

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Anatomi Anabilim Dalı

**N.HYPOGLOSSUS'UN EPİNÖRAL PENCERE İLE MİNİMAL
HASARI SONRASI AORTA “Y” TÜPÜNÜN UÇ-YAN
HYPOGLOSSAL FASİYAL SİNİR TAMİRİNDE KULLANIMI:
VİBRİSSEAL FONKSİYON, KOLLATERAL AKSONAL
DALLANMA VE MOTOR SON PLAK POLİİNNERVASYON
PATERNİNİN KOMBİNE ANALİZİ**

Arzu HİZAY

Doktora Tezi

Antalya, 2016

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Anatomi Anabilim Dalı

**N.HYPOGLOSSUS’UN EPİNÖRAL PENCERE İLE MİNİMAL
HASARI SONRASI AORTA “Y” TÜPÜNÜN UÇ-YAN
HYPOGLOSSAL FASİYAL SİNİR TAMİRİNDE KULLANIMI:
VİBRİSSEAL FONKSİYON, KOLLATERAL AKSONAL
DALLANMA VE MOTOR SON PLAK POLİİNNERVASYON
PATERNİNİN KOMBİNE ANALİZİ**

Arzu HİZAY

Doktora Tezi

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Levent SARIKCIOĞLU

II. Tez Danışmanı
Prof. Dr. Doychin N. ANGELOV

Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Araştırma Projeleri Yönetim Birimi
(Proje no: 2013.03.0122.014) tarafından desteklenmiştir

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir.”

Antalya, 2016

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Enstitü Kurulu ve Akdeniz Üniversitesi Senato Kararı

Sağlık Bilimleri Enstitüsünün 22.06.2000 tarih ve 02/09 sayılı Enstitü Kurulu kararı ve 23.05.2003 tarih ve 04/44 sayılı Akdeniz Üniversitesi Senato kararı gereğince ‘‘Sağlık Bilimleri Enstitülerinde lisansüstü eğitim gören doktora öğrencilerinin tez savunma sınavına girebilmeleri için, doktora bilim alanında en az bir yurtdışı yayın yapması gerektiği’’ ilkesi gereğince yapılan yayın aşağıda belirtilmiştir (Orijinali ekte sunulmuştur).

Hızay A, Ozsoy U, Demirel BM, Ozsoy O, Angelova SK, Ankerne J, Sarikcioglu SB, Dunlop SA, Angelov DN, Sarikcioglu L. Use of a Y-tube conduit after facial nerve injury reduces collateral axonal branching at the lesion site but neither reduces polyinnervation of motor endplates nor improves functional recovery. Neurosurgery 2012; 70(6):1544–1556

Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından Anatomi Doktora Programında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir./....../2016

Tez danışmanı : Prof. Dr. Levent SARIKCIOĞLU
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Anatomi Anabilim Dalı



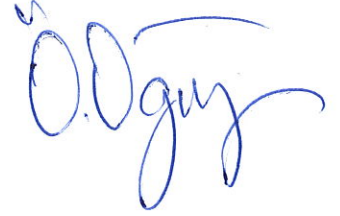
Üye : Prof. Dr. Bikem SÜZEN
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Anatomi Anabilim Dalı



Üye : Prof. Dr. Aysel AĞAR
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı



Üye : Prof. Dr. Özkan OĞUZ
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Anatomi Anabilim Dalı



Üye : Prof. Dr. Neslihan BOYAN
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Anatomi Anabilim Dalı



ONAY: Bu tez Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/....../2016 tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Narin DERİN
Enstitü Müdürü

ÖZET

Periferik sinirler çeşitli travmatik nedenlere bağlı olarak hasarlandıklarında sinir tamiri sonrası fonksiyonel iyileşme genellikle suboptimal düzeyde olmaktadır. Fasiyal sinir hasarı sonrası cerrahi tedavi için pek çok yöntem kullanılmaktadır. Fasiyal sinirin tek başına onarılamadığı durumlarda hypoglossal-fasiyal sinir koaptasyonu bir tedavi seçeneğidir. Çalışmamızda fasiyal sinir hasarı sonrası reanimasyon tekniği olarak 'Y' tüp yardımıyla terminolateral hypoglossal-fasiyal sinir anastomozu (HFA) gerçekleştirdik. Cerrahi sonrası, lezyon alanındaki kollateral dallanma, vibriseal motor performans, kasların reinnervasyonu, dil kası performansı üzerindeki etkisini araştırdık.

Çalışmamızda 48 adet dişi 24 adet erkek Wistar türü rat kullanılmıştır. 24 denek aorta Y tüp için sakrifiye edilmiştir. Cerrahi prosedür olarak Y tüp HFA ve Y tüp uç-yan HFA teknikleri uygulanmıştır. Y tüp HFA'da hypoglossal sinir tamamen kesilmiş ve Y tüpünün uzun koluna, zygomatik ve bukkal dal ise tüpün kısa olan kollarına koapte edilmiştir. Uç-yan HFA'da ise hypoglossal sinir minimum düzeyde (yaklaşık %30'luk lif) hasarlanmıştır. Hasarlanan bölüm tüpün uzun kolunda kalacak şekilde koapte edilmiştir. Bukkal ve zygomatik dal ise tüpün kısa kollarına entübüle edilmiştir.

Y tüp HFA grubunda lezyon alanındaki kollateral aksonal dallanma oranı 13 ± 1 iken Y tüp uç-yan HFA grubunda ise 3 ± 1 olarak hesaplandı. Y tüp uç-yan HFA grubunda lezyon alanındaki kollateral aksonal dallanma oranının istatistiksel olarak düşük olduğu tespit edildi. M. levator labii superioris'in (LLS) reinnervasyon paterninin tespitinde ise her iki tip HFA sonrasında çok sayıda poliinnervasyon plak gözlemlendi. LLS'nin Y tüp HFA grubunda poliinnervasyon oranı 23 ± 5 iken ve Y tüp uç-yan HFA grubunda poliinnervasyon oranı 22 ± 4 olarak tespit edildi. Her iki onarım şeklinin poliinnervasyon oranları üzerine anlamlı bir etkisi ($p < 0.05$) tespit edilmedi. Her iki HFA tamirinde vibriseal kıl hareketlerinde fonksiyonel bozulma gözlemlendi. Her iki gruba uygulanan cerrahi rekonstrüksiyon modelinin vibriseal kıl hareketlerinde bir iyileşme sağlayamadığı tespit edildi. Dil performansının değerlendirilmesi için uygulanan ölçüm yönteminde dilin deviyasyon seviyesi Y tüp HFA 41 ± 6 dereceye Y tüp uç-yan HFA grubunda ise 6 ± 4 derece olduğu tespit edildi.

