

T.C. DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK ve REKONSTRÜKTİF CERRAHİ
ANABİLİM DALI

91670

**SIĞAN SİYATİK SİNİR ONARIMINI TAKİBEN UYGULANAN
5-FLUOROURASİL'İN EPİNÖRAL VE EKSTRANÖRAL
SKAR DOKUSU OLUŞUMUNA VE SİNİR REJENERASYONUNA
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

İC. YURSEMEK - F. KURULU
DOKÜMANLARI MERKEZİ

Dr. Ömer BUHŞEM

UZMANLIK TEZİ

BURSA - 2000

T.C. DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK ve REKONSTRÜKTİF CERRAHİ
ANABİLİM DALI

**SIÇAN SİYATİK SİNİR ONARIMINI TAKİBEN UYGULANAN
5-FLUOROURASİL'İN EPİNÖRAL VE EKSTRANÖRAL
SKAR DOKUSU OLUŞUMUNA VE SİNİR REJENERASYONUNA
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Ömer BUHŞEM

UZMANLIK TEZİ

Danışman : Prof. Dr. Mesut ÖZCAN

BURSA - 2000

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TÜRKÇE ÖZET	ii
İNGİLİZCE ÖZET	iii
GİRİŞ	1-2
GEREÇ VE YÖNTEM	3-16
BULGULAR	17-25
TARTIŞMA VE SONUÇ	26-32
KAYNAKLAR	33-38
TEŞEKKÜR	39
ÖZGEÇMİŞ	40

ÖZET

Epinöral ve ekstranöral skar oluşumu periferik sinir cerrahisinin sonucunu olumsuz etkileyen faktörlerden biridir. Epinöral skar oluşumu iletim bloğuyla sonuçlanır ve aksonal rejenerasyona mekanik engel teşkil eder, ekstranöral skar oluşumu yapışıklıklara ve sinirlerin komşu dokulara tutunmalarına yol açar. Deneysel olarak periferik sinir cerrahisinde skar oluşumunu azaltmak amacıyla sınırlı başarıya ulaşan birçok farmakolojik ajan kullanılmıştır. Bu çalışmada, bir antimetabolit ajan ve fibroblast proliferasyonunun güçlü inhibitörü olan 5-fluorourasil (5-FU) kullanıldı. Klinik olarak 5-FU, göz doktorları tarafından glokom filtrasyon cerrahisinde skar oluşumundan korunmak amacıyla başarıyla kullanılmaktadır.

Altmış Sprague–Dawley tipi sıçan iki gruba ayrıldı. Her sıçanda sol siyatik sinir ile tibial ve peroneal komponentler açığa çıkarıldı ve künt diseksiyon ile ayrıldı. Siyatik sinir keskin ve dik olarak trifurkasyondan 15 mm önce kesildi ve uç–uca epinöral sütür ile onarıldı. Birinci grupta (n=30) 50 mg/ml 5-FU, ikinci grupta (n=30) izotonik emdirilmiş gazlı bez 5 dakika süreyle onarım hattı ve çevreleyen doku etrafına uygulandı. Her grup, sıçanların 4,8 ve 12. haftalarda değerlendirmeler için kurbanı edildiği üç alt gruba ayrıldı. Bu değerlendirmeler seri fonksiyonel yürüme şablonu analizleri, elektrofizyolojik çalışmalar, kas kitlesi değerlendirilmesi, histomorfolojik değerlendirme ile skar ve yapışıklıkların makroskopik değerlendirilmesini içermektedir.

Islak gastrokinemus kas ağırlığı ve elektrofizyolojik çalışmalar iki grup arasında anlamlı bir fark olmadığını gösterdi. Yürüme şablonu analizleri, 8, 10 ve 12. haftalarda 5-FU grubunun izotonik grubuna kıyasla fonksiyonel olarak anlamlı derecede daha fazla rejenere olduğunu gösterdi. Makroskopik değerlendirme ve histolojik çalışmalar, 5-FU'in, epinöral ve ekstranöral skar oluşumu ile yapışıklıkları yara iyileşmesini bozmadan anlamlı derecede azalttığını ortaya çıkardı.

SUMMARY

Epineural and extraneural scarring is one of the factors negatively influencing the result of peripheral nerve surgery. Epineural scarring results in conduction block and establishes a mechanical barrier to axonal regeneration and extraneural scarring may lead to adhesions and tethering of nerves to adjacent tissues. Experimentally, numbers of pharmacologic agents have been used to reduce scar formation in peripheral nerve surgery with limited success. In this study 5-Fluorouracil (5-FU), an antimetabolite agent and potent inhibitor of the proliferation of fibroblasts was used. Clinically 5-FU have been used successfully by ophthalmologists to prevent scar formation during glaucoma filtration surgery.

Sixty Sprague-Dawley rats were divided into two groups. In each rat left sciatic nerve with tibial and peroneal components were exposed and separated with blunt dissection. Sciatic nerve was sharply and perpendicularly transected 15 mm before trifurcation and end-to-end coaptation was done with epineural suture. In the first group (n=30) 50 mg/ml 5-FU, in the second group (n=30) saline soaked sponge applied around the repair site and surrounding tissue for 5 minutes. Each of the groups was divided into three subgroups in which rats were sacrificed at 4, 8, and 12 weeks for assessments. These assessments included serial functional walking track analysis, electrophysiologic studies, muscle mass evaluation, histomorphologic evaluation and gross evaluation of scar and adhesions.

Wet weight of gastrocnemius muscle and electrophysiologic studies demonstrated no significant difference between two groups. Walking track analysis indicated significantly more functional regeneration in the 5-FU group than saline group at 8, 10, and 12 weeks. Gross evaluation and histologic studies have demonstrated that 5-FU significantly reduces epineural and extraneural scar formation and adhesions without impair wound healing.

GİRİŞ

En iyi koşullarda gerçekleştirilen cerrahi onarıma karşın yaralanmış periferik sinirin rejenerasyonunu ve klinik sonuçları etkileyen çeşitli etkenler vardır. Bunlardan biri, yara iyileşmesinin kaçınılmaz sonucu olarak kontrol dışı gelişen, onarım alanındaki skar oluşumudur (1-3). Periferik sinir yaralanmasını takiben oluşan epinöral skar, mekanik bir engel oluşturarak aksonların distal sinir güdüğündeki uygun fasiküllere doğru filizlenmesini güçleştirir ve iletim bloğuna yol açar (3-5). Ekstranöral skar oluşumu ise sinirin komşu dokulara yapışmasına neden olarak, ekstremit ve eklem hareketleri sırasında sinirin normal longitudinal kayma hareketini engeller (6-8). Hareket sırasında sinirde oluşan gerginlik ve iskemi uzun sürdüğünde, onarılan sinirde ayrıca bir hasar oluşabilir (9). Bu nedenle epinöral ve ekstranöral skar oluşumunun azaltılması, cerrahi girişimin başarısını artırmakla birlikte, gerekli olduğunda ikincil ameliyatı da kolaylaştırarak komplikasyon riskini azaltır.

Uzun yıllardır kanser tedavisinde kullanılan antimetabolitler, birincil olarak DNA ve RNA sentezini engelleyen kemoterapi ajanlarıdır (10). Bu ajanlar içerisinde pirimidin analoglarından biri olan 5-fluorourasil (5-FU), replike olan hücrelerde ribonükleotidleri deoksiribonükleotidlere çevirmek için gerekli olan timidilat sentetazı inhibe ederek DNA sentezini engeller (10-12). Prolifere hücreler kemoterapötik ilaçlara dinlenme halindeki hücrelerden daha duyarlıdır (13). Hem in vitro (14,15) hem in vivo (16) olarak bir kez 5-FU uygulanmasını takiben ilaç konsantrasyonuna bağlı olarak, fibroblastların 36 güne kadar büyümelerinin durduğu saptanmıştır ve bu etki çevre alana relatif etkisiz fokal bir etkidir. Düşük dozda 5-FU ile büyümesi durdurulan hücrelerin halen migrasyon, sekresyon gibi bazı fonksiyonları sürdürdükleri ve yara iyileşmesinde yer alma kapasitesine sahip oldukları saptanmıştır (17-19). Lokal, toksik olmayan, önemli bir hücre ölümüne yol açmadan uzun süreli fibroblast büyümesini durduran 5-FU, göz doktorları tarafından glokom filtrasyon cerrahisi sonrası skar dokusu oluşumundan korunmak amacı ile

başarıyla kullanılmaktadır (15,20). Aynı mekanizmadan yola çıkılarak tavşanlarda yapılan deneysel çalışmalarda, ameliyat sırasında yüzeysel olarak bir kez 5-FU uygulananın fleksör tendon yaralanması sonrası adezyon oluşumunu azalttığı saptanmıştır (21).

Bu çalışmada sıçan siyatik sinir kesisinin onarımını takiben yüzeysel olarak bir kez, 5 dakika süreyle uygulanan 5-FU'in epinöral ve ekstranöral skar dokusu oluşumuna ve sinir rejenerasyonuna etkisi araştırılmıştır.



GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmalarda, etik kurultan izin alınarak, Uludağ Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (DENTAM) elde edilen 240-270 gr ağırlığında, 60 adet Sprague-Dawley tipi dişi sıçan kullanıldı. Deneysel çalışmadan önce sıçanlar tekli kafeslerde bir hafta süreyle gözlemlendikten sonra, hastalıklı olmadıklarından emin olunanlar tartılarak araştırma için gruplara rastgele dağıtıldı. Altmış sıçan 2 ana gruba ayrıldı :

Grup 1 : kesi + epinöral onarım + izotonik (n = 30)

Grup 2 : kesi + epinöral onarım + 5-fluorourasil (n = 30)

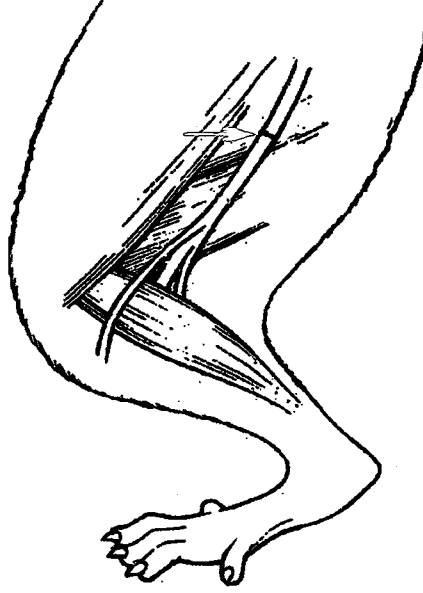
Herbir grup ayrıca kendi içerisinde 3 alt gruba ayrıldı.

A : 4. haftada değerlendirme için sıçanların sakrifiye edildiği grup (n=10)

B : 8. haftada değerlendirme için sıçanların sakrifiye edildiği grup (n=10)

C : 12.haftada değerlendirme için sıçanların sakrifiye edildiği grup (n=10)

Anestezi için intraperitoneal ketamin hidroklorid 35 mg/kg (Ketalar) ve xylazine 5 mg/kg (Rompun) kullanıldı. Traş ve % 10 povidon-iyot ile ameliyat bölgesinin temizliğini takiben, prone pozisyonunda sol arka kalça ve uyluk boyunca longitudinal insizyonla gluteal kas ayrılarak sol siyatik sinire ulaşıldı. Sinir, vasküler pedikülü hariç çevre dokulardan serbestleştirildikten ve tibial ve peroneal dallar birbirinden künt olarak diseke edildikten sonra, sural, peroneal ve tibial sinirlerin trifurkasyonundan 15 mm önce mikromakas ile keskin ve dik olarak kesildi (Şekil-1). Kesik sinir mikrocerrahi teknik kullanılarak ameliyat mikroskopu altında 8/0 atravmatik naylon suture materyali ile epinöral suture yöntemiyle uç-uca koapte edildi. Onarılan sinir hattına ve çevre dokuya yüzeysel olarak 5 dakika süreyle 1 ml miktarında, birinci grupta gazlı beze emdirilmiş izotonik, ikinci grupta gazlı beze emdirilmiş 50 mg/ml 5-fluorourasil uygulandı. Bu süre sonunda tüm ameliyat sahası izotonik ile yıkanarak, kesiler 4/0 kromik katgut ile dikildi. Çalışma sırasında her iki grupta 6. ve 8. haftada eklem kontraktürü gelişen birer sıçan çalışmadan çıkarılarak yerlerine yeni sıçanlar konuldu.



Şekil-1: Cerrahi yöntem: Sol siyatik sinir ve müsküler dalları künt olarak diseke edildi ve açığa çıkarıldı. Sol siyatik sinir sural, peroneal ve tibial sinirlerin oluşturduğu trifurkasyondan 15 mm önce keskin ve dik olarak kesildi. Kesik sinir epinöral sütürlerle uç-uca hemen onarıldı (ok).

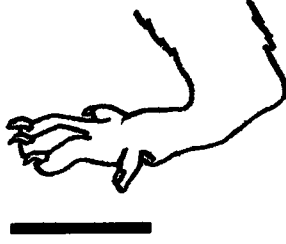
Sıçanlardaki epinöral ve ekstranöral skar dokusu ve sinir iyileşmesi 4, 8 ve 12. haftalarda fonksiyonel, makroskopik, elektrofizyolojik ve histomorfolojik olarak incelendi.

