



Sıçan siyatik sinir iyileşmesinde insan plasenta süspansiyonunun etkisi

The effect of human placental suspension on rat sciatic nerve healing

İrfan AYAN,¹ İrfan ESENKAYA,² Mustafa KARAKAPLAN,³ Burak GERMEN,⁴
Abtullah MİLCAN,¹ Suzan ZORLUDEMİR,⁵ Cemal ÖZCAN⁶

¹Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı; ²İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi ³Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, ⁴Nöroloji Anabilim Dalı; ⁵Malatya Devlet Hastanesi Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği; ⁶Anadolu Özel Hastanesi Ortopedi ve Travmatoloji Bölümü; ⁵Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

Amaç: İnsan plasenta süspansiyonunun sıçan periferik sinir rejenerasyonundaki etkisi araştırıldı.

Çalışma planı: Çalışmaya ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen, sekiz adet erişkin Sprague-Dawley türü dişi sıçan alındı. Sıçanlar kontrol (n=4) ve denek (n=4) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Sıçanların her iki siyatik siniri anestezisi altında eksplore edilip kesildi ve hemen tamir edildi. Tamir bölgesine işlem sonunda ve ikinci ve beşinci günlerde, test grubunda insan plasenta süspansiyonu, kontrol grubunda ise serum fizyolojik uygulandı. Cerrahi öncesinde ve sekizinci haftanın sonunda fonksiyonel değerlendirme için sıçanların her iki alt ekstremitesine elektromiyografi yapıldı. Sekizinci hafta sonunda histopatolojik değerlendirme için sıçanların yaşamı sonlandırıldı ve tamir bölgesi ve distalinden alınan kesitler incelenerek miyelinli akson sayımı yapıldı.

Sonuçlar: Elektromiyografik değerlendirmede her iki grupta da girişim sonrasında, girişim öncesine göre latans değerlerinde uzama, amplitüd değerlerinde azalma görüldü. Bu değişimler test grubunda biraz daha az olmasına rağmen kontrol grubuyla arasında anlamlı fark yoktu (p>0.05). Kontrol grubunda en belirgin bulgu endoneural kollajen artışı iken, test grubunda rejeneratif aksonal değişikliklerin varlığıydı. Her iki grupta da distaldeki akson sayıları tamir bölgesinden fazla bulundu. Tamir bölgesindeki ve distal bölgedeki miyelinli akson sayımı test grubunda daha fazlaydı; ancak, bu farklılık sadece tamir bölgesindeki akson sayısında anlamlı düzeydeydi (p=0.001).

Çıkarımlar: İnsan plasenta süspansiyonunun periferik sinir rejenerasyonunu olumlu etkileyebileceği sonucuna varıldı.

Anahtar sözcükler: Hastalık modeli, hayvan; sinir rejenerasyonu/fizyoloji; plasental ekstrakt; sıçan; siyatik sinir/yaralanma.

Objectives: We investigated the effect of human placental suspension (HPS) on rat sciatic nerve regeneration.

Methods: Eight adult female Sprague-Dawley rats weighing between 250 and 300 g were randomly divided into control and study groups equal in number. Both sciatic nerves were explored under anesthesia, transected and then immediately repaired. At the end of the operation, and on the second and fifth days, HPS and saline were administered to the operation zone in the test and control groups, respectively. For functional examination, electromyographic activity was measured in posterior extremities of all rats preoperatively and at the end of eight weeks. The rats were then sacrificed to obtain transections from the repaired area and its distal region for histologic examination and the number of myelin-sheathed axons was estimated in both regions.

Results: Electromyographic study showed delayed latency and decreased amplitude following operation in both groups, being less severe in the study group without reaching a significant difference from the control group (p>0.05). The most notable histopathologic finding was increased endoneural collagen in the control group and regenerative axonal growth in the HPS group. The number of axons was greater in the distal region in both groups. In both regions, the number of myelin-sheathed axons was greater in the HPS group, but this difference was significant only for the number of axons in the repair zone (p=0.001).

Conclusion: Our data suggest that HPS may exert a favorable effect on peripheral nerve regeneration.

Key words: Disease models, animal; nerve regeneration/physiology; placental extracts; rats; sciatic nerve/injuries.

Periferik sinirlerde meydana gelen total kesi yaralanmalarından sonra kesinin proksimalinde en distaldeki Ranvier düğümlerinden başlayan aksonal tomurcuklanmalar kesinin distaline girer ve hedef organla temas sağlamaya çalışır. Aksonların distale hedef organa doğru ilerlemelerini hızlandıran en önemli etken, kesinin distalinde oluşan Wallerian dejenerasyonu buradan ve distal hedef organdan salınan nörotrofik faktörlerdir.^[1,2]

Rejenerasyon sürecinin başarı ya da başarısızlıkla sonuçlanması hastanın yaşına, kesinin proksimal ya da distalde olmasına ve maksimum şartlar ve tekniklerle tamir yapılması gibi çevresel ve hücresele etkilere bağlıdır.^[3] Bu süreç, rejenere aksonların tamir sahasına kadar ilerlemesi, tamir sahasını geçmesi, distal güdükte hedef organa doğru ilerlemesi ve hedef organla aksonların yeniden bağlantı kurmaya başlaması ve fonksiyonel iyileşme basamaklarından oluşur.^[4,5] İnsan radial sinirinde yapılan bir çalışmada, dikiş işleminden sonra aksonların tamir sahasını geçmesi için geçen süre 4-5 hafta bulunmuştur.^[4]