Bu çalışmada lezyon alanında kollateral aksonal dallanmanın azaltıldığı, hypoglossal sinirin epinöral pencere ile hasarlanması sonucu dil hareketlerinde anlamlı düzeyde fonksiyon kaybının olmadığı; sinir fonksiyonlarının kollateral aksonal dallanma ile paralel olmayan şekilde fonksiyon kazanımı olarak yansımadağı tespit edildi. İleriki yapılacak çalışmalarda bu durumun fonksiyonel iyileşmeyi engelleyen mekanizmaların aydınlatılması ve yeni tedavi yöntemlerinin ortaya çıkarılmasıyla giderilebileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Fasiyal sinir, hypoglossal sinir, uç-yan koaptasyon, fonksiyonel iyileşme, HFA

ABSTRACT

Peripheral nerves may be damaged due to variety traumatic conditions. In these cases requiring surgery, functional recovery is suboptimal. Various surgical repair methods have been used in order to repair the facial nerve injury. Hypoglossal-facial nerve neurotomy is a surgical technique when the facial nerve stump is not accessible. In our study, we performed terminolateral hypoglossal-facial coaptation with “Y” tube conduit after facial nerve injury. We investigated the effect of the collateral sprouting at the lesion site, vibrissal motor performances, muscle innervation and tongue muscle performance.

Forty eight adult female and twenty four male (for the “Y” tubes) wistar rat were used. As surgical procedure, Y tube HFA and end-to-side Y tube HFA were applied. In the Y tube HFA group, proximal stump of the hypoglossal nerve were cut and sutured into the long arm of a Y tube. Zygomatic and buccal facial branches were entubulated and sutured into the short arms of the Y tube. In the end-to side coaptation, epineurial window was opened to the hypoglossal nerve. This nerve were damaged minimum level (30% fiber approximately) and sutured into the long arm of the Y tube. Zygomatic and buccal facial branches were entubulated and sutured into the short arms of the Y tube.

We determined collateral sprouting in the Y tube HFA group and ETS HFA group as 13 ± 1 , 3 ± 1 respectively. We determined statistically significant differences between each groups. Determining LLS muscle, we observed poly-innervated motor endplates each groups (23 ± 5 in the Y tube HFA group and 22 ± 4 ETS HFA group). We didn't determined significant differences in the poly-innervation pattern. Analysis of the vibrissal motor performances showed functional impairment. The evaluation of the tongue muscle performance analysis revealed the 41 ± 6 and 6 ± 4 degrees deviation of the tongue in in the Y tube HFA and ETS HFA group, respectively.

In this study, collateral axonal sprouting at the lesion site were reduced by end-to-side coaptation. However, it didn't improve functional outcome. Hypoglossal nerve injury by creating epineurial window caused moderate functional deficit in the tongue muscle functions. Although collateral axonal sprouting were reduced with this technique, it did not lead to functional recovery. We think that it is necessary the elucidation of the underlying mechanism for the functional recovery and discovering new surgical methods in future studies.

Keywords: Facial nerve, hypoglossal nerve, end-to-side coaptation, functional recovery, HFA

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamı hazırlamamda beni yönlendiren ve yardımcı olan sayın hocam Prof.Dr. Levent Sarıkcıoğlu'na ve eş danışmanım Prof. Dr. Doychin N. Angelova'a, tez çalışma sürecim boyunca desteklerini esirgemeyen Anabilim dalımızın saygıdeğer hocalarına, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Uzman Dr. Umut Özsoy'a ve değerli asistan arkadaşlarıma teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans ve doktora eğitimim boyunca her türlü desteklerini sunan ve yol gösteren Sağlık Bilimleri Enstitüsü personellerine ve eğitimim boyunca bana tüm desteğini veren ve her zaman yanımda olan sevgili aileme, pozitif enerjilerinden dolayibiricik eşime ve aramıza katılan sevgili oğluma sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	2
2.1. Periferik sinir hasarı ve rejenerasyon	2
2.2. Fasiyal sinir hasarı ve onarımı	3
2.3. Hypoglossal-fasiyal sinir anastomozu (HFA) ve klinikteki yeri	4
2.4. Hypoglossal-fasiyal sinir tamir metotları	4
2.4.1. Uç-uç hypoglossal-fasiyal sinir tamiri (Klasik hypoglossal-fasiyal sinir tamiri, end-to-end hypoglossal-fasiyal sinir koaptasyonu)	4
2.4.2. İnterpozisyonel sinir greftleme	4
2.4.3. Split hypoglossal-fasiyal sinir tamiri	4
2.4.4. Fasiyal sinirin transpozisyonu	4
2.5. Hypoglossal-fasiyal sinir tamiri sonrası tam fonksiyonel iyileşmeyi engelleyen faktörler.	6
2.6. Uç-yan (end-to-side, ETS, terminolateral) sinir onarım tekniği	7
MATERYAL VE METOT	8
3.1. Denekler	8
3.2. Deney grupları	8
3.3. Cerrahi işlemler	9
3.3.1. Aorta Y tüpünün hazırlanması	9
3.3.2. Aorta Y tüpü kullanılarak yapılan uç-yan hypoglossal-fasiyal sinir tamiri	9
3.3.3. Aorta Y Tüp ile uç-uca hypoglossal-fasiyal sinir koaptasyonu (HFA)	12
3.4. Sakrifikasyon öncesi yapılan işlemler	15
3.4.1. Vibriseal motor performansının değerlendirilmesi için vibriseal kıl hareketlerinin video kaydı	15
3.4.2. Floresan işaretleyici ile retrograd işaretleme	15
3.5. Hayvanların sakrifikasyonu ve dokuların elde edilmesi	16
3.6. Analiz	16
3.6.1. Vibriseal motor performansın değerlendirilmesi	16
3.6.2. Lezyon alanındaki kollateral dallanmanın belirlenmesi	17
3.6.3. M. levator labii superioris'in reinnervasyonun değerlendirilmesi	17
3.6.4. Dil kası performansının değerlendirilmesi	18
3.7. Veri analizi	18

