlendirmeler için yapılan elektrofizyolojik çalışmalarda vaskülerize prefabrike sinirlerde bileşik aksiyon potansiyellerinin oluşturulabildği ancak ‘’Sham’’ grubuna göre BAP amplitüdlerinin düşük olduğu bulunmuştur. BAP hızları incelendiği zaman “Sham’’ ve prefabrike gruplarında benzer bulunmuştur. Bu bulgular prefabrike sinirde sinir lifi kaybı olduğunu ancak kalan liflerın fonksiyonel olarak korunduğunu göstermektedir.

3. “Sham’’ ve prefabrike gruplarında femoral sinir histopatolojik görünümlerin benzer olduğu görülmüştür.

Bu bulgular çalışmanın başında kurulan prefabrikasyon sayesinde sinirin bütünlük ve fonksiyonunun korunarak mikrocerrahi tekniğiyle ihtiyaç bulunan sahaya aktarılabileceği hipotezini desteklemektedir. Elektrofizyolojik sonuçlar göstermektedir ki vaskülerizasyonla prefabrikasyon sinir iletim hızı, amplitüdü ve frekansı üzerine belirgin olarak koruyucudur.

Bu tekniğin klinik pratik olarak sinir cerrahisinde uygulanması için ileri deneysel çalışmalara gereksinim vardır.

Periferik sinir prefabrikasyonu sinir grefti revaskülerizasyonundaki sinir uzunluğu ve kalınlığı gibi sınırlayıcı faktörleri aşmamıza yardımcı olabilir.

Anatomik kısıtlamaları ortadan kaldıran ve serbest sinir greftleri yerine yeni oluşturulmuş pediküllü veya vaskülerize sinir greftleri oluşturulabilir.

İmmunojenik sorunların daha etkili bir şekilde üstesinden gelinebildiği yakın gelecekte vaskülerize sinir allogreftleri ile alıcı sahadaki belirgin sinir hasarı ve vaskülerizasyon sorunlarının çok daha etkili şekilde tedavi edilebilmesi sağlanabilir.

7. ÖZET

Prefabrike, "Sham'' ve Vaskülerize Olmayan Sıçan Femoral Sinir Greftlerinin Fonksiyonel ve Histopatolojik Olarak Karşılaştırılması

Amaç: Bu çalışmanın amacı prefabrike, "Sham'' ve vaskülerize olmayan sıçan femoral sinir greftlerinin fonksiyonel ve histopatolojik olarak karşılaştırılmasıdır.

Yöntem:Çalışmada sıçan sol femoral arter, ven, sinir paketi kullanıldı. Çalışma 36 adet Wistar Albino tipi erkek sıçan üzerinde yapıldı. Sıçanlar random olarak vaskülerize prefabrike, vaskülerize olmayan ve kontrol grubu olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Kontrol grubunda ("sham'') femoral sinir üzerine cerrahi işlem yapılmadı ve cerrahi işem uygulanan diğer grupları karşılaştırmak için kullanıldı. Vaskülerize prefabrike grupta öncelikle femoral sinir femoral arter ve venle direkt ilişki sağlandıktan üç hafta sonra femoral sinire kesi yapılıp aynı anda sütüre edildi. Vaskülerize edilmeyen grupta ise femoral sinirde aynı anda kesi ve sütürasyon yapılarak etraftan beslenmesini engellemek amacıyla silastik tüple sinir izole edildi. Değerlendirme makroskopik gözlem, elektrofizolojik olarak sinir iletim hızı, amplitüd ve frekansın karşılaştırılması ve histopatolojik değerlendirme ile yapıldı.

Bulgular: Makroskopide 3. haftada vaskülerize prefabrike grubun kontrol ("sham'') grubu ile benzer görünümde olduğu fakat vaskülerize olmayan sinirde total nekroz geliştiği gözlendi. Elektrofizolojik değerlendirmede vaskülerize grubun kontrol grubun sonuçları ile benzerlik gösterdiği fakat vaskülerize olmayan grupta hiçbir aktivitenin olmadığı gözlendi. Histopatolojik değerlendirmede vaskülerize grupta perinöral konjesyon haricinde normal yapısının korunduğu fakat vaskülerize olmayan grupta total nekroz bulunduğu gözlendi..