Belirtilen süreler en iyi şartlar için geçerlidir. Kesinin proksimalde olması ve tamir bölgesinde olabilecek perinöral fibrozis ile iyileşme, rejenerasyonu yavaşlatarak sürenin daha da uzamasına neden olur. Bu sürelerin uzaması distal son organda geri dönüşümü olmayan fonksiyon kayıplarına neden olur. Bu durum hekimleri, tamir sahasında daha az fibrozis ile iyileşmeyi sağlamak ve rejenerasyonu daha da hızlandırarak bu süreleri en aza indirmek için yeni araştırmalara yönlendirmiştir. Bu amaçla, rejenerasyonu hızlandırmak için birçok büyüme faktörü, hormon ve farmakolojik ajan araştırılmıştır.^[6-15]

İnsan plasentasının sinir rejenerasyonunu hızlandırıcı ve skar dokusunu azaltıcı etkisiyle ilgili yapılmış bir çalışmaya literatürde rastlanmadı. Fakat, amniyon sıvısı ile yapılan benzer çalışmalarda sinir rejenerasyonunu hızlandırıcı ve iyileşme sırasında tamir bölgesindeki skar oluşumunu azaltıcı etkilerinden bahsedilmektedir.^[7,8,16] Bu etkinin, insan plasentasında bulunan plasental laktojen hormon (PLH), plasental büyüme hormonu (PBH) ve leptin gibi hormonların,^[17,18] insülin benzeri büyüme faktörü (IBF)-1 ve 2'yi ve bunların reseptörlerini, sinir büyüme faktörü (NBF), fibroblast büyüme faktörü (FBF) gibi büyüme faktörleri ve tamir bölgesinden endojen hiyaluronik asit (HA) salınımını artırarak oluştuğu

düşünülmektedir. Özellikle içerdiği NBF, bilinen ilk ve en önemli nörotrofik faktördür.^[17,19]

İnsan plasentasındaki hormon, faktör ve proteinlerin miktarlarına ilişkin bazı çalışmalar yapılmıştır. Buna göre, insan plasentasındaki ve eklerinde (desidua, fetal membran, amniyotik membran ve koryonik villus) NBF 12.5-70 pg/g,^[20] TBF alfa 6-100 ng/ml,^[21] TBF beta 10 ng/ml,^[22] NADPH 0.018±0.003 mg/ml,^[23] fibronektin 0.3 mg,^[24] leptin 259±118 pg/g/dakika, hCG 31±13 mU/g/dakika, hPL 1.16±0.19 µg/dakika,^[25] hiyaluronan 1.1-2.9±0.2 µg/mg^[26] bulunmaktadır. Ancak, Verhaeghe ve ark.^[18] tarafından plasenta içindeki bu hormonların plasental bariyeri geçemediği, fetus üzerindeki etkilerinin plasentayı etkileyerek yaptığı bildirilmiştir. Bu bilgiler, plasentanın hormon ve büyüme faktörleri açısından en az amniyon sıvısı kadar zengin olduğunu düşündürmektedir.

Bu çalışmada, insan plasenta süspansiyonunun (İPS) sıçan siyatik sinir rejenerasyonu üzerine etkisini göstermeyi amaçladık.

Gereç ve yöntem

Etik kurul izni alınarak yapılan çalışmada ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen, sekiz adet erişkin, Sprague-Dawley türü dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar kontrol (n=4) ve denek (n=4) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Her iki grupta da sıçanların ikişer siyatik siniri kullanıldı. Böylece, her grupta sekiz adet olmak üzere toplam 16 adet (test n=8, kontrol n=8) siyatik sinir kullanıldı.

İnsan plasenta süspansiyonu (İPS) için, 1.5 ml'lik ampuller içinde insan plasentasının %10'luk NaCl içindeki çözeltisini bulunduran ve çapraz reaksiyon ve alerjik enflamasyona yol açmayan Placenta-Human (P-H) (Wiedemann-Pharma, Almanya) ampulleri kullanıldı.^[22,27,28]

Çalışmamızda sinir rejenerasyonunu değerlendirirken histopatolojik ve elektromiyografik (EMG) yöntemlerden yararlanıldı.^[29]

Tüm sıçanların cerrahi işlem öncesinde her iki alt ekstremitelerinin EMG cihazı ile (Dantec Cantata, Kopenhag, Danimarka) siyatik sinir EMG değerleri ölçüldü (Tablo 1). Elektromiyografik işlemlerle sinirlerde latans ve amplitüd, kaslarda ise spontan aktiviteler değerlendirildi.