BULGULAR	19
4.1. Lezyon alanındaki kollateral aksonal dallanma	19
4.2. M. levator labii superioris'in reinnervasyon paterni	19
4.3. Motor fonksiyonun video tabanlı görüntü analizi ile değerlendirilmesi	20
4.3.1. Davranışsal vibriseal bıyık hareketlerinin gözlemlenmesi	20
4.3.2. Bıyık hareketlerinin biyometrik analizleri	20
4.3.2.1. Kontrol ve Sham grubu	20
4.3.2.2. Hypoglossal-fasiyal anastomoz uygulanan gruplar	20
4.4. Motor fonksiyonun video tabanlı görüntü analizi ile değerlendirilmesi	21
TARTIŞMA	24
SONUÇLAR	28
KAYNAKLAR	29
ÖZGEÇMİŞ	36

SİMGELER VE KISALTMALAR

HFA	:	Hypoglossal-fasiyal sinir anastomozu
FR	:	Flouro Ruby
FB	:	Fast Blue
FE	:	Flouro Emerald
LLS	:	Musculus Levator Labii Superius
PBS	:	Phosphate Buffered Saline
NSS	:	Normal Sheep Serum
ETS	:	End-to-side anastomosis
NMK	:	Nöromuskuler Kavşak
End-to-End	:	Uç-Uca koaptasyon
DKYK	:	Dışkulak yolu kıkırdağı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1.Hypoglossal-fasiyal sinir tamir metotları	5
3.1. Y tüpünün hazırlanması.	9
3.2. Aorta Y tüpü ile yapılan uç-yan hypoglossal-fasiyal sinir tamiri.	11
3.3. Aorta Y tüpü ile yapılan uç-yan hypoglossal-fasiyal sinir tamiri.	12
3.4. Y tüp Hypoglossal-fasiyal anastomoz	13
3.5. Hypoglossal ve fasiyal sinirlerin direkt anastomozunun şematik gösterimi (HFA koaptasyon).	14
3.6. Ratın vibrisseal kıllarının dizilimi.	15
3.7. Floresan işaretleyicilerin uygulanması.	16
3.8.Vibrisseal motor performansın biyometrik analizi.	17
4.1. Hypoglossal sinir nükleusundaki nöronların görünümü.	19
4.2. Motor son plakların innervasyon paterni.	20
4.3. Dil kası performansının analizi.	21

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
3.1. Deney grupları	8
4.1. Deney gruplarında gözlenen kollateral aksonal dallanma	22
4.2. Motor son plakların reinnervasyon paterni	23
4.3. Vibriseal motor performansın biyometrik analizi	23
5.1. Farklı niteliklerdeki sinirlerin uç-yan koaptasyon ile tamiri	25

GİRİŞ VE AMAÇ

Periferik sinir yaralanmaları, yaşam kalitesini engellemenin yanı sıra sosyal ve ekonomik etkileri olan yaralanmalardır(1-2). Mimik hareketleri insanlar arası iletişimin önemli bir parçasıdır. Fasiyal sinir hasarı sonrası mimik hareketlerinin ve yüz simetrisinin bozulması, hastaların psikososyal durumları üzerinde olumsuz etki göstermektedir (3). Şiddetli ve uzun süre fasiyal paralizi sonrası oluşan ciddi estetik problemler nedeniyle yaşam kalitesinde düşürlere yol açmaktadır (4-5). Cerrahi tedavi, fasiyal paralizi sonrası yüz bölgesindeki simetrisinin sağlanmasını sadece dinlenme esnasında değil, aynı zamanda emosyonel davranışlarda ve gülümseme, gözlerin açılıp kapanması gibi isteğe bağlı yapılan hareketlerde de hedeflemektedir (6). Fasiyal sinir hasarı sonrası oluşan yüz felci sık görülen klinik bir durumdur. Paralizi sonrası ortaya çıkan klinik tablolar arasında, tek taraflı görülen göz kapağının tam kapanamaması, yüz simetrisinin bozulması, yutkunmada güçlük, kelimelerin tam telaffuz edilememesi gibi durumlar sayılabilir (7). Fasiyal sinir hasarı sonrası fonksiyonların geri kazanılabilmesi için, sinir transpozisyonu (greft) (8-9), çapraz fasiyal sinir grefti (fasiyofasiyal anastomoz) (10-11), kas transpozisyonu (12-13) gibi farklı pek çok prosedür reanimasyon teknikleri olarak geliştirilmiştir. Hypoglossal-fasiyal sinir anastomozu, fasiyal paralizi sonrası, fasiyal sinirin tek başına onarılamadığı durumlarda, cerrahide yaygın olarak kullanılan tedavi seçeneğidir (14). Hypoglossal-fasiyal sinir anastomozu; mimik hareketlerinin geri kazanılması, fasiyal simetrisinin oluşturulması ve istemli kas hareketlerinin tekrar yapılması gibi hedefleri gerçekleştirmeyi amaçladığından popolaritesini devam ettirmektedir (15).

Bu çalışma, aorta Y tüpünün uç-yan hypoglossal-fasiyal sinir tamiri sonrası sinir rejenerasyonunu nasıl etkilediği hipotezinin test edilmesi amacıyla planlanmıştır. Bu kapsamda fasiyal sinirin saf motor lif taşıyan ekstratemporal bölümüne koapte edilen hypoglossal sinirin sinir spesifitesi araştırılmıştır. Fasiyal sinirin ekstratemporal bölümünün saf motor lif içermesi prensibinden yola çıkarak farklı lif tiplerinin rejenerasyon sürecine katılmasının ekarte edilmesine olanak sağlanmıştır.