DeneySEL Değerlendirme Yöntemleri İle İlgili Genel Bilgiler

Birçok periferik sinir araştırmacısı tarafından deneysel model tercihi sıçanlar olmuştur (22-29). Sıçan periferik sinirinin histolojik değerlendirilmesi insan dokusundan ayırdedilemez (30). Bugüne kadar sıçanlarda fonksiyonel sinir iyileşmesiyle ilgili çalışmaların çoğunda siyatik sinir kullanılmıştır (31-35). Medicaneli (32) 1982'de sıçan siyatik sinir yaralanması sonrası fonksiyonel iyileşmenin daha iyi kantitatif değerlendirilmesine yönelik bir araç olarak siyatik fonksiyon indeksini (SFI) ortaya koymuştur. Bu indeksin yararlılığı kanıtlanmıştır (36). Sıçanların, sinir (peroneal, posterior tibial veya siyatik) lezyonuna göre ölçülen, güvenilir ve yeniden oluşturulabilir, karakteristik yürüme şablonları olduğu gösterilmiştir (Şekil-2).

Baskı uzunluğu

Parmak ayrıklığı



Normal



↑ Baskı uzunluğu
↓ Parmak ayrıklığı

Siyatik sinir kesisi

Şekil-2: Normal ve siyatik sinir kesisi sonrası görülen karakteristik yürüme şablonunun şematik görünümü. Yan görünüm sinir yaralanmasıyla oluşan baskı uzunluğundaki değişikliği yansıtmaktadır. Üstten görünüm hem 2. ve 4. parmak (orta parmak ayrıklığı) hem 1. ve 5. parmak (parmak ayrıklığı) aralıklarında meydana gelen değişikliği yansıtmaktadır.

Daha sonra SFI ve modifikasyonları (37,38) sıçan siyatik sinirinin çeşitli yönlerini değerlendirmede yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (33-36, 39-43). SFI, elektrofizyoloji ve histomorfometri gibi sinir iyileşmesini değerlendiren geleneksel metodlara kıyasla , duysal ve kas fonksiyonunun birlikteliğine bağlı olduğu farzedildiğinden, klinik durumlarda kullanıma en yakın olabilecek, fonksiyonun en iyi deneysel ölçümü varsayılır (44). Bunun sebebi, yürümenin kortikal olarak tamamlanmış duysal feedback tarafından koordine edilen karmaşık motor ünite reinnervasyonuna ihtiyaç duymasıdır (40). İzole siyatik, tibial ve peroneal yaralanmalar 1 yıldan fazla takip edildiklerinde, her olguda fonksiyonel iyileşme görülür ve bu iyileşmenin büyük çoğunluğu ilk 12 haftada gerçekleşir (45,46). Bu sebeple deneysel

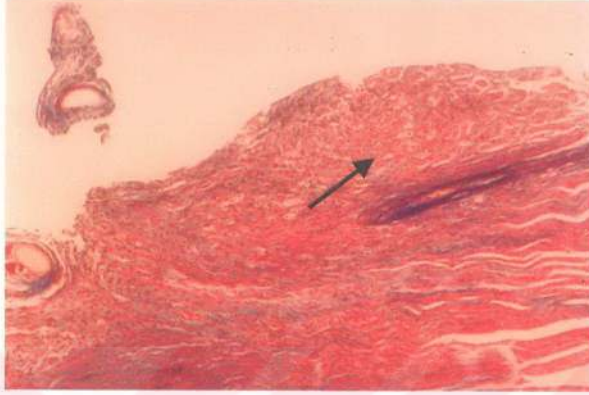
çalışmamız 12. haftada sonlandırılmıştır. Kesi ve onarım sonrası fonksiyonel iyileşmenin derecesi ise tutulan sinire bağlı olarak değişir. Siyatik sinirin % 41, tibial sinirin % 54, peroneal sinirin % 100 oranında iyileşme gösterdiği saptanmıştır (45). Siyatik sinir kesisi sonrası sinir fonksiyonunda iyileşme sağlanana kadar geçen zamanda, sıklıkla eklem kontraktürleri veya duysal kayıba bağlı bası yaraları oluşabilir ve birçok sıçan SFI açısından değerlendirme dışı kalabilir. Bu sebeple sinir bütünlüğünün bozulmadığı çalışmalarda (örneğin crush yaralanma) siyatik sinir, kesi sonrası onarım yapılan çalışmalarda, eklem kontraktürü gelişmediği için tibial ve peroneal sinirin kullanılması önerilmektedir (45). Ancak biz deneysel çalışmamızda ektranöral skar oluşumunun makroskopik değerlendirmesinin daha kolay oluşu nedeniyle daha önce sıkça kullanılan siyatik siniri tercih ettik (47,48). Ayrıca her iki grupta eklem kontraktürü gelişen birer sıçanının yerleri yeni sıçanlarla değiştirilerek bu problem aşıldı.

Sinir rejenerasyonunun nihai başarısı kompleks bir sürecin birkaç basamağının tamamlanmasına bağlıdır. Bu basamaklar aksonal filizlenme, büyüme, uygun hedef hücrelerin reinnervasyonu ve rejenere fiberlerin santral sinir sistemi ile entegrasyonudur (44). Sinir yaralanmasını takiben tek bir sinir fiberi, çok sayıda sinir fiberi içeren rejenerasyon ünitesine doğru filizlenir. Eğer uygun sayıda fiber, uygun duysal/motor hedeflere, uygun zaman periodunda ulaşırsa fonksiyonel iyileşme oluşur. Elektrofizyolojik ve morfometrik değerlendirme ile başarılı sayılan klinik ve deneysel sinir onarımı, her zaman uygun fonksiyonel iyileşmeye karşılık gelmez (40, 49-53). Sinir onarımının distalindeki histomorfometri çok sayıda sinir fiberini gösterebilir, benzer şekilde elektrofizyolojik değerlendirme sinir onarım bölgesinden iyi bir iletim hızı gösterebilir, bununla birlikte eğer bu aksonlar uygun reseptöre ulaşmazlarsa fonksiyonel iyileşme olmaz (54).

Fiberler distal hedeflere uygun bağlantı yaptıklarında gereğinden fazla ve uygunsuz (örneğin uygun uç organı bulamayan, fasikül dışına yönelen) sinir fiberleri budanır veya geriye doğru yok olurlar (Şekil-3)

Bu süreç yıllar içerisinde oluşur. Bir sıçan modelinde, sinir onarımının distalindeki sinir fiberlerinin sayısının, onarımı takiben ilk birkaç ayda belirgin

olarak artarak 3 ayda normalin 2 katına çıktığı ve sinir onarımı sonrası ancak 2 yıl içerisinde relatif olarak normal değerlere düştüğü gösterilmiştir (55).



Şekil – 3 : Fasikül dışına yönelen sinir fiberleri görülmekte (ok).

Bu yüzden akson sayısı deneysel grupta kontrol gruplardan fazla çıkabilir ve her zaman total sinir fonksiyonunu ölçmeyebilir (44). Kısacası aynı deneysel durumda, histomorfometrik değerlendirme sonuçları, onarımın üzerinden geçen zamana göre anlamlı oranda değişecektir. Akson çapı, aksonun kaynağına ve sinirin maturasyonuna bağlıdır, fonksiyon ile ilişkili olabilir veya olamayabilir (44). Yine, uygunsuz hedef hücre innervasyonu veya uygunsuz santral sinir sistemi innervasyonu, fonksiyonla uyumlu olmayan büyük akson çapı oluşturabilir. Myelinizasyon derecesi aksonun olgunluğu ile ilişkili olabilir (56). Bununla birlikte myelinizasyon, akson hedef organa oluşmadan önce oluşur ve fonksiyon ile ilişkili olmayabilir. Küçük aksonlar kalın myeline sahip değildirler, bu yüzden gerçek myelin kalınlığı fonksiyonun doğru göstergesi olmayabilir. Myelin/akson oranı ise normal sinirde uygun bir sabittir ve rejenerasyon sürecinin olgunluğunun değerlendirilmesinde daha iyi bir göstergedir (44). Çok benzer bir gösterge de sinir akson/fiber çapı oranı olmalıdır, çünkü fiber çapı ile akson çapı arasındaki fark myelin kalınlığını yansıtır ve bu oran bireysel farklılıkları gidererek her akson için myelinizasyon derecesini gösteren bir indekstir (57). Tüm bu histolojik

parametreler (örneğin akson sayısı, myelin kalınlığı, sinir fiber/akson çapı oranı, myelin/akson oranı v.b.) örneğin alındığı yerdeki rejenere aksonu kalitatif veya kantitatif olarak gösterir. Bununla birlikte santral sinir sistemi, rejenere akson ve hedef organ arasındaki fonksiyonel bağlantının boyutunu göstermezler.

Sinir ileti hızı (SIH) en hızlı ileten sinir fiberlerini ölçer ve akson çapı, myelinizasyon ve internodal mesafeye bağlı bir ölçüm olduğu gösterilmiştir (58). Açıkçası, bir sinir çok sayıda hasarlı fiber olsa da, çok iyi ileten birkaç fiber bulundurulabilir. Bu nedenle SIH total sinir fonksiyonunu değil, en hızlı, belki en sağlıklı fiberleri değerlendirir (44).

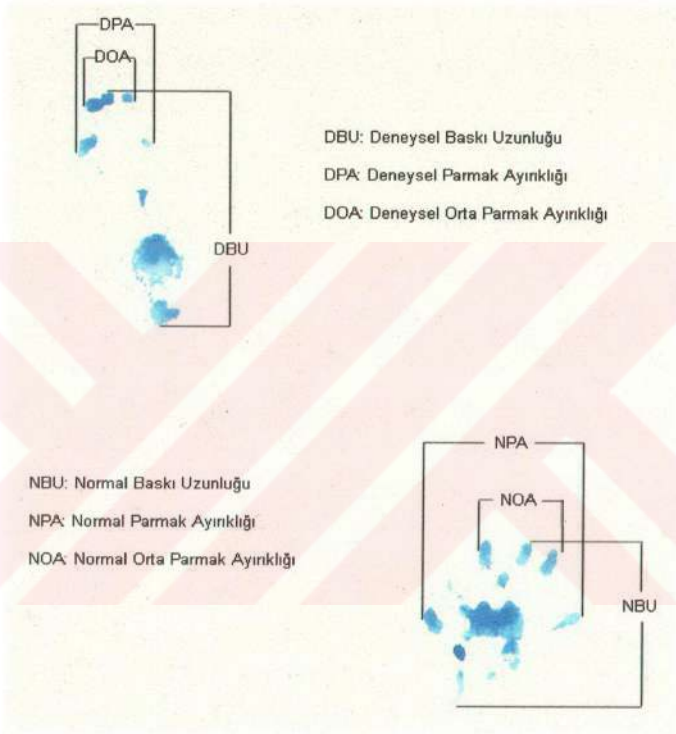
Son çalışmalar basit bir teknik olan kas kitlesi ölçümünün daha karmaşık izometrik kontraktıl fonksiyon ölçümü teknikleri ile iyi uyumlu olduğunu göstermiştir (59). Kasın ağırlığı kasın innervasyon derecesi ile uyumlu kabul edilir ve genellikle innerve kasın innerve olmayan kaslardan ağır olduğu farzedilir (44). Bununla birlikte fibrozis ve denerve dokularda görülen yağ içeriğindeki artış, bu varsayımı tartışılabilir kılabilir (44). Aynı zamanda fleksör motor sinirin ekstansör kası innerve etmesi veya aksi gibi uygunsuz reinnervasyonlar, kas ağırlığını artırabilir (44).

Sonuç olarak sinir rejenerasyonunun herhangi bir özel göstergesini bir diğerinden daha iyi veya kötü olarak önermek zordur ve hiçbir test kendi başına sinir fonksiyonunun en iyi ölçümünü tanımlamaz. Herbir test, bir unsurun değerlendirilmesi için kullanılabilir (44). Mesela akson sayısı, önemli olan olay filizlenmedeki etki ise uygun olabilir. Büyüme ortamı ve myelinizasyon sürecinin desteklenmesi en iyi myelin/akson çapı oranı gibi morfometrik veriler ile veya sinirin kendi elektrofizyolojik verileri ile ölçülebilir. Hedef organın uygun reinnervasyonu SFI gibi fonksiyonel bir analizle takip edilebilir.

Fonksiyonel İnceleme

Walking track (yürüme şablonu) analizi : Tüm sıçanlara ameliyat sonrası, sakrifiye edilene kadar 2 haftada bir yürüme şablonu analizleri yapıldı. Önceki çalışmalarda tarif edilen şekilde sıçanlar, 10x10x100 cm

boyutlarında bir ucu kapalı ve karanlık tahta koridorda, tabana her hayvan için ayrı emici kağıt yerleştirildikten sonra, her iki ayağı metilen mavisine batırılarak yürütüldü (38,45,60-63). Kağıt üzerinde oluşan ayak izlerinden ölçümler yapıldı (Şekil-4).