Normal koşullarda iletinin mesafe ile ilişkilendirilmesi gereklidir.^[30] Bu nedenle, çalışmamızda ame-

Tablo 1. Latans ve amplitüd değerlerinin karşılaştırılması

	Latans (ms)			Amplitüd (mV)		
	Test (İPS)	Kontrol (SF)	<i>p</i>	Test (İPS)	Kontrol (SF)	<i>p</i>
Girişim öncesi	1.36±0.29	1.42±0.17	0.616	7.36±1.07	6.58±0.66	0.106
Girişim sonrası	1.80±0.35	2.18±0.74	0.204	5.30±1.15	4.17±2.31	0.240

ms: Milisaniye; mV: Milivolt; İPS: İnsan plasenta süspansiyonu; SF: Serum fizyolojik.

liyat öncesi ve sonrası EMG ölçümleri aynı mesafeden (yaklaşık 30 mm) yapıldı.

Cerrahi işlemler yüzüstü pozisyonda standart dorsal gluteal girişimle^[31] ve intramusküler (İM) ketamin hidroklorid 20 mg/kg ve ksilazin hidroklorid 10 mg/kg anestezisi^[32] altında yapıldı. Posterior adale grupları arasından künt diseksiyonla girilerek siyatik sinire ulaşıldı. Daha sonra siyatik sinir peroneal ve tibial dallanma bölgesinin 1 cm proksimalinden keskin bistüri ile kesilip hemen arkasından Zeiss marka cerrahi mikroskopla 16x büyütme altında 10/0 naylon dikişle epinöral olarak tamir edildi. Deneklerde, tamir sahasına 0.3 ml İPS,^[7-9] kontrol grubunda ise aynı dozda serum fizyolojik (SF) enjekte edildikten sonra katlar usulüne uygun kapatıldı. Denek grubundaki sıçanlara girişim sonrası ikinci ve beşinci günlerde aynı dozda İPS, kontrol grubuna ise aynı dozda SF onarım sahasına perkütan enjekte edildi. Sekizinci hafta sonunda, her iki alt ekstremiteye EMG yapıldıktan sonra yüksek doz ketaminle sıçanların yaşamı sonlandırıldı.

Latans ve amplitüd değerleri SPSS 11.0 bilgisayar ortamında bağımsız örnekler (Student t) testi kullanılarak değerlendirildi.

Histolojik değerlendirme için siyatik sinirler yeniden eksplore edildi. Siyatik sinirin tamir hattının 0.5 cm proksimalinden 1 cm distaline kadarlık kısmı alındı. Bu örnekten, tamir hattından ve bunun 0.5 cm distalinden kesitler alındı. Bütün biyopsi örnekleri Karnovsky fiksatifile hemen fiske edildi ve sonra da %1'lik osmium tetroksitle postfiksasyonu yapıldı. Daha sonra birkaç kez etanolla muamele edilip epona gömülerek dehidrate edildi. 1 µm kalınlıktaki kesitler toluidin mavisiyle boyandı ve ışık mikroskopu altında değerlendirildi. Dokuların traşlanmasından sonra 500-engström kalınlığındaki kesitler bakır gridlere alınarak uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyandı ve Zeiss EM 900 transmission elektron mikroskopunda değerlendirildi. Görüntüler ışık mikroskopik değerlendirmeden sonra BAB BS 2000 DOC

modülüyle miyelinli akson sayımı için bilgisayara aktarıldı. Burada 100'lük büyütme altında 240.000 µ²'lik üçer alanda miyelinli aksonların tamamı klasik (manuel) yöntemle sayıldı.^[29] Distal ve tamir bölgesindeki ortalama miyelinli akson sayımları ikili t-testi ve bağımsız örnekler (Student t) testi ile istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Sonuçlar

Elektromiyografik bulgular

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, test grubunda sıçanların girişim sonrası latans ve amplitüd değerlerinin girişim öncesi değerlere daha yakın olduğu görüldü.

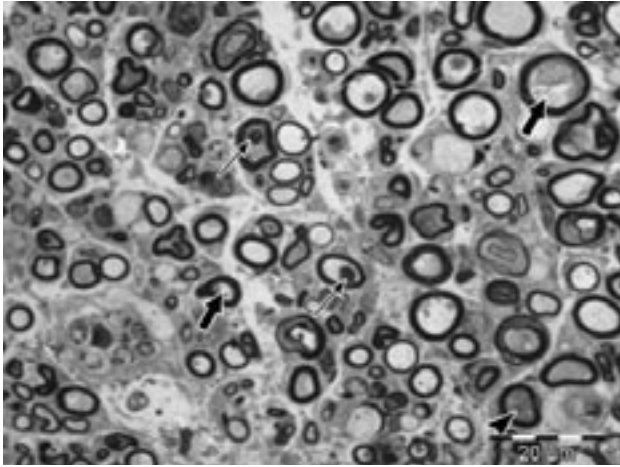
Bu verilere göre hem test hem de kontrol grubunda latans değerlerinde uzama vardı. Latans sürelerindeki bu uzama test grubunda biraz daha az olmasına rağmen kontrol grubuyla arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (*p*=0.204).