Bu çalışmada hypoglossal sinirin tamamen feda edilmesi yerine parsiyel olarak hasarlanması (epinöral pencere açılması) ve fasiyal sinir kesisi sonrası görülen poliinnervasyonun azaltılması ile ilgili olarak bilimsel birikime önemli katkılar sağlayacağı görüşündeyiz.

Bu proje kapsamında Y tüpü ile uç-yan hypoglossal sinir tamiri yapılarak aksonal yol bulmanın (axonal pathfinding) artması ve kollateral dallanmanın (collateral branching) azaltılması üzerindeki etkisinin araştırılması planlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

2.1. Periferik Sinir Hasarı ve Rejenerasyon

Periferik sinirler pek çok nedenlerden dolayı hasara uğrayabilirler. Bu etkenler arasında sıklıkla mekanik, iskemik, iatrojenik ve kimsayal etkenler yer almaktadır (16). Periferik sinir yaralanmaları kişinin fonksiyonlarını ileri derecede kısıtladığından dolayı pek çok araştırmacı tarafından çalışma konusu yapılmış bir alandır. Çalışmalarda temel amaç, fonksiyonların geri dönüşü, iyileşmenin en kısa sürede sağlanmasıdır.

Periferik sinir hasarının şiddeti ile ilgili olarak Seddon sınıflamasında üç farklı terimden bahsedilir (17). Bunlar:

Nöroapraksi: Sinir dejenerasyonu olmaksızın sinir paralizisinin görüldüğü durumları tanımlar.

Aksonotmezis: Sinir dokusunun ciddi yaralanmalarını tanımlar, epineurium ve diğer çevre dokuları korunmuş ya da çok az hasar görmüştür.

Nörotmezis: Periferik sinir bütünlüğünün devamlılığını kaybettiği durumları tanımlar.

Bir sinir kesildiğinde, sinirin proksimal segmenti yeniden rejenera olma kapasitesine sahiptir ve uygun koşullar altında sinir fonksiyonu yeniden sağlanabilir. Rejenerasyon en yakındaki Ranvier nodundan büyüme konisi ile başlamaktadır. Sinirin hedef organına doğru bir şekilde yönlenebilmesi için rejenera aksonunun, sinirin distal ucundaki Schwann hücre tüpüne (Büngner bandı) girebilmeyi başarması gerekmektedir (18). Dejenere olan yapılar makrofaj infiltrasyonu ve Schwann hücreleri tarafından elemine edilir. Bu sürece Wallerian dejenerasyon adı verilir (19). Periferik sinirin rejenera olan kısmında geçici olarak sinirin ana gövdesinde bulunan akson sayısından daha fazla sayıda myelinli ve myelinsiz aksonlar bulunur (18, 20). Kendine karşılık gelmeyen bir Schwann hücre tüpüne giren bir motor akson böylelikle farklı bir hedefi (genellikle antagonist bir kası) innerve eder. Buda sinkinezi adı verilen patolojik durumun temelini açıklamaktadır.

Sinir dokusunun rejenerasyon sırasında doğru hedefe yönelmesi spesifite olarak isimlendirilir. Literatürde farklı spesifite tipleri tanımlanmıştır. Bunlar;

1. Doku spesifitesi: Aksonun başka dokular yerine sinir dokusuna yönelmesi/rejenerasyonudur.
2. Organ spesifitesi: Motor veya duyuşal liflerin kendi orijinal hedef organlarına yönelmesi/rejenerasyonudur.
3. Topografik spesifite: Bir topografik bölgeyi innerve eden aksonun rejenerasyon sırasında orijinal bölgesine yönelmesi/rejenerasyonudur (21-22).

2.2. Fasiyal Sinir Hasarı ve Onarımı

Fasiyal sinir sıklıkla baş ve boyun travmalarında hasarlanmaktadır. Fasiyal sinir yaralanması çeşitli sebeplerden oluşabilir. Bu sebepler arasında, trafik kazaları (temporal kemik kırıkları, yüz bölgesinde meydana gelen laserasyon), parotis bezinin cerrahi olarak çıkarılması, serebellopontin köşe tümörlerinin eksizyonu olarak sayılabilir (23-25).

Mikrocerrahi tekniklerdeki gelişmelere rağmen fasiyal sinir tamiri sonrası fonksiyonel iyileşme suboptimal seviyede kalmaktadır (26-28). Fasiyal sinir koaptasyonu sonrası, hastalar sıklıkla, yutkunmada ve çiğnemede zorluk, heceleyememe gibi oral fonksiyon bozukluğundan şikayet etmektedirler (29). Fasiyal sinir hasarı sonrası hastalarda gözlenen bir diğer bozukluk ise parezi, sinkinezi ve disrefleksi olarak gözlenen postparalitik sendromdur(30-32). Postparalitik sendromun oluşum sebepleri arasında:1- fasiyal kaslara yanlış yönlendirilmiş reinnervasyon (33-34), 2-bitişik fasiküllerde bulunan aksonlar arasında sinir uyarısının değişimi (35), ve 3-fasiyal motor nöronlarda sinaptik inputta değişim (36-37) gibi durumlar tanımlanmıştır.

