

**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE  
ESTETİK CERRAHİ  
ANABİLİM DALI**

**RATLARDA SİYATİK SİNİR ONARIMLARINDA DÜŞÜK DOZ  
RADYASYON VE VEGF (VASCULAR ENDOTHELIAL  
GROWTH FACTOR)'NİN ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ  
DR. MUSTAFA TUĞRUL ÇELEBİ**

**DANIŞMAN  
YRD. DOÇ. DR. RAMAZAN HAKAN ÖZCAN**

**DENİZLİ - 2013**

**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE  
ESTETİK CERRAHİ  
ANABİLİM DALI**

**RATLARDA SİYATİK SİNİR ONARIMLARINDA DÜŞÜK DOZ  
RADYASYON VE VEGF (VASCULAR ENDOTHELİAL  
GROWTH FACTOR) 'NİN ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. MUSTAFA TUĞRUL ÇELEBİ**

DANIŞMAN

YRD. DOÇ. DR. RAMAZAN HAKAN ÖZCAN

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 2013TPF004nolu kararı ile desteklenmiştir.

**DENİZLİ – 2013**

Yrd. Doç. Dr. Ramazan Hakan ÖZCAN danışmanlığında Dr. Mustafa Tuğrul ÇELEBİ tarafından yapılan “ratlarda siyatik sinir onarımlarında düşük doz radyasyon ve vegf (vascular endothelial growth factor) ‘nin etkileri” başlıklı tez çalışması gün. 0. ay 2. yıl 2014 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim/Bölüm Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

Prof. Dr. B. İnci Coşkun Karay

ÜYE

PAÜ Eğl. Uyg. ve Arş. Hast.  
Yard. Doç. Dr.

R. Hakan ÖZCAN

Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Uzmanı  
Dip. No: 10044-A-100

ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Adem ÖZKAN  
PAÜ Tıp Fakültesi  
Plastik, Rekonstrüktif ve  
Estetik Cerrahi Öğretim Üyesi  
Dip Tes No: 85761

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım. 24/01/2014

Pamukkale Üniversitesi  
Tıp Fakültesi Dekanı

Prof. Dr. Hakan HERKEN  
Dekan

## TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım bana yol gösteren hocam sayın Prof. Dr. İnci Gökalan KARA' ya , gerek asistanlığım süresince gerekse tez aşamasında bana yardımlarını esirgemeyen, beni destekleyen tez danışmanı hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Ramazan Hakan ÖZCAN' a, bana büyük emeği geçen hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Adem ÖZKAN'a, eğitimime olan katkılarından dolayı hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Adem TOPKARA' ya,

Tez çalışmamın histopatolojik incelemelerinde bana zaman ayırıp yardımlarını esirgemeyen Patoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Metin AKBULUT'a, elektrofizyolojik incelemelerde yol gösteren ve büyük yardımları olan Tıbbi Fizyoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Sebahat TURGUT'a, radyoterapi uygulaması aşamasında yardımları olan Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Bahar BALTALARLI'ya ve Öğr. Gör. Canan ERTUNÇ'a , istatistiksel incelemelerde yardımcı olan Doç. Dr. Beyza AKDAĞ ve Arş. Gör. Dr. Hande ŞENOL'a, Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda deneysel çalışmamdaki yardımlarından dolayı Veteriner Hekim Barbaros ŞAHİN'e, tez aşamalarında bana yardımlarından dolayı Arş. Gör. Dr. Özgür DAL'a,

Bugüne kadar hep yanımda olan ve beni bugünlere getiren canım aileme, **TEŞEKKÜR EDERİM.**

Dr. Mustafa Tuğrul ÇELEBİ

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ONAY SAYFASI.....	III
TEŞEKKÜR.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	VII
ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	XI
ÖZET.....	XII
SUMMARY.....	XIII
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
SİNİR SİSTEMİ.....	3
PERİFERİK SİNİR SİSTEMİ ANATOMİSİ.....	3
PERİFERİK SİNİRİN FİZYOLOJİSİ.....	7
SİNİR YARALANMASININ TİPİ.....	8
PERİFERİK SİNİR CERRAHİSİ.....	13
SİNİR ONARIMINDA ZAMANLAMA.....	15
SİNİR İYİLEŞMESİNDE FİBROZİS.....	16
RADYOTERAPİ.....	18
VASKÜLER ENDOTEL BÜYÜME FAKTÖRÜ (VEGF).....	19
VEGF RESEPTÖRLERİ.....	21
GEREÇ VE YÖNTEM.....	24
Çalışmanın Yapıldığı Bölümler ve Kullanılan Cihazlar.....	24
Cerrahi Teknik.....	26
Radyoterapi Uygulanması.....	29

<b>İlaç Uygulanması.....</b>	<b>31</b>
<b>Değerlendirme Yöntemleri.....</b>	<b>32</b>
<b>Elektrofizyolojik İncelemeler.....</b>	<b>32</b>
<b>Histopatolojik İncelemeler.....</b>	<b>35</b>
<b>İstatistiksel İncelemeler.....</b>	<b>36</b>
<b>BULGULAR.....</b>	<b>37</b>
<b>Makroskopik Bulgular.....</b>	<b>37</b>
<b>Elektrofizyolojik Bulgular.....</b>	<b>38</b>
<b>Histopatolojik Bulgular.....</b>	<b>44</b>
<b>TARTIŞMA.....</b>	<b>50</b>
<b>SONUÇLAR.....</b>	<b>62</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>63</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

aa: Aminoasit

Amp: Amplitud

BT: Bilgisayarlı tomografi

cc: Cubic centimetre

cGy: Santigray

cm: Santimetre

Do: Doz miktarı

EMA: Endonöral mesafede artış

gr: Gram

Gy: Gray

kDa: Kilo Dalton

Lat: Latans

MKA: Miyelin kalınlığında azalma

mm: Milimetre

MÖ: Milattan önce

mV: Milivolt

ms: Milisaniye

(NRP-1): Nörofilin-1

PAÜTF: Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi

PSS: Periferik Sinir Sistemi

RT: Radyoterapi

SF: Serum fizyolojik

SHSA: Schwann hücre sayısında artış

sn: Saniye

SSS: Santral Sinir Sistemi

VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

VEGFR: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktör Reseptörü

$\mu\text{g}$ : Mikrogram

$\mu\text{m}$ : Mikrometre



## ŞEKİLLER ve RESİMLER DİZİNİ

<b>Şekil 1</b>	Periferik sinir şematik anatomisi.....	4
<b>Şekil 2</b>	Normal sinir lifi yapısı ve organizasyonu.....	5
<b>Şekil 3</b>	Sinir kılıfları.....	6
<b>Şekil 4</b>	Sunderland sinir hasarının sınıflandırılması.....	12
<b>Şekil 5</b>	VEGF'nin reseptör etkileşimi aracılığıyla oluşan etkileri.....	21
<b>Şekil 6</b>	VEGF ligandları ve ilgili reseptörleri.....	22
<b>Şekil 7</b>	Siemens ARTISTE lineer hızlandırıcı cihazı.....	25
<b>Şekil 8</b>	Grupların amplitud değerleri ortalamaları.....	40
<b>Şekil 9</b>	Grupların latans süreleri ortalamaları.....	41
<b>Şekil 10</b>	Kontrol grubuna ait bir aksiyon potansiyeli.....	42
<b>Şekil 11</b>	RT alan gruba ait bir aksiyon potansiyeli.....	43
<b>Şekil 12</b>	VEGF alan gruba ait bir aksiyon potansiyeli.....	43
<b>Şekil 13</b>	Hem RT hem de VEGF alan gruba ait bir aksiyon potansiyeli.....	44
<b>Şekil 14</b>	Grupların histopatolojik incelemeleri sonucunda meydana gelen hasar skorlarının ortalaması.....	46
<b>Resim 1</b>	Ratların operasyon sahasının traş edilip povidoniodine ile temizlenmesi.....	26
<b>Resim 2</b>	Cilt altına inilip bisepsfemoris kasına ulaşılması.....	27
<b>Resim 3</b>	Siyatik sinirin eksplorasyonu.....	27
<b>Resim 4</b>	Sinirin mikro makas ile tam kat kesilmesi.....	28
<b>Resim 5</b>	4 adet epinöral dikişle siyatik sinirin onarımı.....	29
<b>Resim 6</b>	Ratlara RT planlanması için BT çekilirken.....	30
<b>Resim 7</b>	Tedavi planlama sisteminde 700 cGy doz dağılımı.....	31
<b>Resim 8</b>	Ratlara RT uygulanması.....	31

<b>Resim 9</b>	Çalışmada kullanılan VEGF.....	32
<b>Resim 10</b>	Sinir koaptasyon hattının 5mm proksimaline ve distaline elektrotların yerleştirilmesi.....	33
<b>Resim 11</b>	Sağ kulağa topraklama için disk elektrod yerleştirilmesi.....	34
<b>Resim 12</b>	AD Instruments marka PowerLab/8SP model veri kayıt cihazı ile sinir ileti hızlarına bakılması.....	34
<b>Resim 13</b>	Sinirde meydana gelen aksiyon potansiyelleri.....	35
<b>Resim 14</b>	Postop 6. Haftada siyatik sinirin görüntüsü.....	37
<b>Resim 15</b>	Kontrol grubunda toluidine mavisi ile boyama sonrası alınan mikroskop görüntüsü.....	47
<b>Resim 16</b>	RT alan grupta toluidine mavisi ile boyama sonrası alınan mikroskop görüntüsü.....	48
<b>Resim 17</b>	VEGF alan grupta toluidine mavisi ile boyama sonrası alınan mikroskop görüntüsü.....	48
<b>Resim 18</b>	RT+VEGF alan grupta toluidine mavisi ile boyama sonrası alınan mikroskop görüntüsü.....	49

## TABLÖLAR DİZİNİ

<b>Tablo 1</b>	Grupların elektrofizyolojik incelemeleri sonucunda elde edilen amplitud değerleri ve latans süreleri.....	38,39
<b>Tablo 2</b>	Grupların histopatolojik incelemeleri sonucunda elde edilen hasar parametreleri ve skorları.....	44,45

## ÖZET

### Ratlarda Siyatik Sinir Onarımlarında Düşük Doz Radyasyon ve VEGF

#### (Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü) 'nin Etkileri

DR. MUSTAFA TUĞRUL ÇELEBİ

Plastik cerrahide gerek travma sonrası gerekse iyatrojenik sinir yaralanmaları ile çok sık karşılaşılır. En iyi yöntemlerle bile sinir onarımı sonrası siniri iyileşmesi hiçbir zaman %100 olamaz. Bu durum da beraberinde ciddi sekeller getirmektedir. Bu çalışmada daha önce yapılan araştırmalardan da yola çıkılarak fibrozisi engellediği gösterilen düşük dozda (700cGy) RT (radyoterapi) ve vasküler remodelingi arttırarak sinir iyileşmesini olumlu yönde etkilediği bulunan VEGF kullanılmıştır. Bu çalışmada bu tedaviye yardımcı yöntemlerin ayrı ayrı ve kombinasyonu kullanılmıştır.

Çalışmada 32 adet Wistar tipi sıçan kullanıldı. Sağ arka ekstremitelerinde siyatik sinirlerde çalışıldı. Siyatik sinirler mikrocerrahi olarak tam kat kesilip epinoral yöntemle onarıldı. 8'er sıçan olmak üzere 4 gruba ayırdı. 1. Grup kontrol grubu olarak belirlendi. 2. Gruba onarımdan 24 saat sonra düşük dozda RT verildi. 3. Gruba onarım esnasında VEGF verildi. 4. Gruba onarım esnasında VEGF ve 24 saat sonra düşük dozda RT verildi.

Postoperatif 6. Hafta sonunda ratların siyatik sinirleri yeni bir operasyon ile eksplere edilip makroskopik olarak değerlendirildi. Elektrofizyolojik olarak sinirlerin amplitud değerleri ve latans süreleri değerlendirildi. Sinirlerden eksizyonel biyopsi alınarak MKA (Miyelin Kalınlığında Azalma), SHSA (Schwann hücre sayısında artış), Vakualizasyon, EMA (Endonöral mesafede artış) gibi kriterlere bakıldı. Düşük dozda RT tedavisi alan grupta istatistiksel olarak olumlu gelişmeler gözlenirken, VEGF ve RT+VEGF tedavisi alan gruplarda anlamlı gelişmeler gözlenmedi.

Sonuç olarak, düşük dozda RT'nin fibrozis ve skar formasyonunu engelleyerek sinir iyileştirmesine katkıda bulunduğu gösterildi. Fakat VEGF ve RT+VEGF tedavileri alan gruplarda aynı olumlu yönde etkileri bulamadık.

## SUMMARY

### **The Effects of Low Dose Radiation and VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) on the repairment of Sciatic Nerve Injury in Rats**

DR. MUSTAFA TUĞRUL ÇELEBİ

The nerve injuries are frequently encountered in plastic surgery. Both of post-traumatic injuries and iatrogenic injuries cause this. Even after best repairment methods it can not be %100 nerve recovery. This situation brings serious sequelae with it. Early studies show the low dose (700cGy) RT (radiotherapy) inhibits fibrosis and VEGF increases vascular remodelling. Both of them effects nerve recovery positively. In this study, based on the earlier studies the combination of these treatment methods and separately these methods are used.

32 Wistar rats were used in this study. Right hind limb sciatic nerves were studied. Sciatic nerves were full-thickness cut and were epineural repaired with microsurgical method. Rats were divided into 4 groups , including 8rats . 1st group was the control group. The 2nd group rats low dose RT were given 24 hours after the repairment .The 3rd group rats VEGF were given during repairment. The 4th group rats VEGF were given during repairment and low dose RT were also given 24 hours after repairment.

The sciatic nerves were sacrificed for evaluation. The macroscopically evaluation was done. Amplitude values and latency times were evaluated by Electrophysiological tests. Excisional biopsies were taken from sciatic nerves and were evaluated MKA (myelin thickness reduction), SHSA (increase in the number of Schwann cells), vacuolisation, EMA (Endoneurial increase in the distance). Low-dose treatment group had statistically positive developments. But the same statistically positive developments were not observed in VEGF and RT+VEGF treated groups.

In conclusion, a low dose of RT were shown to contribute to the improvement of nerve healing by preventing fibrosis and scar formation. However, in the VEGF and RT+VEGF treated groups were not observed the same positive effects.

## GİRİŞ

Periferik sinir yaralanmalarının en sık nedeninin travma olduğu bilinmektedir (1). Sinir yaralanması sonrası yapılacak tedavideki ana amaç sinir bütünlüğünü tekrar sağlamak ve duyu ve motor fonksiyonların eski haline dönüştürülmesidir.

Periferik sinir yaralanmalarının fizyopatolojik mekanizması hakkındaki bilgilerimiz moleküler ve hücresele biyolojinin gelişmesine paralel olarak son yıllarda artmıştır. Vücudun diğer bölgelerindeki hücresele onarımdan farklı olarak periferik sinirler, yaralanmaya mitoz ve hücre proliferasyonu şeklinde yanıt göstermez. Hasarın fizyopatolojisinin kritik rolünde makrofaj, diğer inflamatuvar hücreler, schwann hücreleri ve nörotrofik faktörler yer alır (2). Yara iyileşmesinin ana fazı skar dokusu formasyonudur. Onarım sonrası periferik sinir rejenerasyonu sıklıkla skar formasyonu ile bloklanır ve aksonun filizlenmesi yanlış tarafa yönelir (3, 4). Skar oluşumu, iskemiden irreversible sinir hasarına kadar değişen tablolara neden olmaktadır.

Düşük doz radyasyonun fibroblastik ve osteoplastik aktiviteyi inhibe ettiği uzun zamandır bilinmektedir. Uzun yıllardan beri, radyasyon keloid ve heterotopik kemik ossifikasyonu gibi yetişkinlerdeki çeşitli hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde kullanılmaktadır (5-14). Son zamanlarda, değişik hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda düşük doz radyoterapinin (RT) fibrozisi önlemede etkinliği gösterilmiştir. Buna karşın yüksek dozda radyasyon sinirde skar formasyonunu tetikleyerek sinir iyileşmesini olumsuz yönde etkilemektedir (15-17).

Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) son yılların en popüler araştırma alanlarından birini oluşturur. Güçlü bir endotelial hücre mitojeni ve permabilite faktörüdür anjiogenezi, vasküler remodelingi ve yeni doku gelişimini sağlar (18). Son yıllarda VEGF nin hem Periferik Sinir Sistemi (PSS) hem de Santral Sinir Sistemi (SSS) üzerindeki etkilerine yönelik çalışmalar yapılmış ve sinir iyileşmesi üzerine olumlu yönde etkileri bulunmuştur (19-24).

Bu çalışma ile radyoterapi ve VEGF nin ratlarda sinir iyileşmesine etkileri araştırıldı. 32 adet Wistar cinsi ratların sağ siyatik sinirleri mikroskop altında diseke edilip tam kat kesildi ve mikrocerrahi yöntemle onarıldı. Ratlar 8'er li 4 gruba ayrıldı;

1. Grup kontrol grubu olup 6 hafta sonra sinir iyileşmesindeki sonuçlara bakıldı.

2. Grup olarak planlanan ratlara operasyondan 24 saat sonra düşük dozda (700cGy) radyasyon verildi.

3. Grup olarak planlanan ratlara operasyon sırasında koaptasyonun hemen ardından koaptasyon hattına 1 mikrogram insan kaynaklı 165 aminoasit (aa) li VEGF verildi.

4. Grup olarak planlanan ratlara operasyon sırasında koaptasyonun hemen ardından koaptasyon hattına 1 mikrogram insan kaynaklı 165 aminoasit (aa) li VEGF verilip 24 saat sonra düşük dozda (700cGy) radyasyon verildi.

Tedaviden 6 hafta sonra tüm ratlara yeniden bir operasyon uygulandı. Sinir koaptasyon bölgesine ulaşıldı. Sinirde elektrofizyolojik çalışma yapıldı ve histopatolojik incelemeler için tüm ratların siyatik sinirlerinden biyopsi alındı.

Bu çalışmada periferik sinir hasarı sonrası yapılan onarımlarda düşük dozda RT nin , VEGF nin ve her ikisinin kombine tedavisi verilmiştir. Gruplar arasında sinir iyileşmesinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

## GENEL BİLGİLER

### SİNİR SİSTEMİ:

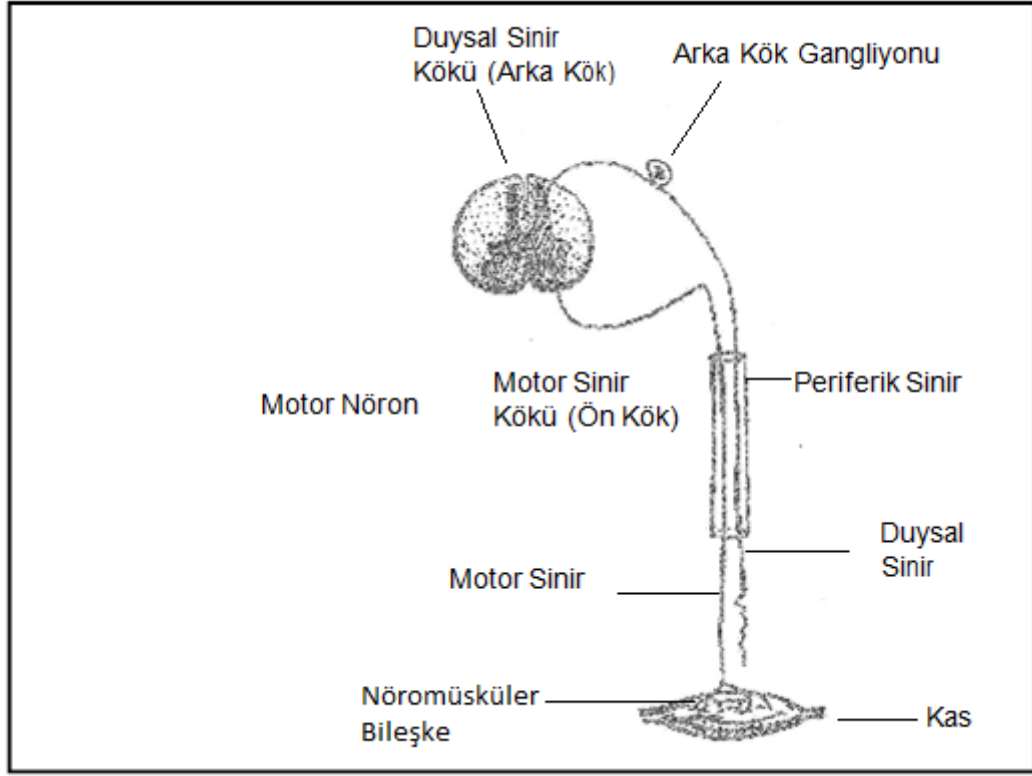
Sinir sistemi, santral sinir sistemi ve periferik sinir sistemi olmak üzere ikiye ayrılır. Periferik sinir sistemi hem periferden santral sinir sistemine bilgi ulaştırır hem de santral sinir sisteminin motor emirlerini perifere iletir. Periferik sinirler; duysal, motor ve otonomik sinir liflerini içerirler.

Periferik sinirler; konjenital, mekanik, termal, kimyasal sebeplere bağı olarak hasara uğrayabilir. Sinir onarım ve iyileşmesindeki başarısızlık; kas fonksiyon kaybına, duyu kaybına ve ağrılı nöropatlilere neden olur. Periferik sinir anatomisinin iyi bilinmesi sinir onarımı ve rekonstrüksiyonunda en uygun sonuca ulaşılabilmesi için gereklidir (25).

### PERİFERİK SİNİR ANATOMİSİ:

Periferik motor sinir lifleri; omurilik ön boynuzunda yerleşmiş olan ikinci motor nöronlardan çıkar. Periferik sinir duysal aksonların hücre gövdeleri ise omuriliğin dışında, intervertebral foramende yerleşimli olan arka kök ganglionu içindedir. Buradaki bipolar duysal nöronların periferik uzantıları periferik sinir içinde yer alırken santral uzantıları arka kök yoluyla omuriliğe girerler (Sekil-1).

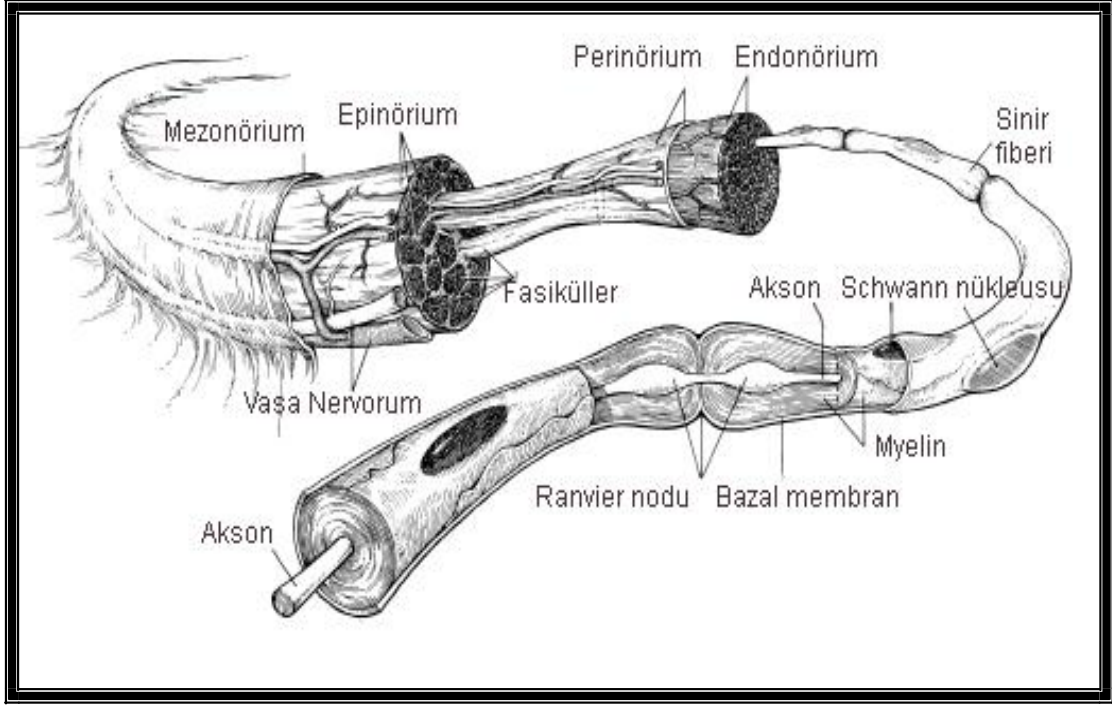




Şekil-1: Periferik sinir şematik anatomisi.