Şekil-4 : Siyatik sinir lezyonu olan sıçandan elde edilen tipik yürüme şablonu. Normal kontrol tarafta (sağ) ve sinir onarımı yapılan deneysel tarafta (sol) yapılan ölçümler görülmekte.

Baskı uzunluğu (BU) : topuktan 3. parmağa kadar olan uzaklık,
Parmak ayırlıklığı (PA) : 1. ve 5. parmak arasındaki uzaklık,

Orta parmak ayırıklığı (OA) : 2. ve 4. parmak arasındaki uzaklık, her sıçanda deneysel (DBU, DPA, DOA) ve kontrol (NBU, NPA, NOA) taraflarda cetvelle ölçüldü (Şekil-4). Her üç ölçüm için, normal (sağ bacak) ve deneysel (sol bacak) değerler arasındaki farkın normal değerlere bölünmesi ile bir faktör oluşturuldu. Bunlar :

$$\text{Baskı uzunluk faktörü (BUF)} = \text{DBU} - \text{NBU/NBU},$$

$$\text{Parmak ayırıklık faktörü (PAF)} = \text{DPA} - \text{NPA/NPA},$$

Orta parmak ayırıklık faktörü (OAF) = $\text{DOA} - \text{NOA/NOA}$ olarak hesaplandı.

Bu faktörler daha sonra Bain-Mackinnon-Hunter (BMH) siyatik fonksiyon indeksinin (Sfİ) hesaplanmasında kullanıldı (30).

$$\text{Sfİ} = -38.3 (\text{BUF}) + 109.5 (\text{PAF}) + 13.3 (\text{OAF}) - 8.8$$

Sıfır indeksi normal fonksiyonu, - 100 indeksi teorik olarak tam fonksiyon kaybını yansıtmakla beraber, teknik olarak kullanılan formüldeki sabitler nedeniyle - 100 den büyük değerler mümkündür.

Makroskopik Değerlendirme

Sıçanların sakrifiye edildiği 4, 8, 12. haftalarda anestezi sonrası eski insizyon alanları yeniden eksplore edildi. Cilt bütünlüğü, kas fasyası bütünlüğü, çevre kas dokusuna sinirin yapışıklığı ve tibial ve peroneal sinir dallarının ayrılabilirliği, Petersen' in (47) tarif ettiği sayısal derecelendirme şemasına göre değerlendirildi (Tablo-1). Sinir yapışıklığı, sinirin çevreleyen kas boşluğundaki yapışıklığını, sinir ayrılabilirliği, tibial ve peroneal sinir elemanlarının birbirine yapışıklığını değerlendirmek için kullanıldı. Bu sınıflamada ise Derece 1 sinirin serbest veya ayrılmak için minimal künt diseksiyona ihtiyaç duyulduğunu, Derece 2 ayırmak için orta veya kuvvetli künt diseksiyon gerektiğini, Derece 3 ayırmak için makasla keskin diseksiyona ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir (Tablo-1).

Doku	Derece	Tanımlama
Cilt ve kas fasyası	1	Cilt veya kas fasyası tamamen kapalı
	2	Cilt veya kas fasyası kısmen açık
	3	Cilt veya kas fasyası tamamen açık
Sinir yapışıklığı ve sinir ayırılabilirliği	1	Diseksiyona gerek yok veya orta derecede künt diseksiyon
	2	Kuvvetli künt diseksiyona gereksinim var
	3	Keskin diseksiyona gereksinim var

Tablo-1:Yapışıklığın makroskopik olarak değerlendirildiği sayısal derecelendirme şeması

Cilt ve kas fasyası bütünlüğü yara iyileşmesinin değerlendirilmesinde kullanıldı. Derece 1 tam kapanmayı (Şekil-5A), Derece 2 yaranın kapanmasındaki kısmi yetersizliği (Şekil-5B), Derece 3 kapanmayan yarayı göstermektedir (Şekil-5C).



Şekil-5: Cilt ve kas fasyası bütünlüğü yara iyileşmesinin değerlendirilmesinde kullanıldı. Yapılan sınıflamada Derece 1 fasyadaki tam kapanmayı (A), Derece 2 kapanmada kısmi yetersizliği (B), Derece 3 kapanmayan fasyayı (C) göstermekteydi.

Elektrofizyolojik çalışma

İlk ameliyatlardan 4, 8 ve 12 hafta sonra komputerize elektromyografi cihazı ile sinir ileti hızı (SIH) ölçümleri yapıldı (Şekil-6). Anestezi altında, opere edilen sol siyatik sinir ve kontrol grubu olmak üzere sağ siyatik sinir diseksiyon edilerek açığa çıkarıldı. Bipolar stimülasyon elektrodu onarım hattının yaklaşık 1 cm proksimaline, bipolar kayıt elektrodu ise onarım hattının yaklaşık 1 cm distaline yerleştirilerek aksiyon potansiyellerinin kaydı yapıldı. Kurumayı önlemek amacıyla elektrodlar ve sinirin içinde bulunduğu poş sıvı vazelin ile dolduruldu. Aksiyon potansiyellerinin, her iki elektrod arasındaki mesafeye bölünmesiyle sinir ileti hızları (metre/saniye) bulundu. Her sıçanda deneysel (sol) taraftaki SIH değerinin kontrol (sağ) taraftaki değere bölünmesi ile bireysel farklılıklar giderilerek, her sıçan için belirli bir indeks elde edildi.



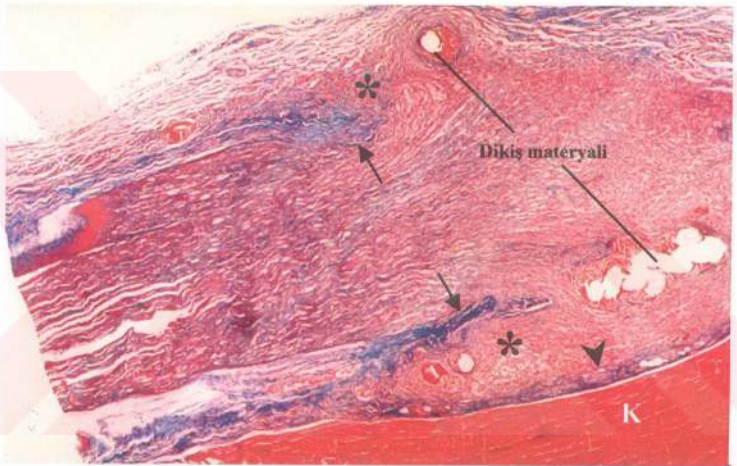
Şekil-6 : Sinir ileti hızlarının ölçümünün yapıldığı kompüterize elektromyografi cihazı.

Histolojik çalışma

Elektrofizyolojik çalışmaların tamamlanmasından sonra siyatik çentikten popliteal fossaya kadar uzanan siyatik sinir, onarım hattı ve çevreleyen dokuyu içerecek şekilde çıkarıldı. Alınan doku % 10 formalin ile fikse edildikten sonra alkol solusyonları ile dehidrate edilerek parafine yerleştirildi. Onarım hattının 1 cm proksimalinden ve 1 cm distalinden transvers, onarım hattından longitudinal olarak 5 µm kalınlığında alınan kesitler hematoksilien

ve eosin ile boyandı. Myelinizasyona bakmak için myelin boyama (Weil metodu ile) yapıldı, onarım hattından alınan kesitler, kollajene bakmak için ayrıca 'Masson trichrome' ile boyandı. Histolojik kesitlerde aşağıdaki değerlendirilmeler yapıldı.

Onarım alanında organizasyon : Rejenere dokunun onarım alanındaki organizasyonu, bu bölgeyi geçen aksonların yön durumunu belirler (56,64). Kötü organize onarım alanı, aksonların fasikül dışında kaybolmuş olduğunu ve ekstrasfasiküler bağ dokusunun (epinörüm) içeriye büyüyerek proksimal ve distal güdükler arasındaki geçişi engellediğini gösterebilir (Şekil-7).



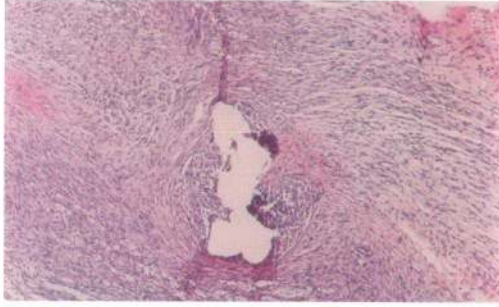
Şekil-7: Ekstrasfasiküler bağ dokusunun ve skarın içeriye doğru büyümesi (ok) ile fasikül dışına çıkan aksonlar (yıldız) ve epinöral skar dokusu (ok başı) ile çevre kas dokusuna (K) yapışıklık görülmekte. (masson trichrome boyama, X4)

Onarım alanından alınan longitudinal kesitlerde organizasyona bakıldı ve 1'den 5'e kadar derecelendirilerek aşağıdaki şekilde değerlendirildi.

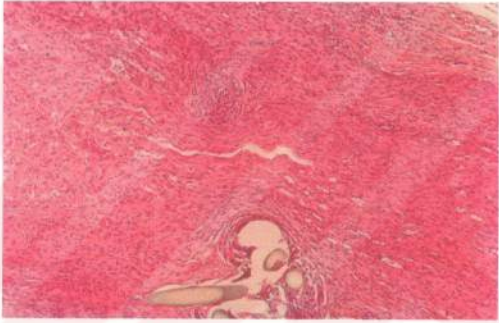
- 1) Başarısızlık, aksonların proksimalden distal uca devamlılıklarının olmayışı
- 2) Onarım alanında kötü organizasyon (Şekil-8 A)
- 3) Onarım alanında orta derecede organizasyon (Şekil-8 B)

4) Onarım alanında iyi organizasyon, normale yakın (Şekil-8 C)

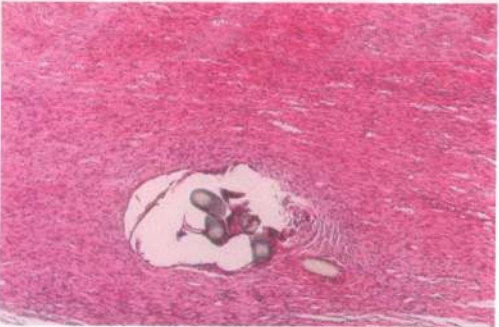
5) Onarım alanında mükemmel organizasyon, normalden farksız



A



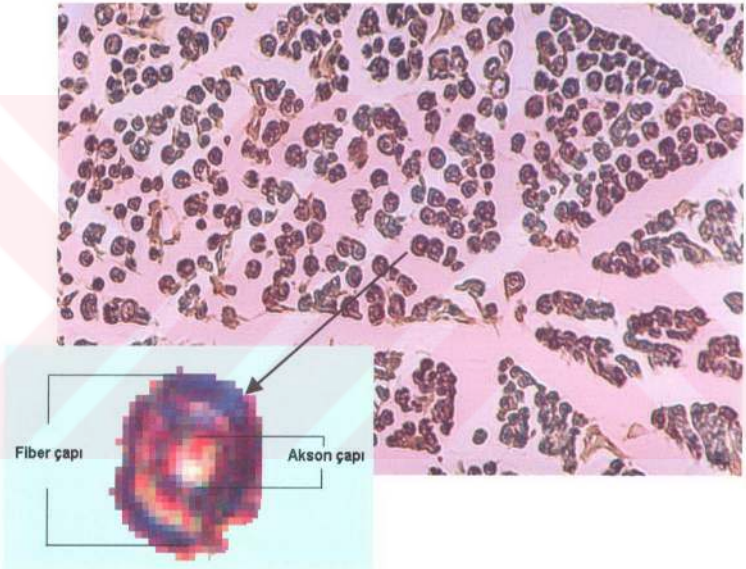
B



C

Sekil-8: Onarım alanından alınan longitudinal kesitlerde kötü (A), orta (B) ve iyi (C) organizasyonu gösteren örnekler (Hematoksilen-eosin boyama, X10).

Akson ve fiber çapı, akson/fiber çapı oranı : Onarım hattının 1 cm distalinden alınan transvers kesitlerde ışık mikroskopu (Nikon Eclipse E600) ile 4, 8 ve 12. haftalardaki akson ve fiber çapları incelendi. İmmersiyon yağı ile X40 büyütmede çekilen fotoğraflar (Nikon FDX-35 fotoğraf makinası ile) bir ölçüm göstergesiyle birlikte, bilgisayar ortamında 5 kat daha (X200) büyütülerek akson ve fiber çapları ölçüldü (Şekil-9). Elde edilen ortalama akson çapı oranları, ortalama fiber çapı oranlarına bölünerek myelinizasyon derecesi hakkında bilgi verecek indeksler elde edildi.



Şekil-9: İmmersiyon yağı ile X40 büyütmede çekilen fotoğraflar bilgisayar ortamında 5 kat (X200) daha büyütülerek (ok) akson ve fiber çapları ölçüldü.