Periferik sinir kesisi sonrası sinir uçlarının koaptasyonu en iyi bilinen tamir yöntemlerindedir(38). Fasiyal sinir kesisi sonrası, sinirin proksimal kısmının koaptasyon için uygun olmadığı durumlarda kranial sinirlerin, fasiyal sinirin distal kısmına transpozisyonu tercih edilen tekniklerdir. Fasiyal sinirin bu şekilde farklı bir sinir tarafından reanimasyonu konusunda hypoglossal sinir, aksesuar sinir, glossofaringeal sinir, servikal pleksus'un dalları gibi pek çok sinir kaynağının kullanımı literatürde bildirilmiştir(4, 28, 39). Bu sinir kaynakları içerisinde hypoglossal sinirin transpozisyonu en sık kullanılan yöntemdir(40-41). Bu koaptasyon sayesinde hypoglossal sinir aksonlarının paralize mimik kaslarına gitmelerine olanak sağlanır (14, 42).En iyi bilinen koaptasyon yöntemi fasiyal ve hypoglossal sinirlerin uç uca (end-to-end) koaptasyonudur(25). Ancak sinir hasarı sonrası sinir uçları arası mesafenin fazla olması durumunda uç-uca koaptasyon işlemi yapılamamaktadır. Bu durumda, bu mesafe bir sinir grefti ya da bir tüp aracılığı ile kapatılır. Sinir grefti kullanımı sonrası greftin alındığı bölgede duyu kaybı gerçekleşmesi yapay sinir tüplerinin geliştirilmesi konusunda pek çok çalışmaya dayanak oluşturmuştur (21, 43). Tüple onarma yönteminin direkt koaptasyon yöntemine göre beklenen üstünlüğü iki sinir ucu arasında bırakılan boşluktan kaynaklanır. Bu boşluğun bulunması, sinir rejenerasyonu için gerekli hücre ve nörotrofik faktörlerin boşluk içerisinde akümülyasyonunu ve böylece sinirin doğru hedefe rejenere olmasını kolaylaştırdığını düşündürmektedir (21).

2.3. Hypoglossal-Fasiyal Sinir Anastomozu (HFA) ve Klinikteki Yeri

19. yüzyılın sonlarında, fasiyal sinir reinnervasyonunu sağlamak için aksesuar sinirin spinal dalı donör sinir olarak kullanılmıştır (44). 1895 yılında ilk kez Charles Ballance tarafından fasiyal-aksesuar sinir anastomozu gerçekleştirilmiştir (45). Hayal kırıklığı ile sonuçlanan cerrahi teknikten dolayı, Ballance, fasiyal sinir reanimasyonu için fasiyal sinir ile kortikal temsil alanlarının yakın olduğu diğer kraniyal sinirleri de denemiştir (46). 1901 yılında ilk kez Körte (45) temporal kemik cerrahisi sonucu oluşan fasiyal paralizisinde hypoglossal-fasiyal sinir anastomozu yöntemini uygulamıştır. O yıllardan bu yana, bu onarım tekniği ve modifikasyonları, fasiyal sinir paralizi tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Yüz felcinin cerrahi tedavisinde bu alternatif tekniğin kullanılmasının sebebi, fasiyal sinirin kendisinin onarılamayacak durumda ve cerrahi olarak dar bir alanda bulunmasıdır (25, 47-48). Kesilen sağlam hypoglossal sinirin proksimal kısmının, fasiyal sinirin distal kısmına koaptasyonu şeklinde cerrahi tekniğe dayanmaktadır (14, 26, 42).

2.4. Hypoglossal-Fasiyal Sinir Tamir Metotları

Hypoglossal sinirin fasiyal sinirekoaptasyonu konusunda farklı cerrahi vasyasyonlar mevcuttur.

2.4.1. Uç-Uç Hypoglossal-Fasiyal Sinir Tamiri (Klasik Hypoglossal-Fasiyal Sinir Tamiri, End-to-End Hypoglossal-Fasiyal Sinir Koaptasyonu)

Bu yöntemde daha önce travmatize olmuş fasiyal sinirin distal bölümüne yeni kesilen hypoglossal sinirin proksimal kısmı koapte edilir (**Şekil 2.1**). Bu yöntemde, ikinci bir sinirin (hypoglossal sinir) harabiyete uğratılması ve dil fonksiyonlarının etkilenmesi söz konusudur (39).

2.4.2. İnterpozisyonel Sinir Greftleme

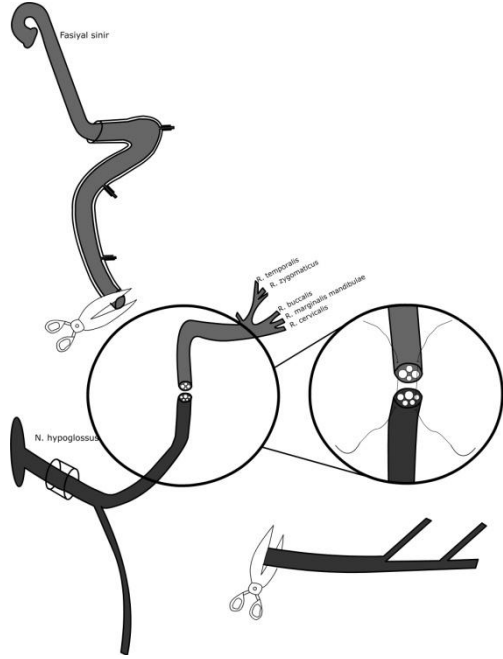
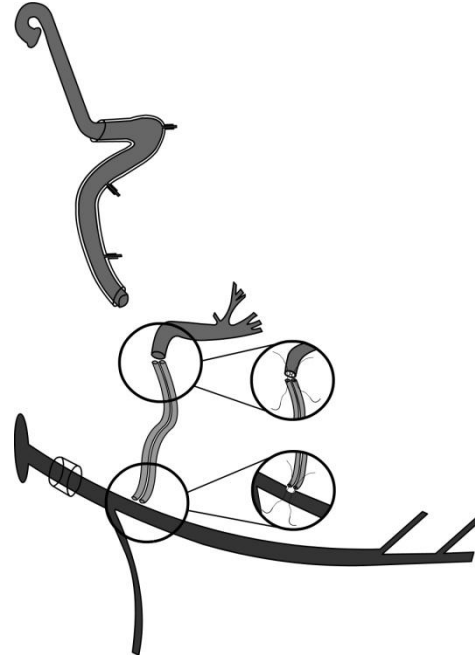
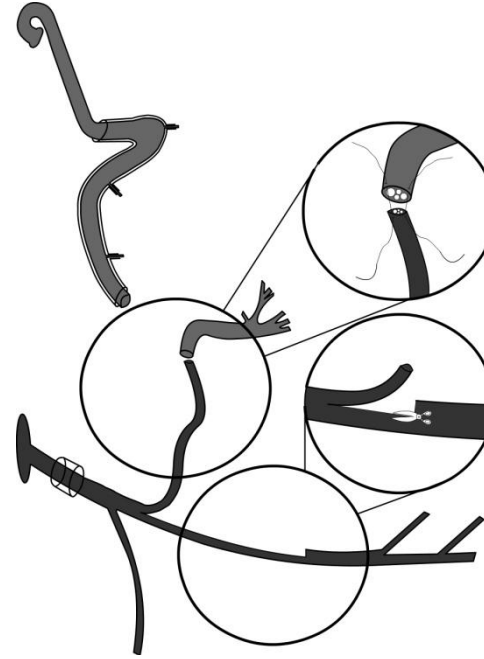
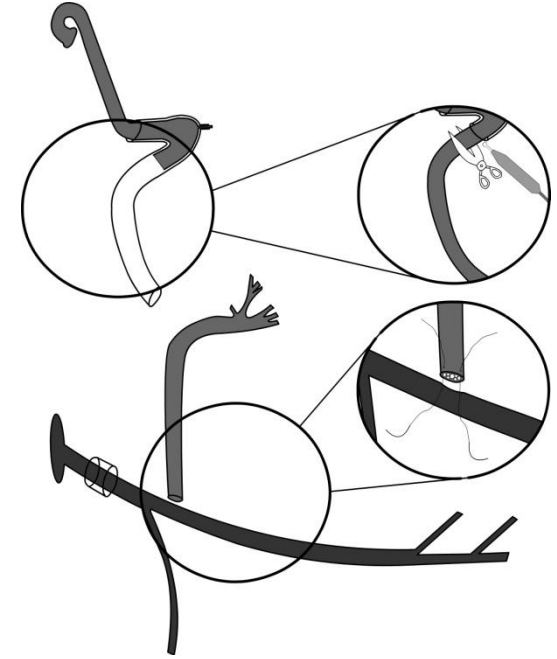
Bu sinir tamiri yönteminde ise hypoglossal ve fasiyal sinirler arasında bir greft uygulanır. Bu yüzden bir duyu sinirinin sakrifiye edilmesi gerekmektedir (**Şekil 2.1**).