Anton Von Leewenhoek (1632–1723) periferik sinirin mikroskobik yapısını ilk kez ortaya koymuştur (26). Periferik sinir sisteminin temel hücresel yapıları nöronlar ve Schwann hücreleridir. Nöron, bir hücre gövdesi ve hedef organa ulaşan aksonal uzantıdan oluşur. Schwann hücreleri, akson boyunca birbiri ardına dizilerek miyelin kılıfını oluştururlar. Miyelinli liflerde aksonun etrafını miyelin örter (Şekil-2).

Miyelin hızlı iletimli sinir liflerinde iletim fonksiyonundan sorumludur. Her bir hücrenin miyelin kılıfları arasında Ranvier boğumu adı verilen kısa bir aralık bulunur.



Şekil-2: Normal sinir lifi yapısı ve organizasyonu. ( Myckatyn TM, Mackinnon SE. Microsurgical Repair of Peripheral Nerves and Nerve Grafts. Grabb and Smith's Plastic Surgery, Sixth Edition by Charles H. Thorne. S:74, 2007 )

Ranvier boğumları arasında Schwann hücresi büyük çaplı liflerde kendi üzerine kıvrılarak miyelin tabakasını oluşturur. Boğumlar arasındaki mesafe de sinir lifine göre 250µm ile 2000µm arasında değişir. Akson çapı ne kadar büyükse boğumlar arası mesafe de o kadar uzundur ve miyelin tabakası da o kadar kalındır (27).

Periferik sinirlerin yapısı histolojik olarak incelendiğinde; epinörium, perinörium ve endonörium olmak üzere 3 tabakaya ayrılır. Periferik sinir içinde kan taşıyan kapiller damar sistemine de vasa nervosus adı verilir. (Şekil-3)

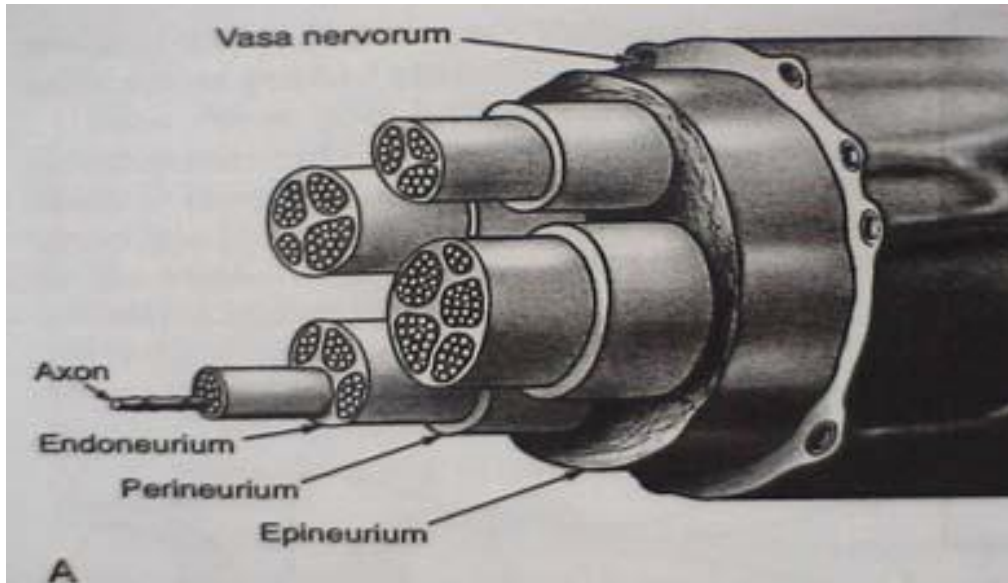
**Epinörium:** İnternal epinörium sinirleri ve tek tek fasikülleri sarar. Vasküler yapılar sinire bu tabakadan girerler. İnternal epinörium dış basınçlara karşı yastıklama görevi görür.

**Perinörium:** Fasikülleri sarar. Kollajen ve elastik lifler içerir. Kan-beyin bariyerinin devamı gibi fonksiyon göstererek difüzyonu kısıtlar, sinir içindeki iyon dengesini korur, enfeksiyonun yayılmasını engeller.

Endonörium: Kollajenöz bir doku olup, perinöriumun iç tarafındadır ve aksonları sarar. Bu tabakada elastin lifler yoktur ve fibroblastlar çok az sayıdadır. Endonöral tüp yapısına katılır. Schwann hücrelerinin oluşturduğu miyelinli aksonlar da bu yapının içindedir.

Fasikül: Endonörium tarafından sarılmış akson gruplarından oluşur. Cerrahi olarak girişim yapılabilen en küçük sinir ünitesidir. Fasiküller, kendi içinde, sinirin uzun ekseni boyunca giden alt birimlere (aksonlara) ayrılamazlar; çünkü aksonlar arası bağlantılarla oluşan intranöral pleksus yapısı mevcuttur.

Fasikül grubu: Üç ile altı arasında değişen sayıda fasikülün bir araya gelmesiyle oluşan fasikül gruplarında; fasiküller arasında epinörium bulunmaz. Bu grupların etrafı internal epinöriumla sarılıdır. İnterfasiküler bağlantılara rağmen, fasikül grupları tek tek fasiküllere ayrılabilirler. Modern periferik sinir cerrahisinde, fasikül gruplarının anatomisinin bilinmesi son derece önemlidir.



Şekil-3: Sinir kılıfları (Saleh MS. John YS KIM. Repair and grafting of the peripheral nevre. Plastic Surgery. 2th edition. ed: Stephen J. Mathes. Saunders Elsevier. Phillph.2006.Pp: 722.).

Beyin gibi, periferik sinirlerin de immünolojik olarak vücuttan ayıran bir bariyeri vardır. Buna kan sinir bariyeri denir. Bu yapı santral sinir sistemindeki kan beyin bariyerinin benzeridir. Bu bariyer endonöriumun endotelial hücreleri ve perinöriumun iç tabakasından oluşur (28). Bu tabaka hasarlı olmadığı sürece sadece basit şekere geçirendir. Bu bariyerde hasar sonucu oluşacak bir bozulma, periferik sinirin yapılarına karşı immünolojik cevaba sebep olabilir ki bu da primer hasarın etkisinin artmasına neden olabilir.

### **PERİFERİK SİNİRİN FİZYOLOJİSİ:**

Sinir iletiminde hücre membranı anahtar rol oynar. Nöron membranının iç yüzeyi negatif, dış yüzeyi ise pozitif elektrik yükü taşır. Bu nedenle membranın her iki tarafı arasında bir elektriksel gerilim farkı mevcuttur. Bu gerilim farkı istirahat potansiyeli olarak tanımlanır ve bu sinir lif membranında -50 ile -70 mV civarındadır (29). Bu potansiyel, hücre membranını geçen belirli iyonların konsantrasyon farkına dayanır. En önemli rolü  $\text{Na}^+$  ve  $\text{K}^+$  oynar. Sinir membranının bir noktasında oluşan uyarım bir aksiyon potansiyelinin doğmasına yol açacaktır. Aksiyon potansiyeli sinir lifinin özelliğine uygun olarak iki şekilde yayılım gösterir (30). Miyelinsiz sinir liflerinde ileti "lokal devre uzaması" şeklindedir. Aksiyon potansiyelinin başlangıç noktasında  $\text{Na}^+$ 'un hücre içine girişi,  $\text{K}^+$ 'un hücre dışına çıkışı ile membranın iç yüzü pozitif, dış yüzü negatif olmuştur. Komşu noktada ise membranın iç yüzü negatif, dış yüzü pozitifdir. Yani her iki bölge arasında bir potansiyel farkı vardır. Sonuç olarak aktif depolarize bölgeden inaktif polarize bölgeye hücre içi sıvı akışı ile yakın membran segmentinin de elektriksel yükü değişir, depolarize olur. Miyelinli liflerde ise depolarizasyon Ranvier boğumları adını alan miyelinsiz noktalarda gerçekleşir. Bir Ranvier boğumu aktif, diğeri inaktif ise birinden diğere ileti sıçrama tarzındadır ve bu yüzden daha hızlıdır. Miyelinli liflerde iletim hızı akson çapının karekökü ile doğru orantılıdır (100-150 cm/sn) (30, 31). Hücre gövdesinde sentezlenen protein ve polipeptidler nöronun en uçtaki noktasına, akson terminaline kadar iletilirler. Aksonal transport adını alan bu olay akson terminaline doğru (anterograd) veya akson terminalinden hücre gövdesine doğru (retrograd) olmak üzere iki yönlüdür. Retrograd transport sistemi akson içindeki protein ve nöroiletken döngüsünü ve ekstrasöral maddelerin akson ucundan

nöron gövdesine hareketini sağlar. Retrograd aksoplazmik transport oldukça hızlıdır (31, 32). Anterograd akım ise yavaş ve hızlı fazlarda gerçekleşir. Taşınan maddeler nöroiletken metabolizmasının enzimleri, peptid nöroiletkenler ve nöromodulatörlerdir. Maddeler endoplazmik retikulumun küçük vezikülleri veya mitokondrilerde taşınırlar.

### **SİNİR YARALANMASININ TİPİ:**

Periferik sinir yaralanmalarının fizyopatolojisinden bahsetmeden önce klinik uygulamalarda karşılaşılan temel yaralanma şekillerinden kısaca bahsetmek gerekir.

**1. Gerilmeye bağlı yaralanmalar:** En sık karşılaşılan tiptir. Periferik sinirlerin, kollajen endonöriumları nedeniyle elastik bir yapıları vardır. Traksiyon kuvveti, sinirin gerilme kapasitesinin üzerinde olursa yaralanma oluşur. Eğer uygulanan kuvvet yeterli büyüklükte ise brakial pleksus avulsiyonlarında olduğu gibi sinirin tamamen devamlılığını yitirmesi oluşabilir. Ancak çoğunlukla sinirin devamlılığı korunur. Bu tip yaralanmalar sadece sinir lezyonu olabileceği gibi (Erb paralizisi vb.), özellikle sinirlerin kemiklere çok yakın olduğu yerlerde (radial sinirin humerus ile yakınlığı gibi) ekstremitte kırıkları ile birlikte olabilir.

**2. Bıçak ve benzeri kesici cisimlerle olan sinir laserasyonu:** Diğer bir periferik sinir yaralanma tipidir. Bazı serilerde bu tip yaralanmaların periferik sinir yaralanmaları içinde %30 oranında olduğu bildirilmiştir (33). Bu yaralanma sinirin komplet olarak kesilmesine neden olabileceği gibi, çoğunlukla bir miktar sinir dokusu devamlılığını korur. Kolay yapılabildiğinden bir çok hayvan modelinde bu tip periferik sinir yaralanması çalışmaları yapılmış, sinir dejenerasyon ve rejenerasyonu bu tip yaralanmalarda incelenmiştir.

**3. Kompresyon yaralanmaları:** Bu grup yaralanmalar, sinirde ayrılma ve kopmanın olmadığı sinirin kompresyonunun olduğu durumlardır. Cumartesi gecesi paralizisi ve tuzak nöropatiler bu yaralanmalara örneklerdir. Motor ve duyu fonksiyonlarında total kayıp olabilir, ancak sinirin devamlılığı korunduğundan bu

nörolojik defisitleri açıklayacak fizyopatolojik mekanizmalar net değildir. Bu tür yaralanmalarda iki patolojik mekanizmanın rol aldığı bilinmektedir: mekanik kompresyon ve iskemi. Kompresyon yaralanmalarında hangi mekanizmanın daha güçlü olduğunu tahmin etmek zordur. 1930 yılında yapılan bir çalışmada, kısa süreli turnike uygulanmasında oluşan iskemi ve kompresyonun fizyolojik sinir iletiminde bloğa neden olmadığı gösterilmiştir (34). Tam olarak kısa süreli iskeminin bloğa neden olmadığı belirlenmiştir, fakat uzun miyelinli liflerin kısa miyelinsiz liflere göre iskemiden daha fazla etkilendiği görülmüştür. Bu tür yaralanmalarda histolojik değişiklikler ya hiç görülmez ya da çok az görülür. Oluşabilecek değişiklikler, iskemi yaklaşık 8 saatten daha uzun sürmezse çoğunlukla eski haline döner. Haftalarca fonksiyon kaybının olduğu ve tamamen düzelmeyen çoğunlukla mümkün olmadığı cumartesi gecesi paralizisi gibi, birçok kompresyon yaralanmalı ciddi vakada primer mekanizma olarak mekanik deformasyon bilinir. Hava ile şişirilebilir manşetlerle yapılan deneysel çalışmalar, sinirdeki dejeneratif değişikliklerin komprese edilen alanın kenarlarında olduğunu, iskeminin en ciddi olduğu manşetin merkezinde ise oluşmadığını göstermiştir (35). Sinirde yapılan yapısal olmayan bir çalışma, manşetin altındaki miyelin ve aksoplazmanın kompresyonun en fazla olduğu manşet kenarlarına doğru itildiğini göstermiştir. Bu bulgu bu tür kompresyon yaralanmalardan mekanik deformasyonun sorumlu olduğunu destekler (36).

Bunun dışında sinir yaralanmaları ezilme, travma, kimyasal irritasyon, yanıklar veya ateşli silah yaralanmasına bağlı oluşabilir.

Periferik sinir yaralanmalarında, ilk kez 1941 yılında Cohen tarafından önerilen ve 1943 yılında Seddon tarafından bildirilen nöropraksi, aksonotimezis ve nörotimezis tarzındaki üçlü ve basit sınıflama yaygın şekilde kabul görmüştür (37). Bu sınıflamaya ek olarak Sunderland 5 dereceden oluşan bir sınıflamayı gündeme getirmiştir. Her iki sınıflama da periferik sinir anatomisi (sinir ve destek doku) üzerine kurulmuştur.

Periferik sinir tamiri sonucu iyileşmenin zamanı ve başarısı yaralanmanın derecesine bağlıdır. Klinik olarak kullanılabilir hasar derecelendirme sistemi, sinir

yaralanması sonrası sinirde gelişen mikroskopik değişiklikler ve hastanın kliniği ile ilişkilidir. Seddon sinir hasarını, şiddetine göre üç kategoriye ayırmıştır (37). Bunlar:

**1. Nöropraksi:** Hafif hasar tipidir. Sinir devamlılığında kesilme yoktur. Tuzak nöropatilerinde görülen hasar tipidir. Kısa süreli fonksiyon kaybı olur. Çok zor tespit edilebilen segmental demiyelizasyon gibi miyelin yapılarıdaki değişikliklere rağmen, bu tip hasarlanmada semptomların geçici olma nedeni yaralanma yerinde lokal olarak iletiminin kesintiye uğramasından kaynaklanır. Hasar yerinin proksimal ve distalinde iletim normaldir.

**2. Aksonotomezis:** Sinir çevresindeki mezenşimal yapılar olan perinörium ve epinörium korunarak, sinirin akson ve çevresindeki miyelin kılıfta komplet kesilme ile birlikte olan hasardır. Akson ve miyelinde yaralanma noktasının distalinde oluşan Wallerian dejenerasyon komplet denervasyona neden olur. Bu tip yaralanmanın kronik kompresyon, akut ezilme ve esneme gibi sayısız nedeni vardır. Bu tür hasarlanmada iyileşme oranları yüksektir, çünkü sinir çevresindeki hasarlanmamış mezenşimal dokular bir kafes görevi görerek, hedef organın reinnervasyonu için aksonların filizlenmesine kılavuzluk eder. Aksonal filizler endonöral tüpler boyunca günde 1-2 mm olacak şekilde yenilenirler.

**3. Nörotomezis:** Kopmuş sinirleri içerir. Bu hasarlanmada fonksiyonlarda tam kayıp vardır ve cerrahi müdahale olmaksızın iyileşme söz konusu değildir. Çünkü aksonların yeniden uzaması için kılavuzluk edecek mezenşimal doku kaybı olmuş ve skar dokusu oluşmuştur.

1951 yılında Sunderland periferik sinir yaralanmalarını beş derecede değerlendiren yeni bir sınıflandırma önermiştir (Şekil-4) (38).

**1. derece hasar (Nöropraksi):** Bu tip hasarda, sinir dokusunun bütünlüğü devam etmektedir. Travma alanındaki sinir segmentinde iletim kaybı söz konusudur ve aksonlar, sinir kılıfı yapıları intaktır. Sadece elektrofizyolojik olarak tespit edilebilen bu iletim bloğu lezyon alanında sınırlıdır ve distalde iletim normaldir.

Duyu ve motor kayıp mevcut olup kayıp motor fonksiyonlarda daha fazladır. Klinikte turnike kullanımı gibi lokal basınç yaratan durumlar ve kompresyon nöropatilerin erken dönemlerinde ortaya çıkan sinir hasarı bu grupta incelenmektedir. 6-8 hafta içinde aksonal iletim tam olarak düzelir.

**2. derece hasar (Aksonotimezis):** Akson ve miyelin hasar görmüş, endonöral ve destek doku kılıfları korunmuştur. Lezyon distalinde Wallerian dejenerasyon görülür, ek olarak motor, duyu, otonom innervasyon bozulmuştur. Endonöral kılıfların korunması nedeniyle iyi düzeyde iyileşme beklenir.

**3. derece hasar:** Aksonlar, Endonörium ve Schwann hücrelerinin harabiyeti vardır. Epinörium ve perinörium sağlamdır. Fasiküler yapı korunmuştur. Distalde Wallerian dejenerasyon izlenir. Endonörium ve Schwann hücre kılıfının hasarlı olması nedeniyle iyileşme tam olmaz. Bu tip hasar kronik kompresyon, akut ezilme ya da gerilme sonucunda oluşur. Elektrofizyolojik inceleme tam denervasyon gösterir. Bu tip hasarda fonksiyonel iyileşme tam olmayabilir. Yeniden büyüyen sinir liflerinin büyüme hızı ikinci derecede (1–2 mm/ gün) olduğu gibidir. Ancak skar dokusu boyunca ilerlemek zorunda olduğundan büyüme hızı buna bağlı olarak daha yavaş olmaktadır. Bu tür yaralanmalar Seddon sınıflandırmasındaki aksonotimezis ve nörotimezisin karışımı olarak da kabul edilebilir.

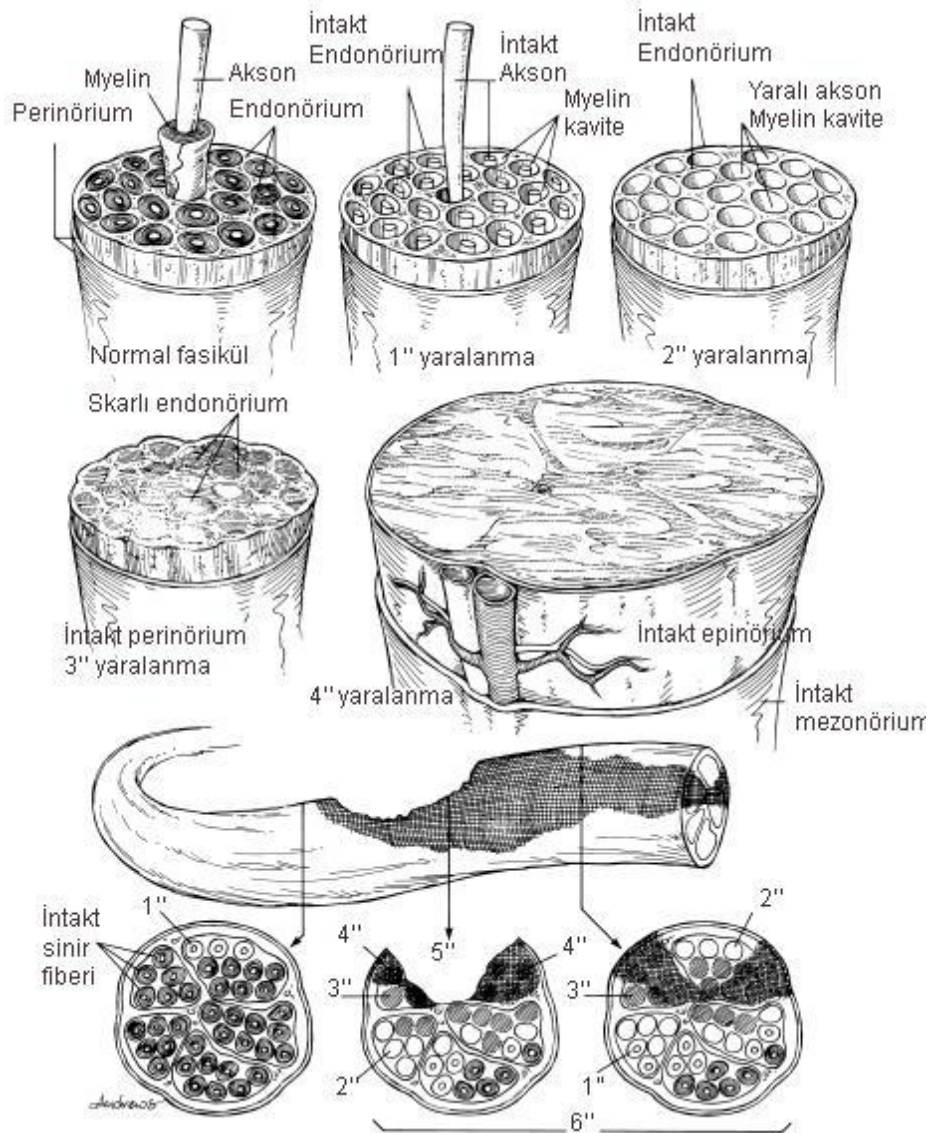
**4. derece hasar:** Epinörium sağlamdır diğer tüm tabakaların devamlılığı bozulmuştur. Sinir gövdesinin bütünlüğü fiziksel olarak devam etmekle birlikte skar dokusunun yarattığı blok rejenerasyonu engeller ve yaralanma seviyesinde nöroma (solid skar dokusu) oluşumuna neden olur. Spontan iyileşme görülebilmese rağmen tedavi uygulanmadığında fonksiyonel dönüş nadirdir. Bu travmada mevcut segmentin cerrahi olarak eksizyonu ve uygun olarak sinir onarımı gerekmektedir.

**5. derece hasar:** Sinirin tamamı kopmuştur. Proksimal uçta rejenerasyonun aşırı büyümesi sonucu nöroma formasyonu oluşur. Bazen birkaç akson distale ulaşabilir ancak; bu durum fonksiyonel bir iyileşmeyle beraber değildir. Bu tür



lezyonlar sıklıkla kesi, ciddi çekilme-bası sonucu meydana gelirler. Cerrahi tedavi olmaksızın iyileşmesi mümkün değildir.

**6. derece hasar:** Mackinnon bu sınıflandırmaya 6. derece sinir hasarı adı altında bir ekleme yapmıştır (39). Sinir boyunca değişik seviyelerde ve farklı derecelerde sinir hasarlarının bir arada bulunması söz konusudur. Özellikle ezici tipte yaralanmalarda ortaya çıkmaktadır. Tedavisinde intranöral nöroliz ile sağlam fasiküllere zarar vermeden 4. ve 5. derecede hasarlı fasiküllerin cerrahi onarımı gerekmektedir (38).



Şekil-4: Sunderland sinir hasarının sınıflandırılması. (Sunderland S: Nerve Injuries and Their Repair: A Critical Appraisal. Edinburgh, Churchill Living, 1991)

## PERİFERİK SİNİR CERRAHİSİ:

İlk periferik sinir tanımını Hipokrat yapmıştır (M.Ö. 460–370). Gallen (130–200) bazı sinirlerin kesilmesinin duyu kaybına ve bazılarının ise kas gücü kaybına sebep olduğunu, ayrıca laringeal sinirin, sesi kontrol ettiğini tanımlamış ve periferik sinir rejenerasyonunun olmadığını düşünmüştür. Kayıtlara göre ilk sinir tamirini Rhazes (850–932) ve İbn-i Sina (980–1037) yapmıştır (26). 1847 yılında sinir onarımı hakkındaki ilk bildiriye Paget yapmıştır. Sinir greftlerini ise Vulpian 1810 yılında tarif etmiştir. 1850 yılında Gustus Wallerin, Wallerian dejenerasyonu açıklaması sinir patofizyolojisinin anlaşılmasında dönüm noktası olmuştur (40).