Sonuç: Elde edilen bulgulara dayanılarak vaskülerize prefabrike sinirin, vaskülerize edilmeyene göre belirgin şekilde travmadan korunduğu ve normal fizyolojik görevine en az hasar ile devam ettiği sonucunda varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Periferik sinir prefabrikasyonu, vaskülerizasyon

8. SUMMARY

Functional and Histopathologic Comparison of Prefabricated, ‘’Sham’’ and Non-vascularized Rat Femoral Nerve Grafts

Aim: The purpose of this study was to compare functional and histopathologic differences of prefabricated, “Sham’’ and non-vascularized rat femoral nerve grafts.

Method: In this research rat femoral artery, vein and nerve bundles were used. The study was performed on 36 male Wistar Albino rats. Animals were randomly assigned to three groups. Control group (‘’sham’’) was just used for comparison to the two other groups and no surgical operation was performed on femoral nerve. In prefabricated vascularized group we first establish direct contact between femoral artery, vein and femoral nerve. Then, after three weeks femoral nerve was transected and sutured succesively. In the third group, the non vascularized group, femoral nerve was transected and sutured then isolated with a silastic tube in order to prevent any contact with the surrounding tissues. Evaluation of all groups was performed by macroscopic, histopathologic examination, electrophysiologic evaluation of nerve conduction, amplitude and frequency.

Results: In the third postoperative week it was macroscopically evident that vascularized prefabricated and control (“sham’’) groups had similar appearance but there was total necrosis in non vascularized nerve group. Electrophysiologic evaluation of vascularized prefabricated group and control (“sham’’) groups revealed similar results, however there was no electrophysiologic activity in non vascularized group. Histopathologic assesment revealed that femoral nerves in vascularized group were normal except from perineural congestion but there was total necrosis in non vascularized group.

Conclusion: These results indicate that nerve prefabrication with vascularization could protect the nerve from trauma and preserve physiological activities unlike non vascularized nerve.

Key Words: Peripheral nerve prefabrication, vascularization.

9. KAYNAKLAR

1. Battiston B, Geuna S, Ferrero M, Tos P. Nerve repair by means of tubulization: literature review and personal clinical experience comparing biological and synthetic conduits for sensory nerve repair. Microsurgery. 2005; 25(4): 258-67.

2. Hobson MI, Brown R, Green CJ, Terenghi G. Inter-relationships between angiogenesis and nerve regeneration: a histochemical study. Br J Plast Surg. 1997 Feb; 50(2): 125-31.

3. Best TJ, Mackinnon SE. Peripheral nerve revascularization: a current literature review. J Reconstr Microsurg. 1994 May;10(3):193-204.

4. Weber RV, Mackinnon SE. Bridging the neural gap. Clin Plast Surg. 2005 Oct;32(4):605-16, viii.

5. Settergren CR, Wood MB. Comparison of blood flow in free vascularized versusnonvascularized nerve grafts. J Reconstr Microsurg. 1984 Oct;1(2):95-101.

6. Koshima I, Harii K. Experimental study of vascularized nerve grafts: morphometric study of axonal regeneration of nerves transplanted into silicone tubes. Ann Plast Surg. 1985 Mar;14(3):235-43.

7. Daly PJ, Wood MB. Endoneural and epineural blood flow evaluation with free vascularized and conventional nerve grafts in the canine. J Reconstr Microsurg. 1985 Oct;2(1):45-9.

8. Lux P, Breidenbach W, Firrell J. Determination of temporal changes in blood flow in vascularized and nonvascularized nerve grafts in the dog. Plast Reconstr Surg. 1988 Jul;82(1):133-44.

9. Shibata M, Tsai TM, Firrell J, Breidenbach WC. Experimental comparison of vascularized and nonvascularized nerve grafting. J Hand Surg [Am]. 1988 May;13(3):358-65.

10. Kawai H, Baudrimont M, Travers V, Sedel L. A comparative experimental study of vascularized and nonvascularized nerve grafts. J Reconstr Microsurg. 1990 Jul;6(3):255-9.

11. Ozcan G, Shenaq S, Mirabi B, Spira M. Nerve regeneration in a bony bed: Vascularized versus nonvascularized nerve grafts. Plast Reconstr Surg. 1993 Jun;91(7):1322-31.

12. Terzis JK, Skoulis TG, Soucacos PN. Vascularized nerve grafts. Int Angiol. 1995 Sep;14(3):264-77.

13. Taylor GI. Free vascularized nerve transfer in the upper extremity. Hand Clin. 1999 Nov;15(4):673-95, ix-x.

14. Tark KC, Roh TS. Morphometric study of regeneration through vascularized nerve graft in a rabbit sciatic nerve model. J Reconstr Microsurg. 2001 Feb;17(2):109-14.

