

Tavşan Siyatik Sinirlerinde Oluşturulan Defektlerin Onarımında Sinir Greftleri ile Ven ve Ters Ven Greftleri Karşılaştırılması: Deneysel Çalışma

The comparasion of nerve grafts with vein and reverse vein grafts in repairing defects produced in rabbit sciatic nerves: Experimental study

Sait DİNDOUST, Kemal UĞURLU*, Nuri ARIKAN, Çağrı SADE*,
Canan TANIK**, Sacit KARAMÜRSEL***

İ.Ü. Veterinerlik Fakültesi

*Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Kliniği

** Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Kliniği

***İ.Ü. Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD

ÖZET

Amaç: Periferik sinirin geniş defektli yaralanmalarında onarım bölgesindeki gerilimi azaltmak için greft uygulanması gerekir. Kullanılan greft, regenere olan aksonlara distal sinir ucuna doğru kılavuzluk dışında, rejenerasyon için aktif, metabolik ortam sağlamalıdır. Bu amaçla; klasik olarak otojen sinir segmentleri, greft olarak kullanılır. Sinir greftinin alındığı yerde duyu kaybı oluşumu ve yeterli uzunlukta bulunamaması, alternatif otolog greft arayışlarını devam ettirmektedir. **Materyal ve Metod:** Bu çalışmada tavşan siyatik sinirlerinde oluşturulan defektlerin onarımında sinir greftleri ile ven ve ters ven greftleri karşılaştırılmıştır. Çalışmada, 12 şer tavşanlık 3 grup oluşturuldu. Her grup içinde 4'er tavşana sinir, düz ven ve ters (invagine) ven greftleri uygulandı. Sinir rejenerasyonun durumu 1.,3.ve 5.ay sonunda elektrofizyolojik ve histopatolojik olarak değerlendirildi. Sinir, düz ve ters ven greftleri, elektrofizyolojik olarak latens dönem ve amplitüd, histopatolojik olarak ise liflerin organizasyonu, miyelin kılıf ve konjonktif doku yönünden karşılaştırıldı.

Bulgular: Elektrofizyolojik incelemelerde bütün deney gruplarında greft yoluyla iletimin olduğu saptandı. 1. ay sonunda değerlendirilen grupta sinir, ven ve ters ven greftlerinin latens dönemleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermezken, sinir greftlerinin amplitüd değerleri önemli ölçüde yüksek bulundu. Bütün gruplarda 3. ve 5. ayda latens dönemler kısaldı, amplitüd değerlerinde artış görüldü. Tüm olgularda sinir rejenerasyonu gözlemlendi. Olguların erken dönem (1.ay) değerlendirmesinde daha az aksonal rejenerasyon ve miyelinizasyon gözlenirken, geç dönemde (3. ve 5. ay) her grupta rejenerasyonun daha iyi olduğu, miyelinli liflerin sayısı arttığı ve daha düzenli olduğu görüldü. Sinirlerin vaskülarizasyonu ters ven grefti uygulananlarda daha iyiydi. Miyelinizasyon, sinir ve ters ven greftlerinde birbirine yakın iken ven greftinde daha az saptandı.

Sonuç: Uzun dönemde (5 ay grubu içinde) sinir greftleri ile ters ven ve ven greftleri arasında elektrofizyolojik ve histopatolojik değerlendirmede istatistik olarak anlamlı fark görülmedi.

Anahtar kelimeler: sinir defekti, ven greft

SUMMARY

Object: It is necessary to administer grafts to treat peripheral nerve injuries with wide defect. The graft used in the treatment of peripheral nerve defects must not only make guidance to developing axons towards distal nerve endings, but also provide an active surrounding for regeneration and promotion. Autogen nerve segments can be used as grafts for this purpose. The loss of sensation at the derivation region of the graft and sometimes absence satisfactory length of the graft caused a demand to alternative autolog grafts.

Materyal and Method: Nerve, standard and inside-out vein grafts were used in this study in the repair of achieved defects in the sciatic nerves of rabbits. For this purpose, 3 groups were established containing 12 rabbits each. Nerve, standard and inside-out vein grafts were administered to 4 rabbits Per group and the level of nerve regenerations were evaluated by electrophysiologic and histopathologically at the end of 1., 3. and 5. months. The nerve, stadard and inside-out vein frafts were compared electrophysiologically relating to their latence period and amplitude, and histopathologically relating to their fibre organisation, myelin sheath and conjunctive tissue.

Results: In electrophysiological examinations, conduction via the grafts was observes in all treatment groups. In the group examined at the end of one month, no statistically important difference was observed among the latence periods of nerve, standard and inside-out vein grafts, but the amplitude values of nerve grafts was increased significantly. Latence periods shortered gradually ana amplitud values increased. Nerve regeneration was observed in every circumstance, while lesser axonal regeneration and myelinisation were observed during the early evaluations (1 month), better regeneration, increased and more orderly myelinated fibers were observed during later periods (3. and 5. month). The vascularisation of nerves was better in inside-out graft treated animals. Myelinisation was similar in nerve and inside-out vein grafts and lesser in standard vein grafts.

Conclusion: No statistical importance was observed between electrophysiologic and histopathologic observations of inside-out vein and standard vein graft groups during longer periods (5 months).