Hueter ilk olarak 1873'te epinöral dikiş tekniği ile uç-uca koaptasyonu sağlamıştır ve bu teknik uzun yıllar boyunca standart onarım yöntemi olmuştur. Langley ve Hashimoto tarafından, 1917'de önerilen perinöral ve fasiküler onarım yöntemlerinin ilk denemeleri başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Bu durum intranöral topografyanın daha iyi anlaşılmasına kadar devam etmiştir (41, 42). Günümüzde epinöral onarım mı, fasiküler onarım mı daha başarılıdır tartışması hala netlik kazanmamıştır. Prospektif çalışmalar yeterli sayıda değildir. Epinöral onarım ile fasiküler onarım arasında anlamlı fark bulunamadığını belirten çalışmalar mevcuttur (43). İntraoperatif elektrofizyolojik yöntemlerle fasiküler oryantasyonu başarılı olarak sağlayan bir grup %92 doğrulukla fasiküller onarım yapılabildiğini ve %78 oranında motor fonksiyon kazanımı elde edebildiklerini ifade etmiştir (44). Bazı araştırmacılar intraoperatif olarak fasikül oryantasyonu sağlanabildiği takdirde fasiküler onarımın tercih edilmesi gerektiği belirtilmiştir (45, 46). Fasiküller arası oryantasyonu sağlamada intraoperatif olarak kullanılacak elektrofizyolojik yöntemlerin yanında immünohistokimyasal metodlar da mevcuttur (46, 47). Fasiküler onarımın tartışılan dezavantajları fazla dikiş kullanımına bağlı olarak daha fazla skar dokusu oluşturması, operasyon süresini uzatması ve yöntemin teknik olarak daha zor olmasıdır (41, 42, 48). Dikişsiz koaptasyon amacı ile lazer kullanımına ilişkin birçok deneysel çalışma mevcuttur (49, 50). Bir diğer çalışmada ise lazer uygulamalarındaki fazla ısının periferik termal hasar yarattığı ortaya konulmuştur (51). Narakas, fibrin glue kullanarak yaptığı brakial pleksus onarımları klasik dikiş tekniklerine oranla başarılı olduğu bildirilmiştir (52).

Hangi yöntem kullanılırsa kullanılsın onarım alanında skar gelişmektedir ve onarımın başarısını olumsuz yönde etkilemektedir. Epinöral skar oluşumu dikiş hattında aksonal büyümeyi engelleyen mekanik bir bariyer etkisi oluştururken, ektranöral skar oluşumu ise sinirlerin komşu dokulara yapışmasına neden olarak sinirin hareket kabiliyetini azaltmakta, sinirin vasküler pedikülünde vazospazma ve traksiyona bağlı yaralanmalara neden olmaktadır. Böylece sinirde iskemik değişiklikler ve geri dönüşümsüz hasarlanmalar oluşmaktadır. Endonörium ve perinöriumda fibroblast aktivitesi sonucu kollajen sentezi olmaktadır. Yeni oluşan endonöral kollajen Schwann hücre bazal laminasının dışındadır ve endonöral tüp kalınlığında artışa neden olur. Eğer reinnervasyon uzarsa kollajen daha yoğun bir hal alır ve endonöral tüp daralır. Skar dokusu oluşumu yara iyileşmesinin bir sürecidir (53, 54). Bu nedenle sinir onarımlarının başarısı erken dönemde onarımlarda daha yüksektir. Geciken onarımla birlikte son organ denervasyonu da geç yapılan onarımların başarısını düşürmektedir.

Aksonların rejenerasyon hızı türlere bağlı olarak değişir. Kemirgenlerde 2- 3,5 mm/gün iken insanlarda 1-2 mm/gün'dür. Geri dönüşümsüz sinir hasarını engellemek, aksonal rejenerasyonu arttırmak ve yapışıklıkları önlemek amacıyla pek çok yöntem ve madde kullanılmıştır. Onarım tekniklerinin gelişmesi, yapışıklık oluşumunu azaltabilse de tamamen ortadan kaldıramamıştır (55).

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

- Preoperatif dönemde, motor ve duyu muayene sonuçlarının sayısal veriler olarak kaydedilmesi
- Uygun mikroskop ve mikrocerrahi araç gereçlerinin kullanımı
- Yaralanan uçların iyileşmeye izin verecek şekilde yeterli debridmanın yapılması
- Gerim olmaksızın onarım yapılması
- Mümkün ise primer onarım yapılması
- Gerimi azaltmak için postüral manevralar kullanılmaması. Bu manevralar dikiş hattında skar depozisyonu olarak geri dönecektir
- İleri derece yaralanmalarda onarımın ertelenmesi

- Güvenlik sınırları dahilinde postoperatif erken hareket ile sinirin kayma hareketi yapması. Bu şekilde erken dönem yapışıklıkları ve buna bağlı sekonder traksiyonlar önlenir
- Yaralanma bölgesinde 2,5 cm den fazla defekt var ise veya gerimsiz onarım mümkün olmayacaksa sinir greftleri kullanılması önerilmektedir (56).

### **SİNİR ONARIMINDA ZAMANLAMA:**

Sinirde meydana gelen bir hasar sonrası sinir tamirinde zamanlama sinir hücresi içindeki metabolik değişikliklere göre belirlenmektedir. Sinir hasarı sonrası sinir hücresi içinde optimal metabolik potansiyelin iki haftadan üç haftaya kadar uzadığı tahmin edilmektedir. Bununla beraber deneysel ve klinik çalışmalar primer gecikmiş onarımın, primer erken onarıma göre avantajlı olduğunu gösterememiştir (53).

Başka bir çalışma periferik sinirde meydana gelen bir kesi sonrası rejenerasyon üzerine en iyi sonuçların 1. ve 3. gün tamir edilen sıçanlarda görüldüğünü göstermiştir. 1. gün suture edilen sıçanlarda epinöral skar dokusunun, 3. gün suture edilen gruba göre daha az olduğu görülmüştür. 3. gün suture edilen grupta, kesiyeye uğratılan sinir etrafında olan adezyon nedeniyle siniri disseke edip, taze uçların bulunması esnasında mikroskop altında diseksiyon yapılmasına rağmen sinirin etkilendiği düşünülmektedir. Yapılan manüplasyonlar sonucu zaten var olan inflamatuvar yanıtın tekrar tetiklenerek, skar formasyonunun 1. gün suture grubuna göre 3. gün suture grubunda daha fazla geliştiği saptanmıştır. 1. ve 3. gün gruplar karşılaştırıldığında 1. gün suture gruplarında daha iyi sonuçlar bulunmuş ama bununla birlikte aksonal iyileşme için kritik kabul edilen ilk 3 günlük süreçte aksonal organizasyon, lif çapı ve akson sayısı yönünden istatistiksel olarak fark olmadığı saptanmıştır. 10. günden sonra yapılan suture sinirde gerginlik, hem tamir bölgesinde hem de sinir gövdesinde dolaşım bozukluğuna yol açmaktadır (54).

## **SİNİR İYİLEŞMESİNDE FİBROZİS:**

Fazla miktarda matriks komponentlerinin depolanmasıyla karakterize, normal organ dokusunun yerini aldığından organ fonksiyonunu tehlikeye sokan bir süreçtir. Doku fibrozisi hemen her organı etkileyebilse de cilt, akciğer, karaciğer, böbrek gibi inflamasyonun sık olduğu organları seçer (57). İnflamasyon, lenfosit, monosit, makrofaj gibi infiltre eden inflamatuvar hücreler tarafından gerçekleşir. İnflamatuvar hücre infiltrasyonunu, başlıca fibroblastlar olmak üzere fazla miktarda ekstraselüler matriks sentezleyebilen, matriks üreten hücrelerin proliferasyonu ve aktivasyonu izler. Skar oluşumu patogenezinde sitokinlerin karar verici rolü vardır. İnsan fetusları gestasyonun erken döneminde skar olmaksızın iyileşirken gelişimin geç dönemlerinde skar oluşumu görülmeye başlar (58). Skarsız fetal yara iyileşmesi ile erişkin skar oluşumu arasındaki anatomik fark matriks organizasyonuna bağlıdır. Fetal yaralarda normal cilt dokusuna benzeyen, fibroblastları organize olmuş matriks depozisyonu görülür. Erişkin yaralarında ise disorganize kollajen liflerin depozisyonu karakteristiktir (59).

Periferik sinirin herhangi bir nedenle sıkışması ve mekanik irritasyonu sonucu ortaya lokalize bir inflamatuvar yanıt ortaya çıkar ve epinöral fibrozise neden olur. Mevcut sinir yapısının bulunduğu bölgede basıya maruz kalmasına sebep olur. Sinirin fibröz veya osseofibröz tünelden geçtiği veya seyri sırasında fibröz veya müsküler band ile çapraz geçtiği noktalarda sinir değişiklikleri ortaya çıkar. Sıkışma noktasında endojen veya eksojen olsun bir kez travma geçirildiğinde anatomik yapı mekanik irritasyon tekrarına ve inflamatuvar yanıt ve ağrı gelişimine yol açar. Hasar doğrudan sinir yapısında veya sinir güdüğünü besleyen intrinsek kanlanmada ortaya çıkabilir (60).

Periferik sinir yaralanmasında cerrahi tedavisinde ve postoperatif adezyonlar ile epinöral skar oluşumuyla ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda amaçlardan önemli basamağı periferik sinir cerrahisi sonrası oluşacak epinöral skar oluşumunu azaltmak oluşturmaktadır. Fakat endonöral skar oluşumunu önlemeye yönelik fazla çalışma bulunmamaktadır. Epinöral skar oluşumunu önlemek için yapılan çalışmalarda amaç, skar dokusu oluşumunu engellemek, cerrahi tedavinin başarı şansını artırmak ve sonraki cerrahi tedavi gerekliliğini ve komplikasyonlarını azaltmaktır. Epinöral skar dokusu oluşumunun azaltılması fonksiyonel bozulmaların

önlenmesi için olduğu kadar postoperatif dönemde gerekli revizyon cerrahisinin yol açacağı iyatrojenik yaralanmayı da azaltacaktır.

Skar dokusu periferik sinir cerrahisinin önlenemez bir sonucudur ve ağrıya, duyuşsal ve motor defisite neden olur (4,61). Periferik sinir cerrahisi veya travmasından sonra oluşacak epinöral skar dokusunun oluşumunu önlemek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Otolog bariyer olarak ven veya pedikül flep, subkutanöz yağ dokusu içeren serbest flep, fascia veya kas, siniri sarmak için kullanılmıştır. Semirijid silikon cuff gibi bazı yabancı elastik materyaller veya sistemik olarak kullanılan cis- hidroksiprolin gibi farmakolojik ajanlar deneysel olarak araştırılmıştır. Topikal ajan olarak kullanılan karbonhidrat polimer jeli periferik cerrahi ve lokal travma sonrası epinöral skarlaşmayı azalttığı gösterilmiştir (62-65).

Periferik sinir cerrahisinde skar oluşumunu azaltmak amacıyla kullanılacak olan ajanın, tercih edilmesi için; kolay uygulanabilir olması, kullanıldığı miktarda dokulara toksik olmaması, yara iyileşme sürecini ve periferik sinir rejenerasyonunu olumsuz etkilememesi, etkisinin bölgesel olması gibi özelliklere sahip olması gerekmektedir (55).

Özgenel tarafından yapılan çalışmada, sıçanlara siyatik sinir onarımları sonrasında sinir etrafına topikal olarak hyalüronik asit ve hyalüronik asit ile beraber insan amniyon sıvısı uygulanmasıyla epinöral fibrozisin azaldığı ve aksonal rejenerasyonun arttığı gösterilmiştir (56).

Başka bir çalışmada sıçanlarda yapılan siyatik sinir onarımı sonrası ADCON T/N jel ve aprotinin maddelerinin topikal olarak uygulanması ile ektranöral skar dokusu oluşumunun azaldığı bildirilmiştir (66).

## **RADYOTERAPİ:**

Radyasyon dünyanın başlangıcından beri var olmasına rağmen insanlığın radyasyonu keşfetmesi ve tanı-tedavi aracı anlamında olarak kullanması binlerce yıl almıştır (67).

X-ışını ilk olarak 1895'te Alman fizikçi Wilhelm Conrad Roentgen tarafından fotoğraf filminde renk değişmesine neden olan yeni bir ışın çeşidi olarak tarif edilmiştir (68). Aynı tarihte Herr Kolliker X-ışını makinesinin önüne elini koyup ışınlayarak elin kemik yapısını gösterdi ve radyasyonun tanısallık amaçlı kullanımının öncüsü oldu. X-Ray'in tedavi amaçlı ilk kez kullanımı Profesör Freund tarafından Viyana'da hairy mol tedavisinde denendi. 1898'de Curiler radyoaktif maddelerin ilki olan radyumu buldu. 1900'lerin başında Bergonie ve Tribondeu'nun yaptığı çalışmalar yüksek mitotik aktiviteye ve kötü diferensiyasyona sahip dokuların radyasyona daha hassas olduğunu ortaya koydu ve günümüzdeki Radyasyon Onkolojisi'nin temelini oluşturdu (69).

1922'de Paris Uluslararası Onkoloji kongresinde Medikal Onkoloji ayrı bir bilim dalı olarak ilan edildi. Aynı kongrede Cautard ve Hautant larinks kanserinde radyoterapinin ciddi bir sekel oluşturmadan kullanılabileceğini gösterdi. 1934'te Cautard radyasyon tedavisinde fraksiyonasyon şemalarını ortaya koydu (70).

Radyasyon ve hücre arasında bir dizi moleküler olaylar sonucunda hücre bölünmesi inhibe olur. Radyasyon özellikle bölünen hücreler üzerine letal etkilidir. Radyasyon hücre üzerine doğrudan ve dolaylı yoldan etki eder. Doğrudan etki ile DNA üzerindeki moleküller zarar görür. Radyasyon ayrıca ortamda bulunan su molekülü ile etkileşime girerek serbest radikaller oluşturur. Dolaylı etki ile, serbest radikaller ortamdaki DNA üzerine etki eder. DNA'nın tek veya çift zincirlerinde kırıklar oluşur (71).

Radyosensitivite, hücrelerin iyonize radyasyona olan yanıtını gösterir. Hücresel yanıt, klonojen hücrelerin başlangıçtaki popülasyonunun %37'sine düşürmek için gerekli olan doz miktarını (Do) tanımlar. Belli bir oranda hücre ölümü için geçerli olan doz ne kadar azsa tümör o kadar radyosensitiftir. Memeli hücreleri en çok mitotik faz ve daha az oranda G2 fazında radyosensitiftir. Radyosensitivite, hücreler G1 ve S fazına ilerledikçe azalır. Geç S fazında minimuma iner. Değişik

tümörlerde lokal kontrolü sağlamak için uygulanması gereken doz farklıdır. Tümör letal dozu ( TCD95 ) %95 oranında lokal kontrolü ( kür ) sağlayan dozdur (71).

Radyasyonun organ fonksiyonu üzerine olan etkileri, hücrelerin çoğalma hızına bağlıdır. Proliferasyon hızı yüksek olan hücreler radyosensitif, düşük olanlar radyorezistandır. (72).

Radyasyon miktarı, uygulandığı dokunun ağırlık başına absorbe ettiği enerjiye göre belirlenir. Buna göre 1 kg dokuya 1 joule enerji veren radyasyon miktarı 1 Gray (Gy)'dir (73, 74).

Gray klinikte genelde rad olarak geçer. 1 Gy=1 rad ; 1 rad (Gy) =100 cGy tır.

Yüksek doz ve düşük doz RT için ulaşabilinen literatürlerde net bir tanımlama olmamasına rağmen palyatif tedavide toplam doz 15 Gy'den düşüktür (düşük doz RT). Kanserli hastalarda palyatif olarak ya da kanser dışı hastalıklar tedavisinde kullanılır. Yüksek doz RT ise kanser hastalarına küratif tedavide toplam doz 15 Gy'den yüksek olarak verilir (75).

Radyoterapinin düşük dozda uygulanmasının fibroblastik aktiviteyi azaltarak fibrozisi azalttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (5-14). Tam tersine yüksek dozda uygulanan RT 'nin sinir dokuda fibrosis ve skar dokusunu arttırarak olumsuz etkilerinin olduğu da gösterilmiştir. (15-17).

### **VEGF (VASKÜLER ENDOTEL BÜYÜME FAKTÖRÜ):**

1983 yılında Tümör Vasküler Permeabilite Faktörü (VPF) (76) olarak isimlendirilen VEGF, 1989 yılında keşfedilmiş ve tam olarak tanımlanmıştır (77). Yedi adet izoformu bulunan VEGF ailesinin en aktif üyesi VEGF-A (Human VEGF)dır. Diğer izoformlardan VEGF-B'nin işlevi henüz bilinmemekte, VEGF-C ve VEGF-D ise asıl olarak lenfanjiyogenezde rol almaktadır (78). VEGF-E, PIGF (plasenta büyüme faktörü) ve VEGF-F ( svVEGF) (yılan zehri) izoformları her biri ayrı genlerce kodlanmıştır ve ailenin diğer üyelerindedir. Bunların arasında VEGF-A, anjiyogenez ve endotel hücrelerinin gelişiminde esas etkili olan faktördür. İnsanda

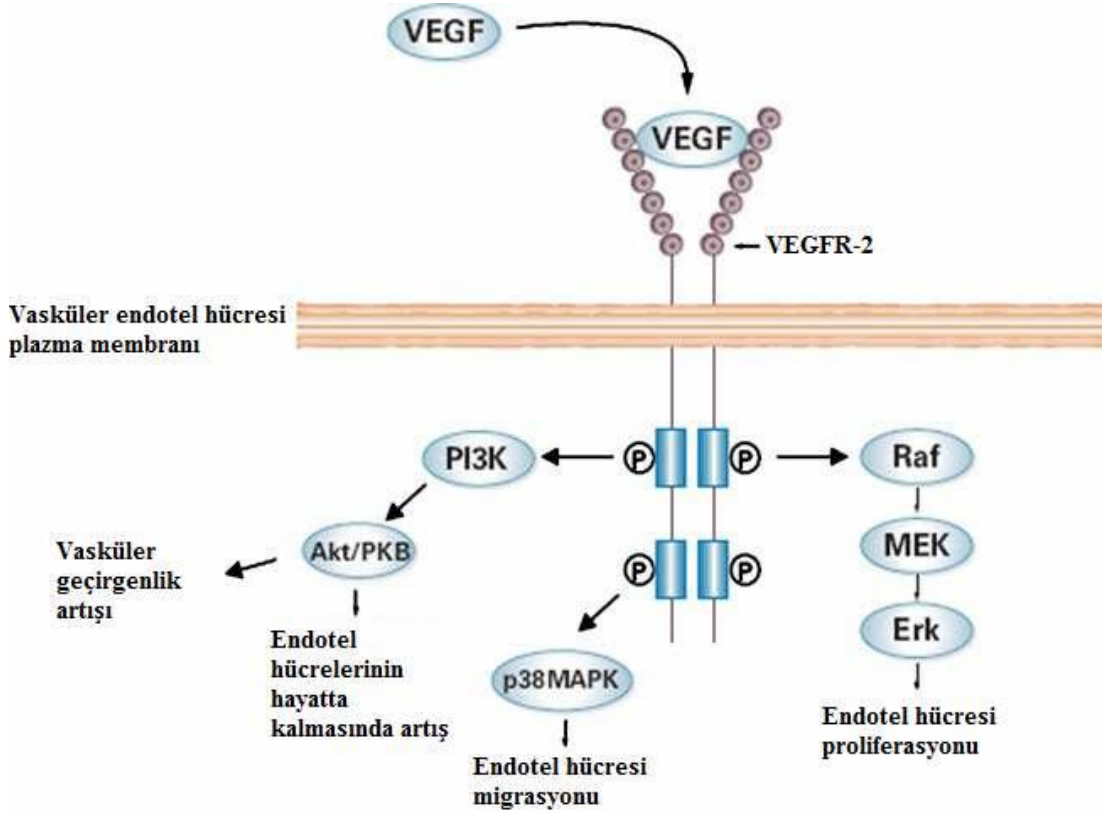


VEGF geni, alternatif bölünme vasıtası ile biyolojik olarak en yüksek aktiviteye sahip olan 165 aminoasitlik VEGF peptid dizisini sentezler (79). VEGF vücutta endotel hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar, düz kas hücreleri, osteoblastlar ve hipertrofik kondrositler tarafından üretilir (80,81). Diğer peptid yapılı büyüme faktörlerine benzer şekilde etkisini, hedef hücrelerdeki yüzey reseptörlerine (VEGFR-1 ve VEGFR-2) bağlanarak gösterir (79).

VEGF 34-42kDa protein, vasküler permeabilite faktörüdür, 8 ekzon ve 7 introndan oluşan bir gen tarafından kodlanmaktadır.

Vücutta bir çok farklı hücre tarafından üretilen VEGF özellikle etkisini arter, ven, lenfatik damarların endoteli üzerinde gösterir in vitro ve in vivo anjiogenezde stimulan rol alabilir. Endotelial hücreler için invivo ve invitro sağ kalım faktörüdür ve bu özelliği ile hücreleri hipoksi, kemoterapi, radyoterapi gibi stres durumlarından korur (82).

Vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörleri diğer reseptörler gibi aminoasit içerirler ve tirozin kinaz reseptörleri ailesinin üyesidirler. Hücre içinde kalan ve tirozin kinaz etkinlik alanlarını içeren hücre içi bölüm ve hücre dışında kalan ligand bağlanma bölgeleri içeren hücre dışı bölümü vardır. Bu büyüme faktörü ailesinin endotel üzerinde etkin olabilmesi için kendileri için sentezlenmiş özgül reseptörlerine bağlanmaları gerekmektedir. VEGF reseptörleri özgül ligandına bağlandığında dimerizasyona uğrayarak aktifleşir. Aktif hale gelen VEGF reseptörleri hücre içerisinde sinyal iletisi sağlayan bazı proteinleri fosforile ederek ikincil habercilerin oluşmasına katkıda bulunarak, mesajın hücre içinde taşınmasına olanak sağlar(83, 84) (Şekil-5).



Şekil-5: VEGF'nin reseptör etkileşimi aracılığıyla oluşan etkileri. VEGF'nin çeşitli yollarlar üzerinden gerçekleştirdiği uyarılar ile, anjiyogenez için gerekli olan endotel hücre proliferasyonu ve migrasyonu ile birlikte yaşam oranında artış meydana gelir. (PI3K: Fosfoinozotid 3-kinaz; Akt/PKB: Protein kinaz B; p38MAPK: p38 mitojen ile aktive olan protein kinaz; MEK: mitojen ve ekstraselüler kinaz; Erk: Ekstraselüler düzenlenen kinaz)

## VEGF RESEPTÖRLERİ:

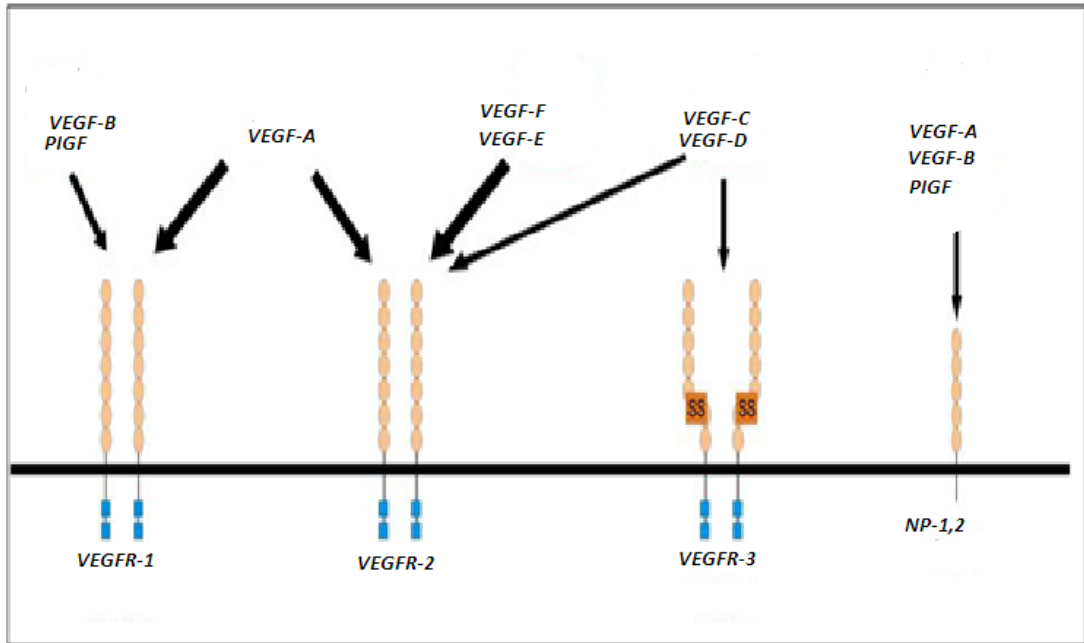
İlk bulunan reseptörler VEGF reseptör -1 ve VEGF reseptör-2 dir. Bunlar ilk olarak embriyogenezde sentezlenir.