15. Xu WD, Xu JG, Gu YD. Comparative clinic study on vascularized and nonvascularized full-length phrenic nerve transfer. Microsurgery. 2005;25(1):16-20.

16. Iwai M, Tamai S, Yajima H, Kawanishi K. Experimental study of vascularized nerve graft: evaluation of nerve regeneration using choline acetyltransferase activity. Microsurgery. 2001;21(2):43-51.

17. Breidenbach W, Terzis JK. The anatomy of free vascularized nerve grafts. Clin Plast Surg. 1984 Jan;11(1):65-71.

18. Millesi H. Techniques for nerve grafting. Hand Clin. 2000 Feb;16(1):73-91, viii.

19. Erol OO. The transformation of a free skin graft into a vascularized pedicled flap. Plast Reconstr Surg. 1976 Oct;58(4):470-7.

20. Hirase Y, Valauri FA, Buncke HJ, Newlin LY. Customized prefabricated neovascularized free flaps. Microsurgery. 1987;8(4):218-24.

21. Hirase Y, Valauri FA, Buncke HJ. Neovascularized bone, muscle, and myo-osseous free flaps: an experimental model. J Reconstr Microsurg. 1988 Apr;4(3):209-15.

22. Khouri RK, Upton J, Shaw WW. Principles of flap prefabrication. Clin Plast Surg. 1992 Oct;19(4):763-71.

23. Cavadas PC, Vera-Sempere FJ. Prefabrication of a vascularized nerve graft by vessel implantation: preliminary report of an experimental model. Microsurgery 1994;15:877-81.

24. Saray A, Teoman Tellioglu A, Altinok G. Prefabrication of a free peripheral nerve graft following implantation on an arteriovenous pedicle. J Reconstr Microsurg. 2002 May;18(4):281-8.

25. Lunn ER, Brown MC, Perry VH. The pattern of axonal degeneration in the peripheral nervous system varies with different types of lesion. Neuroscience. 1990;35(1):157-65.

26. Johnson EO, Zoubos AB, Soucacos PN.Regeneration and repair of peripheral nerves.Injury. 2005 Nov; 36 Suppl 4:S24-9.

27. Maggi SP, Lowe JB 3rd, Mackinnon SE. Clin Plast Surg. Pathophysiology of nerve injury. 2003 Apr; 30(2):109-26.

28. Wilbourn AJ. The electrodiagnostic examination with peripheral nerve injuries. Clin Plast Surg. 2003 Apr; 30(2): 139-54.

29. Dvali L, Mackinnon S.Nerve repair, grafting, and nerve transfers. Clin Plast Surg. 2003 Apr; 30(2):203-21.

30. Prpa B, Huddleston PM, An KN, Wood MB.Revascularization of nerve grafts: a qualitative and quantitative study of the soft-tissue bed contributions to blood flow in canine nerve grafts. J Hand Surg [Am]. 2002 Nov; 27(6):1041-7.

31. Boobman J. G., Sykes P. J. Vascularised Versus Conventional Nerve Grafting. J Hand Surg [Br]. 1987 12: 218-220.

32. Okinaga S, Nagano A. Can vascularization improve the surgical outcome of the intercostal nerve transfer for traumatic brachial plexus palsy? A clinical comparison of vascularized and non-vascularized methods. Microsurgery. 1999;19(4):176-80.

33. Xu WD, Xu JG, Gu YD. Comparative clinic study on vascularized and nonvascularized full-length phrenic nerve transfer. Microsurgery. 2005; 25(1):16-20.

34. Schultes G, Gaggl A, Kleinert R, Kärcher H. Vascularized versus non-vascularized nerve transfers: histologic study in rats. J Reconstr Microsurg. 2001 Nov; 17(8):637-42.

35. Hatoko M, Tada H, Tanaka A, Kuwahara M, Yurugi S.The differential expression of N-cadherin in vascularized and nonvascularized nerve grafts: a study in a rat sciatic nerve model. Ann Plast Surg. 2001 Sep;47(3):322-7.

36. Best TJ, Mackinnon SE, Evans PJ, Hunter D, Midha R. Peripheral nerve revascularization: histomorphometric study of small- and large-caliber grafts. J Reconstr Microsurg. 1999 Apr; 15(3):183-90.

37. Evans PJ, Mackinnon SE, Best TJ, Wade JA, Awerbuck DC, Makino AP, Hunter DA, Midha R.Regeneration across preserved peripheral nerve grafts. Muscle Nerve. 1995 Oct; 18(10):1128-38.