Aynı şekilde, hem test hem de kontrol grubunda amplitüd değerlerinde azalma vardı. Bu azalma test grubunda biraz daha az olmasına rağmen kontrol grubuyla arasında anlamlı bir fark yoktu (*p*=0.240) (Tablo 1). Ek olarak, her iki grupta girişim sonrası spontan aktivite görülmedi.

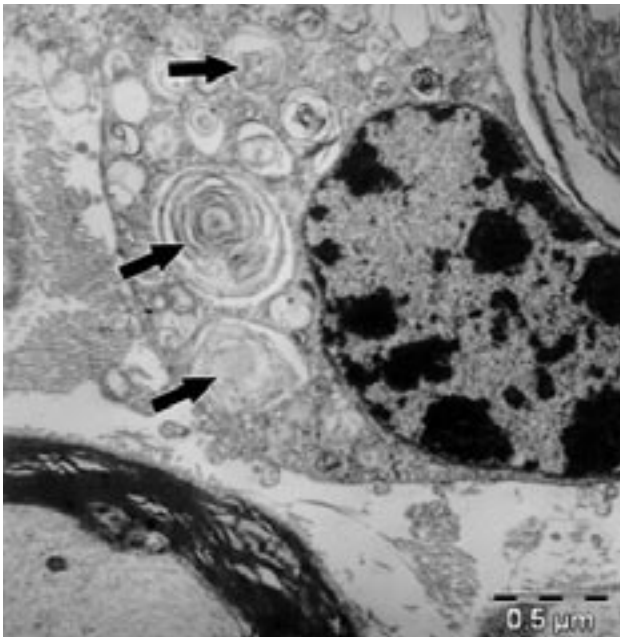
Histopatolojik sonuçlar

Işık mikroskopu altında her iki grupta distal örneklerde farklı fazlardaki rejenere aksonlara ek olarak, aksonal ve miyelin bozulması, hücre kalıntıları ve makrofajlar görüldü (Şekil 1).

Elektron mikroskopunda aksonal distrofik değişiklikler ve demiyelinasyonlar görüldü (Şekil 2). Tamir bölgesinde her iki grupta da ışık mikroskopik değerlendirme sonunda dikiş materyaline karşı yabancı cisim reaksiyonu gözlemlendi (Şekil 3). Yine her iki grupta aksonal dejenerasyon, endonöral ve perinöral fibrozis saptandı (Şekil 4, 5). Işık mikroskopik bulgular elektron mikroskopik değerlendirmeye doğrulandı. Kontrol grubunda tipik olarak en belirgin bulgu, endonöral



Şekil 1. Kontrol serum fizyolojik grubunda distal bölgeye ait transvers kesit. Kalın ok: Aksonal dejenerasyon; Ok başı: Aksonal rejenerasyon ve ince ok: Akson ve miyelin yıkımları (toluidin mavisi x 1000).



Şekil 2. Kontrol serum fizyolojik grubunda tamir bölgesine ait transvers kesit. Elektron mikrograf: Ok: Schwann hücre sitoplazması içinde çok sayıda membran yıkım ürünleri (üranil asetat - kurşun sitrat x 14000).

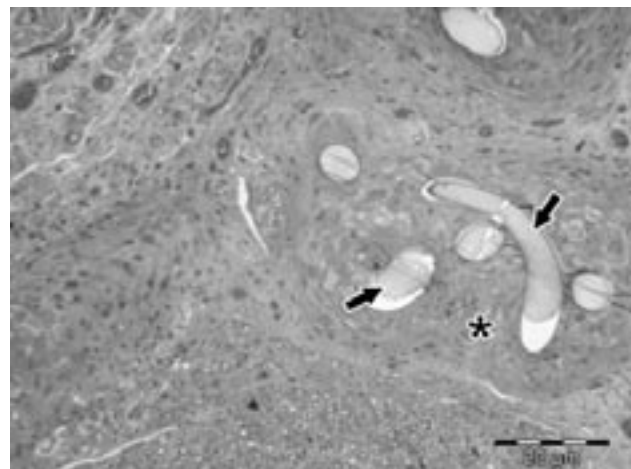
kollajen artışı olmasına rağmen test grubunda rejeneratif aksonal değişikliklerin varlığıydı.

Akson sayımları yapıldığında her iki grupta da distaldeki akson sayıları tamir bölgesinden fazla bulundu. Bu fazlalık, her grubun kendi içinde anlamlı ($p=0.000$), fakat gruplar arasında anlamlı değildi ($p=0.308$). Test grubunda, hem tamir hem de distal bölgeden hazırlanan preparatlarda akson sayısında kontrol grubuna göre fazlalık gözlemlendi. Tamir bölgesindeki miyelinli akson sayıları karşılaştırıldığında,

test grubundaki ortalama akson sayısı anlamlı derecede daha fazlaydı ($p=0.001$) (Tablo 2). Test grubunda distal bölgedeki akson sayısı da kontrol grubundan daha fazlaydı; ancak, aradaki fark anlamlı değildi ($p=0.308$) (Tablo 2).