**VEGFR-1:** hücre-hücre veya hücre- matrix etkileşimlerinin kontrolü ile doku mimarisinin belirlenmesinde ve vaskülogenezde önemli rol almaktadır (85). Bu reseptör VEGF-B, svVEGF ve PlGF2 nin etkilerine aracılık ederken, VEGF-A ise ya yanıtıcı olarak görev yapmakta yada sinyalizasyonu baskılayarak negatif bir etki oluşturmaktadır.

**VEGFR-2:** 200 – 230 kDa’luk yüksek affiniteli bir VEGF reseptörüdür (86). Mitoz, kemotaksis ve antiapoptik etkide rol alır. Ayrıca VEGF-C ve VEGF-D için de reseptör görevi yapabilmektedir. VEGFR-2 nin eksik veya bozuk ekspresyonunda organize kan damarlanmasının oluşmadığı görülmüştür. VEGFR-2 çoğunlukla endotelial hücreler ve dolaşımdaki kemik iliği kökenli endotelial progenitör hücreler tarafından eksprese edilir.

VEGFR-2 ; VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve VEGF-F etkilerine aracılık eder.

**VEGFR-3:** Lenf damarlarının gelişiminde rol alan VEGF-C ve VEGF-D nin bağlandığı reseptördür ve lenfanjiogenezde rol alır. Bazı yayınlarda VEGFR-3’e bağlanan VEGF-C ve VEGF-D seviyelerinin yükselmesinin meme kanseri ve malign melanom gibi bazı solid tümörlerde lenf bezi metastazı ile birliktelik gösterdiği belirtilmiştir (87, 88).



Şekil-6: VEGF ligandları ve ilgili reseptörleri (Byrne AM, Bouchier-Hayes DJ, Harmey JH. Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF). J Cell Mol Med. 2005;9(4):777-94)

VEGFR1-2-3 dışında plazmada serbest olarak dolaşan VEGFR'nin soluble (sVEGFR) halleri tesbit edilmiştir.

VEGFR-1'in çözünülebilir bir formu olan sVEGFR-1, VEGFR-1'in kompetatif inhibitörü olarak görev yapmaktadır. Dolaşımdaki VEGF bu reseptöre bağlandığında VEGFR-1 bağlanamamakta ve inaktive olarak fonksiyon gerçekleştirememektedir.

VEGFR-2'nin de çözünülebilir bir formu olarak bulunan sVEGFR-2 sVEGFR-1'e benzer şekilde anjiogenezi engelleyici rol almaktadır.

VEGF vasküler permeabilite artışının sağlanmasında bilinen en potent indükleyicilerden birisidir. Diğer fonksiyonları endotel hücre mitogenezini stimüle etmek, Akt- bağımlı yolakla endotel sağkalımını sağlamak, nitrik oksit salınımını uyararak hipotansiyona neden olmak, Von-Willebrand faktör ve prostosiklin (PGI2) salınımını uyarmak, endotel hücre migrasyonu için gerekli olan TPA (doku plasminojen aktivatör), ürokinaz plasminojen aktivatör, kollojenaz ve matrix metalloproteinazların salınımını stimüle etmek, embriyogenezde vaskülogenezde regülatör olarak görev yapmak, anjiogenezde ve eritropoietin salınımında rol almaktır (89, 90, 91).

VEGF-A ile artan mikrovasküler permeabilite sonucu pıhtılaşma protein içeriği yüksek olan plazma proteinleri ve fibrinojen damar dışına sızarak pıhtılaşma sistemini aktive eder.

VEGF 'nin potent bir şekilde anjiogenezi arttırdığı ve doku tamirini olumlu yönde etkilediğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Özellikle son yıllarda bu olumlu etkilerin sinir onarımı üzerinde de olduğunu gösteren çalışmalar yapılmaktadır (18-24, 92).

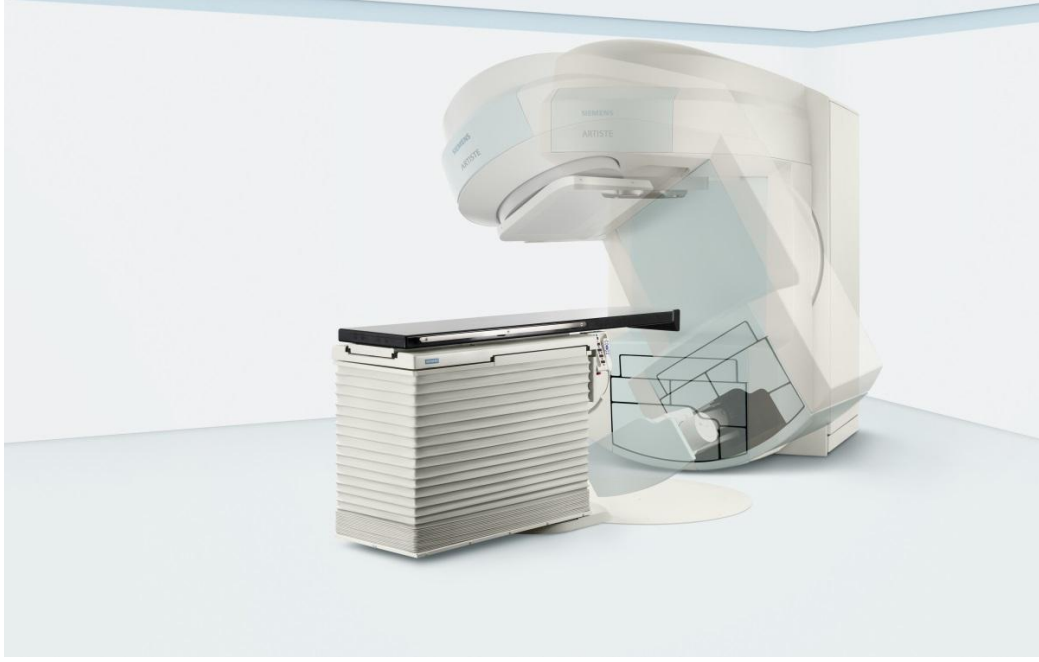
## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma 32 adet 250-300 gr ağırlığında erişkin erkek Wistar cinsi ratlar kullanıldı. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi (PAÜTF) Deney Hayvanları Etik Kurulu 15.01.2013 tarihli PAUHDEK-2013/003 numaralı onay alındı.

### ÇALIŞMANIN YAPILDIĞI BÖLÜMLER ve KULLANILAN CİHAZLAR

PAÜTF Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı: Bütün sıçanlar deney süresince standart laboratuvar yemi ve damıtık su ile beslendi. Deney süresince metabolik kafeslerde standart laboratuvar koşullarında (gece/gündüz= 12/12 saat, sıcaklık  $21\pm 2$  °C, nem oranı %50) yaşatıldı. Sinir koaptasyonu için SEILER marka 107 series model mikroskop, 10/0 Ethilon süturler (Ethicon, Norderstedt, Germany) ve mikrocerrahi aletler kullanıldı.

PAÜTF Radyasyon Onkoloji Anabilim Dalı: Ratların, radyoterapi planlaması ve ışınlama işlemleri PAÜTF Radyasyon Onkoloji Anabilim Dalı'nda SIEMENS marka Somatom Sensation Open Model Bilgisayarlı Tomografi, SIEMENS marka ARTISTE model lineer hızlandırıcı cihazı (şekil-7) ve ProwessPanther 5.10 Tedavi Planlama Sistemi kullanılmıştır.



Şekil -7: Siemens ARTISTE lineer hızlandırıcı cihazı

PAÜTF Tıbbi Fizyoloji Anabilim Dalı: Ratların siyatik sinir elektrofizyolojik incelemeleri PAÜTF Deneysel Hayvanlar Araştırma Laboratuvarı'nda Tıbbi Fizyoloji öğretim üyesi eşliğinde AD Instruments marka PowerLab/8SP model veri kayıt cihazı ile sinir ileti hızlarına bakıldı.

PAÜTF Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı: Ratların siyatik sinirlerinin koaptasyon hattının proksimal ve distalini içerecek şekilde alınan enblok parçalar toluidine mavisi ile boyanarak Nikon marka Eclipse E200 model ışık mikroskobu altında incelendi.

### **Gruplar:**

1.Grup: Ratların sağ siyatik sinirleri mikroskop altında diseke edilip tam kat kesildi ve mikrocerrahi yöntemle onarıldı. 6 hafta sonra sinir iyileşmesindeki sonuçlara bakıldı. (n=8)

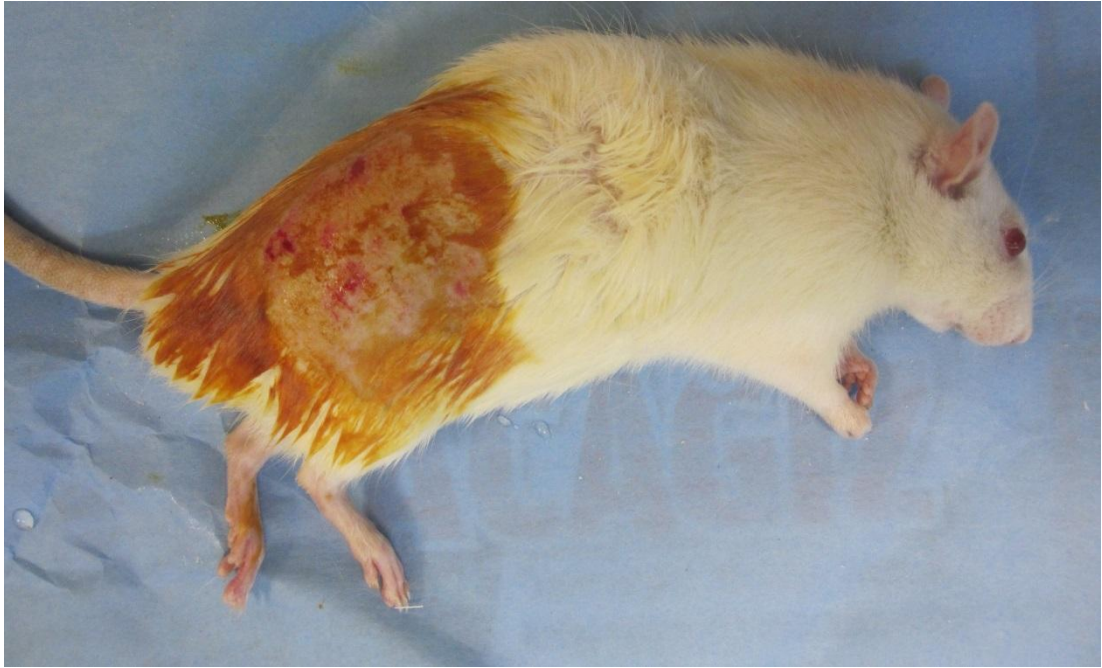
2.Grup : Ratların sağ siyatik sinirleri mikroskop altında diseke edilip tam kat kesildi ve mikrocerrahi yöntemle onarıldı. Operasyondan 24 saat sonra düşük dozda (700cGy) radyasyon verildi. 6 hafta sonra sinir iyileşmesindeki sonuçlara bakıldı. (n=8)

3.Grup: Ratların sağ siyatik sinirleri mikroskop altında diseke edilip tam kat kesildi ve mikrocerrahi yöntemle onarıldı. Ratlara operasyon sırasında koaptasyonun hemen ardından koaptasyon hattına 1 mikrogram insan kaynaklı 165 aminoasit (aa) li VEGF verildi. 6 hafta sonra sinir iyileşmesindeki sonuçlara bakıldı. (n=8)

4.Grup: Ratların sağ siyatik sinirleri mikroskop altında diseke edilip tam kat kesildi ve mikrocerrahi yöntemle onarıldı. Ratlara operasyon sırasında koaptasyonun hemen ardından koaptasyon hattına 1 mikrogram insan kaynaklı 165 aminoasit (aa) li VEGF verilip 24 saat sonra düşük dozda (700cGy) radyasyon verildi. 6 hafta sonra sinir iyileşmesindeki sonuçlara bakıldı. (n=8)

#### **Cerrahi Teknik:**

Operasyon PAÜTF Deney Hayvanları Araştırma Laboratuarı'nda yapıldı. Ratların anestezisinde intraperitoneal 90mg/kg Ketamin HCl (Ketalar) ve 10 mg/kg Ksilazin HCl (Alfazyne %2) kullanıldı. Operasyon alanı traş edildikten sonra operasyon sahası povidon iodine ile temizlendi (Resim-1).



Resim-1: Ratların operasyon sahasının traş edilip povidon iodine ile temizlenmesi

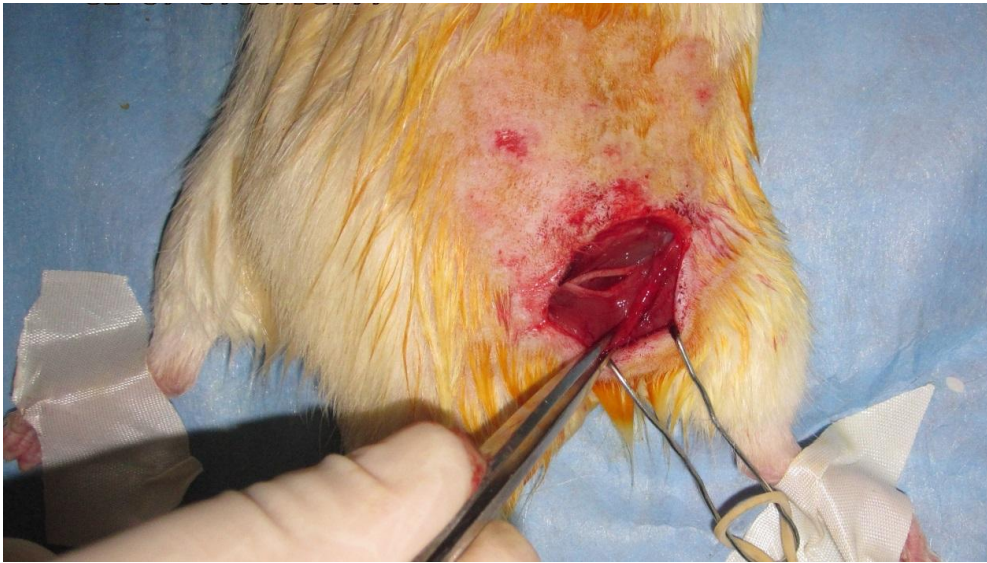


Ratlar prone pozisyonunda yatırıldı. Alt ekstremitelerinden tespit edildi. İnsizyon sağ alt ekstremitede kalça eklemi katlantısının 2-3 mm distalinden oblik olacak şekilde yapıldı. Cilt altına inilip biceps femoris kasına ulaşıldı (Resim-2).



Resim-2: Cilt altına inilip biceps femoris kasına ulaşılması

Biceps kası, femur posterior sınırı boyunca künt diseksiyonla açıldı ve siyatik sinire ulaşıldı (Resim-3).



Resim-3: Siyatik sinirin eksplorasyonu

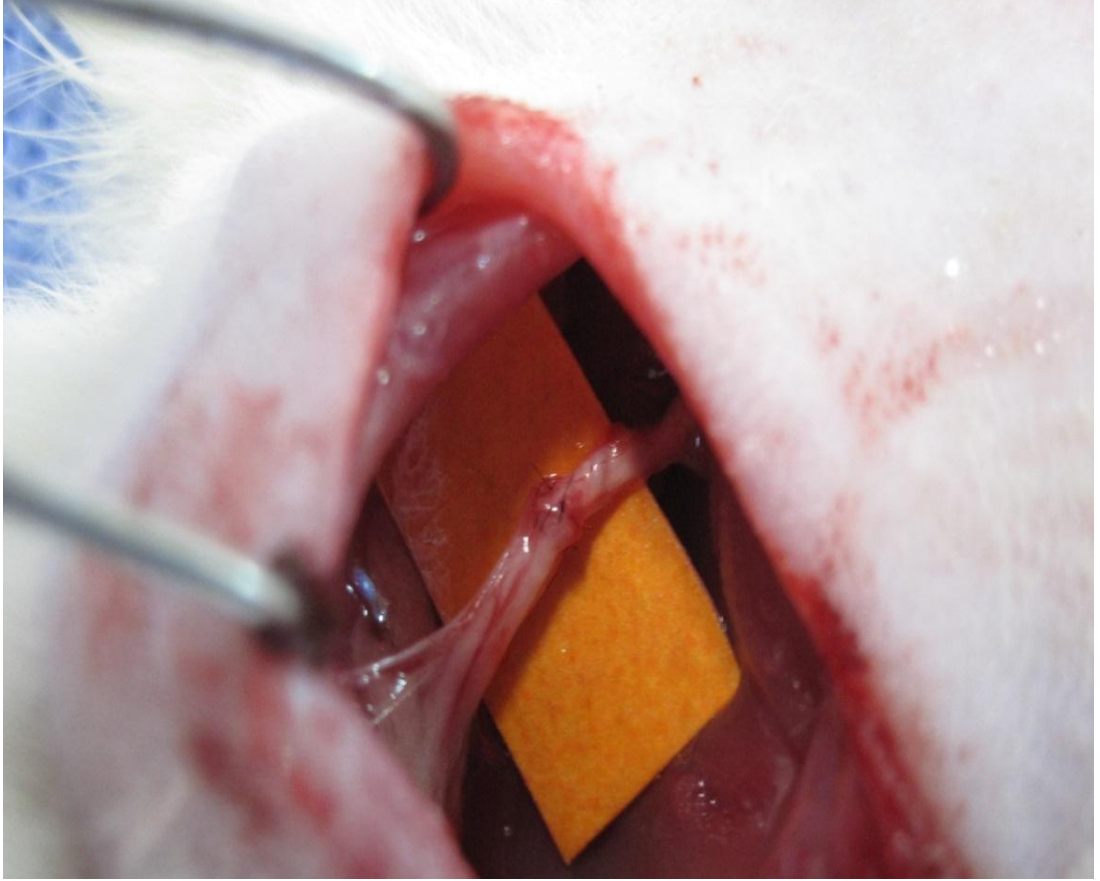


Siyatik sinir ince uçlu diseksiyon makası ile yaklaşık 2 cm çevre dokulardan diseke edildi. Sinirden ayrılan ve biceps femoris, semitendinöz ve semimembranöz kasların innervasyonunu sağlayan ince motor dal korundu. Daha sonra ince uçlu mikromakas yardımıyla sinir orta noktasından tam kat olarak kesildi (Resim-4).



Resim-4: Sinirin mikromakas ile tam kat kesilmesi

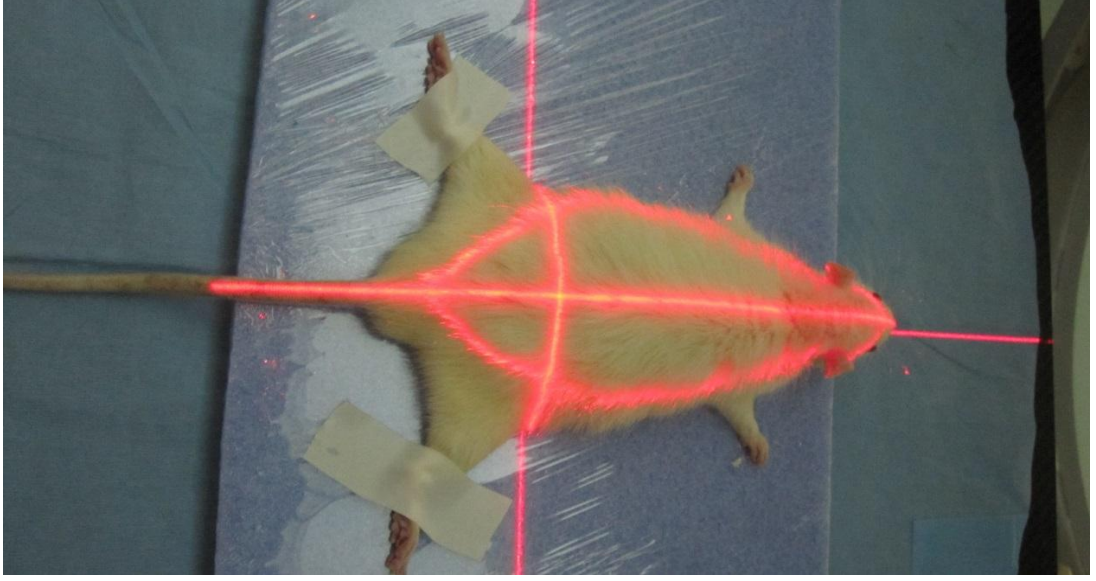
Daha sonra SEILER marka 107 series model mikroskop ile 10 kez büyütme altında 10/0 Ethilon suture (Ethicon, Norderstedt, Germany) kullanılarak geçilen dört adet primer olarak epinöral dikiş ile onarıldı (Resim-5). 1. Ve 2. gruba hemen cerrahi sonrasında onarım hattına 0.1 cc SF ile yıkama yapıldı. Ardından biceps kası 5/0 yuvarlak vicril suture (Surgisorb, Sutures Limited ,UK) ile primer onarıldı. Cilt 4/0 keskin ipek suture (Neosilk, Setpa Tıbbi Gereçler Ltd. Şti. , TR) ile devamlı olarak onarıldı. En son olarak povidon iodine ile pansuman yapılarak operasyon sona erdirildi.



Resim-5: 4 adet epinöral dikişle siyatik sinirin onarımı.

### **Radyoterapi Uygulaması:**

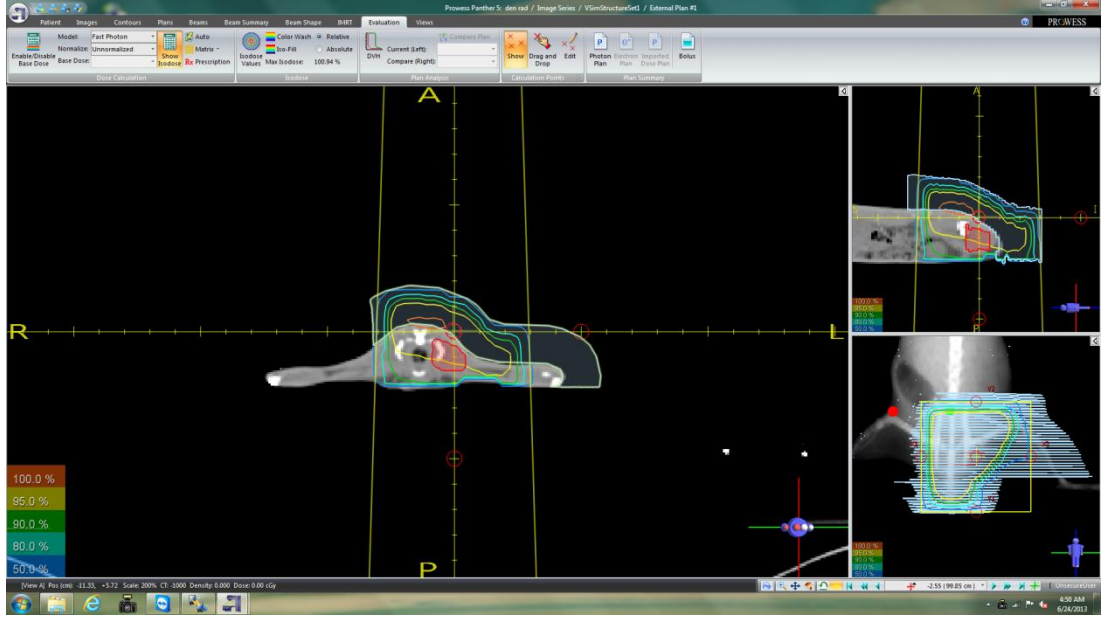
Işınlama yapılmadan önce ratların, Bilgisayarlı Tomografi Simülasyonu ile üç boyutlu görüntüleri elde edildi (Resim-6).