Key words: nerve defect, vein graft

Yazışma Adresi:

Çağrı SADE

Emeklisubayevleri, 64.blok, daire:12 Gayrettepe/İstanbul

Telefon-Fax: 0 212 2259484

GİRİŞ

Hayvanlarda sık karşılaşılan lokomotor sistem travmalarında, kemik ve kas dokusu ile birlikte çoğu zaman periferik sinir dokusunda hasarlanır. Sinir yaralanması olan ekstremitenin fonksiyonlarında, yaralanmanın önemine bağlı olarak değişen derecelerde bozukluklar oluşur. Sinir onarımında seçilecek yöntem yaralanma ve defektin şekline göre belirlenir. Kesi uçları arasında doku kaybı bulunmayan veya çok az olan, uçları karşı karşıya getirilebilen yaralanmalarda sinir direkt nörorafi yapılarak onarılabılırken, defektli yaralanmalarda iki sinir ucu arasına köprü görevi yapacak otojen bir doku veya sentetik bir materyal yerleştirilmesi gerekir. Geniş defekti bulunan periferik sinir yaralanmalarında uygulanan direkt nörorafilerde, gerilimin neden olduğu aşırı fibröz dokunun sinir regenerasyonunu olumsuz etkilediği bir çok çalışmada gösterilmiştir.(1)

Geniş periferik sinir defektlerinin onarımında sinir greftleri 1800'li yıllardan itibaren kullanılmaya başlanmışsa da Seddon tarafından 1947 yılında güncelleştirilmiş 1950-60'lı yıllarda ilgi daha da artmıştır. Sinir greftleri dışında alternatif olarak, allogreft (homogreft)(2), ksenogreft (heterogreft) ve vaskülarize sinir greftleri konusunda deneysel araştırmalar yapılmıştır(3). Periferik sinir onarımında allogreftler hayvanlar ve insanlar üzerinde denenmiş, greft içinde aksonal rejenerasyon ve fonksiyonel iyileşmenin otolog sinir greftlerinden daha az olduğu anlaşılmıştır. Sinir allogreftlerinde, sinirin antijenik özelliğinden dolayı transplantasyon sonrası rejeksiyon görülmektedir (2).

Sinir greftleri; aksonal rejenerasyona bir yol oluşturmasının yanı sıra yapısındaki laminin ve kollajenin destek sağladığı da anlaşılmıştır (4,5,6). Bu maddeler, venlerde de bulunur. Ven duvarının endotel ve kas tabakaları laminin'den, adventisyası ise kollajenden zengindir(7) ayrıca porları aracılığı ile diffüzyona izin verdiğinden sinir liflerinin gelişmesi ve olgunlaşması için uygun metabolik ortamı sağlayabilir(8). Ven grefti ile sinir defektlerinin onarımından sonra yapılan histopatolojik değerlendirmelerde venin dış yüzündeki aksonal rejenerasyonun lumendekinden daha hızlı olduğunun gözlenmesi (2), ven lümeninde bulunan valflerin aksonal rejenerasyonu zorlaştırabileceği (4) düşüncesi ile venin dış yüzünü içine çevirip greft (Ters ven grefti-TVG) olarak uyguladık. Bunu düz ven ve standart sinir greftleri ile karşılaştırarak aksonal rejenerasyona olan etkisini araştırdık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada; yaşları 6-12 ay arasında değişen 1500-2000gr. ağırlığındaki 36 adet Yenizelanda ve melez tavşan kullanıldı. Tavşanlar 12'şerlik 3 gruba ayrıldı. Tavşanların siyatik sinirinde oluşturulan defektlere otojen sinir, ven ve ters ven greftleri uygulandı. Grup A (sinir grefti-SG) Bu gruptaki 12 tavşanın sağ arka bacak posteriorundan longitudinal insizyonla girildi, siyatik sinir kaslar arasından disseke edilerek ortaya çıkarıldı. 15 mm'lik bir sinir segmenti trifurkasyonun 1 cm proksimalinden kesilerek ayrıldı. Daha sonra bu sinir segmenti tekrar yerine greft olarak suture edildi. Tavşanlardan 4'ü 1.ay, 4'ü 3.ay, diğer 4'ü ise 5.ay sonunda elektrofizyolojik ve histopatolojik olarak değerlendirildi.

Grup B (ven grefti-VG) Bu gruptaki 12 tavşanın sağ siyatik sinirinde Grup A da olduğu gibi 15 mm'lik bir defekt oluşturuldu. Defekt, aynı tavşanın vena jugularis eksternasından alınan 17 mm'lik bir ven grefti ile onarıldı. Tavşanlar Grup A'da olduğu gibi 4'ü 1.ay, 4'ü 3.ay ve 4'ü 5.ay sonunda elektrofizyolojik ve histopatolojik değerlendirilmeye alındı.

Grup C (ters ven grefti-TVG) Bu gruptaki 12 tavşanın sağ siyatik sinirinde oluşturulan 15 mm.'lik defektler vena jugularis'ten alınan 17 mm'lik ven grefti, grup B'den farklı olarak ters yüz çevrildi. Yani damarın endotel tabakası dışı, adventisya tabakası ise içe gelecek şekilde hazırlanıp defektin onarımında kullanıldı. Tavşanların 4'ü 1.ay, 4'ü 3.ay ve diğer 4'ü ise 5.ay sonunda elektrofizyolojik ve histopatolojik olarak değerlendirildi.

Anestezi

Tüm deneklerde önce deri altına 0.04 mg/kg Atropin sülfat daha sonra intramüsküler 4 mg/kg Ksilazin hidroklorür (Rompun) enjekte edildi. Genel anestezi olarak Ketamin hidroklorür (Ketalar) 50 mg/kg intramüsküler yolla uygulandı. Deneğe göre değişmekle birlikte ortalama 60-90 dakika süren anestezi sağlandı. Ayrıca, ven ve ters ven grefti uygulanan deneklerde operasyon süresini uzatabilmek için 25mg/kg Ketamin hidroklorür ek doz olarak verildi.

Teknik

Sinir grefti uygulanan tavşanların sadece sağ femurunun lateral kısmı, ven ve ters ven grefti uygulanan tavşanların hem servikal hem de femur bölgesinin lateral kısmındaki kıllar tıraş edildi. Deri önce betadin ve alkol ile temizlenip daha sonra antiseptik (Polyvidon-iod) ile dezenfekte edildi. Sinir grefti uygulanan tavşanlar sol tarafı üzerine yatırılarak operasyon masasına tespit edildi. Ven grefti uygulanan tavşanların başı vena jugularise ulaşmak için hiperekstansiyon

durumunda tutuldu.

