



Periferik sinir tamirinde biyolojik membranın sinir iyileşmesini hızlandırıcı etkisi

The role of creating a biological membrane in expediting nerve regeneration for peripheral nerve repairs

Taçkın ÖZALP, Alain-Charles MASQUELET¹

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı;

¹Service de Chirurgie Orthopédique, Traumatologique et Reconstructrice de l'Appareil Locomoteur, Hôpital Avicenne, France

Amaç: Sinir rehber kanalları, kesik iki sinir ucu arasındaki boşluğu köprülemek amacıyla kullanılan doğal ya da sentetik tübüler yapılardır. Biyolojik bir membran oluşturmak bir rehber kanalın ucuz ve kolay bir yolu olabilir. Bu çalışmada biyolojik membranın sinir iyileşmesini hızlandırıcı etkisi araştırıldı.

Çalışma planı: Ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen 20 adet erişkin erkek Wistar albino sıçan 10'arlı iki gruba ayrıldı. Her iki grupta da median sinir kesisiyle 5 mm'lik bir defekt oluşturuldu. İlk grupta, defekt diğer üst ekstremitede median sinirinden alınan bir parça ile greftlenirken, ikinci grupta defekte bir silikon implant yerleştirildi ve her iki uca anastomoz edildi. Beş hafta sonra silikon implant çıkarıldı ve oluşmuş olan membran içine diğer üst ekstremiteden alınan median sinir grefti uç uca anastomoz yöntemiyle dikildi. Kasların fonksiyonlarındaki geri dönüş Bertelli ve Mira tarafından önerilen testle değerlendirildi. Güç ölçümlerine, her iki grupta da greft konduktan beş hafta sonra başlandı ve 12 hafta boyunca sürdürüldü.

Sonuçlar: İkinci grupta sinir rejenerasyonunu gösteren kas gücü geri dönüşünün birinci gruba göre çok daha hızlı gerçekleştiği görüldü. İkinci grupta ortalama 10. haftada sinir iyileşmesinde tam geri dönüş gözlenirken, birinci grupta 12. hafta sonunda iyileşme oranı %90.2 idi ($p < 0.05$).

Çıkarımlar: Günümüzde otojen greft uygulaması hala altın standart olan yöntemdir. Biyolojik membran sinir iyileşmesini hızlandırmaktadır. Ayrıca, sadece iki ucun açılması yeterli olduğundan, diseksiyon daha sınırlı olmakta, ameliyat kolaylaşmakta ve süresi kısalmaktadır. Bu avantajları nedeniyle diğer tekniklere iyi bir seçenek olarak düşünülebilir.

Anahtar sözcükler: Biyoprotez; önkol/inervasyon; median sinir; mikrocerrahi; sinir rejenerasyonu; protez implantasyonu/yöntem; sıçan; silikon.

Objectives: Nerve guidance channels are natural or synthetic tubular conduits used to bridge the gap between the nerve stumps. Creation of a biological membrane may be a simple and cheaper way to obtain a nerve guidance channel. The goal of this study was to examine the role of a biological membrane in expediting nerve regeneration.

Methods: Twenty adult male Wistar albino rats weighing 200 to 250 g were divided into two groups equal in number. All the animals underwent median nerve dissection to create a 5-mm gap. In the first group, the defect was repaired with a graft obtained from the contralateral median nerve, while in the second group, a silicon implant was sutured and anastomosed between the stumps. After five weeks, the silicon implant was removed and a nerve graft taken from the contralateral median nerve was anastomosed inside the neofomed biological membrane. Recovery of muscular function indicating nerve regeneration was assessed by the prehension test proposed by Bertelli and Mira. In both groups, measurements were started after five weeks of grafting and continued for 12 weeks.

Results: Rats in the second group exhibited an accelerated recovery and nerve regeneration compared to the first group. Nerve regeneration was completed at 10 weeks in the second group, whereas the recovery rate was 90.2% at 12 weeks in the first group ($p < 0.05$).

Conclusion: The use of autogenous grafts is still the gold standard in nerve repair. This biological membrane not only expedites nerve regeneration, but also facilitates surgery and reduces operating time because it requires small incisions at the two ends. Considering these advantages, it may prove to be a good alternative to other techniques.