Tartışma

Periferik sinirlerin anatomi ve patolojilerinin daha iyi anlaşılmasına ve tamir ve görüntüleme tekniklerindeki ilerlemelere rağmen, tamirden sonra elde edilen fonksiyonel sonuçlar genellikle yeterli değildir.^[6] Tamir yerinde oluşan skar dokusu sinir rejenerasyonunu olumsuz etkileyen önemli bir faktördür.^[7] Sonucu olumsuz etkileyen diğer bir faktör ise, nöromusküler restorasyonun sağlanması için gerekli sürenin uzunluğudur. Bu süreyi ve iyileşme bölgesindeki skar dokusunu azaltmak için birçok farmakolojik ajan ve hormon kullanılmıştır.^[7,10,12,13] Bu faktörlerden zengin olduğu bilinen maddelerden biri de insan plasentasıdır. Bu konuda 2006 yılında Toti ve ark.^[33] tarafından yapılan bir çalışmada insan plasenta ve eklerinin NBF ve proteinler salgılayan güçlü bir nöroendokrin organ olduğu bildirilmiştir. Yine Goldstein ve ark.nın^[30] insan plasenta dokusundan NBF elde edilmesiyle ilişkili çalışmalarında en yüksek NBF miktarının plasental kotiledonlarda olduğu gösterilmiştir. Benzer çalışmalarda da amniyon sıvısının, rejenerasyonu hızlandırıcı ve tamir sahasındaki skar dokusunu azaltıcı etkisi olduğu bildirilmiştir.^[7,16,34] Amniyon sıvısı, içerdiği HA ve HA stimüle eden aktivatör (HASA) sayesinde tamir bölgesinde endojen HA salınımını artırır. Hiyaluronik asidin de



Şekil 3. Kontrol serum fizyolojik grubunda tamir bölgesine ait transvers kesit. Ok: Sütür materyali; Yıldız: Granülomlar ve fibrin (toluidin mavisi x 1000).

Tablo 2. Tamir ve distal bölgedeki miyelinli akson sayıları (ort.±SS)

	Tamir bölgesi			Distal bölge		
	Test (İPS)	Kontrol (SF)	<i>p</i>	Test (İPS)	Kontrol (SF)	<i>p</i>
Miyelinli aksonlar	63.95±1.07	61.09±1.56	0.001	78.22±4.51	75.96±4.00	0.308

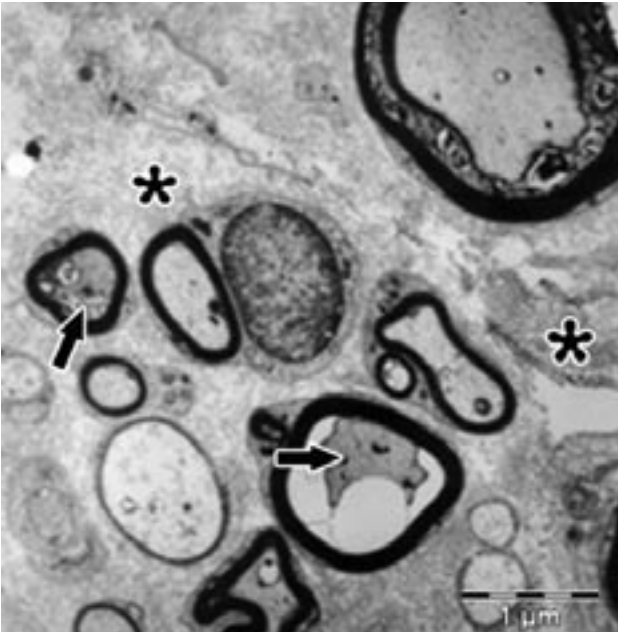
İPS: İnsan plasenta süspansiyonu; SF: Serum fizyolojik.

lenfosit migrasyonunu, proliferasyonunu, kemotaksisini, granülosit fagositozunu, degranülasyonu ve makrofaj motilitesini azaltarak tamir bölgesinde skar oluşumunu azalttığı bilinmektedir.^[16]

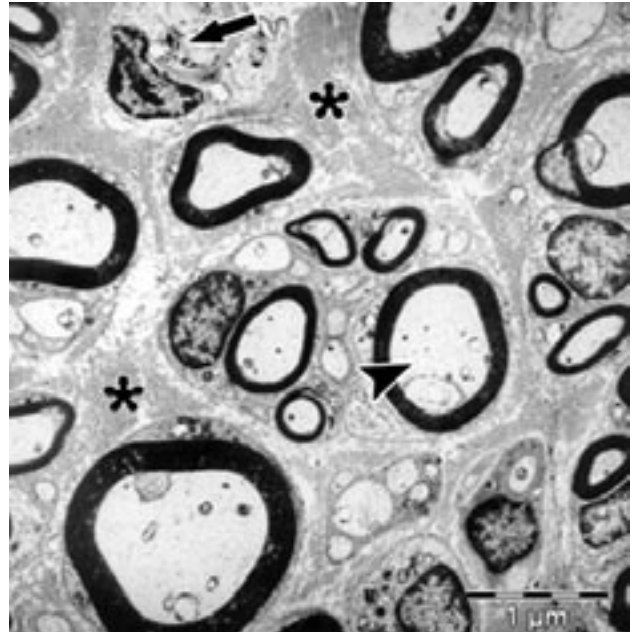
Elektron mikroskopik değerlendirme, morfolojik olarak akson sayısı, akson çapı ve endonöriumdaki hücre ve kollajen dizilimi hakkında çok değerli bilgiler verir. Son dönemlerde periferik sinir kesitlerinin otomatik yöntemlerle incelenmesi artmıştır. Ancak, otomatik yöntemle akson sayımını, çapını ve miyelin kalınlığını değerlendirmek için standart bir şekilde patolojik kesit almak ve ölçmek çok hassas ve zor bir işlemdir.^[29] Bu nedenle, çalışmamızda miyelinli akson sayımlarını klasik (manuel) yöntemle yaptık. Bu yöntem de zor ve zaman alıcı olmasına karşın, küçük ve büyük miyelinli lifler hakkında otomatik yöntemden daha iyi bilgi verir.^[29] Miyelin kılıf kalınlığı ve aksonun büyüklüğü ile rejenerasyon arasında doğru orantılı bir ilişki olduğu bilinmektedir.^[34] Teknik donanım eksikliği ve standardizasyon zorlu-