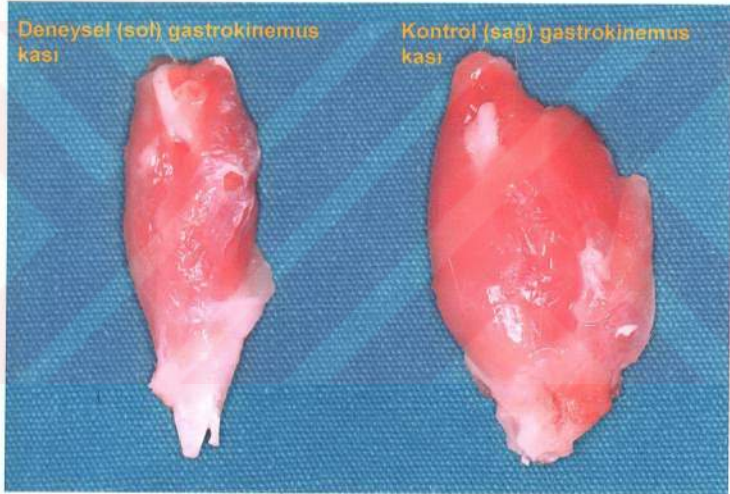
Skar dokusu kalınlığı : Sekizinci haftada onarım hattından alınan ve masson trichrome ile boyanmış longitudinal kesitlerin aynı mikroskopta X4 büyütme ile fotoğrafları çekildi. Bilgisayar ortamında 2.5 kat (X10) büyütülen görüntülerde sabit bir skala yardımıyla sinirin ve siniri çevreleyen skar

dokusunun kalınlığı ölçüldü. Ortalama skar dokusu kalınlığı, ortalama sinir dokusu kalınlığına bölünerek her sinir için bir indeks belirlendi.

Islak Gastrokinemus ağırlığı

Elektrofizyolojik inceleme ve histolojik çalışma için örneklerin alınmasını takiben 12. haftada bilateral gastrokinemus kaslarının ıslak ağırlıkları ölçüldü (Şekil-10).

Femura yapıştığı yerden ve kalkaneusa girdiği yerden diseke edilerek çıkarılan kasların ağırlık ölçümleri yapıldıktan sonra deneysel taraftaki değer kontrol tarafındaki değere bölünerek bireysel farklılıklar giderildi ve her sıçan için bir oran elde edildi.



Şekil-10 : Onikinci haftada bilateral gastrokinemus kaslarının ıslak ağırlıkları ölçüldü. Siyatik sinir lezyonu olan deneysel (sol) taraftaki kasın kontrol (sağ) taraftaki normal kasa göre daha atrofik olduğu görülmekte.

BULGULAR

Fonksiyonel inceleme : İkinci haftada teorik olarak tam fonksiyon kaybını gösteren -100 değerine yakın olan 5-FU grubundaki SFI (-93.61 ± 0.68) değeri ile izotonik grubundaki SFI (-93.61 ± 0.68) değerleri, çalışma süresince düzelterek normal fonksiyonu gösteren 0 değerine yaklaştı ve 12. haftada 5-FU grubu SFI değeri -60.80 ± 0.24 , izotonik grubu SFI değeri -65.21 ± 0.21 düzeylerine geldi (Tablo-2).

Sıçan no	2. Hafta		4. Hafta		6. Hafta	
	5-FU	İzotonik	5-FU	İzotonik	5-FU	İzotonik
1	-94.0	-92.6	-84.1	-89.3	-85.9	-85.9
2	-96.9	-93.2	-86.2	-82.1	-86.3	-86.1
3	-93.0	-99.5	-83.7	-86.8	-84.7	-84.2
4	-93.7	-91.7	-85.2	-87.2	-84.3	-85.3
5	-92.9	-93.6	-84.3	-86.4	-85.2	-83.8
6	-94.2	-92.8	-82.8	-83.5	-87.0	-84.5
7	-95.1	-92.8	-85.6	-88.5	-83.8	-85.4
8	-93.2	-94.1	-84.9	-84.8	-86.6	-86.6
9	-94.3	-93.0	-83.1	-85.3	-86.3	-87.1
10	-93.0	-92.8	-84.0	-85.1	-85.7	-85.1
Ortalama	-94.03 ± 0.38	-93.61 ± 0.68	-84.39 ± 1.08	-85.32 ± 0.61	-85.58 ± 0.33	-85.40 ± 0.33
P değeri	$P > 0.05$		$P > 0.05$		$P > 0.05$	

Sıçan no	8. Hafta		10. Hafta		12. Hafta	
	5-FU	İzotonik	5-FU	İzotonik	5-FU	İzotonik
1	-69.8	-73.6	-63.6	-66.2	-61.4	-64.5
2	-70.2	-74.2	-61.8	-67.1	-60.2	-65.1
3	-67.6	-71.3	-62.6	-66.4	-61.1	-64.8
4	-69.0	-73.8	-65.2	-65.8	-60.6	-65.6
5	-71.6	-74.4	-64.1	-65.5	-62.3	-66.2
6	-71.2	-72.8	-62.2	-67.3	-59.8	-64.2
7	-68.3	-73.1	-63.7	-66.8	-60.7	-65.5
8	-70.5	-71.8	-61.2	-68.1	-61.4	-64.7
9	-69.7	-70.6	-64.0	-67.8	-60.5	-65.4
10	-70.1	-74.7	-63.5	-66.9	-60.0	-66.1
Ortalama	-69.80 ± 0.38	-73.03 ± 0.44	-63.19 ± 0.38	-66.79 ± 0.26	-60.80 ± 0.24	-65.21 ± 0.21
P değeri	$P < 0.001$		$P < 0.001$		$P < 0.001$	

Tablo-2: Siyatik sinir kesisi ve onarımını takiben elde edilen Siyatik Fonksiyon İndeksi (SFI) değerleri. 8, 10 ve 12. haftalarda 5-FU grubu SFI değerlerindeki iyileşmenin izotonik grubuna göre anlamlı derecede ($p < 0.001$) fazla olduğu görülmekte.

Postoperatif ilk 6 haftada her iki grup SFI değerleri arasında non-parametrik student-t testi ile yapılan değerlendirmede istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmadı ($p > 0.05$). Özellikle 6. haftadan 8. haftaya

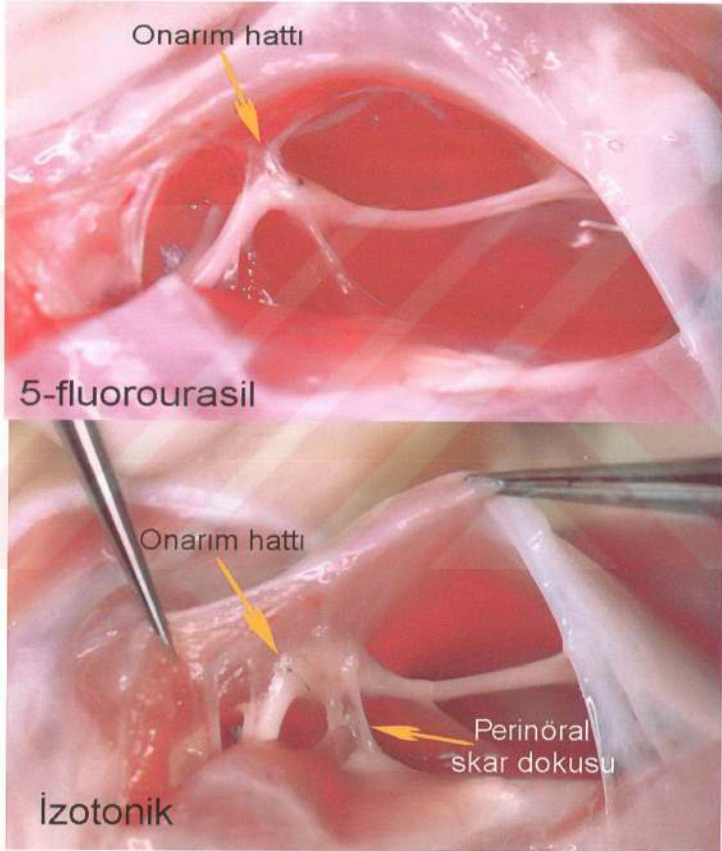
geçerken her iki grupta da fonksiyonel iyileşmenin hızlandığı, 8, 10 ve 12. haftalarda 5-FU grubu SFI'ndeki düzelmenin (dolayısıyla fonksiyonel iyileşmenin) izotonik grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p < 0.001$) daha fazla olduğu görüldü (Tablo-2).

Makroskopik değerlendirme: Yara iyileşmesinin değerlendirildiği cilt ve kas fasyasının kapanmasına bakıldığında, izotonik ve 5-FU grubundaki tüm hayvanların ciltlerinin tamamen kapandığı, özellikle 4. haftada olmak üzere 5-FU grubunda bazı hayvanlarda fasya kapanmasında kısmi yetersizlik olduğu görüldü. Ancak cilt ve kas fasyası kapanmasında, her iki grup arasında Mann-Whitney U non-parametrik test ile yapılan istatistiksel değerlendirmede anlamlı farklılığa rastlanmadı ($p > 0.05$) (Tablo-3).

Haftalar Sıçan no	Cilt bütünlüğü			Kas fasyası			Sinir dokusu			Aynılabilirlik		
	4	8	12	4	8	12	4	8	12	4	8	12
	(5-FU / izotonik)			(5-FU / izotonik)			(5-FU / izotonik)			(5-FU / izotonik)		
1	1/1	1/1	1/1	2/1	1/1	1/1	1/2	2/2	2/3	2/2	2/3	1/2
2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/2	2/2	2/2	1/2	1/2
3	1/1	1/1	1/1	2/1	2/1	1/1	1/2	2/3	2/2	1/2	2/2	2/3
4	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/2	1/2	3/2	1/2	2/2
5	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/2	1/3	1/2	1/2
6	1/1	1/1	1/1	2/2	2/1	2/1	1/2	2/2	2/3	2/3	2/3	2/3
7	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	2/1	2/3	2/3	2/2	2/2	2/2
8	1/1	1/1	1/1	2/1	1/1	1/1	1/2	1/2	1/2	1/2	1/3	1/2
9	1/1	1/1	1/1	3/1	1/1	1/1	1/2	2/3	2/3	2/2	2/2	1/2
10	1/1	1/1	1/1	1/2	1/1	1/1	1/1	1/2	1/2	1/2	1/2	2/3
Ortalama	10/10	10/10	10/10	16/12	12/10	11/10	11/15	15/22	16/24	17/22	15/23	15/23
P değeri	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05	<0.05

Tablo-3: Petersen'in sayısal derecelendirme şeması esas alınarak gerçekleştirilen, yara iyileşmesinin, diseksiyon sırasındaki yapışıklığın değerlendirme sonuçları.

Diseksiyon kolaylığı, skar dokusu ve yapışıklığa bakıldığında 8 ve 12. haftalarda yine aynı test ile yapılan istatistiksel değerlendirmede 5-FU lehine anlamlı derecede ($p<0.05$) farklılıklar gözlemlendi (Tablo-3) . 5-FU grubunda izotonik grubuna kıyasla epinöral skar dokusunun daha az olduğu, diseksiyonun ve sinir ayrılabilirliğinin daha kolay olduğu, çevre kas dokusuna yapışıklığın daha az olduğu görüldü (Şekil-11).



Şekil-11: Sekizinci haftada onarım alanında 5-FU grubundaki perinöral skar dokusunun ve yapışıklığın izotonik grubuna oranla oranla daha az olduğu görülmekte.

Elektrofizyolojik çalışma: Dördüncü haftada 5-FU grubunda ölçülen SIH indeksinin (0.56 ± 0.09) ve izotonik grubunda ölçülen SIH indeksinin (0.58 ± 0.09) artarak 12. haftada 5-FU grubunda 0.93 ± 0.03 , izotonik grubunda 0.95 ± 0.04 değerlerine geldiği görüldü. Ancak 4, 8 ve 12. haftada tespit edilen SIH indekslerinde 5-FU ve izotonik grupları arasında non-parametrik student-t testi ile yapılan değerlendirmede istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmadı ($p > 0.05$) (Tablo-4).