Grup A (SG): Operasyon iki aşamada tamamlandı. Bu grup tavşanların sağ femur bölgesi lateralinde deriye 6-7 cm'lik longitudinal insizyon uygulandı. Biceps femoris ile semitendineus kasları arasından disseksiyonla siyatik sinire ulaşıldı. Siyatik sinirin, (trifurkasyonun 1 cm proksimalinden) 15 mm'lik bir segmenti rezeke edildi. Bu sinir grefti, rezeke edildiği yere mikroskopla 16x büyütme altında 9/0 monofilament dikiş materyali ile epiperinöral olarak proksimal ve distal uçlarından 6-7 separe dikişle tespit edildi. Derideki insizyon hattı 2/0 ipekle dikilerek kapatıldı.

Grup B (VG): Bu gruptaki tavşanların operasyonu dört aşamada tamamlandı.

I- Boyun sağ tarafta, median hatta paralel 4-5 cm uzunluğunda longitudinal insizyonla girilerek vena jugularis eksterna disseke edildi. Proksimal ve distal kısımlarından krome katgüt ile bağlanarak sınırlandırılan ven bölümünden 17 mm uzunluğunda bir segment greft olarak alındı. Serum fizyolojik ile yıkanarak nemli gazlı bez içinde tutuldu.

II- Sağ arka ekstremitte, uyluk postero-lateral yüzünde deriye 6-7 cm'lik longitudinal insizyon uygulandı. Biceps femoris ve semitendineus kasları disseke edilerek siyatik sinire ulaşıldı. Sinir distalde trifurkasyon noktasına kadar çevre dokulardan disseke edilerek serbestleştirildi. Trifurkasyonun 1cm proksimalinden 15mm'lik bir sinir segmenti çıkarılarak defekt oluşturuldu.

III- Alınan ven grefti, defekte; sinir uçları ven içerisine 1 mm girecek şekilde yerleştirildi. Graft, 16x büyütme altında 9/0 monofilament ipele epiperinöral olarak tespit edildi. Proksimal ve distal uçlara ortalama 6-7 dikiş kondu.

IV- Derideki insizyonlar 2/0 ipekle dikilerek kapatıldı.

Grup C (TVG) Bu gruptaki tavşanlarda operasyon dört aşamada tamamlandı.

I- Grup B'de olduğu gibi vena jugularis eksternadan 17mm uzunluğunda bir segment alındı. Alınan ven grefti serum fizyolojik ile yıkandı. Mikço penssetle venin proksimal ucundan lümenine girilerek venin distal ucu yakalandı. Başka bir pens ile proksimal uç dışarıdan tutularak venin invajine olması sağlandı. Böylece ven greftinin adventisyası içe, endotelise dış yüze getirilmiş oldu.

II- Grup B'de olduğu gibi sağ arka ekstremitte siyatik sinirinde 15mm'lik defekt oluşturuldu.

III- Ters çevirilmiş ven grefti, defekte; sinir uçları ven içerisine 1mm girecek şekilde yerleştirildi. Graftin tesbiti; 16x büyütme altında, 9/0 monofilament ipele,

epiperinöral olarak 6-7 dikişle yapıldı.

IV- Derideki insizyonlar 2/0 ipekle dikilerek kapatıldı. Bu şekilde 36 tavşanın 12 tanesine sinir grefti, 12 tanesine ven grefti, 12 tanesine de ters ven grefti uygulandı. Tavşanlar postoperatif dönemde her kafeste iki adet olacak şekilde korundu. Ekstremitelerine ve operasyon bölgesine zarar vermemeleri için yara özenle temizlendi ve pansumanla kapatıldı. Postoperatif ilk 5 gün geniş spektrumlu antibiyotik uygulandı. Yara bölgesinde veya ekstremitenin başka bir yerinde oluşan enfeksiyon, ülserasyonlar kaydedilerek tedavileri yapıldı.

Elektrofizyolojik inceleme

Elektrofizyolojik değerlendirme greftli sinir segmenti üzerinde aksiyon potansiyeli ölçülerek yapıldı. Bu işlem sırasında genel anestezi uygulandı. Graftli siyatik sinir disseke edilerek açığa çıkarıldıktan sonra, greft ince bir plastik kılıf ile çevre dokulardan ayrılarak izole edildi. Böylece çevre dokular nedeniyle meydana gelebilecek hatalı iletim ve karışıklıklar önlendi. Aralarında 2 mm mesafe bulunan bipolar stimülatör uçları greftin proksimalindeki sağlam sinir bölümüne (Bioscience 10550 kymography stimülatör), kayıt elektrodu ise greftin distalinde sağlam sinir kısmına yerleştirildi. Stimülatör ile 1.4 milisaniye (ms) ve 4 volt (V)'luk impulslar verildi. Tüm olgularda latens dönem (proksimal elektrodan impuls verildikten sonra distal elektrodta potansiyelin kayıt edilmesine kadar geçen süre) ve amplitüd belirlendi. Elde edilen değerler, ekran üzerinde amplitüd ve latensi ölçme imkanı sağlayan osiloskop yardımı ile bilgisayara yüklendi ve Duncan-testi yöntemiyle gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı değerlendirildi.(9)

Histopatolojik inceleme

Elektrofizyolojik değerlendirme tamamlandıktan sonra sakrifiye edilen deneklerden, uygulanan greft ile birlikte alıcı sinirin proksimal ve distal ucunu içine alacak şekilde 3 cm'lik doku alındı. Alınan sinir dokusu örnekleri numaralandırılarak %95'lik etil alkol içeren biyopsi şişelerine kondu. Bu işlemler sinir, düz ven ve ters ven greftlerinin uygulanma zamanlarına göre 3 farklı zamanda (1., 3. ve 5. Ay) tekrarlandı (Tablo 1).