Resim-6: Ratlara RT planlanması için BT çekilirken

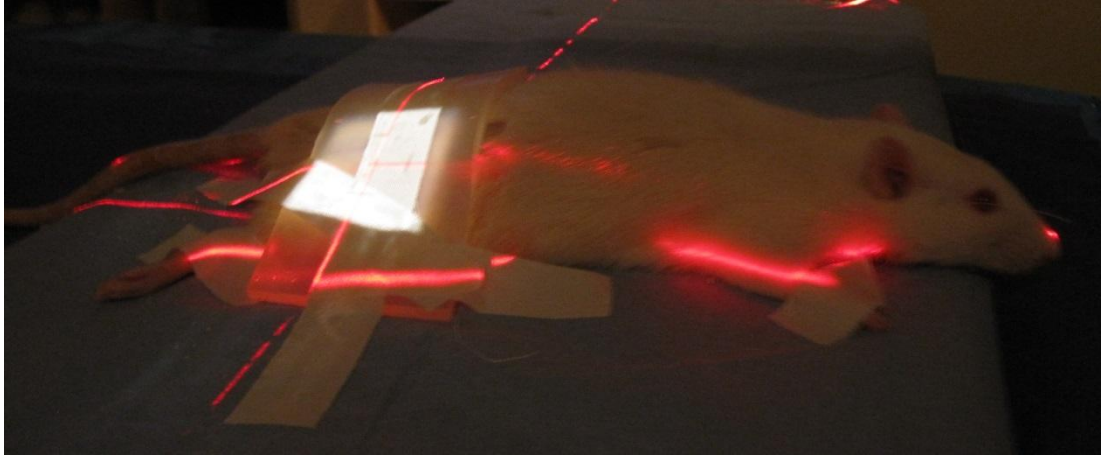
Tıbbi Radyofizik Uzmanı tarafından Tedavi Planlama Sistemi yardımıyla ratların siyatik sinir trasesine verilmek istenen 700 cGy düşük doz RT planlandı (Resim-7). 6 MV foton enerjisi ile istenen yerde uygun doz dağılımını sağlamak için 1,5 cm kalınlığında dokuya eşdeğer bolus materyali kullanıldı.

Benzer çalışmalardaki gibi RT'yi düşük doz 700 cGy olarak ve onarımdan 24 saat sonra uygulandı.



Resim-7: Tedavi planlama sisteminde 700cGy doz dalğıımı

RT, anestezi altında tek doz-700 cGy olarak sinir tam kat kesilmesi ve onarımından 24 saat sonra 2. ve 4. gruba uygulandı (Resim-8).

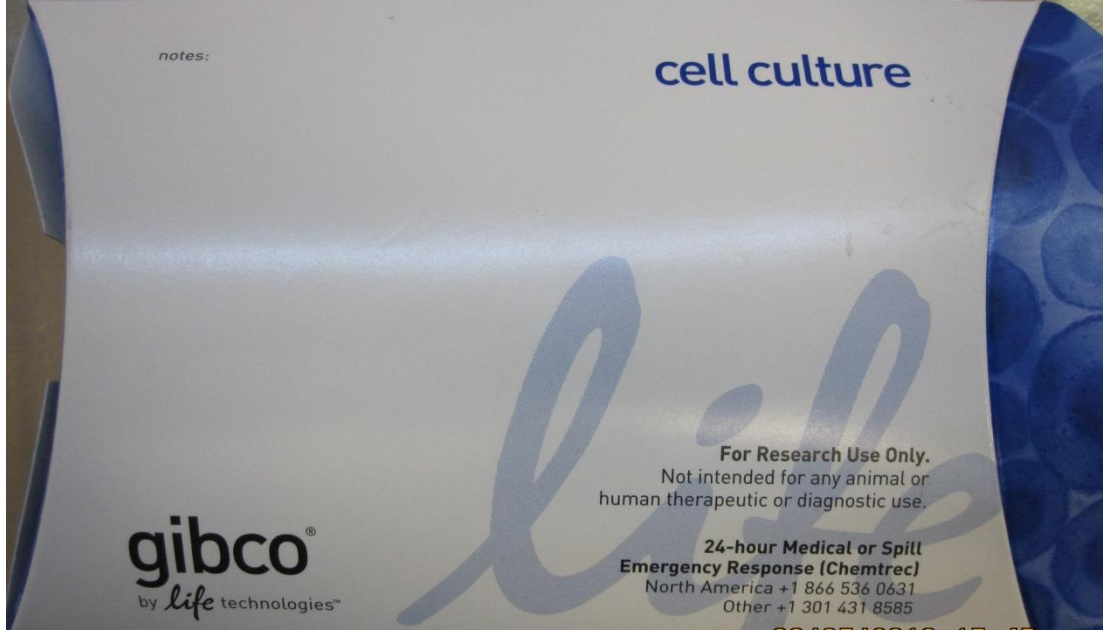


Resim-8: Ratlara RT uygulanması

### İlaç Uygulaması:

Gibco Invitrogen marka Rekombinant 165 aa li insan kaynaklı VEGF kullanıldı (Resim-9).





Resim-9: Çalışmada kullanılan VEGF

10 µg lık formlarda 2 adet lipofilize VEGF 1 'er cc SF ile sulandırıldı. 3. ve 4. gruptaki her bir rata 0.1 cc olmak üzere üzere sinir onarımından hemen sonra onarım hattına yıkama yapıldı. Böylece bu gruptaki her bir rata 1 µg VEGF verilmiş oldu.

### **Değerlendirme Yöntemleri:**

### **Elektrofizyolojik İncelemeler:**

Ratlara operasyondan 6 hafta sonra anestezi altında ilk cerrahi işlemine benzer bir şekilde operasyon sahasının povidon iodine ile temizlenmesinin ardından operasyonda kullanılan ilk insizyon hattından girilerek cilt altı plan ardından biseps kası diseksiyonuyla siyatik sinire ulaşıldı. Siyatik sinir koaptasyon hattının 5 mm proksimal ve distaline elektrotlar yerleştirildi (Resim-10).



Resim-10: Sinir koaptasyon hattının 5mm proksimaline ve distaline elektrotların yerleştirilmesi

Sağ kulağa disk elektrot yerleştirilerek topraklama sağlandı (Resim-11).



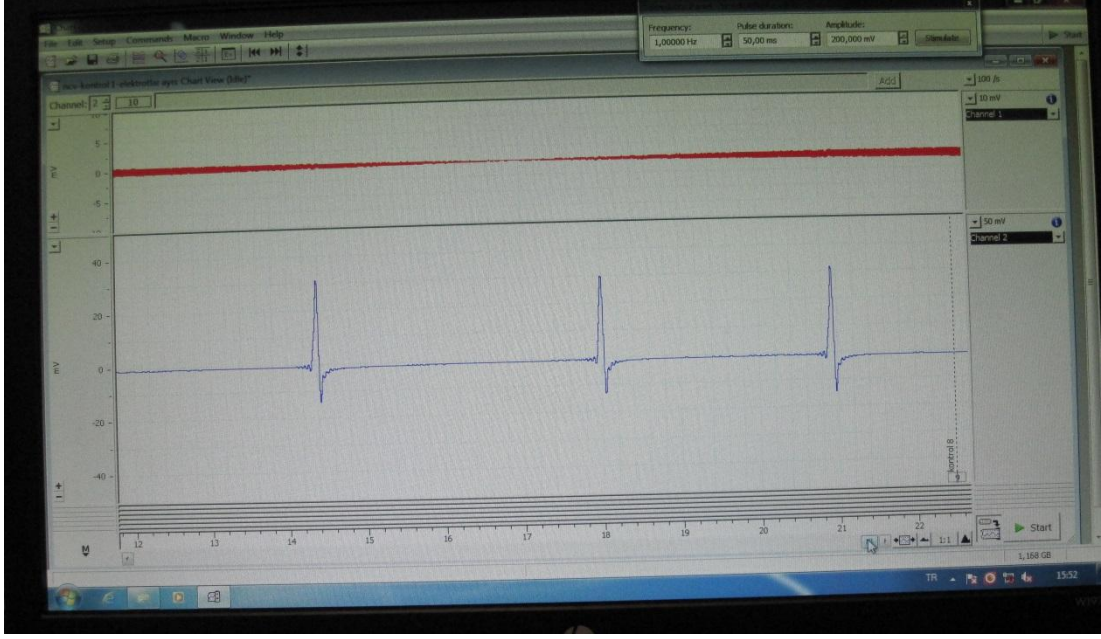
Resim-11: Sağ kulağa topraklama için disk elektrod yerleştirilmesi

100 mv stimuluslar ile veri kayıt cihazından elde edilen sinir ileti hızlarına bakıldı (Resim-12,13).



Resim-12: AD Instruments marka PowerLab/8SP model veri kayıt cihazı ile sinir hızlarına bakılması





Resim-13: Sinirde meydana gelen aksiyon potansiyelleri

### **Histopatolojik İncelemeler:**

6 hafta sonra ratların siyatik sinirlerinde elektrofizyolojik incelemeler yapıldıktan sonra sinir makroskopik olarak değerlendirildi. Çevre dokulara yapışıklık gösterip göstermedikleri ve koaptasyon hattında nöroma gelişip gelişmediği gözlemlendi. Mikroskopik incelemeler için sinir koaptasyon hattının 7 mm proksimalini ve 7 mm distalini içerecek şekilde sinir dokusu eksize edildi. Dokular formolde muhafaza edildi daha sonra mikrotom bıçakları ile 1'er µm uzunluğuna kesitler halinde bloklandı. Toluidin mavisi ile boyandı. Nikon marka Eclipse E 200 model mikroskop altında 400 kat büyütme altında onarım hattının proksimali ve distali arasındaki schwann hücre sayısı, miyelin kılıf kalınlığı, endonöral mesafe ve vakualizasyon farklılıkları değerlendirildi. Onarım hattı proksimal ve distali arasındaki farkın şiddetine göre skorlar verildi. '0' en az farkı gösterirken, '3' en fazla farkı gösterdi.



### **İstatistiksel İncelemeler:**

Veriler SPSS paket programıyla analiz edildi. Sürekli değişkenler ortalama karşılaştırmalarında Kruskal Wallis Varyans Analizi; alt grup karşılaştırmaları için ise Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanıldı. Değişkenler arası ilişkiyi incelemek için Pearson Korelasyon Analizi uygulandı.  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

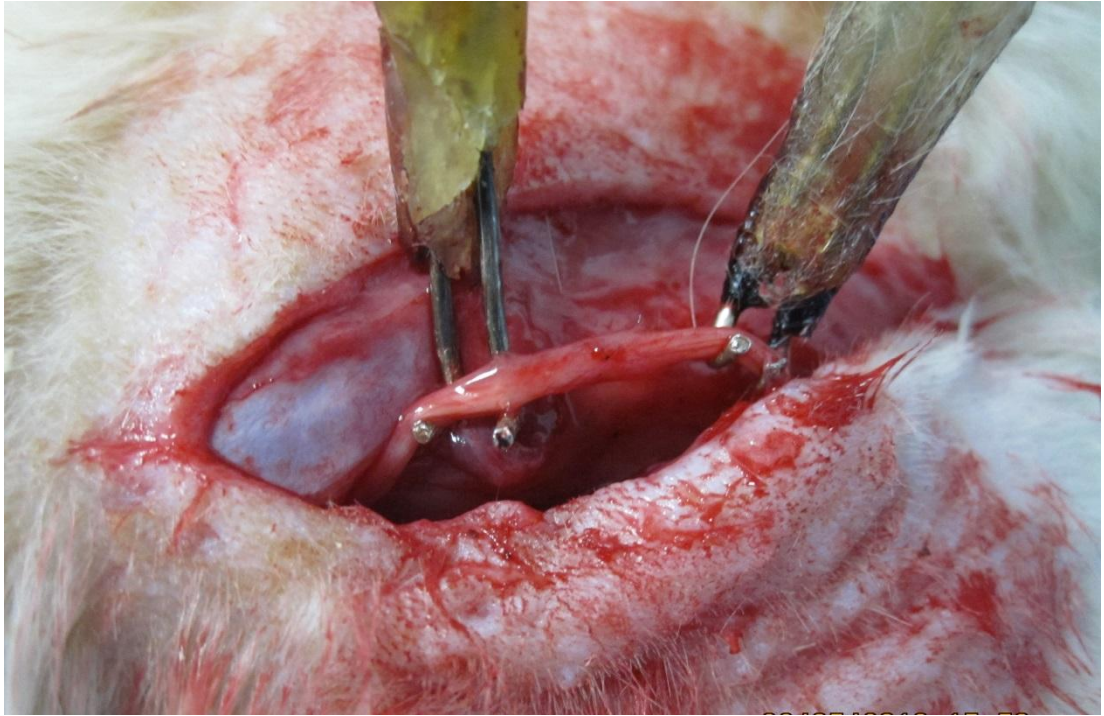
Preoperatif, peroperatif ve postoperatif dönemde 4 grupta da ölen rat olmadı.

Deney sırasında hiçbir hayvanda RT 'ye bağlı bir komplikasyon gelişmedi.

### 1. Makroskopik bulgular:

Ratların siyatik sinirlerine yapılan cerrahi işlem ardından iyileşmesi için 6 hafta beklenildi. Daha sonra tekrar opere edilip sinirleri değerlendirildi. 4 grupta toplam 32 ratın sinirlerinde makroskopik inceleme yapıldı. Makroskopik değerlendirme yapılırken nöroma formasyonu, çevre dokulara yapışıklık, koaptasyon suturelerinin açılması, koaptasyon hattında gap varlığı gibi kriterlere bakıldı.

Ratların sinirlerine makroskopik olarak bakıldığında hiçbir ratta patolojik bir görünüme rastlanmadı (Resim-14).



Resim-14: Postop 6. haftada siyatik sinirin görüntüsü

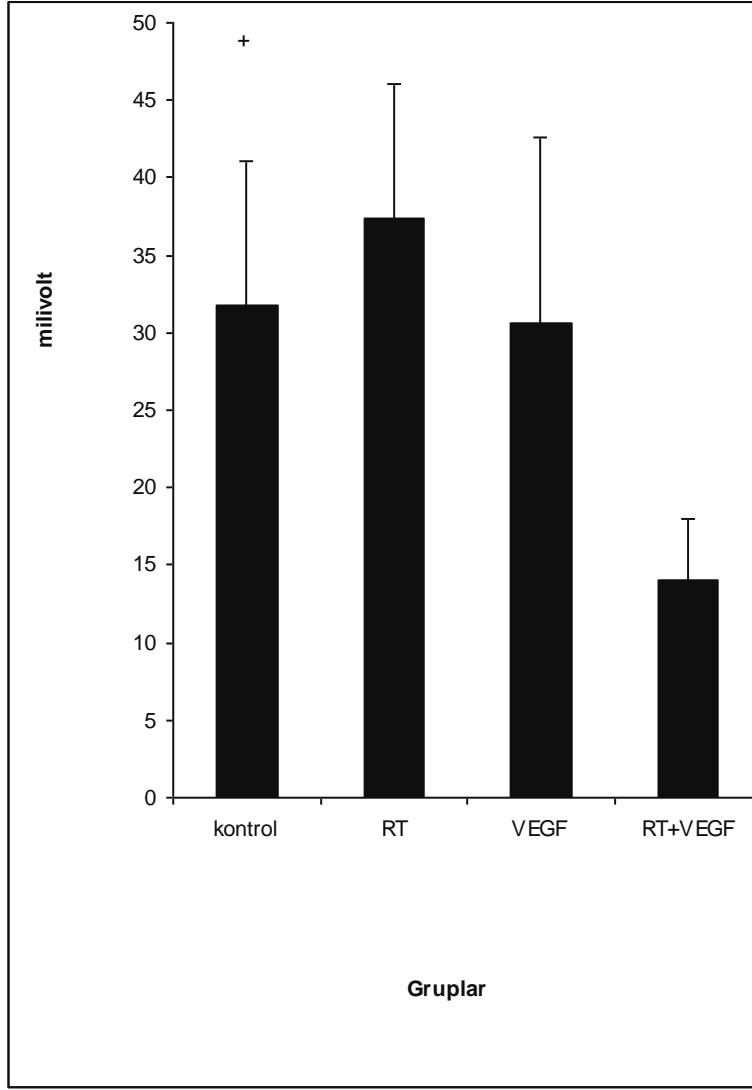
## 2. Elektrofizyolojik Bulgular:

Çalışmada kullanılan 4 grubun ortalama latans ve amplitudları grup 1(kontrol) de Amp: 31.75 Lat: 0.21 , grup 2( RT) de Amp: 37.4 Lat:0.18, grup 3(VEGF) Amp: 30.61 Lat: 0.18, grup 4(VEGF+RT) Amp: 13.97 Lat: 0.23 olarak bulundu(Tablo-1,Şekil-8,9). Kontrol grubunda 3 numaralı ratta yapılan incelemede aksiyon potansiyeli oluşturulamadı ve değerlendirilmeden çıkarıldı.

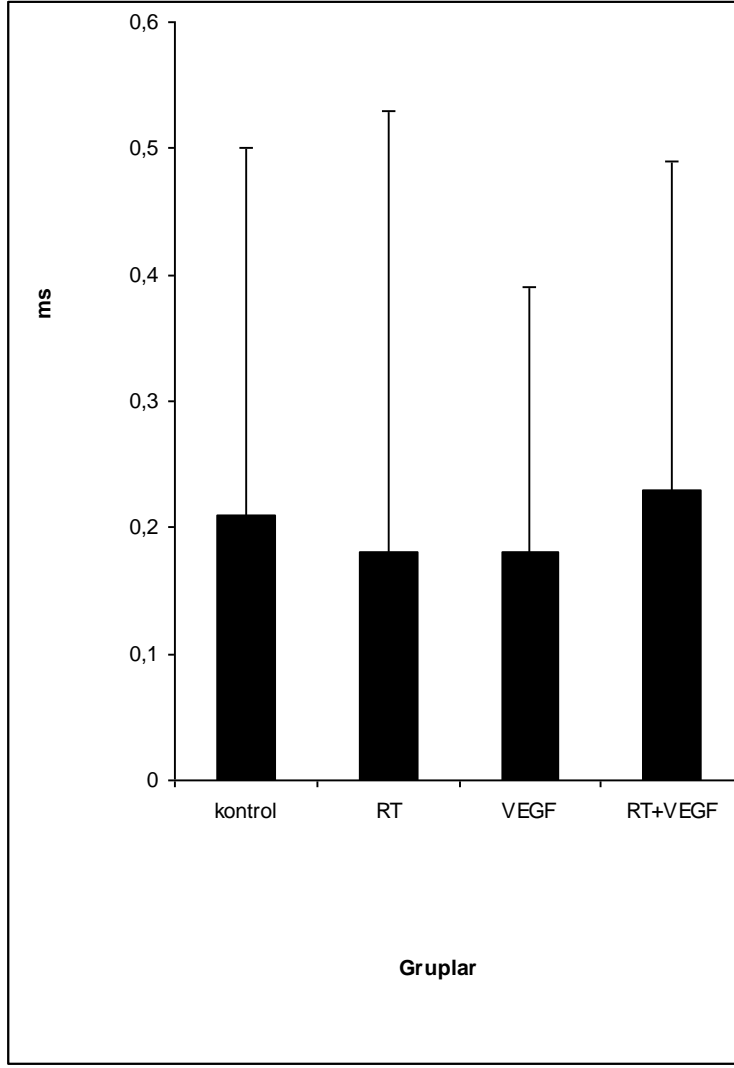
GRUPLAR		Amplitud(mv)	Latans(ms)
<b>GRUP 1</b>			
<b>KONROL GRUBU</b>	1	40.87	0.26
	2	39.06	0.16
	3	-	-
	4	21.61	0.21
	5	42.55	0.23
	6	22.71	0.21
	7	32.79	0.21
	8	22.67	0.21
<b>Ortalama±SD</b>		31.75±9.32	0.21±0.29
<b>GRUP 2</b>			
<b>RT GRUBU</b>	1	26.57	0.19
	2	44.56	0.13
	3	27.74	0.19
	4	46.71	0.19
	5	37.76	0.18
	6	28.37	0.25
	7	46.02	0.2
	8	41.44	0.15
<b>Ortalama±SD</b>		37.4±8.62	0.18±0.35
<b>GRUP 3</b>			
	1	17.32	0.2
	2	48.61	0.17

<b>VEGF GRUBU</b>	<b>3</b>	<b>23.57</b>	<b>0.2</b>
	<b>4</b>	<b>19</b>	<b>0.2</b>
	<b>5</b>	<b>47.62</b>	<b>0.15</b>
	<b>6</b>	<b>30.65</b>	<b>0.15</b>
	<b>7</b>	<b>25.70</b>	<b>0.21</b>
	<b>8</b>	<b>32.4</b>	<b>0.15</b>
<b>Ortalama±SD</b>		<b>30.61±11.96</b>	<b>0.18±0.26</b>
<b>GRUP 4</b>			
<b>RT+VEGF GRUBU</b>	<b>1</b>	<b>23.83</b>	<b>0.2</b>
	<b>2</b>	<b>12</b>	<b>0.26</b>
	<b>3</b>	<b>12.47</b>	<b>0.2</b>
	<b>4</b>	<b>13.77</b>	<b>0.23</b>
	<b>5</b>	<b>12.26</b>	<b>0.23</b>
	<b>6</b>	<b>12.43</b>	<b>0.25</b>
	<b>7</b>	<b>12.14</b>	<b>0.22</b>
	<b>8</b>	<b>12.84</b>	<b>0.22</b>
<b>Ortalama±SD</b>		<b>13.97±4.02</b>	<b>0.23±0.21</b>

Tablo-1: Grupların elektrofizyolojik incelemeleri sonucunda elde edilen amplitud değerleri ve latans süreleri



Şekil-8: Grupların amplitud değerleri ortalamaları



Şekil-9: Grupların latans süreleri ortalamaları

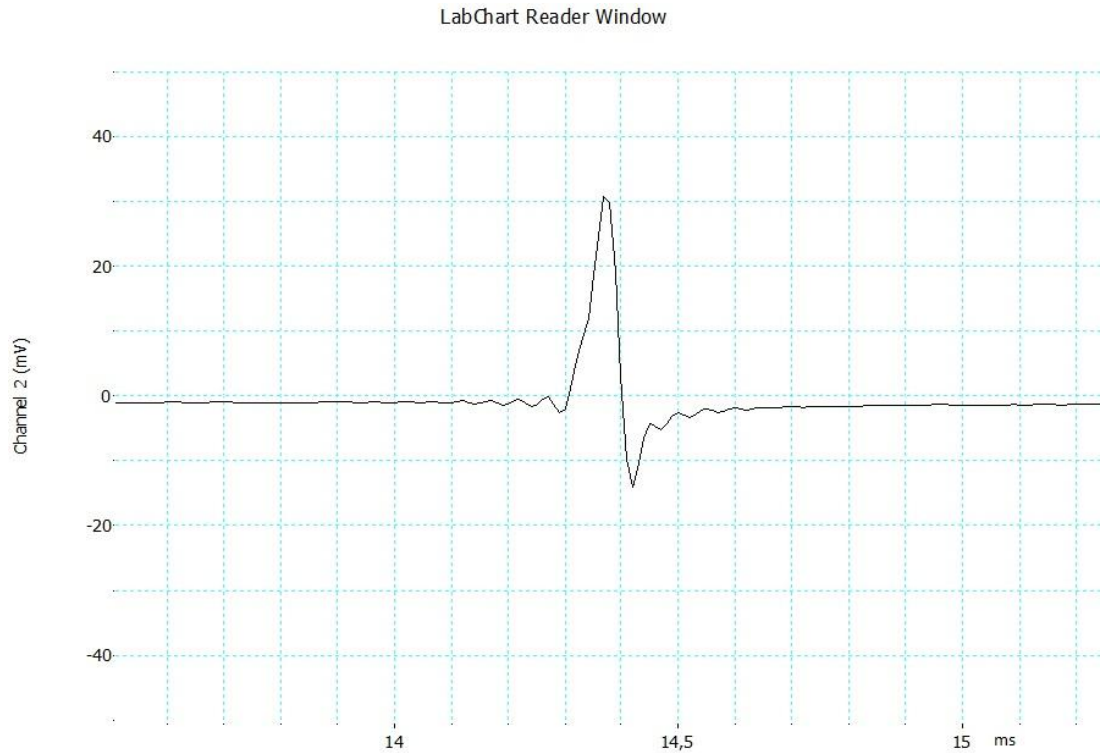
Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

Amplitud değerlerinde 4 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $p:0.006$ ). Kendi içlerinde karşılaştırıldığında grup 1-4 ( $p:0.002$ ), grup 2-4 ( $p:0.0001$ ) ve grup 3-4 ( $p:0.001$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulundu. Amplitud değerlerinde 2. grubun 3. ve 4. gruplarla farklı olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi. 2. grup, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha yüksek sonuçlar elde edildi fakat istatistiksel olarak anlamlı bir fark değildi. 3. grup, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında minimal bir düşüş gözlemlendi bu fark da istatistiksel olarak anlamlı bir fark değildi.