2.4.3. Split Hypoglossal-Fasiyal Sinir Tamiri

Bu sinir tamiri yönteminde hypoglossal sinir longitudinal yönde ikiye ayrılarak bir parçanın fasiyal sinirine uç-uca koaptasyon amacıyla kullanılırken; diğer sağlam bölüm ise dil fonksiyonlarını idame ettirmesi amacıyla kullanılır (**Şekil 2.1**).

2.4.4. Fasiyal Sinirin Transpozisyonu

Bu sinir tamiri yönteminde fasiyal sinirin intratemporal bölümünün serbestleştirilmesi ve böylece elde edilen fasiyal sinir bölümünün hypoglossal sinire uç-yan şekilde koapte edilmesi söz konusudur (**Şekil 2.1**)(39).

Klasik hypoglossal-fasiyal sinir tamiri**İnterpozisyonel sinir greftleme****Split hypoglossal-fasiyal sinir tamiri****Fasiyal sinirin transpozisyonu**

Şekil 2.1. Hypoglossal-fasiyal sinir tamir metotları

2.5. Hypoglossal-Fasiyal Sinir Tamiri Sonrası Tam Fonksiyonel İyileşmeyi Engelleyen Faktörler.

Hypoglossal-fasiyal sinir tamiri sonrası fonksiyonlardaki yetersiz iyileşme kasların uygun olmayan innervasyonu ile ilişkilendirilir (25, 33-34). Yanlış innervasyon başlıca iki faktöre bağlanabilir:

- 1- Sinir kesisi sonrası büyüyen aksonların kendi orijinal sinir fasiküllerine katılmalarındaki başarısızlık (30, 49).

Kollateral aksonal dallanma olarak isimlendirilen bu durum her bir sinir lifinden yaklaşık 25 kadar yeni sinir lifinin filizlendiği bir ortamda sinir lifinin kendi orijinal hedefini bulmasında zorluklara neden olmaktadır. Bu kollateral dallar farklı ve genellikle de antagonist kasların innervasyonunu sağlar (50-51).

- 2- Aksonların kas içerisinde terminal dallanması (terminal aksonal dallanma).

Bu tür aksonlar hedeflerine ulaşıncaya kadar birçok kas lifini tekrar innerve ederler ve böylelikle geniş bir motor ünite oluşumuna neden olurlar (52-53). Bunun yanı sıra, her bir motor son plağın birden fazla akson tarafından innerve edilmesine de sebep olabilir.

Kesi sonrası anormal reinnervasyonun (aberrant reinnervation) gerçekleştiği bilinmesine rağmen (20, 54); bu durumdan nasıl korunulabileceği hakkındaki bilgiler oldukça kısıtlıdır. Fonksiyon bozukluklarını gidermek için aksonların yanlış yönelimini (misdirection) azaltmayı hedefleyen denemeler fassiküler ve topografik spesifiteyi sağlamada yetersiz kalmıştır. Kesilen sinirin proksimal ucundan köken alan aksonlar ve onların dallarının büyüme konilerinin kesilen sinirin distal dalına fonksiyonel olarak yönlendirilmesi teknik olarak imkansızdır. Bu nedenle, araştırmalar lezyon sonrası kollateral dallanmanın ve motor son plakların poliinnervasyonunun azaltılması yönünde yoğunlaştırılmıştır (18, 26, 55-57). Aorta Y tüpü kullanarak hypoglossal-fasiyal sinir tamiri uygulamış olduğumuz bir başka çalışmamızda,(39) kollateral aksonal dallanmanın azaltılmasını başarmamıza rağmen; aynı başarı fonksiyonel iyileşmede görülmemiştir.

2.6. Uç-Yan (End-To-Side,ETS,Terminolateral) Sinir Onarım Tekniği

Terminolateral sinir koaptasyon tekniği olarak da bilinen uç-yan sinir onarım tekniği, sağlam bir donör sinirden kollateral aksonal filizlenme sağlanarak sinir kesisinin distal kökü boyunca rejenerasyon elde etmek amacıyla alıcı sinirin koaptasyonu işlemine dayanmaktadır (58). Bu onarım tekniğinde alıcı ve donör sinir arası mesafe oldukça fazla ise bu mesafe bir sinir grefti, “Y” şeklinde sikon tüp yada ven grefti kullanarak gerçekleştirilmektedir (59).