Tablo 1- Histopatolojik inceleme zamanına göre grupların dağılımı.

zamanı	Tavşan sayısı			Tavşan	GÜN		
	GRUP	A	B			C	
1. GRUP :	4	+	4	+	4	Tavşan	33
2. GRUP :	4	+	4	+	4	Tavşan	92
3. GRUP :	4	+	4	+	4	Tavşan	152

TOPLAM :	12 + 12 + 12					Tavşan	

Doku örnekleri 24 saat süreyle %95'lik etil alkolde tespit edildikten sonra 10 mm.'lik kesitler alınarak parafin bloklara kondu. Hazırlanan parafin bloklardan 4 adet kesit yapıldı. Tüm olgular ilk önce Hematoksilen Eosin (HE) , Sudan Black (SB) , Modifiye Masson Trikrom (MT) ile boyandı. Hematoksilen Eosin ile enflamasyon, Schwann hücrelerinin durumu ve miyelin yapısına, Sudan Black ile miyelin kılıfına ve Masson Trikrom ile fibröz dokuya bakıldı. Doku preparatları Olympus ışık mikroskobu ile çeşitli büyütmelerde incelendi.

Histopatolojik incelemede, iyileşme 4 dereceye ayrılarak değerlendirildi. 1.derecede, enflamasyon,yetersiz rejenerasyon, miyelinizasyon şekillenmemiş ve aşırı fibröz doku var. 2.derecede, yetersiz rejenerasyon ve miyelinizasyon şekillenmemiş. 3.derecede, iyi seviyede rejenerasyon ve miyelinizasyon var. Fibröz doku ve enflamasyon yok. 4.derecede, rejenerasyon çok iyi ve tam miyelinizasyon mevcut. Fibrözis ve enflamasyon yok. Bu kriterlere göre olgular ayrı ayrı 1+, 2+, 3+ ve 4+ şeklinde numaralandırılarak sınıflandırılmıştır.

Tablo 2- Postoperatif 1 aylık süre sonunda elektrofizyolojik değerlendirmeye alınan tavşanların latens ve amplitüd değerleri.

GRUP 1	SIRA NO	LATENS ms	AMPLİTÜD mV
A - Sinir Grefti	1	12.7	1.65
	2	12.5	1.64
	3	11.8	2.65
	4	12.2	2.11
B - Ven Grefti	5	12.4	1.39
	6	12.9	1.26
	7	12.8	1.38
	8	12.3	1.33
C - Ters Ven Grefti	9	12.6	1.42
	10	11.8	1.74
	11	12.9	1.45
	12	12.3	1.47

BULGULAR

5 aylık çalışma sırasında genel anestezi veya enfeksiyon nedeniyle kaybedilen denekler çalışmaya dahil edilmeyip, bunların yerine başka denekler kullanıldı. Bazı deneklerde operasyon sonrası felçli bacağı tarsal ve metatarsal bölgesinde dekübitüs yaraları gelişti. Uygun pansumanlarla ortalama bir ay sonunda yaralar iyileştirildi. Operasyon yaralarında tedavi gerektirecek kadar önemli enfeksiyon gelişen 1 tavşan çalışmadan uzaklaştırıldı ve yerine başka bir tavşan kullanıldı.

Elektrofizyolojik bulgular

Elektrofizyolojik incelemede her üç deney grubunun siyatik sinirinde, bütün zamanlarda aksiyon potansiyeli meydana geldiği saptandı. 1. ayın sonunda latens dönem (ms) uzun ve amplitüd (mV) düşük iken 5. ayda latens dönem belirgin olarak kısaldı, amplitüd ise arttı. Her 3 deney grubundaki toplam 36 tavşanda yaptığımız elektrofizyolojik değerlendirmeden elde edilen sonuçlar **Tablo 2,3,4** ve istatistik değerlendirme sonuçları **Tablo 5**'te görülmektedir.

Tablo 3- Postoperatif 3 aylık süre sonunda elektrofizyolojik değerlendirmeye alınan tavşanların latens ve amplitüd değerleri.

GRUP 2	SIRA NO	LATENS ms	AMPLİTÜD mV
A - Sinir Grefti	13	12.3	2.25
	14	10.8	2.83
	15	10.3	2.51
	16	12.2	2.29
B - Ven Grefti	17	12.7	1.63
	18	11.1	2.55
	19	11.8	2.34
	20	12.0	2.44
C - Ters Ven Grefti	21	11.4	2.57
	22	12.1	2.23
	23	11.9	2.38
	24	11.6	2.56

Tablo 4- Postoperatif 5 aylık süre sonunda elektrofizyolojik değerlendirmeye alınan tavşanların latens ve amplitüd değerleri.

GRUP 3	SIRA NO	LATENS ms	AMPLİTÜD mV
A - Sinir Grefti	25	10.8	3.18
	26	9.7	3.06
	27	12.4	2.96
	28	10.7	3.56
B - Ven Grefti	29	10.1	3.34
	30	10.4	3.32
	31	12.2	2.45
	32	9.9	3.59
C - Ters Ven Grefti	33	9.9	3.59
	34	10.4	3.11
	35	10.6	3.34
	36	11.4	2.08

Tablo 5- Bütün grupların latens ve amplitüd değerlerine ait ortalama ve standart sapma değerleri ile Duncan-testi sonuçları (n=4).

	LATENS ms x * s	AMPLİTÜD mV x * s
GRUP 1		
A	12.3 *0.392 ^a	2.01 *0.478 ^a
B	12.6 *0.294 ^a	1.34 *0.059 ^b
C	12.4 *0.469 ^a	1.52 *0.148 ^b
GRUP 2		
A	11.4 *1.003 ^a	2.47 *0.266 ^a
B	11.9 *0.658 ^a	2.24 *0.416 ^a
C	11.8 *0.311 ^a	2.43 *0.162 ^a
GRUP 3		
A	10.9 *1.117 ^a	3.19 *0.263 ^a
B	11.2 *1.105 ^a	2.88 *0.520 ^a
C	10.6 *0.624 ^a	3.03 *0.663 ^a

a,b: Aralarında istatistiksel olarak anlamlı farkları bulunan grupları göstermektedir. (p<0.05).