Key words: Bioprosthesis; forearm/innervation; median nerve; microsurgery; nerve regeneration; prosthesis implantation/methods; rats; silicones.

Yazışma adresi / Correspondence: Dr. Taçkın Özalp. 1786/1 Sok., No: 1/7, 35540 Karşıyaka, İzmir.
Tel: 0236 - 232 31 33 Faks: 0236 - 237 02 13 e-posta: tackino@yahoo.fr

Başvuru tarihi / Submitted: 26.04.2006 **Kabul tarihi / Accepted:** 26.02.2008

©2008 Türk Ortopedi ve Travmatoloji Derneği / ©2008 Turkish Association of Orthopaedics and Traumatology

Sinir rehber kanalları, kesik iki sinir ucu arasındaki boşluğu köprülemek amacıyla kullanılan doğal ya da sentetik tübüler yapılardır. Sentetik kanallar, proksimal ve distal sinir uçları arasında rejenerasyon için bir yol sağlamak, çevre dokular ile sinir arasında kanalın gözenekli yapısı aracılığıyla biyolojik alışveriş oluşturmak, fibröz doku infiltrasyonunu azaltmak ve hasarlı sinir uçlarından salınan nörotrofik faktörler için bir yol oluşturmak amacıyla tasarlanmıştır. Ancak, bunlar ekonomik olarak henüz rutin kullanım açısından çok uygun değildir.^[1] Bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Biyolojik olarak bu özelliklere sahip bir membran oluşturmak bir rehber kanalın ucuz ve kolay bir yolu olabilir.

Bu çalışmada, sıçan median sinirinde oluşturulan bir defekt arasına tendon rekonstrüksiyonunda kullanılan "Hunter" silikon protezi yerleştirilerek tendon yatağına benzer bir yatak oluşturuldu ve bu biyolojik membranın sinir defektlerinde iyileşmeyi hızlandırma potansiyeli incelendi.

Gereç ve yöntem

Bu çalışma "Ecole de Chirurgie Anatomie Laboratuvarı Deneysel Mikrocerrahi Bölümü (Paris, Fransa)" bünyesinde gerçekleştirilmiş ve etik kurul izni alınmıştır.

Çalışmada, 200-250 gr ağırlığında 20 adet erişkin erkek Wistar albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar 10'arlık iki gruba ayrıldı.

Sinir iyileşmesini ortaya koymak için sinir yaralanması sonrasında kasların fonksiyonlarının geri dönüşünden yararlanıldı. Bu geri dönüş için de Bertelli ve Mira^[2] tarafından önerilen bir ölçüm testi uygulandı. Hayvanın içgüdüsel davranışına bağlı olan bu test sinir rejenerasyonunu ve kasların reinervasyonunun kolaylıkla değerlendirilmesini sağlamaktadır.

Test için, median sinir tarafından inerve edilen parmak ve el bileği fleksörlerinden yararlanıldı. Median sinir kesisiyle sıçan parmaklarını ve önayağını fleksiyona getiremez. Güç ölçümleri için, üzerine bir kafes yerleştirilip sabitlenen bir elektronik tartı kullanıldı. Kuyruğundan yukarı doğru kaldırılan sıçan içgüdüsel olarak parmaklarıyla kafese tutunduğu sırada, kuyruktan uygulanan traksiyon gücü hayvan kafesi bırakıncaya kadar artırıldı ve bıraktığı anda tartıda görülen negatif değer kaydedildi. Yanlış ölçümlerin önlenmesi için, Bertelli ve Mira^[2] tarafından önerildiği üzere, karşı taraftaki önayak da bir miktar

sinir rezeksiyonuyla denerve edildi. Her iki grupta da önce sol median sinir kesildi; sonra sağ taraftaki kesi öncesinde fleksör grup gücü ölçüldü ve kaydedildi. Ölçümler 12 hafta boyunca haftalık olarak yapıldı.