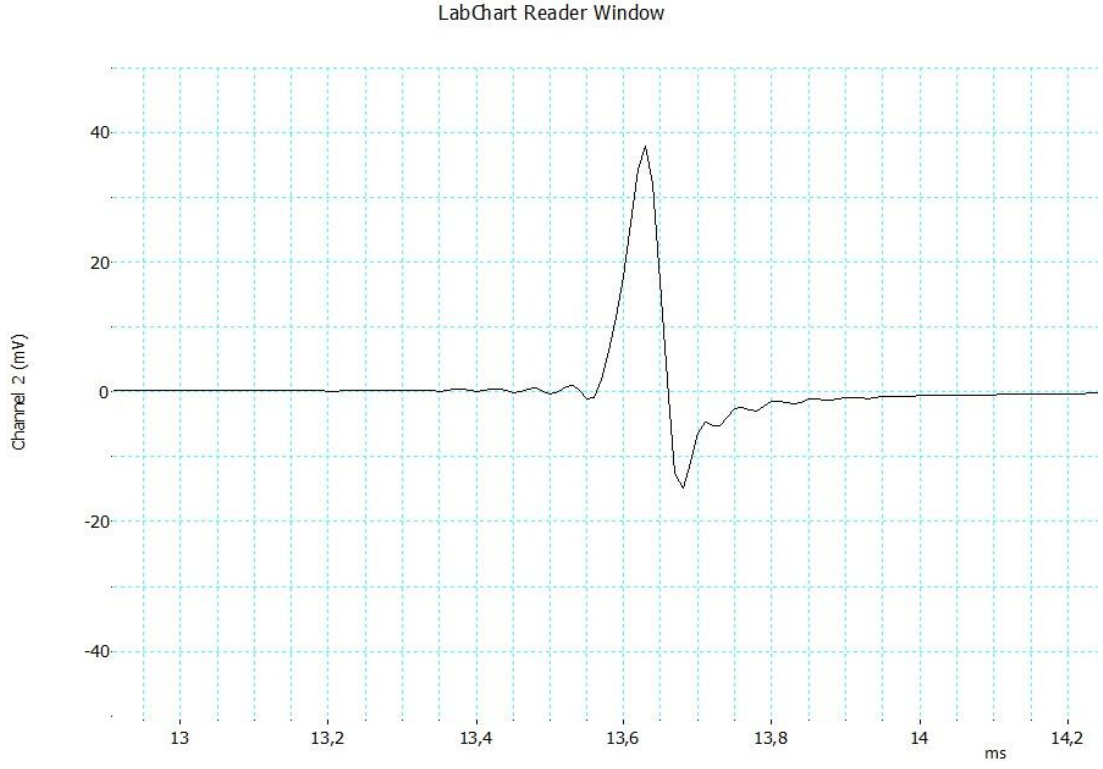
Latans sürelerinde 4 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p:0.004). Kendi içlerinde karşılaştırıldığında grup 2-4 (p:0.007), grup 3-4 (p:0.003) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulundu. 2. ve 3. gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha kısa sonuçlar elde edildi fakat istatistiksel olarak anlamlı bir fark değildi. 4. grup, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha uzun sonuçlar elde edildi fakat istatistiksel olarak anlamlı bir fark değildi.

RT ve VEGF nin sinir iyileşmesini olumlu yönde etkileyip amplitud değerlerini yükseltip, latans sürelerini kısaltması bekleniyordu.

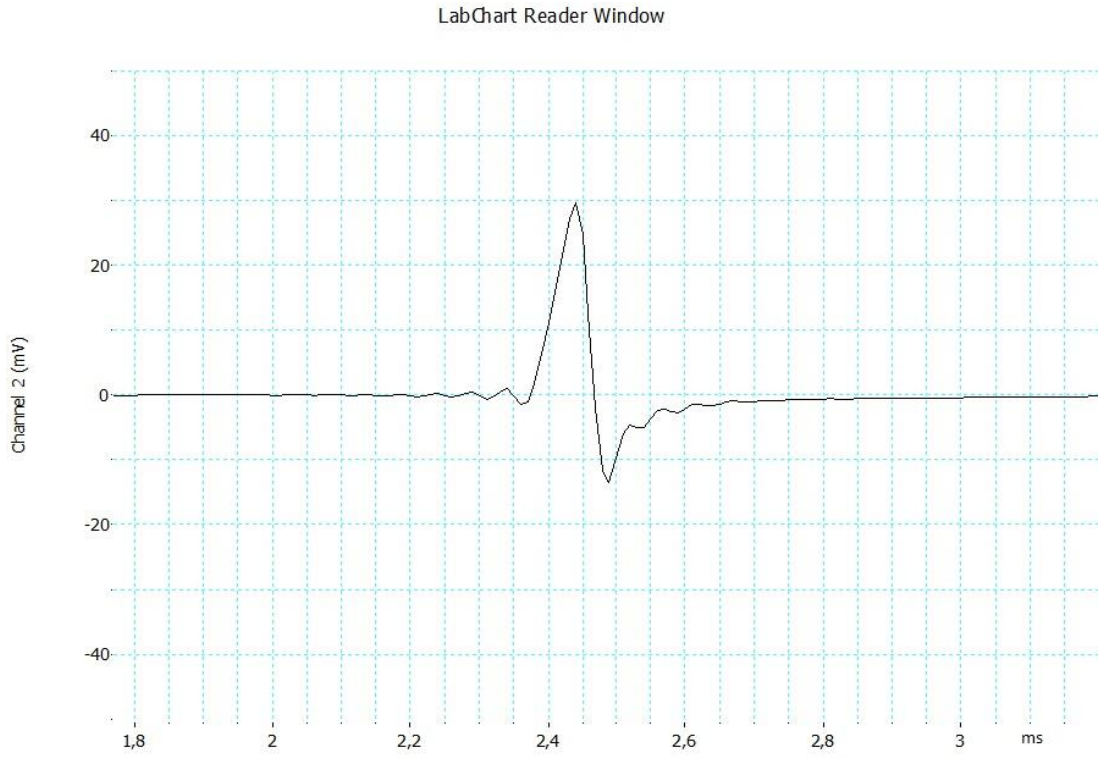
Fakat değerler incelenip kontrol grubu ile kıyaslandığında sadece RT nin tek başına verilmesi latans süresini kısaltıp amplitud değerini yükselttiği görüldü. Beklenmedik şekilde RT+VEGF beraber verilmesi hem amplitud değerini düşürmüştü hem de latans süresini uzatmıştır. Yine beklenmeyen bir şekilde sadece VEGF nin verilmesi de amplitud değerinde minimal bir düşüğe fakat latans süresinde kısaltmaya sebep olmuştur (Şekil-10,11,12,13).



Şekil-10: Kontrol grubuna ait bir aksiyon potansiyeli

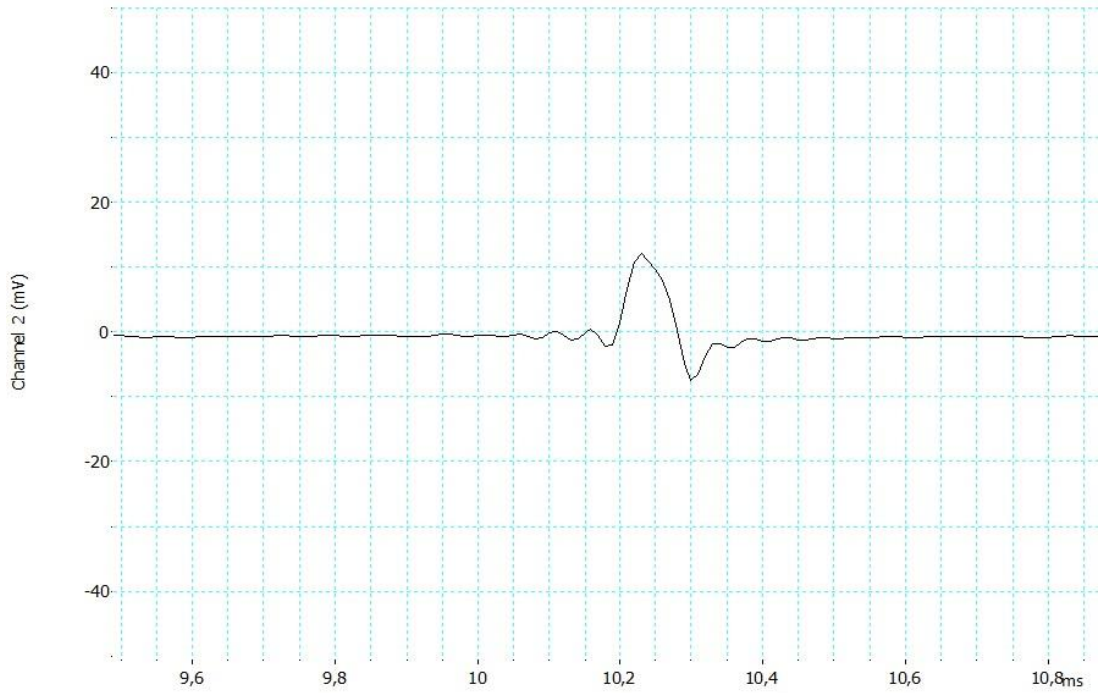


Şekil-11: RT alan gruba ait bir aksiyon potansiyeli



Şekil-12: VEGF alan gruba ait bir aksiyon potansiyeli





Şekil-13: Hem RT hem de VEGF alan gruba ait bir aksiyon potansiyeli

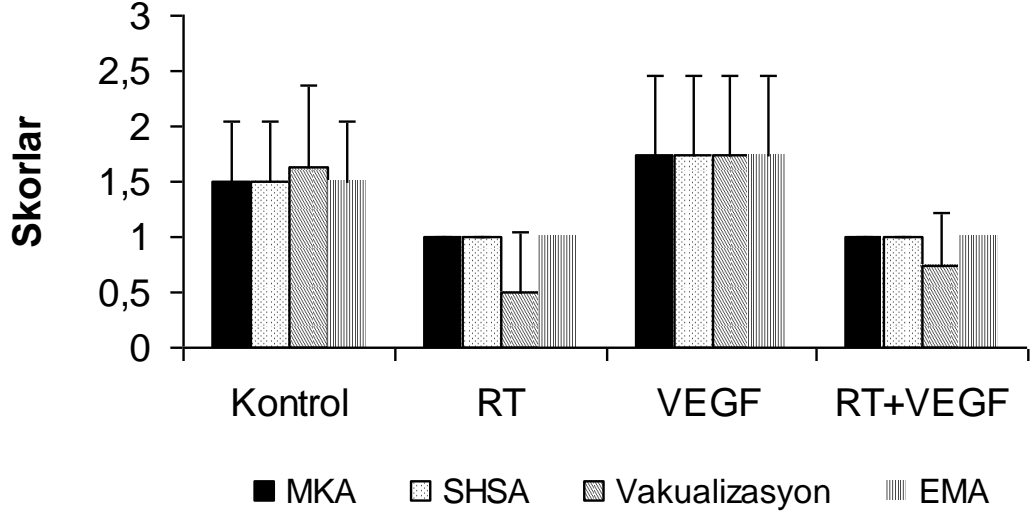
### 3. Histopatolojik Bulgular:

Çalışmada kullanılan 4 grubun sinirlerinde onarım distali ve proksimali arasındaki miyelin kalınlığında azalma (MKA), schwann hücre sayısında artış (SHSA), vakuolizasyon ve endonöral mesafede artış (EMA) miktarlarının farklılıkları skorlanarak Tablo-2, Şekil-14 de gösterilmiştir.

GRUPLAR		Miyelin Kalınlığında Azalma	Schwann Hücre Sayısında Artış	Vakuolizasyon	Endonöral Mesafede Artıs
<b>GRUP 1</b>					
<b>KONTROL GRUBU</b>	1.	1	1	1	1
	2.	2	2	2	2
	3.	2	2	2	2
	4.	1	1	1	1
	5.	1	1	1	1

	6.	2	2	3	2
	7.	1	1	1	1
	8.	2	2	2	2
<b>Ortalama±SD</b>		<b>1.5±0.53</b>	<b>1.5±0.53</b>	<b>1.62±0.74</b>	<b>1.5±0.53</b>
<b>GRUP 2</b>					
<b>RT GRUBU</b>	1.	1	1	0	1
	2.	1	1	0	1
	3.	1	1	1	1
	4.	1	1	1	1
	5.	1	1	0	1
	6.	1	1	1	1
	7.	1	1	1	1
	8.	1	1	0	1
<b>Ortalama±SD</b>		<b>1</b>	<b>1</b>	<b>0.5±0.53</b>	<b>1</b>
<b>GRUP 3</b>					
<b>VEGF GRUBU</b>	1.	2	2	2	2
	2.	2	2	2	2
	3.	2	2	2	2
	4.	3	3	3	3
	5.	2	2	2	2
	6.	1	1	1	1
	7.	1	1	1	1
	8.	1	1	1	1
<b>Ortalama±SD</b>		<b>1.75±0.7</b>	<b>1.75±0.7</b>	<b>1.75±0.7</b>	<b>1.75±0.7</b>
<b>GRUP 4</b>					
<b>RT+VEGF GRUBU</b>	1.	1	1	1	1
	2.	1	1	1	1
	3.	1	1	0	1
	4.	1	1	1	1
	5.	1	1	1	1
	6.	1	1	0	1
	7.	1	1	1	1
	8.	1	1	1	1
<b>Ortalama±SD</b>		<b>1</b>	<b>1</b>	<b>0.75±0.46</b>	<b>1</b>

Tablo-2: Grupların histopatolojik incelemeleri sonucunda elde edilen hasar parametreleri ve skorları



Şekil-14: Grupların histopatolojik incelemeleri sonucunda meydana gelen hasar skorlarının ortalaması

Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

MKA skorlarında 4 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p:0.006). Kendi içlerinde karşılaştırıldığında grup 1-2 (p:0.032), grup 1-4 (p:0.032), grup 2-3 (p:0.002) ve grup 3-4 (p:0.002) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı.

SHSA skorlarında 4 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p:0.006). Kendi içlerinde karşılaştırıldığında grup 1-2 (p:0.032), grup 1-4 (p:0.032), grup 2-3 (p:0.002) ve grup 3-4 (p:0.002) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı.

Vakualizasyon skorlarında 4 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p:0.002). Kendi içlerinde karşılaştırıldığında grup 1-2 (p:0.001), grup 1-4 (p:0.009), grup 3-4 (p:0.003) ve grup 2-3 (p:0.0001) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı.

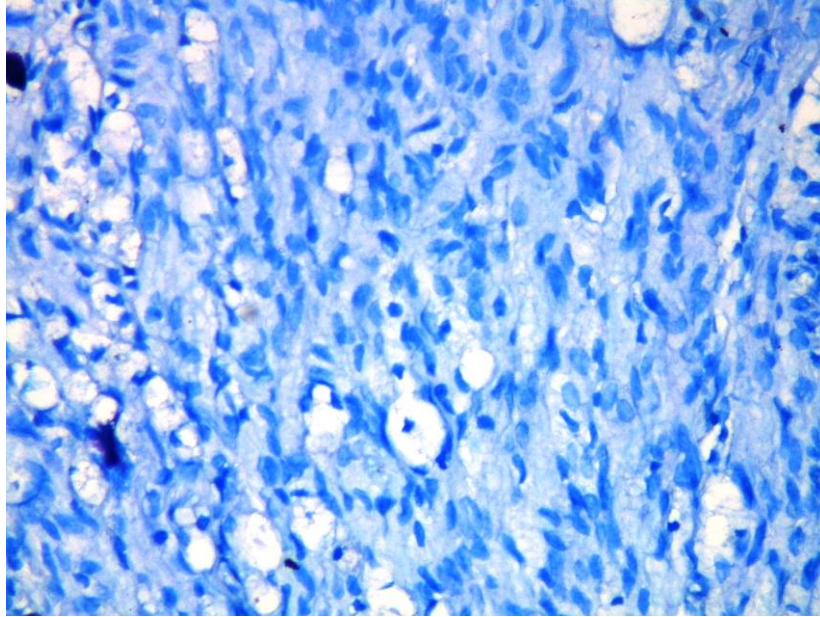
EMA skorlarında 4 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p:0.006). Grup 1-2 (p:0.032), grup 1-4 (p:0.032), grup 2-3 (p:0.002) ve grup 3-4 (p:0.002) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı.

Kontrol grubunun 3 numaralı ratı elektrofizyolojik çalışmalarda aksiyon potansiyeli elde edilememesi üzerine değerlendirme dışı bırakılan sinirin patolojik incelemesinde yoğun kanama odaklarına rastlanıldı.

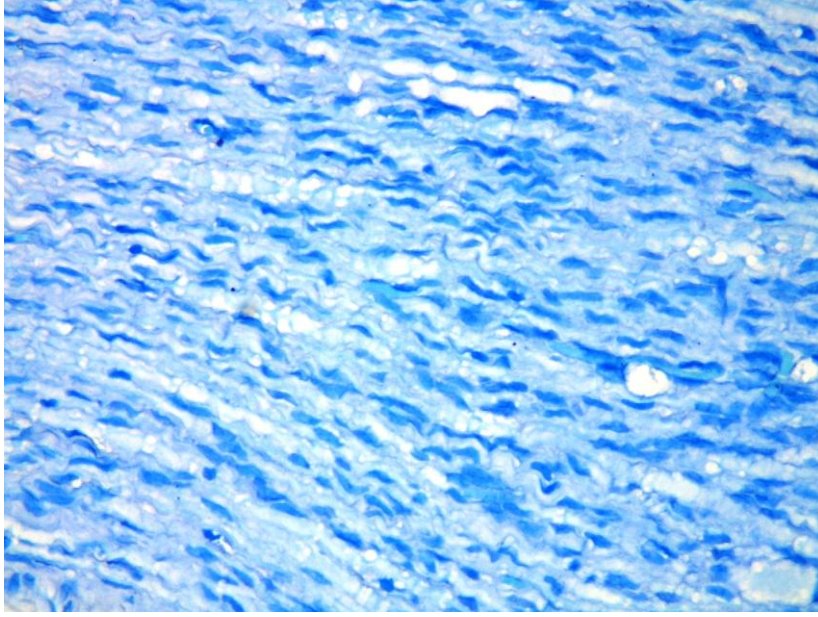
Çalışmadaki beklenti RT ve VEGF nin sinir iyileşmesi üzerinde olumlu etkiler yapıp MKA, SHSA, vakualizasyon ve EMA düzeylerinin kontrol gruba göre kıyaslanıp skorlandığında düşük çıkmasıydı.

Veriler incelendiğinde MKA, SHSA, Vakualizasyon ve EMA düzeyi RT ve VEGF+RT grubunda beklenildiği gibi skorları düşük çıkmış fakat sadece VEGF alan grupta yüksek çıkmıştır.

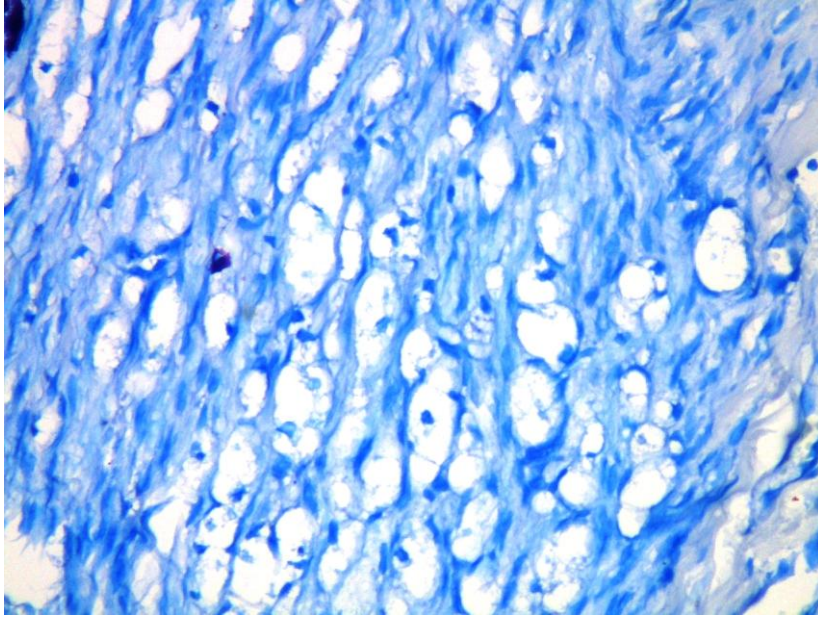
Mikroskop görüntülerinde en az hasar RT grubu en çok hasar ise VEGF grubudur (Resim-15,16,17,18).



Resim-15: Kontrol grubunda toluidine mavisi ile boyama sonrası alınan mikroskop görüntüsü

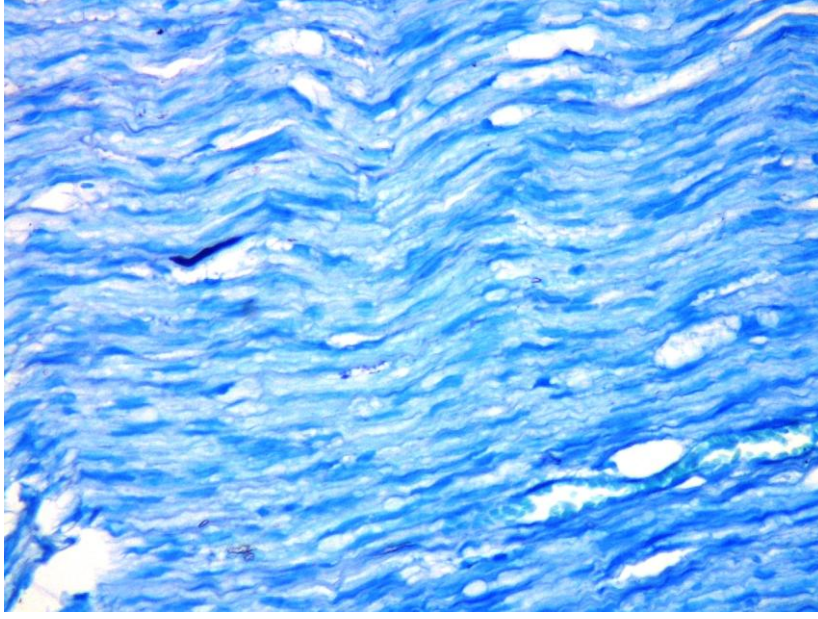


Resim-16: RT alan grupta toluidine mavisi ile boyama sonrası alınan mikroskop görüntüsü



Resim-17: VEGF alan grupta toluidine mavisi ile boyama sonrası alınan mikroskop görüntüsü





Resim-18: RT+VEGF alan grupta toluidine mavisi ile boyama sonrası alınan mikroskop görüntüsü

## TARTIŞMA

Günümüzde acil servise başvuran el yaralanmalarının önemli kısmını periferik sinir yaralanmaları oluşturmaktadır. Sadece travma sonrası değil neoplazmlar, cerrahiler, traksiyon, çeşitli nedenlerle oluşan kompresyonlar, inflamatuvar durumlar ya da enfeksiyonlar gibi sebeplerle de periferik sinirler üzerinde hasarlar oluşabilmektedir.

Son 4 dekatta sinir yaralanmalarının patofizyolojisi ve tedavisine yönelinilmiş, bu alanda gelişmelerle birlikte son yıllarda sinir hasarlarının tedavisinde pek çok ajanın denenmesi ile önemli yol kat edilmiştir.

Nachemson ve arkadaşlarının yapmış oldukları diğer bir çalışmada kesiye uğramış sinirin distalinde, artan kollajen formasyonu ve miyelofibrozisin, yapılan geç onarımdaki kötü sonuçların nedeni olduğunu düşünmektedir. Kesi olan bölgede dikkate değer ölçüde hem endonöral hem de ektranöral fibrozis görülmektedir. Klinik deneyimlerle sekonder vakalarda fibrotik sinir segmentinin, sinir uçlarında fasiküler yapının görülünceye kadar hasar görmüş bölgeden diseke edilmesi gerekmektedir (93).

Günümüzde birçok malignitenin tedavisinde ve palyatif tedavide radyoterapi multidisipliner prensipler doğrultusunda uygulanmaktadır. Bunun yanısıra RT' nin düşük dozlarda uygulanması sonrasında sinir iyileşmesi üzerinde fibrozisi azalttığı ve skar formasyonunu engelleyerek sinir iyileşmesini olumlu yönde etkilediğine dair çalışmalar vardır (5-14).

Bora ve arkadaşları, 30 adet erkek tavşan üzerinde yaptıkları çalışmada tüm hayvanlara L5 düzeyde laminektomi yapıp; Daha sonra postoperatif dönemde 24. saatte bir gruba tek doz 900 cGy düşük dozda RT uygulamışlar. 30 gün sonra epinöral skarları değerlendirmek amacıyla histolojik incelemeler yapılmış. RT alan grup ile kontrol grubu kıyaslandığında RT alan grupta anlamlı bir şekilde epinöral yumuşak dokularda skarın azaldığı gösterilmiş (54).