38. Maki Y, Firrell J, Breidenbach W. Blood flow in mobilized nerves: results in a rabbit sciatic nerve model. Plast Recon Surg 1997; 100:627– 33.

39. Taylor GI, Ham FJ. The free vascularized nerve graft: a further experimental and clinical application of microsurgical techniques. Plast Reconstr Surg 1976; 57:413.

40. Falco NA, Pribaz JJ, Eriksson E. Vascularization of skin following implantation of an arteriovenous pedicle: implications in flap prefabrication. Microsurgery 1992; 13:249.

41. Cavadas PC, Vera-Sempere FJ. Prefabrication of a vascularized nerve graft by vessel implantation: preliminary report of an experimental model. Microsurgery 1994;15:877.

42. Mackinnon S, Dellon AL. Surgery of the peripheral nerve. New York: Thieme; 1988. 637 p.

43. Naff NJ, Ecklund JM. History of peripheral nerve surgery techniques. Neurosurg Clin North Am 2001;12:197-209.

44. Risitano G, Cavallaro G, Lentini M. Autogenous vein and nerve grafts: a comparative study of nerve regeneration in the rat. J Hand Surg [Br] 1989;14:102-104.

45. Weerasuriya A. Patterns of change in endoneurial capillary permeability and vascular space during nerve regeneration. Brain Res 1990; 510: 135-9.

46. Tarlov IM, Epstein JA. Nerve grafts: the importance of an adequate blood supply. J Neurosurg 1945; 2: 49-71.

47. Smith JW. Factors influencing nerve repair. 1. Blood supply of peripheral nerves. Arch Surg 1966; 93: 335-41.

48. Penkert G, Bini W, Samii M. Revascularisation of nerve grafts: an experimental study. J Reconstr Microsurg 1988; 4:319-25.

49. Allan CH, Trumble TE. Biomechanics of peripheral nerve repair. Oper Tech Orthop 2004;14: 184–9.

50. Temple CL, Ross DC, Dunning CE, et al. Tensile strength of healing peripheral nerves. J Reconstr Microsurg 2003;19(7):483–8.

51. Myckatyn TM, MacKinnon SE. A review of research endeavors to optimize peripheral nerve reconstruction. Neurol Res 2004;26:124–38.

52. Myckatyn TM, Mackinnon SE. Surgical techniques of nerve grafting (standard/vascularized/allograft). Oper Tech Orthop 2004;14:171–8.

53. Millesi H. Indication, technique and results of nerve grafting. Handchirurgie Suppl 1977;2:1–24.

54. Doi K, Kuwata N, Kawakami F, et al. The free vascularized sural nerve graft. Microsurgery 1984; 5(4):175–84.

55. Saito I, Oka Y, Odaka M. Promoting nerve regeneration through long gaps using a small nerve tissue graft. Surg Neurol 2003;59(3):148–54.

56. Ijkema-Paassen J, Jansen K, Gramsbergen A, et al. Transection of peripheral nerves, bridging strategies and effect evaluation. Biomaterials 2004; 25(9):1583–92.

57. Mackinnon SE, Novak CB. Nerve transfers: new options for reconstruction following nerve injury. Hand Clin 1999;15:643–66.

58. Nichols CM, Brenner MJ, Fox IK, et al. Effects of motor versus sensory nerve grafts on peripheral nerve regeneration. Exp Neurol 2004;190(2): 347–55.

59. Brushart TM, Hoffman PN, Royall RM, et al. Electrical stimulation promotes motoneuron regeneration without increasing its speed or conditioning the neuron. J Neurosci 2002;22(15): 6631–8.

60. Badalamente MA, Hurst LC, Stracher A. Neuromuscular recovery after peripheral nerve repair: effects of an orally-administered peptide in a primate model. J Reconstr Microsurg 1995;11(6): 429–37.

61. Seddon HJ. Nerve grafting. J Bone Joint Surg 1963;45B:447

62. Gilbert A. Vascularized sural nerve graft. Clin Plast Surg 1984;11:73

63. Terzis JK, Breidenbach WC. The anatomy of free vascularized nerve grafts. In Terzis JK (ed): Microreconstruction of Nerve Injuries. Philadelphia: WB Saunders, 1986, p 101

64. Terzis JK, Dykes RW. Electrophysiological recordings in peripheral nerve surgery: a review. J Hand Surg 1976;1A:52.

65. Breidenbach WC, Terzis JK. Vascularized nerve graft: an experimental and clinical review. Ann Plast Surg 1987;18:137.

66. Shen, T. Y. Vascular implantation into skin flap: Experimental study and clinical application. A preliminary report. Plast. Reconstr. Surg. 68: 404, 1981.