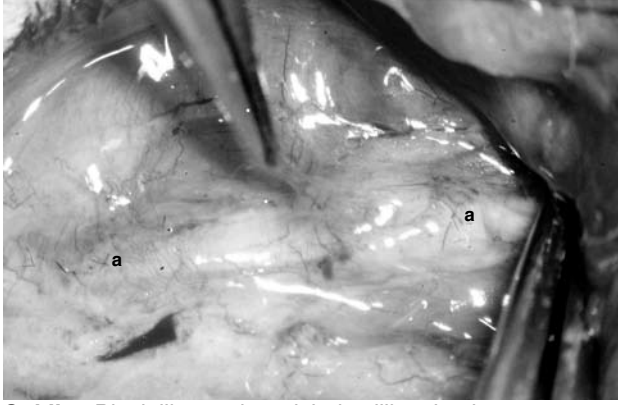
İlk grupta, median sinir kesisiyle oluşturulan 5 mm'lik bir defekt diğer üst ekstremitede median sinirinden alınan bir parça ile greftlendi. İkinci grupta ise iki aşamalı bir cerrahi teknik uygulandı. İlk aşamada median sinir kesilerek oluşturulan 5 mm'lik defekte bir silikon implant yerleştirildi ve her iki uca anastomoz edildi. Beş hafta sonra silikon implant çıkarıldı ve oluşmuş olan membran içine diğer üst ekstremiteden alınan median sinir grefti uç uca anastomoz yöntemiyle dikildi. Kullanılan silikon implant bir Hunter tendon protezinden (Wright Medical Technology, Arlington, TN, ABD), sinir ile aynı büyüklükte ve 7 mm uzunluğunda kesildi ve distal ve proksimal güdük uçlarına, her iki ucu 1 mm geçecek şekilde, 10/0 monopropilen dikiş malzemesiyle (Ethylon, Ethicon, ABD) yan yana dikildi. Tüm girişimler mikroskop büyütmesi altında yapıldı.

Güç ölçümlerine, birinci grupta cerrahi müdahaleden beş hafta sonra, ikinci grupta ise silikon implant çıkartılıp greft konduktan beş hafta sonra başlandı ve 12 hafta boyunca sürdürüldü.

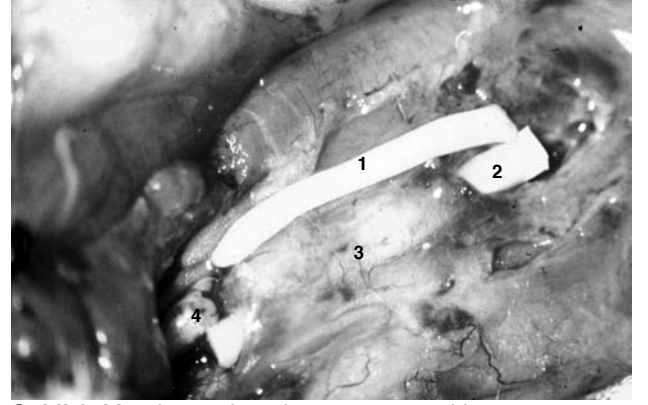
İstatistiksel değerlendirmede, sıçanların güç ölçümlerinin karşılaştırılmasında tek yönlü ANOVA testi uygulandı; $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analizler için SPSS 10.0 sürümü kullanıldı.

Cerrahi teknik

Sıçanlar intramusküler 10 mg/kg ksilazin (Rompun, Bayer, Türkiye) ve 70 mg/kg ketamin (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) anestezisi ile uyutuldu. Birinci grupta insizyon, ventral yüzde, aksiller boşluktan dirseğe kadar 3 cm'lik bir segment boyunca yapıldı. Sinir aksiller bölgede bulunarak dirseğe kadar takip edildi ve bu bölgede 5 mm'lik bir eksizyon uygulandı. Karşı taraf median sinir kesisinde de aynı teknik uygulandı. Buradan alınan aynı büyüklükte bir sinir parçası ile aynı seansta greftleme yapıldı. İkinci grupta aynı şekilde segmenter rezeksiyon uygulandıktan sonra, her iki sinir ucunu 1 mm geçecek şekilde, 7 mm uzunluğunda silikon implant sinir uçlarına dikildi (Şekil 1). Burada amaç, her iki sinir ucunu, yeni oluşacak olan biyolojik membran içinde tutmak idi. Beşinci haftanın sonunda, oluşan membran her iki uçtan açıldı ve karşı taraftan alınan greft silikon implant yerine di-



Şekil 1. Biyolojik membran içinde silikon implant. a: Proksimal ve distal sinir uçları.