ğu nedeniyle, Almquist ve ark.nın^[35] yaptığı gibi, akson sayımlarımızda miyelinli aksonların tamamını saydık.

Onarım bölgesindeki akson sayımları, perinöral fibrozis, dikiş granülomu ve aksonal disorganizasyon nedeniyle kalitatiftir ve rejenerasyon hakkında verdiği bilginin fazla değeri yoktur. Çoğunlukla distal ve proksimal kesitlerdeki sayımlar rejenerasyon hakkında daha değerli bilgi verir.^[29] Buna rağmen, çalışmamızda İPS'nin onarım bölgesindeki skar üzerine etkisini göstermek için onarım bölgesinden de kesitler incelendi ve bu bölgede denek grubunda miyelinli akson sayısı kontrol grubuna göre anlamlı derecede fazla bulundu ($p=0.001$; Tablo 2). Her iki grupta da distal segmentten alınan kesitlerde, literatürle^[29] uyumlu olarak onarım bölgesine göre miyelinli akson sayısı bakımından anlamlı derecede fazlalık vardı ($p=0.000$); ancak, bu fazlalık denek grubunda biraz daha belirgin olmakla birlikte, bu açıdan iki grup arasında anlamlı fark yoktu ($p=0.308$) (Tablo 2).



Şekil 4. Kontrol serum fizyolojik grubunda tamir bölgesine ait transvers kesit. Ok: Farklı fazlarda dejenere aksonlar; Yıldız: Artmış endonöral kollajen. (Üranil asetat - kurşun sitrat x 8800).



Şekil 5. Test insan plasenta süspansiyonu grubunda tamir bölgesine ait transvers kesit. Ok başı: İntak rejenerere aksonlar; Ok: Nadir rejenerere aksonlar; Yıldız: Fibrozis (üranil asetat - kurşun sitrat x 8800).

Latans değerlerindeki uzama iletimdeki yavaşlamayı ve aksonal dejenerasyonu gösterir.^[36] Amplitüd değerlerindeki azalma da akson kaybını ve dejenerasyonunu gösterir.^[37] Spontan aktivitenin pozitif olması ise hedef kas kitlesindeki dejenerasyonu ve fibrozisi belirtir, normalde negatif olması gerekir.^[30,34,36] Çalışmamızda denek grubundaki girişim sonrası latans değerlerini kontrol grubuna göre biraz daha kısa bulduk. Aynı zamanda, kontrol grubundaki amplitüd değerlerini de denek grubuna göre, literatürle^[7,8,34] uyumlu olarak, biraz daha azalmış bulduk. Fakat bunların her ikisi de istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.204$) ve $p=0.240$; Tablo 1).

Latans ve amplitüd değerleri bakımından iki grup arasında anlamlı fark olmamasını, sıçanlarda rejenerasyon sürecinin hızlı olmasına ($3.6\pm 0.5-5.1\pm 0.5$ mm/gün)^[4,5,38] dolayısıyla girişim sonrası değerlendirme için sekiz haftalık sürenin uzun olmasına, İPS'nin etkisizliğine veya doz azlığına bağlayabiliriz. İnsan plasenta süspansiyonu ya da amniyon sıvısından elde edilen NBF'nin aktif olması belli koşullarda elde edilmesiyle sağlanabilmektedir.^[19] Ayrıca, elde edildiği hamilelik haftası da HA içeriği açısından önemlidir; çünkü, HA içeriği 16-20. haftalarda 20 mg/l olduğu halde 30. haftadan doğuma kadar 1 mg/l olarak devam etmektedir.^[16] Çalışmamızda kullandığımız İPS içinde bulunan yüksek moleküllü yapı proteinlerinin, vitamin, enzim ve hormon içeriklerinin, spesifik yönlendirilmiş elde etme yöntemlerinden ötürü sabit kaldığı ve ayrıca orijinalliklerinin de korunduğu üretici firma tarafından bildirilmiştir.