Histopatolojik bulgular

Sinir, ven ve ters ven greftlerinden alınan kesitlerin mikroskopik incelenmesinde, her üç grupta da sinir rejenerasyonu tespit edildi. Başlangıç döneminde (1. ayda) daha az aksonal rejenerasyon ve miyelinizasyon gözlenirken, geç dönemlerde (3. ve 5. aylarda) yapılan kesitlerde rejenerasyonun genelde her grupta daha iyi olduğu, miyelinli liflerin sayılarının arttığı ve liflerin daha düzenli olduğu görüldü.

Grup 1 (1. ay sonunda değerlendirilen tavşanlar):

A-Sinir Grefti: Gevşek kollajen lifleri arasında Schwann hücreleri gözlemlendi. Sinir lifleri düzenli durumda değildi. Çapları küçük ve saydam görünümdeydiler. Zayıf bir miyelinizasyon ve yaygın ödem saptandı. Kapillar damar tomurcukları görünmekteydi. Konjunktif dokuda artış gözlemlendi.

B-Ven Grefti: Düzensiz ve küçük sinir lifleri gözlemlendi. Ödem ve konjunktif doku sinir greftlerine oranla daha fazlaydı. Kapillar damar tomurcukları vardı. Kollajen liflerden zengin bir matriks görüldü. Schwann hücre oranı sinir grefti grubuna göre daha az bulundu.

C-Ters Ven Grefti: Greft lümeninin dolu olduğu görüldü. Kollajen ve fibröz doku bol miktardaydı. Vasküler tomurcuklar, ven greftine göre biraz daha fazla sayıdaydı. Sinir lifleri ince ve düzensizdi. Ödem ve konjunktif doku sinir greftlerine oranla daha fazla durumdaydı.

Grup 2 (3. ay sonunda değerlendirilen tavşanlar):

A-Sinir Grefti: Sinir lifleri daha düzenli, fibröz doku ve ödemde azalma görüldü. Fasikülleşme minimal seviyede olup liflerin çapı daha artmış ve miyelinizasyon iyi durumdaydı.

B-Ven Grefti: Sinir liflerinin çapı artmakla birlikte hala inceydi. Fibröz doku azalma gösterdi. Fasikülleşme minimal düzeyde ve ven lümeni sinir lifleri ile tamamen dolu durumdaydı. Miyelinizasyon saptandı.

C-Ters Ven Grefti: Ven greftinin lümeni ince sinir lifleri ile dolu ve düzenli haldeydi. Konjunktif doku ve ödem azalmıştı. Fasikülleşme az ve miyelinizasyon orta derecedeydi.

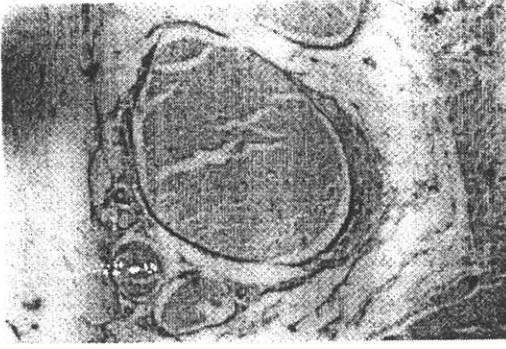
Grup 3 (5. ay sonunda değerlendirilen tavşanlar):

A-Sinir Grefti: Konjunktif kılıfların daha ince yapıda olduğu görüldü. Fasikülleşme ve miyelinizasyon iyi seviyedeydi. Aksolarlar düzenli ve kalınlıkları normale yakın durumdaydı. **Resim 1**

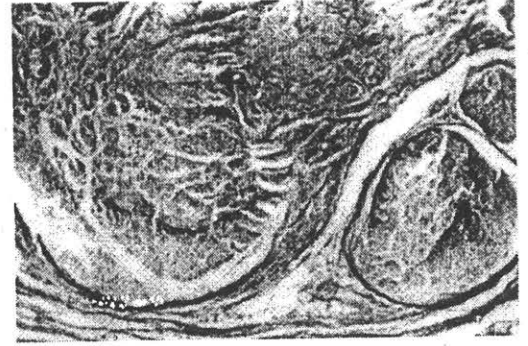
B-Ven Grefti: Lifler düzenli ve daha kalın durumdaydı. Miyelinizasyon ilerlemişti. Fasikülleşme iyiydi. Ödem ve fibröz doku azalmış, konjunktif kılıflar daha incelmış durumdaydı. **Resim 2**

C-Ters Ven Grefti: Greft lümeni tamamen düzenli liflerle dolmuş durumdaydı. Ödem ve fibröz doku yok denecek kadar azalmıştı. Liflerin kalınlığı artmış olmasına rağmen, normale göre biraz daha ince görünümdeydiler. Miyelinizasyon ve sinirin vaskularizasyon durumu iyi seviyedeydi. **Resim 3**

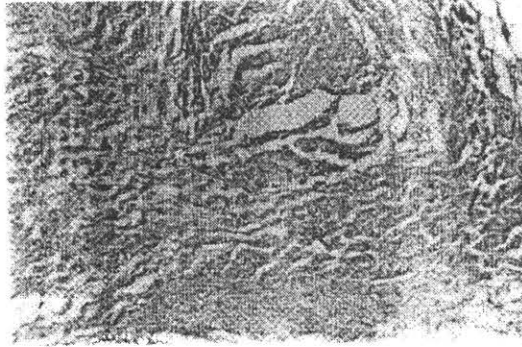
Resim 1



Resim 1



Resim 3



Olguların 1, 3 ve 5. ay sonunda yapılan histopatolojik incelemelerinde, preparatların boyama tipine (HES, Masson Trikrom ve Sudan Black) göre iyileşme derecelerinde farklılıklar gözlemlendi. Boyama tipine göre

yapılan karşılaştırmada iyileşme dereceleri (Tablo 6 ve 7)'de görülmektedir. Ortalama değerlerdeki artış, iyileşme derecelerinin daha iyi olduğunu göstermektedir.