Şekil 2. Membran oluştuktan sonra greftleme. 1: Otogreft; 2: Silikon implant; 3: Biyolojik membran; 4: Sinir güdük ucu.

kildi (Şekil 2). Cilt 3/0 poliglaktin (Vicryl, Ethicon, ABD) dikiş ile kapatıldı.

Sonuçlar

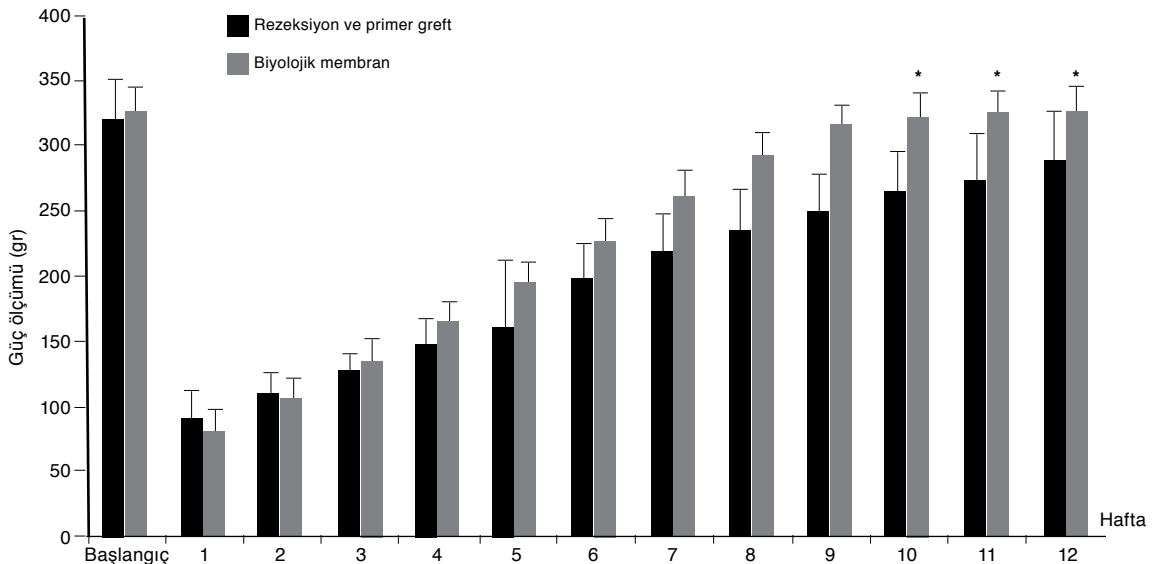
Çalışma sırasında ölen hayvan olmadı. İkinci grupta sinir rejenerasyonunu gösteren kas gücü geri dönüşünün birinci gruba göre çok daha hızlı gerçekleştiği görüldü. İkinci grupta ortalama 10. haftada sinir iyileşmesinde tam geri dönüş gözlenirken, sadece greftleme yapılan birinci grupta ise 12. hafta sonunda iyileşme oranı %90.2 idi ($p < 0.05$). İki grubun zamana göre güç ölçüm değerleri Şekil 3'te gösterildi.

Tartışma

Defektli periferik sinirlerin tamiri her zaman başarılı sonuç veren bir cerrahi değildir. Otojen greft uygulaması en sık kullanılan yöntemdir. Ancak, vERICI dokuların sınırlı oluşu ve bu sahada oluşan skar,

duyu kaybı ve bazı durumlarda ağırlı nörinomlar; sinir ve greft arasında çap uyumsuzluğu gibi sorunlar, başka seçenek arayışlarına yol açmıştır.^[1]

Periferik sinir doku kayıplarının tedavisinde rehber kanal kullanma düşüncesi yeni değildir. 1880'de Gluck araya bir kemik parçası, Payr ise 1890'da çelik bir boru yerleştirmeyi denemişlerdir. 1891'de Bungner bir sinir defektini bir kan damarı ile tamir ettiğini bildirmiş; Kirk ise 1915'te defekti fasya kullanarak tamir etmeye çalışmıştır. 1982 yılında Chiu ve ark. otojen bir femoral ven grefti ile sinir rejenerasyonunun başarısını göstermişlerdir. İspanyol biyolog Ramon y Cajal sinir kesisinin distal güdüğünden salınan kimyasal faktörlerin nörotropizm açısından önemini ortaya koymuştur. Weiss bir rehber kanalın nörotropizmden daha önemli olduğunu ileri sürmüştür. 1980'den sonra ise her ikisinin de sinir iyileşmesinde



Şekil 3. Grupların zamana göre güç ölçüm değerleri (ort. ± SS).