Frykman ve ark.na^[29] göre, elektromiyografik ölçümler ile motor iyileşme arasında doğru orantı vardır. Fakat, tekniğin hassas olması, yararlılığını ve tekrar edilebilme özelliğini azaltır. Çünkü elektrodun kas içindeki yerine göre amplitüd değişir ve elektrod sadece bulunduğu yerdeki kas lifleri hakkında bilgi verir.^[6,29] Frykman ve ark.^[29] amplitüd değerlendirmelerinin yararlı olabilmesi için ya çalışmamızda yapıldığı gibi girişim öncesi ve sonrası dönemlerde ya da karşı sağlam taraf ile karşılaştırılarak yapılması gerektiğini bildirmiştir. Sonuç olarak EMG ile yapılan ölçümlerde elde edilen spontan aktivite ve latans değerlerine güvenilirken, amplitüd değerleri daha az güvenilirdir.^[35]

Literatürdeki benzer çalışmalarda, tamir sonrası elektromiyografi ile sinir rejenerasyon değerlendirmelerinin 4 ile 12. hafta arasında yapılmış olduğu

bildirilmektedir.^[7,9,12,29,34] Biz de çalışmamızda girişim sonrası EMG değerlendirmelerini sekizinci haftada yaptık. Fakat, bu sürenin sıçan sıyatik sinirinin normal rejenerasyonu için gerekli olan süreden uzun olabileceğini düşünüyoruz. Zaten her iki grupta da spontan aktivitenin hiç görülmemesi sinir kas rejenerasyonunun tamamlandığı anlamına gelir ki, bu durum çalışmamızdaki denek ve kontrol arasındaki latans ve amplitüd değerleri açısından fark olmamasını desteklemektedir.

Sonuç olarak, İPS uygulanan deneklerdeki elektromiyografik değerlendirmelerde, istatistiksel anlamlılık olmasa da, latans değerlerinin kontrol grubuna göre daha kısa, amplitüd değerlerinin ise nispeten daha fazla bulunması; histopatolojik değerlendirmelerde ise miyelinli akson sayısının distal segmentte anlamlı olmayan derecede, onarım bölgesinde ise anlamlı derecede fazla olması, İPS'nin sinir rejenerasyonunu hızlandıran ve onarım bölgesindeki skar dokusunu azaltan etkisi olarak değerlendirilebilir. Yine de, daha fazla denek ve daha ayrıntılı fonksiyonel değerlendirmeleri içeren yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

1. Myers RR. Anatomy and microanatomy of peripheral nerve. *Neurosurg Clin N Am* 1991;2:1-20.
2. Lundborg G, Dahlin L, Danielsen N, Zhao Q. Trophism, tropism, and specificity in nerve regeneration. *J Reconstr Microsurg* 1994;10:345-54.
3. Mackinnon SE. Peripheral nerve injuries. In: Light TR, editor. *Hand surgery update 2*. Illinois: American Academy of Orthopaedic Surgeons; 1999. p. 199-210.
4. McQuarrie IG. Clinical signs of peripheral nerve regeneration. In: Wilkins RH, Rengachary SS, editors. *Neurosurgery*. 2nd ed. New York: McGraw-Hill; 1996. p. 3199-203.
5. Brushart TM. Peripheral nerve biology. In: Light TR, editor. *Hand surgery update 2*. Illinois: American Academy of Orthopaedic Surgeons; 1999. p. 171-82.
6. Leong J, Hayes A, Austin L, Morrison W. Muscle protection following motor nerve repair in combination with leukemia inhibitory factor. *J Hand Surg [Am]* 1999;24:37-45.
7. Ozgenel GY, Filiz G. Effects of human amniotic fluid on peripheral nerve scarring and regeneration in rats. *J Neurosurg* 2003;98:371-7.
8. Lee HS, Kim JC. Effect of amniotic fluid in corneal sensitivity and nerve regeneration after excimer laser ablation. *Cornea* 1996;15:517-24.
9. Rydevik M, Bergstrom F, Mitts C, Danielsen N. Locally-applied collagenase and regeneration of transected and repaired rat sciatic nerves. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 2002;36:193-6.
10. Ozgenel GY. Effects of hyaluronic acid on peripheral nerve scarring and regeneration in rats. *Microsurgery* 2003;23: 575-81.
11. Newman JP, Verity AN, Hawatmeh S, Fee WE Jr, Terris DJ. Ciliary neurotrophic factors enhances peripheral nerve