Hasarlanan sinirlerin cerrahi olarak tamiri çok eski tarihlere dayanmaktadır. Uç-yan (end-to-side, ETS, terminolateral) sinir koaptasyon tekniği 19. yüzyıldatanımlanmıştır(59). İlk kez 1873 yılında Emile Létiévant (1830-1952), sinir lezyonları için bir tedavi seçeneği olarak “*Traite des Sections Nerveuses: physiologie pathologique, indications, procédés opératoires*” isimli yayınladığı kitabında uç-yan sinir koaptasyon tekniğini önermiştir (60-61). Létiévant yapmış olduğu çalışmada hasarlanan median sinirin distal ucuna donör sinir olarak muskulokutan siniri koapte ederek bu tamir metodunu uygulamıştır (61). 1876 yılında bu koaptasyon tekniği ilk kez hastalarda Despres tarafından uygulanmıştır (62-63). Despres bu tekniği hasarlanan median sinirin distal ucuna ulnar siniri koapte ederek uygulamış ve fonksiyonel iyileşmenin bir dereceye kadar başarıldığını rapor etmiştir (62-63). 20. yüzyılın sonlarına doğru uç-yan sinir koaptasyon tekniği ile ilgili olarak pek çok reanimasyon modelleri geliştirilmiştir. 1901 yılında Robert Kennedy (1865-1924) tarafından hastaya uygulanan model pek çok yazarlar tarafından benimsenmiştir. Kennedy tarafından, fasiyal paralizisi olan hastada fasiyal sinire, aksesuar sinirin spinal dalı koapte edilmiş ve tedavi olumlu sonuçlar vermiş, mimik hareketlerinde fonksiyonel iyileşme bir dereceye kadar başarılıdır (64). 1903 yılında Harris ve Low, (65)brachial pleksus hasarı olan hastalarda 5. servikal spinal sinirin distal dalını 6. servikal spinal sinire koapte ederek bu koaptasyon tekniğini uygulamışlardır. Tedavi sonrası bu tekniğin brachial pleksus hasarı olan olgularda olumlu sonuçlar verdiğini rapor etmişlerdir.

MATERYAL VE METOT

3.1. Denekler

Çalışmamızda, 48 adet dişi ve 24 adet erkek olmak üzere 72 adet *Rattus norvegicus* türü yetişkin Wistar sıçan kullanıldı. Doku reddinin engellenmesi amacıyla ünitemizde bulunan inbred soy (F19) kullanıldı. Deneklerin 24 tanesi (Erkek kardeşler) aorta abdominalis'in iliak damarlara çatallandığı bölgenin Y tüp olarak kullanılması için sakrifiye edildi. Tüm denekler 12 saat gece, 12 saat gündüz siklusunda ve her kafeste 4 denek olacak şekilde sınırsız yem ve su ile beslenmişlerdir. Denekler üzerinde yapılan tüm işlemler Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Bakım-Kullanım ve Hayvan Etik Kurulu tarafından değerlendirilmiş ve onaylanmıştır (2012.09.05).

3.2. Deney grupları

Çalışmamızda kullanılan denekler aşağıdaki tabloda belirtildiği şekilde sınıflandı. Tüm deneklerin ortalama 300-350 gram arasında olmasına dikkat edildi.72 denek beş gruba ayrıldı (**Tablo 3.1**)

Grup 1 (Kontrol grubu): Bu denekler hypoglossal sinirin motor nükleusundaki nöron sayısının tespit edilmesi için kullanıldı.

Grup 2 (Sham grubu): Bu deneklere cerrahi stres uygulanarak ve bu amaçla cerrahi prosedür sadece sinirlerin ortaya çıkarılıp cilt kesisinin dikilmesi şeklinde yapıldı.

Grup 3 (Y tüp HFA): Bu gruptaki deneklerde hypoglossal sinir tamamen kesilerek aorta Y tüpün uzun koluna, bukkal ve zygomatik dal ise Y tüpünün kısa kolları içerisine entübüle edildi.

Grup 4 (Y tüp ile uç-yan hypoglossal-fasiyal sinir tamiri): Bu gruptaki deneklerde hypoglossal sinir minimal düzeyde (yaklaşık %30 lif) hasarlandı. Daha sonra hasarlanan bu bölüm aorta Y tüpünün uzun kolu içerisinde kalacak şekilde uç-yan koaptasyon yapıldı. Y tüpünün kısa kollarına ise bukkal ve zygomatik dallar entübüle edildi.

Grup 5: 3. ve 4. gruptadaki denekler için hypoglossal fasiyal sinir tamirinde kullanılacak olan aorta Y tüpünün eldesi amacıyla sakrifiye edilecek erkek kardeşleri içermektedir.

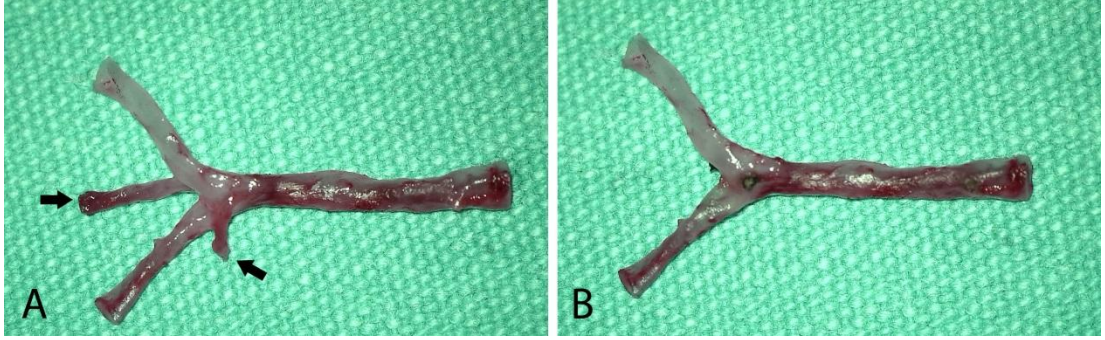
Tablo 3.1.Deney grupları

	n
Grup 1 (Kontrol)	12
Grup 2 (Sham)	12
Grup 3 (Aorta Y tüp ile hypoglossal-fasiyal sinir tamiri)	12
Grup 4 (Aorta Y tüp ile uç-yan hypoglossal-fasiyal sinir tamiri)	12
Grup 5 (Aorta elde edilmesi için sakrifiye edilecek grup)	24 (Grup 3 ve 4 için 12'şer denek)