Başka bir çalışma 3 adet köpek üzerinde yapılmış. Her hayvana 2 seviyeden sağlı sollu 2 şer tane olmak üzere toplam 12 adet laminektomi yapılmış. Operasyondan 24 saat sonra operasyon sahasına 700 cGy düşük dozda RT uygulanmış. 12 hafta sonrası tekrar opere edilip çevre dokulardan eksizyonel biyopsiler alınmış. Bu dokular Hemotoksilen Eozin ve Masson Trikrom boyalar ile boyanarak incelenmiş. Histopatolojik incelemelerde fibrozisin yoğunluğu ve epidural yumuşak dokuların dura materin etrafında oluşturduğu fibrozis gibi parametrelere bakılmış. Değerlendirmeler sonrasında sonuç olarak RT verilen grupta tüm parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı olumlu sonuçlar elde etmişler (94).

Sonuç olarak düşük dozda radyoterapinin laminektomi sonrası yumuşak dokulardaki fibrozisi engellediği gösterilmiş (94).

Görgülü ve arkadaşları, tek doz düşük radyasyonun cerrahiden 24 saat sonra sinir onarım bölgesine uygulanmasının epinöral fibrozisi engellediğini ve sinir yapılarının mekanik kompresyonunu engellemek için herhangi bir materyalin kullanılmasına gerek olmadığını göstermişlerdir. 700 cGy Düşük doz radyoterapi verilen sinirlerde daha az skar dokusu olduğu gözlemlenmiştir. Düşük doz radyoterapi ile tedavi edilen sinirlerde tedavi almayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı daha az yapışıklık meydana geldiği bulunmuştur. Kontüzyon sonrası oluşan hasar ile meydana gelen fibrozis, diseksiyon ve sinirin kesilmesi sonrası meydana gelen hasar fibrozisine göre daha belirgin olup, bu da kontüzyonun fibrozisi daha güçlü stimüle ettiğini göstermiştir. Tedavi gruplarında RT'den sonra fibroblast/fibrosit sayılarında anlamlı düşüş görülmüştür ( $p<0,05$ ) . Yüksek doz RT'nin periferik sinirdeki epinöral fibrozisi artırdığı tespit edilmiştir. Oysaki düşük doz RT normal sinirlerde fibroblast/fibrosit oranlarında bir artışa sebep olmamış belirgin morfolojik değişimler gözlemlenmemiştir. Hem kontrol hem de tedavi gruplarında skar dokularının içinde çok az inflamatuvar hücreler bulunmuş ve gruplar arasında inflamatuvar hücrelerin sayı ve tipleri açısından anlamlı farklar tespit edilmemiştir ( $p<0,05$ ). Bu da belirgin inflamatuvar reaksiyonun düşük doz RT ile oluşmadığını göstermiştir. 6 hafta sonra RT alan ve almayan fareler arasında siyatik sinir fonksiyonları açısından bir farklılık saptanmamıştır (17).



Bir başka çalışmada, periferik sinir hasarında intranöral skar oluşumunun önlenmesinde düşük doz radyoterapi (RT) uygulanmasının elektrofizyolojik ve histopatolojik etkilerinin değerlendirilmesi yapılmış. Bunun için 20 rat rastgele iki gruba ayrılmış. Sol siyatik sinirlerine geçici anevrizma klipi ile 5 dakika kliplenmiş. Siyatik sinir hasarı oluşturulduktan sonra 22- 24 saat arasında elektrofizyolojik değerlendirilme yapılmış. Kontrol grubu olarak belirlenen gruba hasarlandırma sonrası herhangi bir tedavi uygulanmamış. Deney grubunda, kliplemeden 24 saat sonra, sol siyatik sinire 700 cGy düşük doz RT uygulanmış. 6 hafta sonra her iki gruba da elektrofizyolojik çalışma yapılmış ve tüm hayvanlar sakrifiye edilerek hasarlı sinirlere histopatolojik değerlendirilme yapılmış. Düşük doz RT'nin elektrofizyolojik incelemede amplitüd değerlerini artırdığını ve latans değerlerini düzelttiğini gözlemlemişler. Deney grubu ile karşılaştırıldığında, kontrol grubunda histopatolojik olarak aksonal dejenerasyon ve vakuolizasyonun daha fazla olduğu endonöral mesafede ise, minimal bir artış olduğu saptanmış (15).

Sonuç olarak düşük dozda radyoterapinin sıçanlarda oluşturulan siyatik sinir lezyonlarında intranöral skar oluşumunu önleyebileceği ve elektrofizyolojik iyileşmeyi düzeltebileceğini göstermişler (15).

Biz de bu çalışmadaki değerlendirme yöntemlerinden esinlenerek elektrofizyolojik incelemelerimizi sinir üzerinde uyarı vererek amplitud değerleri ve latans süreleri ölçümleri yaparak yaptık. Histopatolojik incelemeleri de Schwann hücre sayısında artış, miyelin kalınlığında azalma, endonöral mesafede artış ve vakuolizasyon düzeylerine bakarak yaptık.

6 hafta sonra yapılan elektrofizyolojik incelemelerde amplitud ve latans değerlerine bakıldı. Sinir iyileşmesindeki olumlu etkiye paralel olarak amplitud değerinin yükselmesi ve latans süresinin kısalması beklenir. Amplitud değeri doğrudan aktif nöron sayısı ile ilişkilidir. Latans değeri ise uyarı ile aksiyon potansiyeli başlaması arasında geçen zamandır ve miyelinizasyon için önemli bir gösterge olarak kabul edilmektedir. Latans ile myelinize lifler paralellik göstermektedir.

EMA ve vakualizasyon sinir içinde wallerian dejenerasyon sonrası parçalanmış aksonların, aksonal rejenerasyon sonucu yeteri kadar dolup dolmadığının göstergesi olarak kabul edilebilir. Sinir iyileşmesine paralel olarak skorun düşük olması beklenir.

Bizim çalışmamızda en düşük EMA skoru RT grubu ve karma grupta eşit olmak üzere elde edildi. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı idi. VEGF grubunda EMA skoru kontrol grubu ile kıyaslandığında yüksekti. Fakat bu yükselme istatistiksel olarak anlamlı değildi. VEGF grubunda beklenen aksonal rejenerasyon elde edilemedi aksine kontrol grubunda aksonal rejenerasyon sonuçları daha iyiydi. Bu durum VEGF'nin düşük dozlarda etkili olmamasına bağlanılabilir. Düşük doz VEGF sinir iyileşmesini olumsuz yönde etkilemiş olabilir.

Bizim çalışmamızda en düşük vakualizasyon skoru RT grubunda elde edildi bu grubu karma grup takip etti. Bu düşüşler istatistiksel olarak anlamlı idi. VEGF grubunda vakualizasyon skoru kontrol grubu ile kıyaslandığında yüksekti. Fakat bu yükselme istatistiksel olarak anlamlı değildi. VEGF grubunda beklenen aksonal rejenerasyon elde edilemedi aksine kontrol grubunda aksonal rejenerasyon sonuçları daha iyiydi. Bu durum VEGF'nin düşük dozlarda etkili olmamasına bağlanılabilir. Düşük doz VEGF sinir iyileşmesini olumsuz yönde etkilemiş olabilir.

Makrofajlar wallerian dejenerasyonu sonrası fagositoz ve Schwann hücreleri de makrofajla birlikte bu hasar sonrasında derhal nörotrofik faktörler salgılayarak aksonal rejenerasyonda önemli rol oynarlar. SHSA skoru 6 hafta sonra halen yüksek ise sinir iyileşmesindeki problem ile ilişkilendirilir.

Bizim çalışmamızda en düşük SHSA skoru RT grubu ve karma grupta eşit olmak üzere elde edildi. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı idi. VEGF grubunda SHSA skoru kontrol grubu ile kıyaslandığında yüksekti. Fakat bu yükselme istatistiksel olarak anlamlı değildi. VEGF grubunda 6 hafta sonra sinir iyileşmesi sorununa bağlı olarak Schwann hücre sayısı yüksekti. VEGF grubunda beklenen sonuç elde edilemedi aksine kontrol grubunda sonuçlar daha iyiydi. Kontrol grubunda 6 hafta sonra Schwann hücre sayısı daha az elde edildi. Bu durum

VEGF'nin düşük dozlarda etkili olmamasına bağlanılabilir. Düşük doz VEGF sinir iyileşmesini olumsuz yönde etkilemiş olabilir.

MKA yine yeterli rejenerasyon hakkında bilgi verir skorun düşük çıkması iyileşmenin iyi olduğunu gösterir.

Bizim çalışmamızda en düşük MKA skoru RT grubu ve karma grupta eşit olmak üzere elde edildi. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı idi. VEGF grubunda MKA skoru kontrol grubu ile kıyaslandığında yüksekti. Fakat bu yükselme istatistiksel olarak anlamlı değildi. VEGF grubunda beklenen miyelin kılıf yenilenmesi olmadı aksine kontrol grubunda yeni miyelin kılıfı oluşumu daha yüksek elde edildi. Bu durum VEGF'nin düşük dozlarda etkili olmamasına bağlanılabilir. Düşük doz VEGF sinir iyileşmesini olumsuz yönde etkilemiş olabilir.

Su ve arkadaşları düşük dozda radyoterapinin skar formasyonunu engellediğini gösteren çalışmalardan yola çıkarak bir çalışma yapmışlar. Çalışmada 24 rat kullanmışlar. Ratsları 3 gruba ayırmışlar. 1. grupta sadece lomber vertebra lamina eksplorasyonu yapılmış. 24 saat sonrasında 700 cGy radyasyon verilmiş. 2. grupta sol L5 vertebra düzeyinde hemilaminektomi yapılmış ve radyasyon tedavisi uygulanmamış. 3. grupta sol L5 vertebra düzeyde laminektomi yapıp ardından postoperatif dönem 24. saatte 700 cGy radyasyon tedavisi verilmiş. Grup 2 ve grup 3 de laminektomi esnasında L5 düzeyde duyu kökünde hasar meydana getirmişler. Elektrofizyolojik incelemeler bilateral ayak bileklerinden ve L5 duyu alanlarından uyarılar verilerek omurilikte thorakolumbar bileşkede kayıtlar alınmış. Bu alınan kayıtları operasyon öncesi , postoperatif dönem 30. dakika, postoperatif dönem 2. hafta, postoperatif dönem 1.,2. ve 3. ay elde etmişler. Bu alınan değerler opere edilmeyen taraf ile karşılaştırılmış. Ekstranöral fibrozis, yürüme analizi ve nörolojik muayene yapmışlar. Çalışmanın sonunda hemen operasyon öncesi, postoperatif dönem 30. dakika ve 2. haftalarda yapılan elektrofizyolojik incelemelerde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenememiş. Grup 2 de postoperatif 1., 2. ve 3. aylardaki sinir hasarı etkisini göstermiş bu durum amplitud değerlerine yansımış. Radyoterapi uygulanan 3. grupta elektrofizyolojik değerler preoperatif

dönem ile postoperatif dönem arasında sabit kalmış. Histolojik değerlendirmelerde grup 2 nin, grup 3'e göre daha az peridural fibrozis geliştiği gösterilmiş. Bu arada radyoterapiye bağlı herhangi komplikasyon ve yan etki gelişmediğini de özellikle belirtmişler (16).

Çalışmada sonuç olarak düşük dozda radyoterapinin peridural fibrozisi azalttığını ve bu sayede fibrozisle ilişkili radikülopatinin önlenilebileceğini göstermişler (16).

Kalderon ve arkadaşlarının yapmış olduğu başka bir çalışmada sıçanlarda spinal kord kesilerinden sonra radyoterapi uygulanmış. Apoptozisi engelleyerek yaranın doğal sürecinde iyileşmesi sağlanmış. Sonuçların iyi olduğu görülmüş. Ayrıca radyoterapi tedavisi için kritik sürecin 3 hafta olduğunu belirtmişler. Çünkü apoptozise bağlı hücre ölümü spinal kord yaralanmasını takiben 3 haftaya kadar saptanmaktadır (95).

Zeman ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada sıçanlarda spinal kord T10 seviyede ezilme yaralanması meydana getirmişler. Sonrasında 20 Gy radyasyon tedavisi verilmiş. Bu çalışmada radyoterapi dozu sabit tutulup uygulanma süreleri değişik tutulmuş. İdeal zamanlama araştırılmış. Hasarlanma sonrası 20. dakika, 1.,2.,4.,7., ve 17. günlerde radyoterapi uygulanmış. 6 hafta sonra elektrofizyolojik incelemeler yapılmış. 1 ve 2 gün sonra yapılan tedavilerde sinir iyileşmelerinin sonuçları 4,7 ve 17. günlerde yapılan onarımlara göre istatistiksel olarak anlamlı ve daha başarılı olmuştur (96).

Sonuç olarak spinal kord hasarını engellemek amacıyla verilen radyoterapinin ideal olarak hasarlanma sonrası 1. ve 2. gün verilmesi gerektiği bulunmuştur (96).

Biz de düşük doz RT yi sinir onarımından 24 saat sonra sinir onarım bölgesine verdik ve olumlu sonuçlar elde ettik.

Ridet ve arkadaşları sıçanlar üzerinde spinal kordlara bası ile hasar vererek paraplejik hale getirmişler. 2 gün geçtikten sonra hasar oluşturulan alana düşük dozdan yüksek doza doğru değişen (2 Gy, 5 Gy, 10 Gy, 20 Gy) radyoterapiler verilmiş. 1 ay sonra elektrofizyolojik ve histopatolojik incelemeler yapılmış. 2 Gy

tedavi alan grupta en iyi sinir iyileşmesi en iyi motor performans gösterilmiş. Diğer yüksek dozlarda radyoterapi alan gruplarda gliozisin, 2 Gy ışın alan gruba göre daha fazla olduğu gösterilmiş (97).

Sonuç olarak radyoterapi tedavisinin düşük dozlarda yapılması gerektiği yüksek dozlarda yapılırsa olumsuz etkilerinin olduğu gösterilmiş (97).

Radyasyon ışınlarının etkilerinin büyük kısmının reaktif oksijen parçalarının (ROS) oluşumuna bağlı olduğu düşünülmüştür. Spinal kord dokusundaki hücrel hedefler bilinmemesine rağmen, bu ROS (örneğin O<sub>2</sub>·-, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve OH·-) biyomoleküllerle reaksiyona girmektedir (98).

Kalderon ve arkadaşları 20 Gy ışınlamanın yaralanmadan 8 gün sonra verilmesinin spinal kord kontüzyon sonrası oluşan doku dejenerasyonunu azalttığını bildirmişlerdir (55).

Bir başka çalışmada ise, 22 Gy ışınlamanın kontüzyon yaralanmasından sonra lökomotor iyileşmede etkisiz kaldığı gösterilmiştir (99).

Bu tezatlığın sebebi, ışınlamanın değişik durumlarda ve değişik doz aralığında yapılması olabilir. Örneğin ışınlamanın total dozu göz önüne alındığında, yüksek oranlarda ışınlama dozu hücre ölümünü artırabilmekte iken, düşük oranlarda ışınlama c-jun, jun-B ve c-fos gibi redoks sinyalleşmesiyle ilişkili çeşitli protoonkogenlerin ekspresyonunun stimüle edilmesinde daha etkili olduğu gösterilmiştir (100).

Bununla birlikte doku derinliği nedeniyle penetre olan ışın dozunun kontrol edilmesi zor olabilir. Her ne kadar radyasyon lökomotor skorları artırmasa da, reaktif astrogliazisi büyük oranda azaltır bu da astrositleri öldürmek için ışınlamanın yeterli olduğunu gösterir. Aksine, başka bir çalışmada, hasarlı spinal korda uygulanan 25 Gy radyasyon ışınının astrosit miktarını düşürmediği, ancak mikrogliaların daha az bulunmasına neden olduğu gösterilmiştir (101).

Radyasyon uygulamasındaki etkinliğinin eşit olması için, ışınlamanın etkinliğini optimize etmek amacıyla doz miktarı, total doz ve spektral enerjideki varyasyonların sistematik biçimde değerlendirilmesi gerekmektedir.

Çok sayıda çalışmada görmüş olduğumuz üzere skar dokusu formasyonunu önlemede düşük doz RT'nin avantajları vardır; operasyona gerek kalmadan uygulanan bu tedavi yönteminde enfeksiyon ve sinirde meydana gelebilecek cerrahiye bağlı komplikasyonlardan kaçınılmış olunur. Yüksek doz RT'nin periferik sinirlerde epinöral fibrozisi artırdığı gösterilmiştir. Düşük doz RT sonrası fibroblast sayısındaki azalmanın mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Ancak radyosensitif pluripotent mezenkimal hücrelerin hasar görmesi sonucu fibroblast ve osteoblast büyüme faktörünün sekresyonunun inhibe edilmesine bağlı olarak sayılarının azaldığı tahmin edilmektedir (5,14).

Biz de 7 Gy düşük dozda RT yi sinir iyileşmesinde kullandık. Biz de bu çalışmalara benzer sonuçlar elde ettik. Düşük dozda RT alan grup kontrol grubu ile kıyaslandığında elektrofizyolojik incelemelerde amplitudlar daha yüksek, latans süreleri ise daha kısa idi. Yine aynı şekilde düşük dozda RT grubunun histopatolojik incelemelerde bakılan MKA, SHSA, vakualizasyon ve EMA gibi antite sonuçları kontrol grubuna göre daha olumlu idi.

Bir başka teori ise radyasyon almış dokuların nöroprotektif faktör üretmesiyle ilgilidir. Araştırmalarda spinal kordun ışınlanması vasküler endotelial growth faktör (VEGF) üretimini artırabilir ki bu da kontüzyon yaralanması sonrası lökomotor fonksiyon iyileşmesini sağlayabilir (24,102).

Biz çalışmamızda bu bulgular doğrultusunda sinir onarımı sonrasında hem RT hem de VEGF kullandık. Bu çalışmada spinal kordlar üzerinde olumlu etkiler elde etmişler. Bizim çalışmamızda çalışmış olduğumuz sinir bir periferik sinir olan siyatik sinirdi. Bir diğer fark bizim yaptığımız yaralanma kontüzyon şeklinde değil sinirin tam kat kesilmesi şeklindeydi. Ama yine de VEGF ve düşük doz RT'nin ayrı ayrı olarak çalışmalarda sinir iyileşmesine olumlu yönde etkileri gösterilmiş. Biz de gerek VEGF gerekse düşük doz RT'nin sinir iyileşmesine olumlu etkilemesini bekliyorduk. Hatta en iyi sonuçları karma grupta bekliyorduk. Ulaşılan literatürlerde RT sonrası VEGF tedavisi ile yapılan çalışmalar olmasına rağmen VEGF sonrası RT ile yapılan bir çalışmaya rastlamadık. VEGF belki 24 saat sonra verilen RT yüzünden

etkinliğini yitirmiş olabilir. Bir diğer ihtimal ise kullanmış olduğumuz VEGF dozunun yetersiz olması idi.

VEGF' nin sinir iyileşmesi üzerine olan etkilerini konu alan çok sayıda araştırma bulunmamaktadır.

Brockington ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir derleme çalışmasında sinir sisteminin gelişiminde VEGF'nin sadece vaskülarizasyonda değil aynı zamanda nöral proliferasyon, vasküler ve nöral bağlantıların koordinasyonundaki gelişmede de rol oynadığını bildirmişlerdir. Sinir sisteminin yaralanması sonrası VEGF tedavisinin ve VEGF reseptörlerinin aktivasyonunun sinirde kan desteğini restore ettiğini ve nöral tamiri kolaylaştırıldığını bildirmişlerdir (21).

Ayrıca VEGF'nin motor nöronların sağkalımında kritik önemini olduğunu ve anormal VEGF düzeylerinin amyotrofik lateral skleroz hastalığının gelişmesinde rol oynayabileceği düşünülmüştür (21).

Başka bir derleme çalışmasında Rosenstein ve arkadaşları VEGF' nin sinir sistemi üzerindeki etkinliği araştırılmış. VEGF'nin sinir sistemi gelişmesi ve büyümesinde kan damarlarının gelişmesindeki rolü nedeniyle kritik bir öneme sahip olduğunu açıklanmış. İn vitro ortamda damarsal kanlanmadan yoksun bir şekilde kültürdeki sinir hücrelerine VEGF verilmesiyle sinir hücre sayısında artış ve sinir hücrelerinde büyüme gözlenmiş. Yine embriyo beyin hücresinde VEGF verilen alanlarda nöronal ilerleme ve gelişme izlenmiş adeta sinir ilerlemesinde bir kılavuz görevi yaptığı ortaya konulmuş. Schwann hücresinin VEGF, gliotrofik ve nörotrofik faktörler sentezlediği, Schwann hücre kaynaklı VEGF'nin vaso nervosumları geliştirdiği bu sayede motor ve duyuşal sinir hücrelerini koruduğu düşünülmüş. Ek olarak VEGF'nin Schwann hücrelerini koruduğu onların proliferasyonunu tetiklediği de düşünülmüştür (23).

Periferik sinirlerde VEGF'nin nörogenezis, nöronal gelişme, nöronal korunma ve glial büyümeyi sağladığı tespit edilmiş. Bunun dışında VEGF'nin makrofaj salınımını arttırması, vasküler geçirgenliği arttırması ve kan-beyin bariyerini bozması gibi olumsuz etkilerinin de olduğuna değinilmiş. Bu derlemede VEGF'nin sinir sistemi üzerindeki mekanizmasının tam olarak nasıl olduğunun, direkt veya indirekt

olduğunun bilinmediğini bu konuda çok sayıda çalışmalar yapılması gerektiğini ve ileride bir tedavi yöntemi olarak kullanabileceği öngörülmüş (23).

Bu 2 derleme çalışmasında da VEGF nin uygun formunun 165 aa li insan kaynaklı VEGF olduğu gösterilmiş fakat hangi dozlarda verileceği hakkında bir bilgi verilmemiştir.

Widenfalk ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada omurilik yaralanmalarında akut yerel iskemi meydana geldiği bu lokal iskeminin de sinir üzerinde ikincil dejenerasyona sebep olduğundan bahsedilmiş. Bu iskemi sonucu oluşan ikincil hasarın engellenmesi amacıyla VEGF kullanılmış. Ratlarda spinal kordda 25 mm boyutunda ezilme tarzında bir yaralanma meydana getirilmiş. 165 aa li insan kaynaklı VEGF i 1 µg, 4 µg ve 20 µg dozlarında lokal olarak yaralanma olan bölgeye uygulanmış. Postoperatif 6. haftada histopatolojik incelemeler yapılmış. Hücre proliferasyonu, kan damarlarının diziliminde gelişme, apoptozisde azalma, mRNA larda yeniden kodlanma gibi antitelere bakılmış ve anlamlı değişiklikler elde ettiklerini bildirmişlerdir Değerlendirme sonrasında 4 µg VEGF tedavisi alan grupta en iyi sonuçlar elde edilmiştir (24).

Lopes ve arkadaşlarının ratların siyatik sinirleri üzerinde yaptığı çalışmada 26 rat kullanılmış. 14 tanesi tedavi grubu (VEGF tedavisi alan) ve 12 tanesi kontrol grubu olmak üzere iki gruba ayrılmış. Ratların siyatik sinirleri kesilip epinoral onarımları yapılmış. Tedavi grubuna sinir onarımının hemen sonrasında sinir onarım hattına topikal olarak VEGF uygulanmış. Çalışmada 50 µg insan kaynaklı 165 aa li VEGF kullanılmış. Postoperatif 6. haftada elektron mikroskobu altında histopatolojik incelemeler yapıp siyatik sinirler incelenmiş. Miyelin kılıf kalınlıkları ve siyatik sinirdeki damarlanma miktarları incelenmiş. Fonksiyon değerlendirilmesi için gastroknemius kas ağırlığına bakılmış. VEGF tedavisi alan grupta anlamlı bir şekilde diğer gruba göre sinir iyileşmesi ve fonksiyonellik anlamında üstünlük olduğu ortaya konulmuş. Gastroknemius kas ağırlıkları tedavi grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek ölçülmüştür. Sonuç olarak VEGF tedavisinin sinir iyileşmesini olumlu yönde etkilediğini göstermişlerdir (22).



Biz de daha önce yapılan bu çalışmalardaki bulgular doğrultusunda 1 µg 165 aa li insan kaynaklı VEGF'yi sinir onarımından hemen sonra koaptasyon hattına topikal olarak uyguladık.

Biz çalışmamızda VEGF'nin tek başına verildiği grubu diğer gruplarla kıyaslayınca sinir iyileşmesi üzerinde olumlu yönde bir etkisini bulamadık. Fakat çevre dokulardaki kanlanma artışı dikkatimizi çekti. Sadece latans süresinde bir kısalma elde ettik. Bunu VEGF'nin özellikle miyelinli kılıflar üzerinde olumlu etkisi olduğu şeklinde yorumlayabilirsek de histopatolojik incelemelerde tam aksine olumsuz etkileri sebebiyle MKA skoru en yüksek bu grupta çıktı.