önemli rolü olduğu ortaya çıkmıştır. Silikon tüpler gibi yapay biyomalzemeler defektli sinirlerin uç uca anastomozlarında kullanılmış ve bunların da başarılı sonuçları bildirilmiştir.^[1,3,4]

Bütün bu çalışmalar otojen greft uygulamasının zorluklarını ortadan kaldırmak amacıyla yapılmaktadır. Ancak, kullanılan malzemelerin uygun boy ve çapta, çevre dokulardan büyüme faktörlerinin geçişine izin veren, fakat inhibisyon yapıcı moleküllere izin vermeyen yarı-geçirgen bir yapıda olması gibi zorunluluklar, ancak ileri teknoloji ile üretilebilecek bu ürünlerin kullanımına ekonomik açıdan kısıtlama getirebilmektedir. Ayrıca, bütün bu gereçler kısa sinir defektleri (3 cm'den küçük) için geçerlidir.^[1,5,6] Defekt büyüdükçe başarı oranı azalmaktadır.^[7] Bu nedenle, otojen greft uygulaması günümüzde hala altın standart olma özelliğini korumaktadır.

Otojen sinir grefti çevresine biyolojik membran oluşturulması düşüncesi, Masquelet'in^[8] kemik defektlerinin tamirinde bir biyolojik membran oluşturarak kemik greftlerinin hızlı bir şekilde konsolide olması fikrinden yola çıkılarak geliştirilmiştir. Masquelet yönteminde, kemik rekonstrüksiyonu sırasında sinovyal membran benzeri bir yapı elde etmek için aradaki boşluğa kemik çimentosu yerleştirilmiş ve beş haftalık süre sonunda yabancı cisim reaksiyonu ile oluşan membranın içine kemik grefti uygulanmıştır. Oluşan membran greftin rezorbsiyonunu önleyip, revaskülarizasyon ve kortikalizasyonu artırmaktadır.^[8]

Çalışmamızda, otojen greftin yerini alan bir biyolojik membran kullanımını değil, sinir iyileşmesini hızlandıran bir koruyucu kılıf elde etmek amaçlanmıştır. Bu membran bir silikon implant ile oluşturulmaktadır. Silikon implantın inert bir materyal olması nedeniyle alerjik reaksiyon oranı da çok az olmaktadır.

Lundborg ve ark.^[9,10] klinik çalışmalarında sinir kesilerinde primer mikrocerrahi uç uca tamir ve 3-5 mm'lik defekt bırakarak silikon tüp yöntemini karşılaştırmışlar ve iki yöntem arasında fark bulamamışlardır. Sentetik ve biyolojik (örn. ven grefti) materyallerin greft ile birlikte kullanıldığı bir çalışmaya rastlamadık. Çalışmamızda sıçan median siniri arasında oluşturulan 5 m.'lik defektler greftlenmiştir. Sıçanlardaki 5 mm'lik defektin insanlarda daha büyük boşluklara karşılık geleceği düşünülebilir. Primer onarım imkanı sınırlı olan ve greft kullanımı gerektiren olgularda biyolojik membran kullanımıyla iki aşamalı girişim yapılmasının sinir iyileşmesini

hızlandırıldığını ve primer greftleme yöntemine göre daha avantajlı olduğunu düşünüyoruz.