Tablo 6- Hematoksilen Eosin (HE) boyama yöntemiyle histopatolojik değerlendirme sonuçları.

	SG	VG	TVG
GRUP 1 (1 aylık)	2+	2+	1+
	3+	1+	1+
	4+	1+	2+
	3+	2+	1+
GRUP 2 (3 aylık)	3+	2+	1+
	4+	2+	2+
	3+	2+	2+
	3+	2+	2+
GRUP 3 (5 aylık)	3+	2+	3+
	4+	3+	3+
	4+	2+	2+
	3+	3+	3+

Not : İyileşme durumu, derecesine göre 1+, 2+, 3+, ve 4+ olarak gösterilmiştir.

Tablo7- Masson Trikrom (MT) boyama yöntemiyle histopatolojik değerlendirme sonuçları.

	SG	VG	TVG
GRUP 1 (1 aylık)	1+	3+	2+
	1+	1+	1+
	1+	2+	2+
	2+	1+	1+
GRUP 2 (3 aylık)	3+	1+	1+
	1+	3+	2+
	4+	2+	3+
	2+	2+	3+
GRUP 3 (5 aylık)	4+	2+	4+
	3+	3+	1+
	3+	3+	3+
	4+	2+	3+

Not : İyileşme durumu, derecesine göre 1+, 2+, 3+, ve 4+ olarak gösterilmiştir.

Onarım yapılan her üç grupta da sinir rejenerasyonu gözlemlendi. Ven ve ters ven greftlerinde lifsel yapı görüldü. 5.ay sonunda oldukça iyi bir miyelinizasyon ve fasikülleşme izlendi. Sinirin vaskülarizasyonu yönünden ters ven grefti diğerlerine göre daha iyi olarak bulundu. Erken dönemde gözlenen ven kollapsı geç dönemde gözlenmedi. Miyelinizasyon, sinir ve ters ven greftlerinde birbirine yakın bulunurken ven greftinde daha az şekillendiği görüldü. Aksonal kalınlık yönünden gruplar arasında önemli fark görülmedi.

TARTIŞMA

Defektin olmadığı ya da 1-2 cm den az olduğu periferik sinir yaralanmalarında, klasik onarım, kesi uçlarının primer suture edilmesidir. Geniş defektin bulunduğu yaralanmalarda ise onarım hattının gergin olmaması için greft uygulanması gerekir(10,11). Greft, aksonal rejenerasyon için metabolik olarak aktif ortam sağlar, fibröz dokunun bölgeyi doldurmasını engeller(10) ve regenerere aksonlara distal sinir ucuna doğru kılavuzluk yapar.(4,11)

Günümüzde; geniş periferik sinir defektlerinin, gerilimsiz onarımı için standart yöntem, otojen sinir greftleridir(12). Uygun sinir donör bölgelerinin sınırlı olması, greftin alındığı yerde duyu kaybına yol açması, nöroma oluşabilme riski(13), araştırmacıları değişik greft arayışlarına yöneltmiştir. Literatürde bu alanda yapılmış çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Homo ve hetero sinir greftleri, vaskülarize sinir greftleri (14),silikon (13, 15),poliglikolik asit (16) gibi biyolojik

olmayan tüpler ile dekalsifiye kemik(10, 13,17,18), arter(13,19), ven (4,7,8,13,20) ve kollajen(13) gibi biyolojik tüpler greft olarak kullanılmıştır. Büngner (21), köpek siyatik sinir defektini arter grefti ile onarıp başarılı sonuç almıştır. Foramitti (22), siyatik sinir defektlerinde taze ve formaldehit içinde bekletilmiş arteri greft olarak kullanmış, her iki grupta da başarılı rejenerasyon elde edildiğinin yanı sıra formaldehitli kanalın daha dayanıklı olduğunu da belirtmiştir(17). Otojen ven greftinin; primer ve sekonder sinir defekti onarımında, sinir grefti kadar yararlı olduğu, iyileşmede önemli derecede fonksiyonel ve histolojik farklılık olmadığı yapılan çalışmalarda görülmüştür (4,7,12). Otojen ven greftleri geçirgenlikleri ile aksonal regenerasyona uygun mikro ortamı sağlar. Ven kanalı içinde ve distal sinir bölümünde minimum skar dokusu geliştiği araştırmalarda da saptanmıştır.(23) Otojen ven greftleri ile periferik sinir onarımından sonra yapılan histolojik incelemelerde, greft dışına sızan bazı sinir liflerinin görülmesi(8,24) önce teknik uygulamadaki eksikliğe bağlanmış, ancak bu konuda yapılan çalışmalar; regenerasyonun, venin dış yüzünde içindekinden daha hızlı olduğunu göstermiştir.(25) Ven greftinin basit modifikasyonu olan invagine ven grefti (IVG) periferik sinir defektlerinin onarımında çok az araştırmacı tarafından kullanılmıştır(4,7). Ven greftinin adventisya tabakasının kollajenden zengin olması, duvar yapısının besin maddelerine geçirgenliği ve lümeninde bulunan valflerin aksonal rejenerasyonu

zorlaştırabileceği düşünülerek; ters (invagine) ven grefti bu çalışmada sinir defektlerinin onarımında kullanıldı.