Sıçan no	5-FU	Kontrol	<i>İndeks</i>	İzotonik	Kontrol	<i>İndeks</i>
1	53.5	75.0	0.71	0	67.8	0
2	0	59.5	0	53.5	68.4	0.78
3	44.6	66.6	0.67	46.2	78.5	0.59
4	50.0	85.7	0.58	50.6	71.4	0.71
5	71.4	89.2	0.80	0	65.4	0
6	56.5	93.7	0.60	62.5	89.2	0.70
7	53.5	67.8	0.79	84.8	98.2	0.86
8	65.2	98.2	0.66	59.5	82.1	0.72
9	0	82.1	0	56.5	84.8	0.66
10	75.0	84.8	0.88	64.2	80.3	0.80
Ortalama	0.56 ± 0.09			0.58 ± 0.09		
P	P > 0.05 (4. Hafta)					

Sıçan no	5-FU	Kontrol	<i>İndeks</i>	Izotonik	Kontrol	<i>İndeks</i>
1	75.8	82.1	0.92	62.5	71.4	0.87
2	60.7	68.4	0.89	78.5	89.2	0.88
3	84.8	89.2	0.95	65.4	80.3	0.81
4	50.5	81.5	0.62	56.5	78.5	0.71
5	64.2	98.2	0.65	82.1	93.7	0.87
6	67.8	80.3	0.84	51.6	67.8	0.76
7	51.6	78.5	0.66	66.6	75.8	0.82
8	80.3	93.7	0.86	75.0	82.1	0.91
9	68.4	65.4	1.04	65.2	84.8	0.76
10	71.4	78.5	0.91	80.3	102.5	0.78
Ortalama	0.83 ± 0.04			0.81 ± 0.02		
P	P > 0.05 (8. Hafta)					

Sıçan no	5-FU	Kontrol	<i>İndeks</i>	İzotonik	Kontrol	<i>İndeks</i>
1	78.5	80.3	0.94	68.3	82.1	0.83
2	84.5	75.8	0.89	89.2	78.5	1.13
3	89.2	102.5	0.87	80.3	93.7	0.85
4	75.8	81.5	0.93	93.7	84.8	1.10
5	60.7	82.1	0.73	62.5	89.2	0.70
6	82.1	93.7	0.87	80.3	82.1	0.97
7	65.4	67.8	0.96	67.8	75.8	0.89
8	80.3	75.8	1.05	84.8	80.3	1.05
9	93.7	89.2	1.05	75.8	81.5	0.93
10	71.4	65.4	1.09	78.5	71.5	1.09
Ortalama	0.93 ± 0.03			0.95 ± 0.04		
P	P > 0.05 (12. Hafta)					

Tablo-4: 4, 8 ve 12. haftalarda ölçülen Sinir İletim Hızları (SIH – m/sn) ve SIH indeksleri (indeks = deneysel (sol) taraf SIH / kontrol (sağ) taraf SIH).

Histomorfolojik çalışma:

Onarım alanında organizasyon: 4, 8 ve 12. haftalarda onarım alanında organizasyon değerlerine bakıldığında 5-FU grubunda organizasyonun daha iyi olduğu gözlenmekle birlikte Mann-Whitney U non-parametrik test ile yapılan değerlendirmede 5-FU ve izotonik grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (p > 0.05) (Tablo-5).

Sıçan no	4. hafta 5-FU / izotonik	8.hafta 5-FU / İzotonik	12. hafta 5-FU / İzotonik
1	2 / 2	2 / 1	4 / 1
2	3 / 2	1 / 2	3 / 2
3	3 / 2	3 / 2	4 / 2
4	2 / 2	4 / 2	3 / 3
5	3 / 2	3 / 3	2 / 4
6	4 / 3	5 / 3	3 / 3
7	1 / 2	2 / 4	3 / 2
8	3 / 1	3 / 2	4 / 2
9	2 / 3	3 / 3	3 / 3
10	2 / 2	3 / 2	2 / 4
Toplam	25 / 21	29 / 24	31 / 26
P değerleri	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05

Tablo-5: 4, 8 ve 12. haftalarda onarım alanındaki organizasyonun değerlendirme sonuçları.

Akson ve fiber çapı, akson / fiber çapı oranı: 5-FU ve izotonik gruplarında 4, 8 ve 12. haftalarda akson çaplarında önemli bir artış gözlenmedi. Non-parametrik student-t testi ile yapılan değerlendirmede her iki grup arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p > 0.05$). Fiber çaplarında ise her iki grupta da artış olduğu, 8 ve 12. haftalarda 5-FU grubundaki artışın izotonik grubuna göre anlamlı derecede ($p < 0.05$ ve $p < 0.001$) daha fazla olduğu görüldü. Fiber çaplarının artışıdaki bu farklılık akson / fiber çapı oranına da yansiyarak 8 ve 12. haftalarda izotonik grubuna kıyasla 5-FU grubu lehine istatistiksel olarak anlamlı değerler bulundu (Tablo-6).

	*Akson çapı 4. hafta		Akson çapı 8. hafta		Akson çapı 12. hafta	
Sıçan no	5-FU	İzotonik	5-FU	İzotonik	5-FU	İzotonik
1	3.0	3.1	3.2	3.1	3.3	3.3
2	3.1	3.1	3.2	3.0	3.2	3.3
3	3.2	3.0	3.1	3.2	3.2	3.2
4	3.1	3.2	3.3	3.0	3.3	3.1
5	3.3	3.2	3.2	3.2	3.2	3.3
6	3.0	3.3	3.1	3.3	3.0	3.2
7	3.4	3.1	3.1	3.0	3.4	3.3
8	3.1	3.3	3.2	3.1	3.3	3.2
9	3.1	3.1	3.4	3.3	3.2	3.3
10	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2
Ortalama	3.15±0.04	3.16±0.03	3.20±0.02	3.14±0.03	3.23±0.11	3.24±0.02
P değerleri	P > 0.05		P > 0.05		P > 0.05	

* μm

	*Fiber çapı 4. hafta		Fiber çapı 8. hafta		Fiber çapı 12. hafta	
Sıçan no	5-FU	İzotonik	5-FU	İzotonik	5-FU	İzotonik
1	6.5	6.3	6.9	6.4	8.9	7.1
2	6.4	6.2	7.1	6.3	8.5	7.3
3	6.6	6.1	6.9	6.5	8.7	7.1
4	6.5	6.5	7.2	6.4	8.8	6.9
5	6.7	6.4	6.9	6.3	8.7	6.8
6	6.3	6.6	7.0	6.6	8.2	7.0
7	6.8	6.3	7.2	6.2	9.0	7.1
8	6.4	6.7	7.1	6.5	8.9	6.8
9	6.7	6.8	7.5	6.6	8.5	6.9
10	6.3	6.4	7.2	6.4	8.6	7.3
Ortalama	6.52±0.05	6.43±0.07	7.10±0.05	6.40±0.04	8.68±0.07	7.03±0.05
P değerleri	P > 0.05		P < 0.05		P < 0.001	

* μm

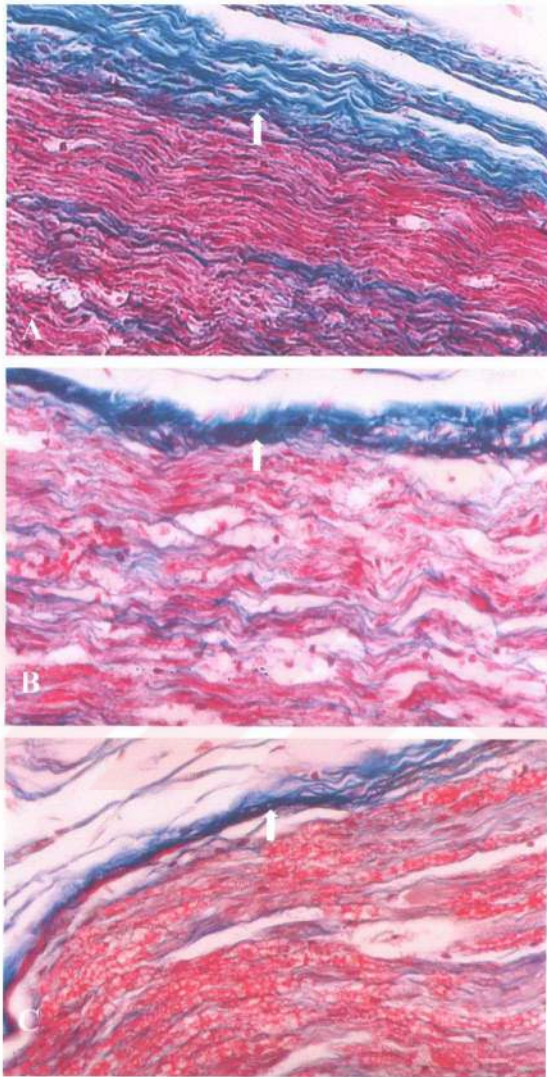
Sıçan no	Akson/Fiber çapı 4. hafta		Akson/Fiber çapı 8. hafta		Akson/Fiber çapı 12. hafta	
	5-FU	İzotonik	5-FU	İzotonik	5-FU	İzotonik
1	0.46	0.49	0.46	0.48	0.37	0.46
2	0.48	0.50	0.45	0.48	0.38	0.45
3	0.48	0.49	0.45	0.49	0.37	0.45
4	0.48	0.49	0.46	0.47	0.38	0.45
5	0.49	0.50	0.46	0.51	0.37	0.49
6	0.48	0.50	0.44	0.50	0.37	0.46
7	0.50	0.49	0.43	0.48	0.38	0.46
8	0.48	0.49	0.45	0.48	0.37	0.47
9	0.46	0.46	0.45	0.50	0.38	0.48
10	0.51	0.50	0.44	0.50	0.37	0.44
Ortalama	0.48±0.01	0.49±0.01	0.44±0.09	0.48±0.01	0.37±0.01	0.46±0.04
P değerleri	P > 0.05		P < 0.05		P < 0.05	

Tablo-6: 4, 8 ve 12. haftalarda 5-FU ve izotonik grubundaki akson ve fiber çapları ile akson / fiber çapı oranları ve istatistiksel karşılaştırmaları.

Skar dokusu kalınlığı: Sekizinci haftada 5-FU ve izotonik gruplarına ait skar dokusu kalınlığının sinir dokusu kalınlığına bölünmesi ile elde edilen indeks değerleri student-t testi ile karşılaştırıldı (Tablo-7). İzotonik grubuna oranla 5-FU grubundaki skar kalınlığının istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az olduğu görüldü ($p < 0.05$) (Şekil-12).

Sıçan no	Skar dokusu / Sinir dokusu kalınlığı	
	5-FU	İzotonik
1	0.186	0.312
2	0.220	0.380
3	0.155	0.208
4	0.219	0.340
5	0.166	0.277
6	0.137	0.215
7	0.162	0.306
8	0.243	0.186
9	0.192	0.200
10	0.166	0.153
Ortalama	0.184 ± 0.01	0.257 ± 0.07
P değeri	P < 0.05	

Tablo-7 : Sekizinci haftada 5-FU ve izotonik grubuna ait skar dokusu kalınlığının sinir dokusu kalınlığına bölünmesi ile elde edilen indeks değerleri.



Şekil-12: Sekizinci haftada izotonik grubundaki (A) skar dokusu kalınlığının (ok) 5-FU grubuna (B,C) oranla daha fazla olduğu görülmekte (Masson trichrome boyama, X40).

Islak Gastrokinemus kas ağırlığı : Onikinci haftada ıslak gastrokinemus kas ağırlıklarına bakıldığında izotonik grubundaki kasların 5-FU grubundakilere oranla biraz daha atrofik ve hafif olduğu gözlemlendi. Ancak parametrik Student-t testi ile yapılan istatistiksel değerlendirmede, 5-FU kas ağırlığı indeksi (ortalama 0.64 ± 0.003) ile izotonik kas ağırlığı indeksi (ortalama 0.60 ± 0.006) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p > 0.05$) (Tablo-8).

Sıçan no	5-FU	Normal	İndeks	İzotonik	Normal	İndeks
1	1.2240	1.8786	0.6515	0.8987	1.7402	0.5164
2	1.0285	1.7508	0.5850	0.1451	1.8692	0.6126
3	1.0608	1.8008	0.5891	0.8289	1.8060	0.4589
4	1.2051	1.8236	0.6608	1.1486	1.8317	0.6270
5	1.0776	1.7949	0.6004	1.1960	1.7926	0.6671
6	1.1760	1.8028	0.6523	1.1257	1.7981	0.6260
7	1.2102	1.7854	0.6778	1.2088	1.8110	0.6675
8	1.1660	1.7950	0.6496	1.0890	1.7320	0.6288
9	1.2260	1.9050	0.6436	1.2120	1.9350	0.6264
10	1.1985	1.7622	0.6801	1.0910	1.8205	0.5993
Ortalama indeks			*0.64 ± 0.003	*0.60 ± 0.006		

* $p > 0.05$

Tablo-8: Onikinci haftada her sıçanda bilateral ıslak gastrokinemus kas ağırlıkları ölçüldü. Deneysel (sol) taraftaki değerler normal (sağ) taraftaki değerlere bölünerek bireysel farklılıklar giderildi ve her sıçan için bir indeks belirlendi. Parametrik Student-t testi ile yapılan istatistiksel değerlendirmede izotonik ve 5-FU grupları arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p > 0.05$).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Periferik sinirin şiddetli yaralanması sonucunda, yaralanmanın şiddetine bağlı oranda distal (wallerian) ve proksimal aksonal dejenerasyon oluşur (Şekil-13/2). Eğer yaralanma nöron ölümüne yol açmazsa, başarısızlıkla veya etkili fonksiyonel restorasyonla sonuçlanabilecek rejenerasyon süreci başlar. Aksonal devamlılığı kesintiye uğratmaya yetecek orandaki yaralanmalarda dejenerasyon oluşur. Distal sinirin wallerian dejenerasyonu, aksonal ayrılma noktasından, sinirin nihai sonlandığı noktaya kadar akson ve çevreleyen myelinin parçalanması ile oluşur (65,66).