Yabancı cisim reaksiyonu ile oluşan membranın kapiller damarlar yönünden çok zengin olduğu ve vasküler endotelial büyüme faktörü ile *transforming* büyüme faktörü B içerdiği gözlenmiştir.^[11] Bu maddelerin damar yapımını artırdığı ve yara iyileşmesini hızlandığı bilinmektedir. Çalışmamızda da, oluşan membranın sinir iyileşmesini belirgin şekilde hızlandığı izlenmiştir. Median sinir inervasyonlu önkol fleksör kaslarında geri dönüş ikinci grupta 10. haftada tamamlanırken, birinci grupta iyileşmenin 12. haftanın sonunda bile henüz tamamlanmadığı görüldü. Bu tekniğin sinir iyileşmesini %25 ile %30 arasında hızlandığı söylenebilir; dezavantajı ise iki aşamalı girişim gerektirmesidir.

Biyolojik membran aynı zamanda sinirin yaralanmış iki ucu arasında doğrudan bir tünel oluşturmaktadır. Sekonder sinir tamirinin planlandığı geniş yumuşak doku kayıplı olgularda, sinir iyileşmesini hızlandırmanın yanında, bu kılıf özellikle çok büyük sinir defektlerinde teknik olarak da ameliyatı kolaylaştırıp süresini kısaltmaktadır. Çünkü, sinir greftlemesi için yapılan ikinci ameliyat sırasında, yumuşak doku diseksiyonu fibröz doku artışı nedeniyle zor olmaktadır. Bu teknikte, özellikle büyük defektlerde, geniş tek bir insizyon yerine, oluşmuş olan membranın sadece iki ucu greftleme amacıyla açılmakta, oluşmuş olan tünelden greft kolaylıkla geçirilmekte, dolayısıyla diseksiyon daha sınırlı olmakta ve cerrahi süre kısaltılmaktadır. Süreyi daha da kısaltmak amacıyla membranın her iki ucuna işaret dikişleri konabilir.

Bu çalışma, biyolojik membran oluşturulmasının yararını gösteren öncü bir çalışmadır. İkinci aşamada, membran içinde gözlenebilecek nörotropik faktörlerin belirli haftalarda belirlenmesi ve membranın daha büyük defektler üzerinde uygulanması bu membranın önemini artıracaktır.

Kaynaklar

1. Hudson TW, Evans GR, Schmidt CE. Engineering strategies for peripheral nerve repair. *Clin Plast Surg* 1999; 26:617-28.
2. Bertelli JA, Mira JC. The grasping test: a simple behavioral method for objective quantitative assessment of peripheral nerve regeneration in the rat. *J Neurosci Methods* 1995;58:151-5.
3. Kurklu M, Demiralp B, Kirdemir V, Komurcu M, Ulas

- UH, Oztas E, et al. Comparison between the distraction and grafting methods in the treatment of peripheral neural defects: an experimental study in rabbits. [Article in Turkish] *Acta Orthop Traumatol Turc* 2005;39:163-71.
4. Wang KK, Costas PD, Jones DS, Miller RA, Seckel BR. Sleeve insertion and collagen coating improve nerve regeneration through vein conduits. *J Reconstr Microsurg* 1993; 9:39-48.
 5. Battiston B, Geuna S, Ferrero M, Tos P. Nerve repair by means of tubulization: literature review and personal clinical experience comparing biological and synthetic conduits for sensory nerve repair. *Microsurgery* 2005;25:258-67.
 6. Lundborg G, Dahlin L, Dohi D, Kanje M, Terada N. A new type of "bioartificial" nerve graft for bridging extended defects in nerves. *J Hand Surg [Br]* 1997;22:299-303.
 7. Stanec S, Stanec Z. Reconstruction of upper-extremity peripheral-nerve injuries with ePTFE conduits. *J Reconstr Microsurg* 1998;14:227-32.
 8. Masquelet AC. Muscle reconstruction in reconstructive surgery: soft tissue repair and long bone reconstruction. *Langenbecks Arch Surg* 2003;388:344-6.
 9. Lundborg G, Rosen B, Dahlin L, Holmberg J, Rosen I. Tubular repair of the median or ulnar nerve in the human forearm: a 5-year follow-up. *J Hand Surg [Br]* 2004;29:100-7.
 10. Lundborg G. The tube concept in nerve repair. *Tech Hand Up Extrem Surg* 1997;1:120-4.
 11. Pelissier P, Masquelet AC, Bareille R, Pelissier SM, Amedee J. Induced membranes secrete growth factors including vascular and osteoinductive factors and could stimulate bone regeneration. *J Orthop Res* 2004;22:73-9.