- regeneration. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1996;122:399-403.
12. Smith MS, Browne JD. The effect of endothelial cell growth factor on peripheral nerve regeneration. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1998;118:178-82.
 13. Young C, Miller E, Nicklous DM, Hoffman JR. Nerve growth factor and neurotrophin-3 affect functional recovery following peripheral nerve injury differently. *Restor Neurol Neurosci* 2001;18:167-75.
 14. Fortes WM, Noah EM, Liuzzi FJ, Terzis JK. End-to-side neurotaphy: evaluation of axonal response and upregulation of IGF-I and IGF-II in a non-injury model. *J Reconstr Microsurg* 1999;15:449-57.
 15. Caplan J, Tiangco DA, Terzis JK. Effects of IGF-II in a new end-to-side model. *J Reconstr Microsurg* 1999;15:351-8.
 16. Ozgenel GY, Samli B, Ozcan M. Effects of human amniotic fluid on peritendinous adhesion formation and tendon healing after flexor tendon surgery in rabbits. *J Hand Surg [Am]* 2001;26:332-9.
 17. Reid GJ, Flozak AS, Simmons RA. Placental expression of insulin-like growth factor receptor-1 and insulin receptor in the growth-restricted fetal rat. *J Soc Gynecol Investig* 2002;9:210-4.
 18. Verhaeghe J, Pintiaux A, Van Herck E, Hennen G, Foidart JM, Igout A, Placental GH, IGF-I, IGF-binding protein-1, and leptin during a glucose challenge test in pregnant women: relation with maternal body weight, glucose tolerance, and birth weight. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2875-82.
 19. Li S, Li F, Tan W, Yang N, Jin H, Chen H. An improved, inexpensive method for the large-scale purification of human nerve growth factor. *Biotechnol Appl Biochem* 1998;28(Pt 3):215-8.
 20. Heinrich G, Meyer TE. Nerve growth factor (NGF) is present in human placenta and semen, but undetectable in normal and Paget's disease blood: measurements with an anti-mouse-NGF enzyme immunoassay using a recombinant human NGF reference. *Biochem Biophys Res Commun* 1988;155:482-6.
 21. Lysiak JJ, Han VK, Lala PK. Localization of transforming growth factor alpha in the human placenta and decidua: role in trophoblast growth. *Biol Reprod* 1993;49:885-94.
 22. Lee SB, Li DQ, Tan DT, Meller DC, Tseng SC. Suppression of TGF-beta signaling in both normal conjunctival fibroblasts and pterygial body fibroblasts by amniotic membrane. *Curr Eye Res* 2000;20:325-34.
 23. Datta P, Bhattacharyya D. Spectroscopic and chromatographic evidences of NADPH in human placental extract used as wound healer. *J Pharm Biomed Anal* 2004;34:1091-8.
 24. Chakraborty PD, Bhattacharyya D. Isolation of fibronectin type III like peptide from human placental extract used as wound healer. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2005;818:67-73.
 25. Malek A, Bersinger NA, Di Santo S, Mueller MD, Sager R, Schneider H, et al. C-reactive protein production in term human placental tissue. *Placenta* 2006;27:619-25.
 26. Meinert M, Eriksen GV, Petersen AC, Helmig RB, Laurent C, Uldbjerg N, et al. Proteoglycans and hyaluronan in human fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:679-85.
 27. Solomon A, Wajngarten M, Alviano F, Anteby I, Elchalal U, Pe'er J, et al. Suppression of inflammatory and fibrotic responses in allergic inflammation by the amniotic membrane stromal matrix. *Clin Exp Allergy* 2005;35:941-8.
 28. Solomon A, Rosenblatt M, Monroy D, Ji Z, Pflugfelder SC, Tseng SC. Suppression of interleukin 1 alpha and interleukin 1 beta in human limbal epithelial cells cultured on the amniotic membrane stromal matrix. *Br J Ophthalmol* 2001;85:444-9.
 29. Frykman GK, McMillan PJ, Yegge S. A review of experimental methods measuring peripheral nerve regeneration in animals. *Orthop Clin North [Am]* 1988;19:209-19.
 30. Goldstein LD, Reynolds CP, Perez-Polo JR. Isolation of human nerve growth factor from placental tissue. *Neurochem Res* 1978;3:175-83.
 31. Liu K, Chen LE, Seaber AV, Goldner RV, Urbaniak JR. Motor functional and morphological findings following end-to-side neurotaphy in the rat model. *J Orthop Res* 1999;17:293-300.
 32. al-Qattan MM, al-Thunyan A. Variables affecting axonal regeneration following end-to-side neurotaphy. *Br J Plast Surg* 1998;51:238-42.
 33. Toti P, Ciarmela P, Florio P, Volpi N, Occhini R, Petraglia F. Human placenta and fetal membranes express nerve growth factor mRNA and protein. *J Endocrinol Invest* 2006;29:337-41.
 34. Wang KK, Nemeth IR, Seckel BR, Chakalis-Haley DP, Swann DA, Kuo JW, et al. Hyaluronic acid enhances peripheral nerve regeneration in vivo. *Microsurgery* 1998;18:270-5.
 35. Almquist EE, Smith OA, Fry L. Nerve conduction velocity, microscopic, and electron microscopy studies comparing repaired adult and baby monkey median nerves. *J Hand Surg [Am]* 1983;8:406-10.
 36. Shin J. Oh. Normal values for common nerve conduction tests. In: Retfort DC, editor. *Clinical electromyography: nerve conduction studies*. 2nd. ed. Philadelphia: Williams & Wilkins; 1993. p. 84-104.
 37. de Araujo MP. Electrodiagnosis in compression neuropathies of the upper extremities. *Orthop Clin North Am* 1996;27:237-44.
 38. Zhao JZ, Chen ZW, Chen TY. Nerve regeneration after terminolateral neurotaphy: experimental study in rats. *J Reconstr Microsurg* 1997;13:31-7.