Aksonal kesintinin proksimalinde akson son korunan internoda kadar sınırlı bir dejenerasyona gider. Aksonal dejenerasyon distal güdükte gözlenene benzer (67). Sinir rejenerasyonu, proksimal güdükten dışa büyüme şeklinde olur ve bu, dejenere distal sinirin otorejenerasyonu şeklinde değildir. Yirmidört saate kadar değişebilen bir süre sonrasında proksimal kesik akson ucu büyüme konisi şeklinde bir çıkıntı yapar(Şekil-13/3). İleriye doğru büyüme, akson ucundan proksimale doğru birkaç segmentlik Ranvier boğumundan ve büyüme konisinden dalların filizlenmesiyle birlikte uç kısmın ilerlemesiyle oluşur (68,69). Yirmidört saatin sonunda birkaç filiz yaralanma alanına ulaşır ve gelişen skarın yaralanma alanına penetrasyonu, ikinci veya üçüncü gün gerçekleşir. Proksimal güdükten dışarı aksonal filizlenmeye, terminal uydu hücrelerden köken alan Schwann hücreleri eşlik eder (70).

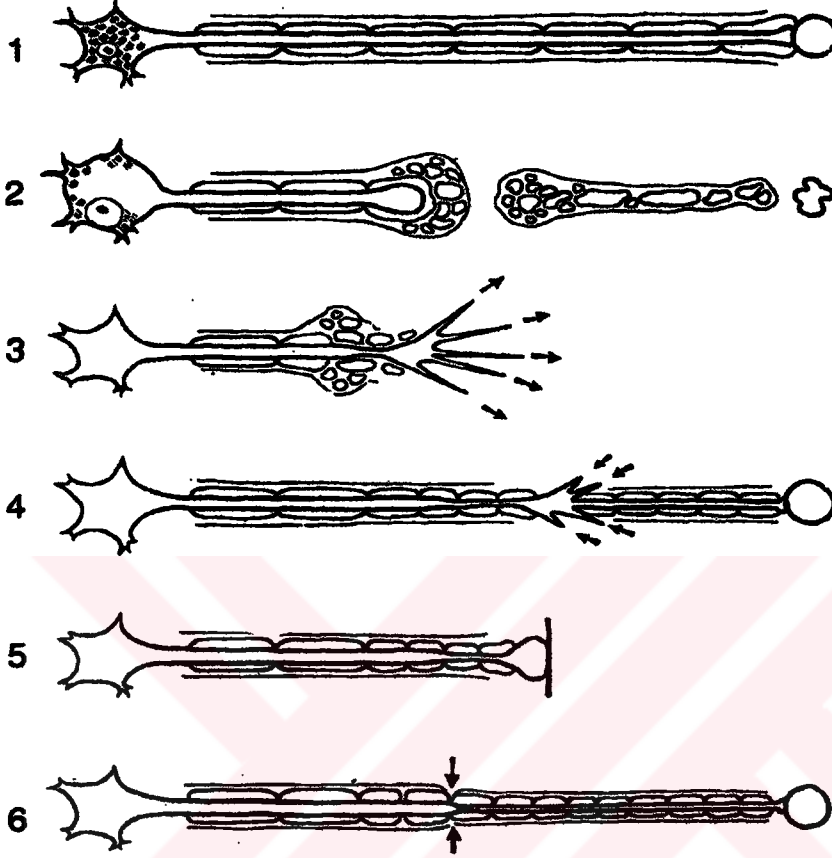
Büyüme konisi proksimal kesik aksonun ucundaki aksoplazmik büyüme alanıdır, internal aktin filamentler ve miyozin içerir ve membranı dışa çıkıntı yapan, ameboid tarzda kasılan pek çok filopod içerir (65, 71-74). İleri doğru hareketin kısmen bu filopodal çıkıntılarla oluşturulduğu gözükmemektedir. Filopod tarafından uygun bir tutunacak madde (Schwann hücre membranı gibi) algılandığında yapışma oluşur. Membranlar arası geçiş olayı ile internal aktin filamentler kararlı hale gelir ve retraksiyon oluştuğunda büyüme konisi ileri doğru çekilir. Akson ve içerikleri tutunmuş filopoda doğru itilir ve akson aynı doğrultuda uzar (75,76). Bir aksondan birçok filopod, sinir fiberinden

aşağıya bu şekilde gelişebilir, veya gelişigüzel şekilde dallanabilir veya geriye kendine doğru büyüyebilirler. Hedef organla bir filiz bağlantı kurduğunda, diğer filizler dejenere olur ve tek bir akson olgunlaşır (70) (Şekil-13/4). Bu tek akson proksimalden distale Schwann hücreleriyle sarılır, ve sadece birkaç aksonun eski endonöral tabakaya girdiği görülür. Rejenere filizler, yeni Schwann hücre ara yüzeyi boyunca ilerlerler. Myelinizasyon uç organ değil, ana akson tarafından belirlenir (77).

Büyüme yönü ve büyüme konisinin şekli, güzergahı üzerindeki mekanik faktörlerden etkilenir. Geçilemez bir skar, ilerleyen aksonun büyüme yönünde değişikliklere veya dallanmasına sebep olur (75). Bununla birlikte büyüme konisinin dokuları delerek geçme yeteneğini artıran proteaz (plazminojen aktivatörleri) salgıladığı yönünde deliller mevcuttur (78). İdeal olarak üzerinden geçilecek skarın olmaması, ilerleyen aksonun, uygun uç organa rehberlik edecek olan longitudinal düzenlenmiş Schwann hücrelerinin bulunduğu distal güdüğe doğru büyümesini sağlar.

Wallerian dejenerasyonu sırasında Schwann hücreleri myelin ve aksonal debris yıkımında başrolü oynar ve kalan endonöral bağ dokusu tabakasının bazal laminası içerisinde proliferer olurlar (79). Prolifere oldukça, histolojik olarak Büngner bandı olarak anılan longitudinal sıra halinde yoğun olarak toplanmaya başlarlar. Bu Schwann hücre sıraları rejenere tomurcuklar için önemli bir geçiş yolu oluşturarak rehberlik görevi yaparlar. Akson tomurcuklarını kabule ve ilerleyen rejenere aksonları yeniden myelinize etmeye artık hazırdırlar (65,66). Ne yazık ki sinir lezyonundan sonra 28 –35. günler arasında ek bir endonöral kollajen tabakası birikimi olur. Bu, aksonal büyüme için uygun potansiyel boşluğu daraltır. Aksonal büyüme için, Schwann hücrelerinin endonöral silindirin açık merkezinden periferik migrasyonuna rağmen, rejenere aksonun nihai çapı azalır (80). Birim uzunluk başına düşen Schwann hücre sayısı artar ve rejenere aksonun yeniden myelinizasyonu sonrasında bu, azalmış internodal uzunluk olarak yansır (66,81). Distal sinir fiberinin bağ dokusu elemanları, anatomik, metabolik ve fonksiyonel bütünlüğü sağlamak için sağlam aksone ihtiyaç duyduklarından, sinirin rejenerasyonundaki başarısızlık, sonunda distal endonöral tüpün

daralıp kısılmasına yol açar. 2 yıl içerisinde boş endonöral tabakanın kesitlerdeki alanı normalin ancak % 1'i kadardır.



Şekil-13: Periferik sinir dejenerasyon ve rejenerasyonu (1) Sağlam sinir (2) Kesi sonrası aksonal dejenerasyon ve distal wallerian dejenerasyon (3) Proksimal kesik uçtaki güdükten dışarıya büyüme konisi şeklindeki gelişme ve rejenere filizler (4) Rejenerasyon ve bir aksonal filizin hedef ile başarılı teması; kalan filizler geriye doğru ölme sürecine girer (5) Eğer aşılamaz bir engelle karşılaşırsa uçta bir şişkinlik oluşur (6) Koaptasyon alanında skarın oluşturduğu bası, aksonal çapta ve internodal mesafede değişikliklere yol açar.

Ortalama olarak rejenere akson skar içerisinde yaklaşık günde 0.25 mm ilerler. Erişkinlerde aksonal filizler distal endonöral tüpe ulaştığında büyüme birçok faktöre bağlı olarak günde 1 ile 2 mm arasında devam eder. Koapte sinirin proksimal ve distal uçları arasında skar oluşumu, aksonun ileriye doğru büyümesini fiziksel olarak engeller ve sinir büyüme konisinin dallanmasına, ayrılmasına, geriye dönmeye veya sonlanmasına sebep olur.

Akson ve schwann hücreleri kendilerini lineer yapılar boyunca hizaya sokma eğilimindedirler bu yüzden araya giren skarın yarattığı düzensiz kitle liflerin yönünü bozarak birkaçının distal güdüğe ulaşmasına neden olur. Tatminkar koşullarda sinir kesisi ve koaptasyonunu takiben filizlenen aksonların yalnızca altıda bir veya yedide birinin distal güdüğe ulaşarak distale doğru büyümeye devam ettiği tahmin edilmektedir, bu oran genç insanlarda daha yüksek olarak gözlenmiştir (74). Fonksiyonel rekonstrüksiyondaki problem, önemsiz bir aralıkla, skarsız bir koaptasyon sağlayarak nöroma oluşumundan kaçınabilmektir. Proksimal ve distal güdükler arasındaki intranöral topografik uyumsuzluk aksonların yanlış yönleneşine veya interfasiküler, epinöral bağ dokusunda kaybolmasına ve distal endonöral tüpleri kaybetmesine neden olur. Periferik sinirler endonörium, perinörium ve epinörium olmak üzere 3 ayrı ve farklı destek doku kılıfı ile birliktelik gösterirler. Wallerian dejenerasyonu ve proksimal aksonal rejenerasyonu sırasında kollajen fibrilleri, özellikle aksonal kesi alanının yakınındaki kalıcı bazal lamina tübüllerinin dış kısmında birikirler. Dinlenme halindeki periferik sinirde kollajen üretiminin çoğunluğu epinöriumda bulunan fibroblastlar tarafından gerçekleştirilir (82,83,84,85). Sinire şiddetli travma sonrası fibroblastlar hasar alanında toplanarak yaralanmaya cevap olarak kollajen üretirler. Yaralanma sonrası distal güdükteki bağ dokusu hücreleri görünüm ve fonksiyonlarını değiştirirler. Endonörium ve perinöriumda, kollajen tipleri ve fibronektin dağılımında yaygın değişiklikler oluşur. Yaralanmış sinirde skar dokusu, esas olarak tip I kollajen, daha az miktarda tip III kollajenin birikimi ile oluşur (82,83,84,85). Endonöriumdaki kollajen üretimi muhtemelen hem fibroblast hem de Schwann hücre aktivitesine bağlı oluşur (86,87). Yeni endonöral kollajen, Schwann hücrelerinin bazal laminası dışında depolanarak endonöral tüpün kalınlaşmasına neden olur. Bu depolanma rejenerasyon tamamlanana kadar devam eder (66,80). Distal sinir güdüğünün reinerve olması daha uzun zaman alacağından daha fazla kollajen birikir ve neticede kalınlaşan endonöral tüp iç çapı azaltır (88). Kalınlaşma sadece aksonların geçişi için gereken uygun potansiyel alanı daraltmakla kalmaz aynı zamanda kalınlaşan tüp, büyüyen aksonun lokal daralmasına sebep olur (46). Bu, nihai aksonal

çapı kısıtlayarak akson boyutunda ve myelin kalınlığında kalıcı azalmaya sebep olur. (Şekil 13/6)

Bugüne kadar birçok araştırmacı epinöral ve ektranöral skar oluşumunu azaltmak için çeşitli farmakolojik ajanlar kullanmışlardır. Hiçbirisi rutin olarak klinik kullanım alanı bulamamakla birlikte, Aprotinin (48), Adcon-T/N (bir karbonhidrat polimer jeli) (47), cis-Hidroksiprolin (cis-hipro) (89, 90), östrojen-progesteron, metilprednizolonasetat (90) ve TGF- β 'ya (transforming growth factor beta) karşı oluşturulmuş antikor (91), bu farmakolojik ajanlardan bazılarıdır. Periferik sinir cerrahisinde skar oluşumunu azaltmak amacıyla kullanılacak olan farmakolojik ajanın, tercih edilmesi için bazı özelliklere sahip olması gerekir. Bunlar; 1) ucuz ve kolay bulunabilir olmalı, 2) kullanıldığı dozda dokulara toksik etkisi olmamalı, 3) yara iyileşme sürecini ve periferik sinir rejenerasyonunu olumsuz etkilememeli, 4) etkisi mümkün olduğunca bölgesel olmalı, 5) uzun etkili olmalı ve mümkün olduğunca az sayıda tekrar uygulanımına gereksinim olmalı, 6) farklı veya benzer endikasyonlarla halen klinikte uygulanımı olan bir ilaç olmalıdır. Bu çalışmada, yapılan deneysel ve klinik çalışmalarla, yukarıda sözü edilen özelliklere sahip olduğu gösterilmiş olan 5-FU kullanılmıştır.