VEGF veriliş şekli olarak diğer çalışmalarda olduğu gibi lokal yolladır. Fakat genelde daha yüksek dozlarda kullanılmıştır. Çalışmamızda VEGF pahalı olması sebebiyle yüksek dozlarda kullanılmadı. İlacın tam olarak beklenen etkisini görmek için daha yüksek dozların gerektiği kanaatına vardık. VEGF grubunda beklenen iyileşmenin olmaması yetersiz doz uygulanmasına bağlanmıştır.

Ulaşabildiğimiz literatürlerde VEGF ve RT'nin ayrı ayrı verilerek sinir iyileşmesi üzerine olumlu etkilerini yazan çalışmalar bulunmasına rağmen RT+VEGF kombine tedavisine hiç rastlamadık. Biz çalışmamızda olumlu etkinin artacağını düşünerek birlikte kullandık fakat beklediğimiz gibi olmadı.

RT+VEGF kombinasyonunun mevcut bilgiler ışığında en olumlu etki yapmasını beklerken özellikle amplitud ölçümlerinde bu grubun tüm ratlarında düşük amplitudlar elde edildi. Bu grubun latans süreleri de kendi içinde tutarlı bir şekilde diğerlerine göre uzamış olarak çıktı. Fakat histopatolojik değerlendirme sonuçları sadece RT verilen gruba yakın değerlerde olacak şekilde olumluydu. Bu noktada klinik olarak bizim ilgilendiğimiz ve daha değerli olan elektrofizyolojik değerlendirmeler kabul edilecek olursa en kötü sonuçlar RT+VEGF alan grupta çıkmıştır.

RT tedavisi ulaşabildiğimiz literatürlerde diğer çalışmalarda olduğu gibi düşük doz 700 cGy ve bolus materyali kullanılarak istenilen yere yapılmış ve istenilen sonuçlar elde edilmiştir.

RT ve VEGF' nin birlikte sinir üzerine verilmesiyle ilgili etkilerini araştıran bir çalışmaya ulaşabildiğimiz literatürlerde rastlanılmamıştır. Patrick ve arkadaşları ratlarda karın cildine RT verildikten sonra fasyakutan flep uygulamasında vaskularizasyon arttırması amacıyla VEGF vererek bir çalışma yapmışlar. Burada flep yaşayabilirliği açısından anlamlı sonuçlar elde etmişler (18).

Fakat bizim çalışmamızda önce VEGF sonra RT verildiği için belki de RT' nin VEGF etkilerini bozmuş olduğu dűřünülebilir. Fakat sadece VEGF alan grupta da beklenen olumlu etkinin olmayışı bizi bu hipotezden uzaklaştırıyor. Ulařabildiđimiz literatürlerde VEGF tedavisi ardından RT tedavisi ile ilgili bir çalışma bulunmamıştır.

VEGF ve düşük dozda RT' nin mekanizmalarının tam olarak ortaya konulabilmesi için daha detaylı fizyolojik ve histopatolojik çalışmaların yapılması gerekmektedir.

VEGF'nin RT den sonra uygulanmasının ve dozunun daha yüksek tutularak yapılacak ileri deneysel çalışmaların klinik uygulamalar için daha aydınlatıcı olacağı dűřüncesindeyiz.

## SONUÇLAR

Periferik sinir yaralanmalarının fizyopatolojik mekanizmaları hakkındaki bilgilerimiz moleküler ve hücrel biyolojinin gelişmesine paralel olarak her geçen gün artmaktadır. Buna rağmen tedavisindeki başarı oranı halen çok yüz güldüğü değildir.

Bu çalışmada temel olarak periferik sinir yaralanması sonucu düşük doz radyoterapi ve VEGF'nin (Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü) ayrı ayrı ve beraber verilmesinin sinir iyileşmesi üzerindeki etkilerini araştırdık. Değerlendirmelerimizi elektrofizyolojik incelemeler ve histopatolojik incelemeler ile yaptık.

Düşük dozda radyoterapi tedavisi sonucu istatistiksel olarak anlamlı olumlu gelişmeler saptarken, VEGF ve RT+VEGF tedavisinden olumlu sonuçlar elde edemedik. Çalışmamızda VEGF'yi pahalı olması sebebiyle diğer çalışmalardaki gibi yüksek dozlarda kullanamadık. Düşük dozlarda etkisinin yine ortaya çıkmasını bekliyorduk. İlacın tam olarak beklenen etkisini görmek için daha yüksek dozların gerektiği kanaatine vardık.

Periferik sinir hasarı sonucu meydana gelen yetersiz iyileşmeler insanlarda küçümsenmeyecek sekeller bırakmaktadır. Bunun dışında iş gücü kaybına ve sosyoekonomik düzeyde düşmeye de sebep olurlar. Bunları göz önünde bulundurup bu konuda daha fazla deneysel çalışmaların yapılıp klinik uygulamalar için yol göstericilik yapması gerektiği kanaatindeyiz.

## KAYNAKLAR

- 1) Mackinnon SE, Dellon AL, Hudson AR, Hunter DA, Nerve regeneration through a pseudosynovial sheath in a primate model. *Plast Reconstr Surg* 1985; 75: 833-841.
- 2) Demircan N, Zileli M. *Periferik Sinir Cerrahisi*. Ankara, 1.Baskı, Turk Norosirurji Derneği Yayınları, 99-107, 2008.
- 3) McLellan DL. Longitudinal sliding of median nerve during hand movements: A contributory factor in entrapment neuropathy *Lancet* 1: 633–634, 1975.
- 4) McLellan DL, Swash M. Longitudinal sliding of the median nerve during movements of the upper limb. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 39: 556–570, 1976.
- 5) Berman B, Bielely HC. Adjunct therapies to surgical management of keloids. *Dermatol Surg*, 22: 126–130, 1996.
- 6) Borok TL, Bray M, Sinclair I. Role of ionizing irradiation for 393 keloids. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 15: 865–870, 1988.
- 7) Chaudhry MR, Akhtar S, Duvalsaint F, Garner L, Lucente FE. Ear lobe keloids, surgical excision followed by radiation therapy: A 10 year experience. *Ear Nose Throat J* 73: 779–781, 1994.
- 8) Doornbos JF, Stoffel TJ, Hass HC, Hussey DH, Vigliotti AP, Wen BC, Zahra MK, Sundeen V. The role of kilovoltage irradiation in the treatment of keloids. *Int J Rad Oncol Biol Phys* 18: 833–839, 1990.
- 9) Healy WL, Lo TC, DeSimone AA, Rask B, Pfeifer BA. Single-dose irradiation for the prevention of heterotopic ossification after total hip arthroplasty: A comparison of doses of five hundred and fifty and seven hundred centigray. *J Bone Joint Surg Am* 77A:590–595, 1995.
- 10) Klumpar DI, Murray JC, Anscher M. Keloids treated with excision followed by radiation therapy. *J Am Acad Dermatol* 31: 225–231, 1994.
- 11) Konski A, Pellegrini V, Poulter C, DeVanny J, Rosier R, Evarts CM, Henzler M, Rubin P. Randomized trial comparing single dose versus fractionated irradiation for prevention of heterotopic bone: A preliminary report. *Int J*

Radiat Oncol Biol Phys 18: 1139–1142, 1990.

- 12) Kovalic JJ, Perez CA. Radiation therapy following keloidectomy: A 20 year experience. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 17: 77–80, 1989.
- 13) Sclafani AP, Gordon L, Chadha M, Romo T. Prevention of earlobe keloid recurrence with postoperative corticosteroid injections versus radiation therapy. *Dermatol Surg* 22: 569–574, 1996.
- 14) Seegenschmiedt MH, Keilholz L, Martus P, Goldmann A, Wolfel R, Henning F, Sauer R. Prevention of heterotopic ossification about the hip: Final results of two randomized trials in 410 patients using either preoperative or postoperative radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 39: 161–171, 1997.
- 15) Göçmen S, Şirin S, Oysul K, Ulaş Ü, Öztaş E. The Effects of Low-Dose Radiation in the Treatment of Sciatic Nerve Injury in Rats; *Turkish Neurosurgery* 2012, Vol: 22, No: 2, 167-173
- 16) Su W-R, Lee J-S , Chen H H-W, Wang L-C. Neurophysiological and Histopathological Evaluation of Low-Dose Radiation on the Cauda Equina and Postlaminotomy Fibrosis *SPINE* Volume 34, Number 5, pp 463–469 2009, Lippincott Williams & Wilkins
- 17) Gorgulu A, Uzal C, Doganay L, Imer M, Eliuz K, Cobanoglu S, The effect of low-dose external beam radiation on extraneural scarring after peripheral nerve surgery in rats. *Neurosurgery* 2003; 53: 1389-95.
- 18) Patrick C. Angelos, Winn SR et al. Evaluating Revascularization and Flap Survival Using Vascular Endothelial Growth Factor in an Irradiated Rat Model *Arch Facial Plast Surg*. 2011;E1-E2
- 19) Sondell M, Lundborg G, Kanje M. Vascular endothelial growth factor stimulates Schwann cell invasion and neovascularization of acellular nerve grafts. *Brain Res* 1999; 846: 219–28
- 20) Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev* 1997; 18: 4–25
- 21) Brockington A, Lewist C, Wharton S, Shaw PJ. Vascular endothelial growth factor and the nervous system. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2004; 30: 427–46

- 22) Lopes F, Lisboa B, Frattini F, Almeida F. Enhancement of sciatic nerve regeneration after vascular endothelial growth factor (VEGF) gene therapy *Neuropathology and Applied Neurobiology* (2011), 37, 600–612
- 23) Rosenstein J, Krum J and Ruhrberg C, VEGF in the nervous system organogenesis 6:2, 107-114; April/May/June 2010; Landes Bioscience
- 24) Widenfalk J, Lipson A, Jubran M , Hofstetter C, Ebendal T, Cao Y and Olson L. Vascular Endothelial Growth Factor Improves Functional Outcome and Decreases Secondary Degeneration In Experimental Spinal Cord Contusion Injury *Neuroscience* 120 (2003) 951–960
- 25) Payne SH Jr. Nerve repair and grafting in the Upper Extremity. *J South Orthop Assoc* 2001;10:173–89.
- 26) Terzis JK, Sun DD, Thanos PK. Historical and basic science review: Past, Present, and Future of Nerve Repair. *J Reconstr Microsurg* 1997;13:215–25.
- 27) Thomas MB. Nerve repair and grafting. In: Green DP, Hotchkiss RN, Pederson WC, eds. *Green's Operative Hand Surgery*. 4th ed. Philadelphia Churchill Livingstone; 1999: 1381–404.
- 28) Mackinnon SE, Dellon AL. Clinical nerve reconstruction with a bioabsorbable polyglycolic acid tube. *Adv Plast Reconstr Surg* 1990;85: 419–424.
- 29) Siegelbaum SA, Koester J: Ion channels. Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM (eds). *Principles of Neural Science*, 3. edit, New York: Elsevier, 1991: 66-79.
- 30) Ertekin C: Sinaps Fiziyojisi. *Nörolojide Fizyopatoloji ve Tedavi*. İzmir; 1987, 41-55.
- 31) Myers RR. Anatomy and microanatomy of peripheral nerve. *Neurosurgery Clin N Am* 2: 1 -20,1991.
- 32) Worth RM: Anatomy and physiology of peripheral nerves. Wilkins RH, Rengachary SS (eds). *Neurosurgery*, New York: McGraw-Hill, 1996:3099-3104.
- 33) Jacques L, Kline DG. Response of the peripheral nerve to physical injury, Crockard A, Hayward R, Hoff JT (eds): *Neurosurgery: The Scientific Basis of Clinical Practice*, ed 3. London: Blackwell, 2000, Vol 1, 516–525.

- 34) Lewis T, Pickering GW, Rothschild P. Centripetal paralysis arising out of arrested bloodflow to the limb. *Heart* 1931; 16: 1–32.
- 35) Ochoa J, Danta G, Fowler TJ, et al. Nature of the nerve lesion caused by a pneumatic tourniquet. *Nature* 1971;233:265–266.
- 36) Ochoa J, Fowler TJ, Gilliatt RW. Anatomical changes in peripheral nerves compressed by a pneumatic tourniquet. *J Anat* 1972;113:433–455.
- 37) Seddon HJ: Three types of nerve injury. *Brain* 1943;66: 237-288.
- 38) Thomas PK, Berthold CH, Ochoa J. Microscopic anatomy of the peripheral nervous system. *Peripheral Neuropathy*. 3rd edition. editor: Dyck P. Philadelphia; WB Saunders 1993: 28-80.
- 39) Mackinnon SE, New directions in peripheral nerve surgery. *Ann Plast Surg* 1989; 22: 257-58.
- 40) Saleh MS, John YSK. Repair and grafting of the peripheral nerve. In: Mc Carty GJ, ed. *Mates Plastic Surgery*. 2th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2006:719–20.
- 41) Terzis JK, Smith KL. Repair and grafting of the peripheral nerve. In McCarty (Ed) *Plastic Surgery*, WB Saunders, Philadelphia. 1990;Ch 19: 630 – 697.
- 42) 100. Dellon AL. Wound healing in nerve . *Clin Plast Surg*. 1990(17):3,545-570.
- 43) Young L, Wray RC, Weeks PM: A randomized prospective comparison of fascicular and epineural digital nerve repairs. *Plast Reconstr Surg* 1981;68:89-92.
- 44) Kato H, Minami A, Kobayashi H: Functional results of low median and ulnar nerve repair with intraneural fascicular dissection and electrical fascicular orientation. *J Hand Surg Am* 1998;23:471-482.
- 45) Gruber H, Zenker W: Acetylcholinesterase: histochemical differentiation between motor and sensory nerve fibers. *Brain Res* 1973(51);207-214
- 46) Szabolcs MI, Gruber H, Schade GE, et al: Selective fascicular nerve repair: a rapid method for intraoperative motor sensory differentiation by acetylcholinesterase histochemistry. *Eur J Plast Surg* 1991;14:21.
- 47) Riley DA, Lang DH: Carbonic anhydrase activity o human peripheral nerves: a possible histochemical aid to nerve repair.. *J Hand Surg Am* 1984(9);112-120.,

- 48) Birch R, Bonney G, Parry CB: Principles of nerve repair. In Birch R, Bonney G, Parry CB, eds: Surgical Disorders of the peripheral nerves. New York, Churchill Livingstone,1998;;102-104
- 49) Fischer DW, Beggs JL, Kenshalo DL Jr, et al: Comparative study of microepineurial anastomoses with the use of CO2 laser and suture techniques in rat sciatic nerves. Part 1. Neurosurgery 1985(17);300-308
- 50) Scrober R, Ulrich F, Sander T, et al: Laser induced alteration of collagen substructure allows microsurgical tissue welding. Science 1986(232);1421-1422.
- 51) Maragh H, Mayer BS, Davenport D, et al: Morphofunctional evaluation of fibrin glue versus microsuture nerve repairs. J Reconstr Microsurg 1990(6);331-337
- 52) Narakas A: The use of fibrin glue in repair of peripheral nerves. Orthop Clin North Am 1988(19);187-199.
- 53) Lundborg G. A 25 year perspective of peripheral nerve surgery: Evolving neuroscientific concepts and clinical significance. J Hand Surg 2000; 391-414.
- 54) Urabe T, Zhao Q, Lundborg G, et al. Effects of delayed nerve repair on regeneration of rat sciatic nerve. Restor Neurol and Neurosci 1995; 9:1-5.
- 55) Dam-Hieu P, Lacroix C, Said G. Reduction of postoperative perineural adhesions by hyaloglidle gel: An experimental study in the rat sciatic nerve. Neurosurg 2005; 56: 425–33.
- 56) Ozgenel GY. The effects of a combination of hyaluronic and amniotic membrane on the formation of peritendinous adhesions after flexor tendon surgery in chickens. J Bone Joint Surg Br 2004; 86: 301–7.
- 57) Bowden R, Gutmann E. Denervation and reinnervation of human voluntary muscle. Brain 1944;67:273–313.
- 58) Breidenbach WB, Terzis JK. The blood supply of vascularized nerve grafts. J Reconstr Microsurg 1986;3:43–58.
- 59) Brushart TM, Seiler WA. Selective reinnervation of distal motor stumps by peripheral motor axons. Exp Neurol 1987;97: 289–300.
- 60) Danielsen N, Varon S. Characterization of neurotrophic activity in the silicone chamber model for nerve regeneration. J Reconstr Microsurg 1995;11:231–5.



- 61) Wilgis EF, Murphy R: The significance of longitudinal excursion in peripheral nerves. *Hand Clin* 2: 761–766, 1986.
- 62) Sarikcioglu L, Ozkan O. Yasargil-Phynox aneurysm clip: a simple and reliable device for making a peripheral nerve injury. *Int J Neurosci*, 2003 Apr: 113(4): 455-64.
- 63) Jones NF, Shaw WW, Katz RG, Angeles R: Circumferential wrapping of a flap around a scarred peripheral nerve for salvage of end-stage traction neuritis. *J Hand Surg [Am]* 22A:527–535, 1997.
- 64) Ruch DS, Spinner RM, Koman LA, Challa VR, O’Farrell D, Levin LS: The histological effect of brain vein wrapping of peripheral nerves. *J Reconstr Microsurg* 12: 291–295, 1996.
- 65) Xu J, Varitimidis SE, Fisher KJ, Tomaino MM, Sotereanos DG: The effect of wrapping scarred nerves with autogenous vein graft to treat recurrent chronic nerve compression. *J Hand Surg [Am]* 25A:93–103, 2000.
- 66) Peterson J, Russel L, Andrus K. Reduction of extraneural scarring by ADCON–T/N after surgical intervention. *Neurosurg* 1996; 38: 976–84.
- 67) Morton V.J. : *The X-Ray or Photography of invisible and its value in surgery.* American Tech. Book Comp. 1986.
- 68) Euber Eine neue Art Von Strahlen Sitzungs Berichte der Physikalish-medicineschen GesellSchaft zu Würzburg No9, 132-141, Jahrgang.; 1985.
- 69) Steel G.G. : *basic Clinical Radiobiology.*, Edward Artnold Pbl.; 1993
- 70) *Biomedical Imaging and Intervention Journal* 2007; 3(1):e12-149
- 71) Ünal A, Çakmak A. Radyoterapi. *Klinik Cerrahi Onkoloji*, 1977:236-243).
- 72) Gerard A, Buyse M. Preoperative radiotherapy as adjuvant treatment in rectal cancer. *Annals of Surgery*, November 1988:606-614)
- 73) Özalpan A. Temel Radyobioloji. Haliç Üniversitesi; (2001). 8-15, 214-6
- 74) Khan FM. *The Physics of Radiation Therapy*, 3rd Edition (Eds: Pine J., Standen M, Kairis LR, Boyce T). Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia; 2003. 42-43, 160-161, 179, 507-17
- 75) Eaton, Charles; Seegenschmiedt, M. Heinrich; Bayat, Ardeshir; Gabbiani, Giulio; Werker, Paul; Wach, Wolfgang. *Dupuytren's Disease and Related*

Hyperproliferative Disorders: Principles, Research, and Clinical Perspectives. Springer. pp. 355–364, 2012.

- 76) Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, Perruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science* 1983;219:983-5.
- 77) Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparinbinding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;161:851-8.
- 78) Testa U, Pannitteri G, Condorelli GL. Vascular endothelial growth factors in cardiovascular medicine. *J Cardiovasc Med* 2008;9:1190-221.
- 79) Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003;9:669-76.
- 80) Deckers MM, van Bezooijen RL, van der Horst G, Hoogendam J, van Der Bent C, Papapoulos SE et al. Bone morphogenetic proteins stimulate angiogenesis through osteoblast-derived vascular endothelial growth factor A. *Endocrinology* 2002;143:1545-53.
- 81) Bluteau G, Julien M, Magne D. VEGF and VEGF receptors are differentially expressed in chondrocytes. *Bone* 2007;40:568-76.
- 82) Kleespies A, Guba M, Jauch KW, Bruns CJ. Vascular endothelial growth factor in esophageal cancer. *J Surg Oncol.* 2004; 87:95-104.
- 83) Pradeep C.R., Sunila E.S. Expression of Vascular Endothelial Growth Factor and VEGF Receptors in Tumor Angiogenesis and malignancies. *Integrative Cancer Therapies* 2005; 4:315-21.
- 84) Laka KP, Chakraborty C. Role of Nitric oxide in carcinogenesis and tumor progression. *Lancet Oncol.* 2001; 2:149-5.
- 85) Shibuya M, Yamaguchi S, Yamane M, Ikeda T, Tojo A, Matsushime H. and Sato M. Nucleotide sequence and expression of a novel human receptor type tyrosine kinase gene closely related to the fms family. *Oncogene* 1990;5:519-24
- 86) Hiratsuka S, Minowa O, Kuno J, Noda T, and Shibuya M. Flt -1 lacking the tyrosine kinase domain is sufficient for normal development and angiogenesis in mice. *Proc Nat Acad Sci USA* 1998;95:9349-54

- 87) Ajithkumar Puthillath, Anush Pate. Targeted therapies in the management of colorectal carcinoma: role of bevacizumab, onco targets and therapy. 2009; 2: 1-15.
- 88) Ling Wang, Huiyan Zeng, Ping Wang. Neuropilin-1-mediated Vascular Permeability Factor/Vascular Endothelial Growth Factor-dependent Endothelial Cell Migration. *The Journal of Biol.Chem.* 2008; 278; 49.
- 89) Antony M., Carmen M., Homer S. An Integrative Model For Vascular Endothelial Growth Factor A as A Tumor Biomarker. *The Royal society of Chemistry* 2010; 2; 397-407.
- 90) Cavallaro U., Christofori G. Molecular Mechanisms of Tumor Angiogenesis and Tumor Progression. *Journal of Neuro-Oncology* 2000; 50; 63-70.
- 91) Pamela J. Paley, M.D. Katherine A. Staskus, Ph.D. Vascular Endothelial Growth Factor Expression in Early Stage Ovarian Carcinoma. *Cancer*. 1997; 98-106.
- 92) Lin G, Chen KC, Hsieh PS, Yeh CH, Lue TF, Lin CS, Neurotrophic effects of vascular endothelial growth factor and neurotrophins on cultured major pelvic ganglia. *BJU Int* 2003; 92: 631-5.
- 93) Nachemson AK, Lundborg G, Myrhage R, Kank F. Nerve regeneration and pharmacological suppression of the scar reaction at the suture site. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1985; 19: 255-260..
- 94) Gerszten PC, Moossy JJ, Flickinger JC, Gerszten K, Kalend A, Martinez AJ. Inhibition of peridural fibrosis after laminectomy using low-dose external beam radiation in a dog model. *Neurosurgery* 46: 1478-1485, 2000
- 95) Kalderon N, Xu S, Koutcher JA, Fuks Z: Fractionated radiation facilitates repair and functional motor recovery after spinal cord transection in rat. *Brain Res* 904:199-207, 2001
- 96) Zeman RJ, Feng Y, Peng H, Visintainer PF, Moorthy CR, Couldwell WT, et al: X-irradiation of the contusion site improves locomotor and histological outcomes in spinal cord-injured rats. *Exp Neurol* 172:228-234, 2001.
- 97) Ridet JL, Pencalet P, Belcram M, Giraudeau B, Chastang C, Philippon J, et al: Effects of spinal cord x-irradiation on the recovery of paraplegic rats. *Exp Neurol* 161:1-14, 2000.

- 98) Mitchell JB, DeGraff W, Kaufman D, Krishna MC, Samuni A, Finkelstein E, et al: Inhibition of oxygen-dependent radiation-induced damage by the nitroxide superoxide dismutase mimic, tempol. *Arch Biochem Biophys* 289: 62–70, 1991.
- 99) Zhang SX, Geddes JW, Owens JL, Holmberg EG: X-irradiation reduces lesion scarring at the contusion site of adult rat spinal cord. *Histol Histopathol* 20: 519–530, 2005.
- 100) Sherman ML, Datta R, Hallahan DE, Weichselbaum RR, Kufe DW: Ionizing radiation regulates expression of the c-jun protooncogene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87: 5663–5666, 1990
- 101) Kalderon N, Fuks Z: Severed corticospinal axons recover electrophysiologic control of muscle activity after x-ray therapy in lesioned adult spinal cord. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93: 11185–11190, 1996.
- 102) Bartholdi D, Rubin BP, Schwab ME: VEGF mRNA induction correlates with changes in the vascular architecture upon spinal cord damage in the rat. *Eur J Neurosci* 9: 2549–2560, 1997.