Çalışmada ters (invagine) ven grefti olgularının, erken döneminde (1.ay) histopatolojik olarak vaskülarizasyonun, ven ve sinir greftlerine göre daha fazla olduğu görüldü. Ancak rejenerasyonlar (Amplitüd ve latens dönemler) arasında istatistiksel önemli bir fark olmadığı saptandı. Sinir grefti uygulanan grupta 1.ayda; Schwann hücreleri ve bazal membranın olumlu etkisi nedeni ile aksonal rejenerasyonun ven ve ters ven greftlerine göre daha iyi olduğu görüldü. Benito-Ruiz J. ve arkadaşları, sinir, ven ve ters ven greftleri uyguladıkları sinir onarımlarının histolojik incelenmesinde, gruplar arasında önemli fark görmemişlerdir. Elektrofizyolojik karşılaştırmada ise ven grefti, ters ven grubuna göre önemsiz ölçüde daha iyi olduğunu gözlemişlerdir. (4)

Bazı araştırmacılar sinir defektinin büyüklüğüne göre, onarımda ven veya sinir greftinin kullanılmasının, rejenerasyonda etkili olduğunu düşünmüşlerdir (25). Rigoni, siyatik sinirde 10 mm'lik defektlerde iki grup arasında fark bulamazken, 20 mm 'lik defektlerde sinir greftinin daha iyi olduğunu göstermiştir (1). Çalışmamızda 15 mm 'lik sinir ve ven greftlerini kullandık ve tüm gruplarda aksonal rejenerasyon saptadık. Denek gruplarında, sadece 1. ayda sinir grefti ile ven ve ters ven greftleri arasında amplitüd değeri yönünden istatistiksel anlamlı fark gözledik. Bununla birlikte, 3. ve 5. aylarda bu materyaller arasında istatistiksel önemi olan bir farklılık saptamadık. Wang K. ve arkadaşları ters ven grefti tekniğini uygulayarak gelişen aksonları direkt olarak venin kollajenden zengin adventisya tabakasına temas ettirmişlerdir. Histolojik inceleme, ters ven greftinde ven ve polietilen tüp greftlere göre daha çok akson ve miyelin geliştiğini göstermiştir. Anastomoz bölgelerinde vaskülarizasyon ters ven greftinde daha çok oluşmuştur. Ters ven grefti grubunda 4 hafta gibi erken bir dönemde demet fasiküller ve iyi organizasyon gözlenmiştir. Elektrofizyolojik incelemede iletim hızı 4, 8. ve 12. haftalarda ters ven grubunda önemli derecede daha üstün bulunmuştur. (7)

Brunelli (10,17), 10 mm'den daha uzun defektlerde uygulanan ven greftinin kemotaksis özelliğinin olmaması ve kanalın kollaps olabilme riskine karşı ven kanalı içine otojen kas dokusu yerleştirmiş ve daha iyi sonuçlar ortaya çıktığını bildirmiştir. Çalışmamızda düz ve ters ven greftlerinde erken dönemde hafif derecede şekillenen kollaps durumu daha sonraki dönemlerde görülmedi ve rejenerasyonun ilerlemesini engelleyici bir durum oluşmadı.

Çalışmada, bütün grupların histopatolojik incelenmesinde sinir rejenerasyonu gözlemlendi. Her üç grupta 1. ayda sinir lifleri ince ve düzensiz olarak görüldü. Ters ven grefti grubunda, greft lümeni rejenerasyonla dolu ve vasküler tomurcuklar daha fazla bulundu, dolayısıyla daha iyi vaskülarizasyon gösterdi. Ödem ve konjonktif doku her 3 grupta fazla durumdaydı. Miyelinizasyon ve fasikülleşme 5. ayda daha iyi bulundu. Miyelinizasyonun, ters ven ve sinir greftlerinde birbirine yakın, ven greftinde daha az olduğu görüldü. Aksonların kalınlığı, gruplar arasında farklılık göstermemiştir.

Sinir, ven ve ters ven greftlerinde yaptığımız elektrofizyolojik incelemede, 1. ayda tüm gruplarda greftler yoluyla iletimin sağlandığını saptadık. Ters ven greftiyle onarım yapılan grupta latens dönem; 12.4 ms, ven greftinde 12.6 ms ve sinir greftinde 12.3 ms bulundu ve istatistiksel önemli fark göstermedi. Ancak 1. ayda sinir grefti uyguladığımız olguların amplitüd değerlerinde düz ven ve ters ven greftlerine göre istatistiksel anlamlı fark saptadık. 5. ayda ters ven grefti uygulanan grupta latens dönem diğer gruplardan daha kısa bulundu. Bunu, 5.ayda ters ven grefti uygulanan grupta daha iyi miyelinizasyon ve rejenerasyonu destekleyen vaskülarizasyona bağladık. Ven grefti grubunda miyelinizasyon ve organizasyon yetersizliğine bağlı olarak latens daha uzun bulundu. Gruplar arasındaki farklılıklar, istatistiksel öneme sahip değildi. Ters ven ile ven greftleri arasında endonöral fibröz doku yoğunluğu açısından farklılık görmedik. Miyelin kılıfın kalınlığı ve çapı, zamanla artış gösterdi. Bu, rejenerasyonun fonksiyonel olarak kalitesini artırdı. Buna paralel olarak amplitüd yükselirken, latens kısaldı.

SONUÇ

Çalışmamızda bütün sinir, ven ve ters ven greftleri içerisinde sinir rejenerasyonu ve sinir potansiyelinin tekrar meydana geldiği saptandı. Greftlerin hiç birinde nöroma şekillenmedi.

Elektrofizyolojik erken dönem değerlendirmede (1 ve 3 ay), latens dönemin sinir greftinde ters ven ve ven greftlerine göre daha kısa, ven grubunda ise ters ven greftine göre daha uzun olduğunu gösterdi. Geç dönem (5 ay) değerlendirmesinde ise gruplar arasında belirgin fark olmamasına rağmen ters ven greftinde latens dönem daha kısa idi.

Histopatolojik değerlendirmede, 1. ayda miyelinizasyon sinir greftinde daha erken başladı. Ancak, miyelinizasyon 5. ayda her üç grupta bir birine çok yakın ve ilerlemiş bulundu. Miyelin kılıf artış oranıyla elektrofizyolojik cevapta latens dönemin kısalmasının

ve amplitüd artışının doğru orantılı olduğu gözlemlendi. Başlangıç döneminde her üç grupta fazla durumda olan ödem ve konjonktif doku, 5. ayda yok denecek kadar azaldı. Ters ven greftinde lümen düzenli lifler ile doluydu, miyelinizasyon ve sinirin vaskülarizasyon durumu iyi seviyede idi.