Kolorektal, meme, mide, karaciğer, pankreas, mesane, over gibi kanserlerde uzun yıllardır kullanılan 5-fluorourasil, pirimidin analogu olan bir antimetabolittir. Antimetabolit tip antikanser ilaçlar nükleik asitlerin genellikle bir ya da bir çok sentez basamağını inhibe ederler (10). Vücutta relatif olarak etkisiz olan 5-FU metabolik yolda giderek daha aktif olan, 5-fluorouridine 5-monofosfat, 5-fluorouridine trifosfat (FUTP), 5-fluoro 2-deoksiüridilat (FUDR), 5-fluorodeoksiüridin 5-monofosfat, 5-fluorouridine gibi metabolitlere dönüşür (10,12). Fluorourasil ve metabolitleri, timidilat sentetaz ile birleşerek bu enzimin etkisini inhibe ederler. Timidilat sentetazın katalize ettiği uridilatın timidilata dönüşümü engellenir ve replike olan hücrede timin sentezinin bozulması ile DNA sentezi duraklar. FUDR, timidilat sentetazı yarışmalı olarak inhibe eder ve DNA sentezi için gerekli bir deoksinükleotid olan deoksitimidin trifosfatın oluşumunu bloke eder (10-12). Bu inhibisyonlar geri

dönüşümlüdür ve fluorourasil ortamdan kaldırıldığında hücrelerin normale dönmesi beklenir (15). Bununla birlikte fluorourasil özellikle yüksek dozlarda RNA yapısına katılır (11). Bunun sonucunda, bu ilaçların fibroblastlar üzerindeki uzun süreli geri dönüşümsüz etkilerini açıklayabilecek, RNA oluşumu ve işlevini inhibe edici etkileri ortaya çıkar (92).

Kanser tedavisinde kullanımının yanısıra 5-FU, hücre çoğalmasındaki bu inhibe edici etkisi dolayısıyla farklı klinik durumlarda da kullanım alanı bulmuş ve çeşitli araştırmalara konu olmuştur. Çoğalan hücrelerin kemoterapi ilaçlarına dinlenme halindeki hücrelerden daha duyarlı oldukları bilinmektedir (13). Fluorourasil, skar oluşumunun ana hücre mediatörleri olan fibroblastların kuvvetli bir inhibitörüdür (93). Malign olmayan hücre kültürlerinde yapılan çalışmalar, 5-FU'in fibroblast proliferasyonunu etkili şekilde inhibe ettiğini göstermiştir (94). Başka bir çalışmada 5-FU'in insan fibroblast kültürlerine eklenmesinin kollajen sentezini anlamlı ölçüde azalttığı gösterilmiştir (95). Hem in vitro, (14,15) hem in vivo (16) olarak bir kez 5-FU uygulanmasını takiben, ilacın konsantrasyonuna bağlı olarak, fibroblastların 36 güne kadar büyümelerinin durduğu saptanmıştır. Birkaç dakikalık temas sonrası fluorourasilin ortamdan yıkanarak uzaklaştırılmasına rağmen, kültüre doku fibroblastları üzerinde lokalize uzamış bir etki söz konusudur (16). Tümör hücrelerinde maksimum hücre içi serbest fluorourasil depolanmasının 200 saniye içerisinde olduğu gösterilmiştir (15). Bu da ilacın hücre içi birikiminin çok hızlı olduğunu gösterir, bu süre sonrasında ortamdan uzaklaştırılsa bile hücre ve ekstrasellüler matriks tarafından alınan ilaç, metabolize olarak etkisini göstermeye başlar. Fluorourasilin kültüre insan fibroblastlarının proliferasyonuna inhibitör etkisinin geç başladığı yani, inkübasyon sonrası etkinin 2. günden sonra başladığı saptanmıştır (96). Bu gecikmenin ilacın daha aktif metabolitlere dönüşümüne bağlı olduğu düşünülmüştür. Fluorourasilin klinik olarak uygulanabileceği en yüksek konsantrasyon 50 mg/ml dir. Daha yüksek konsantrasyonlar ilacın çözünürlüğüne bağlı olarak mümkün değildir (16).

Yukarıda anlatılan özelliklerinden dolayı farmakolojik ajan olarak tercih ettiğimiz 5-FU ile gerçekleştirilen deneysel çalışmamızda şu bulgular saptandı.

1. 5-FU'in sinir rejenerasyonuna olumsuz bir etkisinin olmadığı, aksine yapılan fonksiyonel incelemede, 8. haftadan sonra ilaç kullanılmayan kontrol (izotonik) grubuna kıyasla fonksiyonel olarak daha fazla rejenere olduğu (muhtemelen epinöral skar dokusunun daha az oluşuna bağlı), yine 8. haftadan sonra myelinizasyon sürecinin kontrol (izotonik) grubuna göre daha hızlı geliştiği saptandı.
2. Makroskopik değerlendirmede, 5-FU'in yara iyileşmesine olumsuz bir etkisinin olmadığı, ektranöral skar dokusu ve yapışıklıkları azalttığı, diseksiyonu ve sinir ayrılabilirliğini kolaylaştırdığı görüldü.
3. Histolojik değerlendirmede, epinöral skar oluşumunun 5-FU grubunda, ilaç kullanılmayan kontrol (izotonik) grubuna oranla daha az olduğu saptandı.

Gerçekleştirdiğimiz bu deneysel çalışma sonucunda, periferik sinir cerrahisi sırasında yüzeysel olarak bir kez uygulanan 5-FU'in, epinöral ve ektranöral skar dokusunu ve yapışıklıkları azalttığı saptandı. Ayrıca yara iyileşmesi ve sinir rejenerasyonunu olumsuz etkilemediği için, nispeten ucuz, kolay bulunulabilir ve bir kez uygulanımla uzun süreli etki gösterdiği için, klinik olarak farklı dokularda benzer endikasyonlarla başarıyla kullanılmış olduğu için, periferik sinir cerrahisinde, epinöral ve ektranöral skar dokusu ve yapışıklıkların önlenmesinde 5-FU'in klinik uygulamaya uygun bir ajan olduğu kanısı edinildi .

KAYNAKLAR

1. Abercrombie, M., and M. Johnson. 1946. Collagen content of rabbit sciatic nerve during Wallerian degeneration. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 9: 113-118.
2. Abercrombie, M., and M. Johnson. 1947. The effect of reinnervation on collagen formation in degenerating sciatic nerves of rabbits. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 10: 89-92.
3. Sunderland, S. 1968. "Nerves and Nerve injuries" Williams & Wilkins. Baltimore
4. Millesi, H. Healing of nerves. *Clin. Plast. Surg.* 4: 459, 1977
5. Mackinnon, S. E., and Dellon, A. L. Nerve Injury and Regeneration. In S. E. Mackinnon and A. L. Dellon (Eds.), *Surgery of the Peripheral nerve*. New York: Thieme Medical Publishers, 1988
6. Hunter JH: Recurrent carpal tunnel syndrome, epineural fibrous fixation, and traction neuropathy. *Hand Clin* 7: 491-504, 1991
7. McLellan DL, Swash M: Longitudinal sliding of the median nerve during movements of the upper limb. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 39: 566-570, 1976
8. Wilgis EFS, Murphy R: The significance of longitudinal excursion in peripheral nerves. *Hand Clin N Am* 2: 761-766, 1986
9. Lundborg G: *Nerve Injury and Repair*. Edinburgh, Churchill Livingstone, 1988
10. Heidelberger C: Fluorinated pyrimidines and their nucleosides. In *Handbook of Experimental Pharmacology*, Vol 38, Sartorelli AC and Johns DG, editors. New York, Springer-Verlag, , part 2, pp. 193-231. 1975
11. Evans RM, Laskin JD, and Hakala MT: Assessment of growth-limiting events caused by 5-fluorouracil in mouse cells and in human cells. *Cancer Res* 40: 4113, 1980
12. Ardalan B and Glazer R: An update on the biochemistry of 5-fluorouracil. *Cancer Treat Rev* 8: 157, 1981
13. Graham-Smith, D.G. and Aronson, J.K. : The principles of cancer chemotherapy. In the *Oxford Textbook of Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. Pp.591-3, 1989
14. Khaw, P.T., Ward, S., Porter, A., Grierson, I., Hitchings, R.A. and Rice, N.S. The long-term effects of 5-fluorouracil and sodium butyrate on human Tenon's fibroblasts. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 33: 2043-52, 1992
15. Khaw, P.T., Sherwood, M. B., MacKay, S.L., Rossi, M.J. and Schultz, G. Five minute treatments with fluorouracil, floxuridine and mitomycin have long-term effects on human Tenon's capsule fibroblasts. *Arch. Ophthalmol.* 110 : 1150-4, 1992
16. Khaw, P. T., Doyle, J.W., Sherwood, M.B., Grierson, I., Schultz, G. and McGorray, S. Prolonged localised effects from 5-minute exposures to fluorouracil and mitomycin C. *Arch. Ophthalmol.* 111: 263-7, 1993

17. Occleston, N.L., Daniels, J.T., Tarnuzzer, R.W., et al. Single exposures to antiproliferatives. Long-term effects on ocular fibroblasts wound-healing behaviour. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 38: 1998, 1997
18. Yamamoto, T., Varani, J., Soong, H.K. and Lichter, P.R. Effect of 5-fluorouracil and mitomycin-c on cultured rabbit subconjunctival fibroblasts. *Ophthalmology* 97: 1204, 1990.
19. Heath, T.D., Brown, C.S. and Stern, W.H. Ocular cicatrical disease: Drug effects in vitro on cell proliferation, contraction and viability. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 31: 1245, 1990
20. Lanigan, L., Sturmer, J., Baez, K., Hitchings, R. and Khaw, P. Single intraoperative application of 5-fluorouracil during filtration surgery: Early results. *Br. J. Ophthalmol.* 78: 33, 1994
21. Akali, A., Khan, U., Khaw, P.T., McGrouther, D.A. Decrease in adhesion formation by a single application of 5-Fluorouracil after flexor tendon injury. *Plast. Reconstr. Surg.* 153: 151-158; 1999
22. Mackinnon, S.E., Hudson, A.R., and Hunter, D.A. Histologic assesment of nerve regeneration in the rat. *Plast. Reconstr. Surg.* 75: 384, 1985
23. Mackinnon, S.E., Dellon, A.L., Hudson, A.R., and Hunter, D.A. Chronic nerve compression :An experimental model in rat. *Ann. Plast. Surg.* 13:112, 1984
24. Mackinnon, S.E., Hudson, A.R., Falk, R.E., and Hunter, D.A., The nerve allograft response: An experimental model in the rat. *Ann. Plast. Surg.* 14: 334, 1985
25. Lundborg, G., Longo, F.M., and Varon, S. Nerve regeneration model and trophic factors in vivo. *Brain Res.* 232: 157, 1982
26. William, L.R., and Varon, S. Modification of fibrin matrix formation in situ enhances nerve regeneration in silicone chambers. *J. Comp. Neurol.* 231: 209, 1985
27. Seckel, B. R., Ryan, S.E., Gagne, R.G., Chiu, T.H., and Watkins, E. Target-specific nerve regeneration Through a nerve guide in the rat. *Plast. Reconstr. Surg.* 78: 793 1986
28. Rosen, J.M., Hentz, V.R., and Kaplan, E.N. Fascicular tubulization: A cellular approach to peripheral nerve repair. *Ann. Plast. Surg.* 11: 397, 1983
29. Ellis, J.C., and McCaffrey, T.V. Animal model for peripheral nerve grafting. *Otol. Head Neck Surg.* 92: 546, 1984
30. Bain, J.R., Mackinnon, S.E., Hunter, R.T., Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *83(1):* 129-38, 1989
31. Terzis, J.K., and Smith, K.J., Repair of severed peripheral nerves: Comparison of the "de Medicaceli" and standart microsuture methods. *Exp. Neurol.* 96: 672, 1987
32. De Medicaneli, L., Freed, W.J., and Wyatt, R.J., An index of functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. *Exp. Neurol.* 77: 634, 1982