67. O'Shaughnessy, L. An experimental method of providing a collateral circulation to the heart. Br. J. Surg. 23: 665, 1936.

68. Shen, T. Y. Experimental study of tissue graft vascularization by means of vascular implantation and subcutaneous burying. Plast. Reconstr. Surg. 73: 403, 1984.

69. Vinberg, A. M. Development of an anastomosis between the coronary vessels and a transplanted internal mammary artery. Can. Med. Assoc. J. 55: 117, 1946.

70. Sunderland S. (1978) Nerves and Nerve Injuries, 2nd edn. Churchill Livingstone, Edinburgh.

71. Erol, O. O., and Spira, M. Development and utilization of a composite island flap employing omentum: Experimental investigation. Plast. Reconstr. Surg. 65: 405, 1980.

72. Kimura J. Electrodiagnosis in diseases of nerve and muscle. 3rd edition. New York: Oxford Press; 2001.

73. Beck, C. S., and Tichy, V. L. Production of collateral circulation to the heart: Experimental study. Am. Heart J. 10: 849, 1935.

74. Morrison, W. A., Dvir, E., Doi, K., et al. Prefabrication of thin transferable axial pattern skin flaps: An experimental study in rabbits. Br. J. Plast. Surg. 43: 645, 1990.

75. Seddon HJ. Three types of nerve injury. Brain 1943; 66:238–88.

76. Washio, H. An intestinal conduit for free flap transplantation of other tissues. Plast. Reconstr. Surg. 48: 48, 1971.

77. Wilbourn AJ. Nerve conduction studies: types, components, abnormalities and value in localization. Neurol Clinics N Am 2002;20:305– 38.

78. Sunderland S. The anatomy and physiology of nerve injury. Muscle Nerve 1990;13:771– 84.

79. Maitz, P. K. M., Pribaz, J. J., and Hergrueter, C. A. Impact of tissue expansion on flap prefabrication: An experimental study in rabbits. Microsurgery 17: 35, 1996.

80. Winagrad J, Mackinnon S. Peripheral nerve injuries: repair and reconstruction. In: Mathis S, Hentz VR, editors. Plastic surgery. Philadelphia: Elsevier and Saunders; 2003.

81. Maitz, P. K. M., Pribaz, J. J., and Hergrueter, C. A. Manipulating prefabricated flaps: An experimental study examining flap viability. Microsurgery 15: 624, 1994

82. Mackinnon SE. New directions in peripheral nerve surgery. Ann Plast Surg 1989;22:257– 73.

83. Lundborg G. Nerve injury and repair. New York: Churchill Livingstone; 1988.

84. Lundborg G, Dahlin LB, Hansson HA, et al. Vibration exposure and peripheral nerve fiber damage. J Hand Surg [Am] 1990;15:346– 51.

85. Doolabh VB, Mackinnon SE. FK506 accelerates functional recovery following nerve grafting in a rat model. Plast Reconstr Surg 1999;103:1928– 36.

86. Yang RK, Lowe IJB, Sobol JB, et al. Dose-dependent effects of FK506 on neuroregeneration in a rat model. Plast Reconstr Surg 2003.

87. Nicolaidis SC, Williams HB. Muscle preservation using an implantable electrical system after nerve injury and repair. Microsurgery 2001;21:241– 7.

88. Boyd JG, Gordon T. Neurotrophic factors and their receptors in axonal regeneration and function recovery after peripheral nerve injury. Mol Neurobiol 2003;27:277—324.

89. Chiu DT. Autogenous venous nerve coduits. A review. Hand Clin 1999;15:667—71.

90. Fansa H, Keilhoff G, Wolf G, Schneider W. Tissue engineering of peripheral nerves: A comparison of venous and acellular muscle grafts with cultured Schwann cells. Plast Reconstr Surg 2001;107:485—94.

91. Keskin M, Akbas H, Uysal OA, et al. Enhancement of nerve regeneration and orientation across a gap with a nerve graft within a vein conduit graft: A functional, sterological and electrophysiological study. Plast Reconstr Surg 2004;113: 1372—9.

92. Bayramiçli, M. "Deneysel Mikrocerrahi,Temel Araştırma, Doku ve Organ Nakli Modelleri". Argos İletişim; İstanbul. 2005. 808 p.

93. Zhang Z, Soucacos PN, Beris AE, et al. Long-term evaluation of rat peripheral nerve repair with the method of end to- side neurorrhaphy. J Reconstr Microsurg 2000;16: 303—11.