Çalışmamızda tavşanlarda oluşturduğumuz siyatik sinir defektlerinin ters ven grefti ile onarımında şekillenen sinir rejenerasyonu ve miyelinizasyonun geç dönemde sinir grefti uygulanan olgularla aynı düzeyde olduğu görüldükçe ven grefti uygulananlarda ise daha az şekillendiği görüldü.

KAYNAKLAR

1. Ünsaldı E. Tavşanlarda Perifer Sinirlerde Dikiş Uygulamaları. Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, Konya, 1995.
2. Trumble TE, Parvin D. Cell Viability and Migration in Nerve Isografts and Allografts. Journal of Reconstructive Microsurgery. Vol.10 1994;1:27-34.
3. Ozcan G, Shenag S, Spira M. A New Vascularized Nerve Graft Model in the Rabbit. Journal of Reconstructive Microsurgery, Vol.8, 1992;1: 35-40.
4. Benito-Ruiz J, Navarro-Monzonis A, Piqueras A, Baena-Montilla P. Invaginated Vein Graft as Nerve Conduit: An Experimental Study. Microsurgery 1994; 15:105-115.
5. Lander AD, Fujii DK, Reichardt LF. Laminin is Associated with the "Neurite Outgrowth-Promoting Factors" Found in Conditioned Media. Proc Natl Acad Sci USA 1985; 82: 2183-2187.
6. Valentini RF, Aebischer P, Winn SR, Galletti PM. Collagen- and Laminin-Containing Gels Impede Peripheral Nerve Regeneration Through Semipermeable Nerve Guidance Channels. Exp Neurol 1987; 98: 350-356
7. Wang K, Costas PD, Bryan DJ, Jones DS, Seckel BR. Inside-Out Vein Graft Promotes Improved Nerve Regeneration in Rats. Microsurgery 1993; 14:608-618.
8. Chiu DTW, Janecka I, Krizek TJ, Wolff M, Lovelace RE. Autogenous Vein Graft as a Conduit for Nerve Regeneration. Surgery 1982; 91: 226-233.
9. Duncan DB. Multiple Range and Multiple F-test. Biometrics, 1955; 11: 1-42.
10. Brunelli GA, Battiston B, Vigasio A, Brunelli G, Marcollo D. Bridging Nerve Defects with Combined Skeletal Muscle and Vein Conduits. Microsurgery 1993;14:247-251.
11. Mediantceli LD, Pravyon M, Merle M. Percentage of Nerve Injuries in Which Primary Repair Can be Achieved by End-to-End Approximation: Review of 2181 Nerve Lesions. Microsurgery 1993;14:244-246.
12. Chiu DTW, Lovelace RE, Yu LT, Wolff M, Stengel S, Middleton L, Janecka IP, Krizek TJ. Comparative Electrophysiologic Evaluation of Nerve Grafts and Autogenous Vein. Journal of Reconstructive Microsurgery, Vol.4, 1988;4:303-312.
13. Çataltepe O, Özcan OE, Onur R, Demirhan B, Ruacan Ş, Erbeni A. Arterial Bridging for Repair of Peripheral Nerve Gap: A Comparative Study. Acta Neurochir 1993;121:181-186.
14. Van der Zee C.E.E.M., Schuurman T, Traber J, Gispens WH. Oral Administration of Nimodipine Accelerates Functional Recovery Following Peripheral Nerve Damage in the Rat. Neuroscience Letters.1987; 83:143-148.
15. Ünsaldı E, Canpolat L, Canpolat I, Durmuş AS, Han MC, Köm M. Tavşanlarda Maddi Kayıplı Sinir Dokusu Lezyonlarında Sinir Grefti ve Tubulizasyon Uygulamaları. 6. Ulusal Veteriner Cerrahi Kongresi. Elazığ 1998 ,8-10.
16. Hentz VR, Rosen JM, Xiao SJ, McGill KC, Abraham G. A Comparison of Suture and Tubulization Nerve Repair Techniques in a Primate. J Hand Surg. 1991;16A:251-261.
17. Brunelli GA, Vigasio A, Brunelli GR. Different Conduits in Peripheral Nerve Surgery. Invited review. Microsurgery 1994;15:176-178.
18. Heijke GCM, Klopper PJ, Dutrieux RP. Vein Graft Conduits Versus Conventional Suturing in Peripheral Nerve Reconstructions. Microsurgery, 1993;14:584-588.
19. Tada H, Hirayama T, Atsuta Y, Takemitsu Y. Experimental Study of Neurotization Denervated Muscles with Nerve-to-Vein Transfer. Microsurgery 1991;12:396-401.
20. Walton RL, Brown RE, Matory E, Borah GL, Dolph JL. Autogenous Vein Graft Repair of Digital Nerve Defects in the Finger: Retrospective Clinical Study. Plast Reconstr Surg. 1989;84:944-949.
21. Büngner OV. Die Degeneration-und Regenerationsvorgänge am Nerven Nach Verletzungen. Beitr Pathol Anat. 1891;10:321-393.
22. Rice DH, Berstein FD. The Use of Autogenous Vein for Nerve Grafting. Otolaryngol Head Neck Surg. 1984;92:410-412.
23. Foramtti C. Zur Technik der Nervennaht. Arch Klin Chir. 1904;73:643-648.
24. Godard J, Coulon G, Monnier G, Rouillon D, Jacquet G, Bourghli A, Steimle R. Regenerescence Nerveuse a Travers un Greffon Veineux Chez le Rat Resultats Preliminaires. Neurochirurgie, 1984;30:407-416.
25. Uğurlu K. Sinir Defekti Onarımlarında Ven Grefti ile Sinir Greftinin Karşılaştırılması, Bezmalek Valide Sultan Vakıf Gureba Hastanesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 1996.