33. Buehler, M.J., Seaber, A.V., and Urbaniak, J.R. The relationship of functional return to varying methods of nerve repair. *J. Reconstr. Microsurg.* 6: 61, 1990
34. Shenaq, J.M., Shenaq, S.M., and Spira, M. Reliability of sciatic function index in assessing nerve regeneration across a 1-cm gap. *Microsurgery* 10: 214, 1989.
35. Zelle, R.T., Miller, D.W., Kenning, J.A., Hoenig, E. M., and Bucheit, W.A. Experimental peripheral nerve repair: Environmental control directed at the cellular level. *Microsurgery* 10: 290, 1989.
36. Kanaya, F., Firrell, J., Tsai T.M., and Breidenbach, W.C. Functional results of vascularized versus nonvascularized nerve grafting. *Plast. Reconstr. Surg.* 89: 924, 1992.
37. Carlton, J.M., Goldberg, N.A. Quantification of integrated muscle function following reinnervation. *Surg. Forum* 37: 611, 1986.
38. Bain, J., Mackinnon, S., and Hunter, D.A. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast. Reconstr. Surg.* 83: 129, 1989.
39. Dellon, A.L., and Mackinnon, S. E. Sciatic nerve regeneration in the rat: Validity of walking track assessment in the presence of chronic contractures. *Microsurgery* 10:220, 1989.
40. Dellon, A.L., and Mackinnon, S.E. Selection of the appropriate parameter to measure neural regeneration. *Ann. Plast. Surg.* 23: 197, 1989
41. Dellon, E.S., and Dellon, A.L. Functional assessment of neurologic impairment: Track analysis in diabetic and compression neuropathies. *Plast. Reconstr. Surg.* 88: 686, 1991.
42. Brown, C.J., Evans, P.J., Mackinnon, S.E., et al. Inter-and intraobserver reliability of walking track analysis used to asses sciatic nerve function in rats. *Microsurgery* 12: 76, 1991.
43. Terzis, J.K., Dykes, R.W., and Hakstian, R.W. Electrophysiological recordings in peripheral nerve surgery: A review. *J. Hand Surg.* 1: 52, 1976.
44. Kanaya, F., Firrel. J., Breidenbach, W.C. Sciatic function index, nerve conduction tests, muscle contraction, and axon morphometry as indicators of regeneration. 98(7): 1264-71, 1996.
45. Hare, G.M.T., Evans, P.J., Mackinnon, S.E., et.al. Walking track analysis:A long term assesment of peripheral nerve recovery. *Plast. Reconstr. Surg.* 89: 251, 1992.
46. Watanabe, O., Mackinnon. S.E., Tarasidis. G., Hunter. D.A., Ball. D.J. Long-term observation of the effect of peripheral nerve injury in neonatal and young rats. 102(6): 2072-81, 1998.
47. Petersen, J., Russel, L., Andrus, K., Mackinnon, M., Silver, J. Reduction of extraneural scarring by ADCON-T/N after surgical intervention. *Neurosurgery*, 38(5): 976-83, 1996.
48. Görgülü, A., Imer, M., Şimşek, O., Sencer, A., Kutlu, K., Çobanoğlu, S. The effect of aprotinin on extraneural scarring in peripheral nerve surgery: An experimental study. *Acta Neurochir.* 140(12): 1303-7, 1998.

49. Almquist, E., and Eeg-Olofsson, O. Sensory-nerve-conduction velocity and two-point discrimination in sutured nerves. *J. Bone Joint Surg.* 52A: 791, 1970.
50. Brushart, T.M., and Mesulam, M.-M. Alteration in connections between muscle and anterior horn motor neurons after peripheral nerve repair. *Science* 208: 603, 1980.
51. Cabaud, H.E., Rodkey, W.G., McCarrol, H.R., jr., Mutz, S.B., and Niebauer, J.J. Epineural and perineural fascicular nerve repairs: A critical comparison. *J. Hand Surg.* 1: 131, 1976.
52. De Medinaceli, L. Functional consequences of experimental nerve lesions: Effects of reinnervation blend. *Exp. Neurol.* 100: 166, 1988.
53. Jabaley, M.E., Burns, J., J.E., Orcutt, B.S., and Bryant, W.M. Comparison of histologic and functional recovery after peripheral nerve repair. *J. Hand Surg.* 1: 119, 1976.
54. Evans, P.J., Bain, J.R., Mackinnon, S.E., Selective reinnervation: A comparison of recovery following microsuture and conduit nerve repair. *Brain Res.* 559: 315, 1991.
55. Mackinnon, S.E., Dellon, A.L., and O'Brien, J.P. Changes in nerve fiber numbers distal to a nerve repair in the rat sciatic nerve model. *Muscle Nerve* 14: 1116, 1991.
56. Rosen, J.M., Jewett, D.L. Physiologic methods of evaluating experimental nerve repair. In: Jewett, D.L., McCarrol, H.R., eds. *Nerve repair and regeneration, its clinical and experimental basis.* St. Louis: The CV Mosby Co, 150-62, 1980.
57. Goldman, L., and Albus, J.S. Computation of impulse conduction in myelinated fibers: Theoretical basis of the velocity-diameter relation. *Biophys. J.* 8: 596, 1968.
58. Mountcastle, V.B. *Medical Physiology*, 14th Ed. St. Louis: Mosby, Pp. 68-81, 1980.
59. Evans, P.J., Awerbuch, D.C., Mackinnon, S.E., Wade, J.A., and McKee, N.H. Isometric contractile function following nerve grafting: A study of graft storage. *Muscle Nerve* 17: 1190, 1994.
60. Brown, C.J., Mackinnon, S.E., Evans, P.J., Self evaluation of walking track measurement using a sciatic function index. *Microsurgery* 10: 226, 1989.
61. Brown, C.J., Evans, P.J., Mackinnon, S.E., Inter and intraobserver reliability of walking track analysis used to assess sciatic nerve function in rats. *Microsurgery* 12: 76, 1991.
62. Dellon, A.L., and Mackinnon, S.E. Sciatic nerve regeneration in the rat. Validity of walking track assessment in the presence of chronic contractures. *Microsurgery* 10: 220, 1989.
63. Hare, G.M.T., Evans, P.J., Mackinnon, S.E., Walking track analysis: Utilization of individual footprint parameters. *Ann. Plast. Surg.* 30: 147, 1993.
64. Mackinnon, S.E., Dellon A.L., Hudson, A.R., Hunter, D.A. Nerve regeneration through a pseudosynovial sheath in a primate model. *Plast. Reconstr. Surg.* 75: 833-9, 1985

65. Selzer, M.E.: Regeneration of peripheral nerve. Sumner, A. J. (Ed.): The Physiology of Peripheral Nerve Disease. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 358-431, 1980
66. Thomas, P.K., Landon, D.N., and King, R.H.M.: Normal structure of the peripheral nerve. Adams, J.H., and Corcellis, J., and Duchen, L.W.(Eds.): Greenfield's Neuropathology. Newyork, John Wiley and Sons, 1984.
67. Lubinska, L.:Demyelination and remyelination in the proximal parts of regenerating nerve fibers. J. Comp. Neurol., 117:275, 1961
68. Matson, D.D.: Early neurolysis in the treatment of peripheral nerves due to faulty injection of antibiotics. N. Eng. J. Med., 242 : 973, 1950
69. Forman, D.S., and Berenberg, R.A.: Regeneration of motor axons in the rat sciatic nerve studied by labeling with axonally transported radioactive proteins. Brain Res., 156 : 213, 1978
70. Spencer, P.S.: Morphology of the injured peripheral nerve. Daniel, R.K. and Terzis, J.K. (Ed): Reconstructive Microsurgery. Boston, Little Brown and Company, 342-349, 1977
71. Tennyson, V.M.: The fine structure of the axon the growth cone of the dorsal root neuroblast of the rabbit embryo. J. Cell Biol., 44:62, 1970
72. Yamada, K.M., Spooner, B.S., and Wessels, N.K.: Ultrastructure and function of growth cones and axons of cultured nerve cells. J. Cell biol., 49:614, 1971
73. Bunge, M.B.: Fine structure of nerve fibers and growth cones of isolated sympathetic neurons in culture. J. Cell Biol., 56:713, 1973
74. Letourneau, P.C.: Immunocytochemical evidence for colocalization in neurite growth cones of actin and myosin and their relationship to cell-substratum adhesions. Dev. Biol., 85:113, 1981
75. Weiss, P.:The technology of nerve regeneration : a review. Sutureless tubulation and related methods of nerve repair. J. Neurosurg., 1:400, 1944a
76. Letourneau, P.C.: Cell to substratum adhesions and guidance of axonal elongation. Dev. Biol., 44:92, 1975
77. Cabaud, H.E., Rodkey, W.G. and Nemeth, T.J.: Progressive ultrastructural changes after peripheral nerve transection and repair. J. Hand. Surg., 7a : 353, 1982
78. Krystosek, A., and Seeds, N. W.: Plasminogen activator release at the neural growth cone. Science, 213: 1532, 1982.
79. Satinsky, D., Pepe, F. A., and Liu, C.N.: The neurilemma cell in peripheral nerve degeneration and regeneration. Exp. Neurol., 9:441, 1964.
80. Thomas, P. K.: The deposition of collagen in relation to Schwann cell basement membrane during peripheral nerve regeneration. J. Cell Biol., 23:375, 1964
81. Cragg, B.G., and Thomas, P.K.:The conduction velocity of regenerated peripheral nerve fibers. J. Physiol.(Lond), 171:164, 1964

82. Nath,R.K., Mackinnon, S.E., Jensen, J.N., and Parks W.C. Spatial pattern of type I collagen expression in injured peripheral nerve. *J. Neurosurg.* 86: 866, 1997.
83. Siironen, J., Sandberg, M., Vuorinen, V., and Roytta, M. Expression of type I and III collagens and fibronectin after transection of rat sciatic nerve: Reinnervation compared to denervation. *Lab. Invest.* 67: 80, 1992.
84. Siironen, J., Vuorinen, V., Taskinen, H.S., and Roytta, M. Axonal regeneration into chronically denervated distal stump: 2. Active expression of type I collagen in mRNA in epineurium. *Acta Neuropathol.* 89: 219, 1995.
85. Seyer, J.M., Kang, A.H., and Whitaker, J.N. The characterization of type I and III collagens from human peripheral nerve. *Biochim. Biophys. Acta* 492: 415, 1977.
86. Barton, A.A. An electron microscope study of degeneration and regeneration of nerve. *Brain* 85: 799-808 1967.
87. Thomas, P.K. Changes in the endoneurial sheaths of peripheral myelinated nerve fibers during Wallerian degeneration. *J. Anat.* 98: 175-182, 1964.
88. Holmes, W., and Young, J.Z.: Nerve regeneration after immediate and delayed suture. *J. Anat.*, 77: 63, 1944.
89. Pleasure, D., Bora, W.F., Lane, J., Prockop, D.: Regeneration after nerve transection: effect of inhibition of collagen synthesis. *Exp. Neurol.* 45, 72-78, 1974.
90. Nachemson, A.K., Lundborg.G., Myrhage, R., and Rank, F. Nerve regeneration and pharmacological suppression of scar reaction at the suture site: An experimental study on the effect of estrogen-progesterone, methylprednisolone-acetate and cis-hydroxyproline in rat sciatic nerve. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.* 19: 255, 1985.
91. Nath,R.K., Kwon, B., Mackinnon, S.E., Jensen, J.N., Reznik, S.:Antibody to transforming growth Factor beta reduces collagen production in injured peripheral nerve. 102(4):1100-6; 1998.
92. Maybaum, J., Ullman, B., Mandel, H.G., Day J.L., Sadee W. Regulation of RNA- and DNA- directed actions of 5-fluoropyrimidines in mouse T-lymphoma (s-49) cells. *Cancer Res.* 40: 4209-4215, 1980.
93. Ophir, A. Effects of 5-fluorouracil on proliferating fibroblasts in vivo. *Exp. Eye. Res.* 53, 799-803, 1991.
94. Blumenkranz, M.S., Clafin, A., Hajek, A.S. Selection of therapeutic agents for intra-ocular proliferative disease: cell culture evaluation. *Arch. Ophthalmol.* 102: 598-604, 1984.
95. Blumenkranz, M.S., Hernandez, E., Ophir, A., Norton E.W.D. 5-fluorouracil: new applications in complicated retinal detachment for an established antimetabolite. *Ophthalmol.* 91, 122-30, 1984.
96. Lee, D.A., Tehrani, S.T., Kitada, S. The effect of 5-fluorouracil and cytarabine on human fibroblasts from Tenon's capsule. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 31: 1848-58, 1990.

TEŞEKKÜR

Başta, Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi, El Cerrahisi eğitimi aldığım, tez danışmanım saygıdeğer hocam Prof. Dr. Mesut ÖZCAN ve tüm çalışma süresince yakın desteğini esirgemeyen Yrd. Doç Dr. Yeşim ÖZGENEL olmak üzere bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde katkıları olan Patoloji Anabilim Dalı üyelerine, Uludağ Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi (DENTAM) çalışanlarına ve çalışmanın sponsorluğunu üstlenen Bursa Plastik Cerrahi, Yanık ve El Cerrahisi Derneği'ne (BUPYED) teşekkürlerimi borç bilirim.

ÖZGEÇMİŞ

Dr. Ömer BUHŞEM, 1967 yılında Adana'da doğdu. İlköğretimini Adana Kazım Karabekir İlkokulu, orta ve lise eğitimini Adana Anadolu Lisesi'nde tamamladı. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden 1991 yılında mezun olarak Tıp Doktoru ünvanını aldı. Van ilindeki zorunlu hizmetini 1993 yılında tamamlayarak, 1996 yılında Dicle Üniversitesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Anabilim Dalında uzmanlık eğitimine başladı. Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi, El Cerrahisi eğitimini almak üzere 1997-98 ve 2000 yıllarında 28 ay süreyle Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi, El Cerrahisi Anabilim Dalında görevlendirildi. Dr. Ömer BUHŞEM iyi derecede İngilizce bilmektedir, evli ve bir çocuk sahibidir.