3.3. Cerrahi İşlemler

3.3.1. Aorta Y Tüpünün Hazırlanması

Grup 3 ve Grup 4'te hypoglossal-fasiyal koaptasyonunda kullanılmak üzere aorta Y tüpünün eldesi için 24 adet denek kullanıldı. Aorta'nın sağ ve sol iliak damarlara ayrıldığı çatal kısmı Y tüpünün eldesi için seçildi. Bu işlem için, deneğin anestezisi (Xylazin HCl+Ketamin) sonrası laparotomi yapılarak karın organlarına; daha sonra bu organlar ekarte edilerek aorta abdominalis'e ulaşıldı. Cerrahi mikroskop altında V. cava inferior ve aorta abdominalis kaba disseksiyon ile birbirlerinden ayrıldıktan sonra aorta abdominalis'in üst seviyesine ve iliak damarların alt seviyesine birer klemp takılarak damar içerisinde kan akışı durduruldu. Daha sonra aorta çevresindeki bağ dokusu temizlenerek aorta abdominalis cerrahi alan dışına alındı (Şekil 3.1.A). Ardından aortanın parietal ve visseral dalları koterize edildi (Şekil 3.1.B). Bu işlemin yapılmaması Y tüpü içerisinde rejenere olan ve distale doğru uzanacak olan hypoglossal sinir liflerinin Y tüpü dışına çıkması anlamına geleceği için üzerinde titizlik gösterildi.



Şekil 3.1.Y tüpünün hazırlanması.

A:Abdominal aortanın çıkarılmasından sonraki görünümü, B:Lumbar arterlerin ve a. sacralis mediana'nın koterize edilmesinden sonra abdominal aortanın görünümü.Oklar parietal ve visseral dalları göstermektedir.

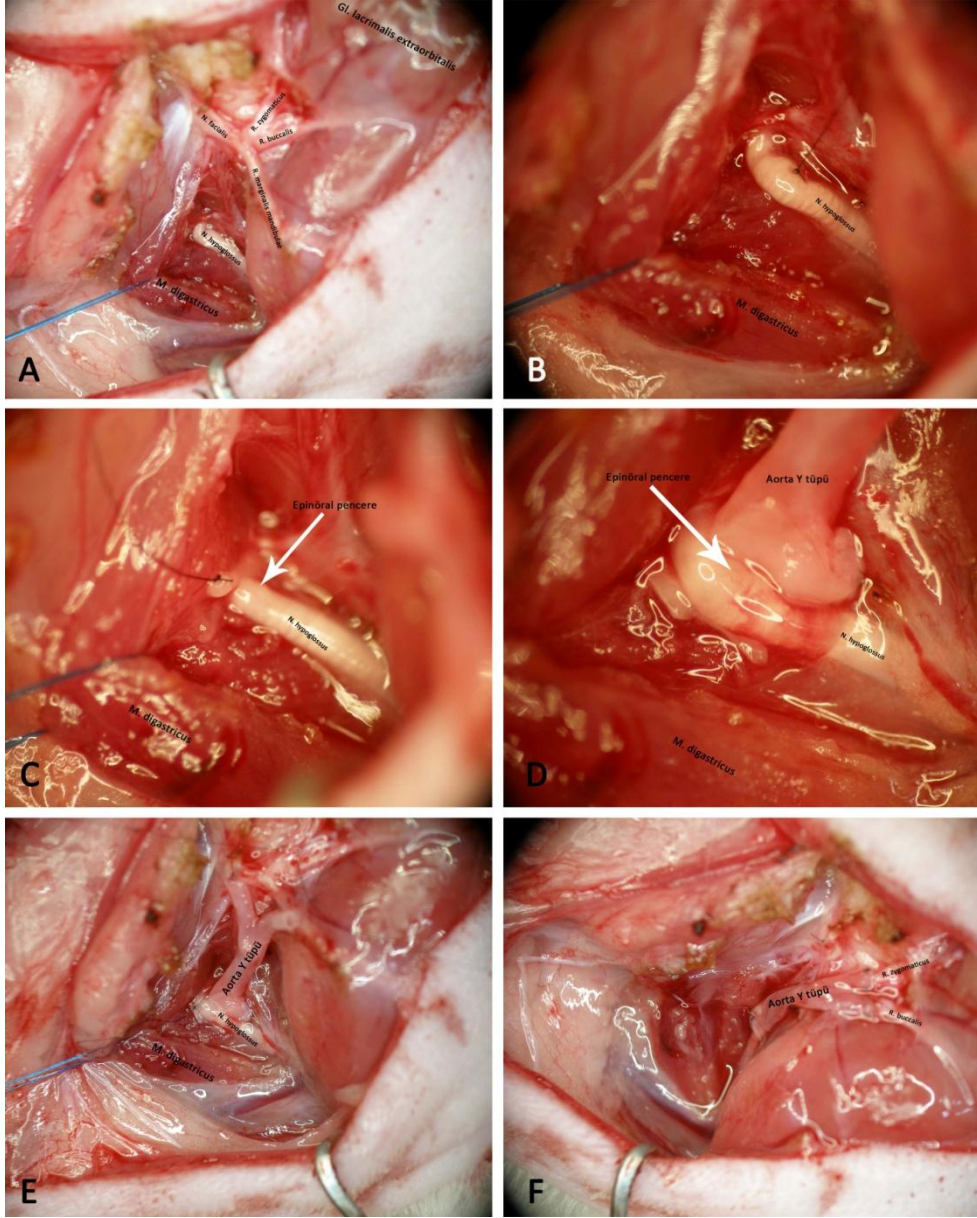
3.3.2. Aorta Y Tüpü Kullanılarak Yapılan Uç-Yan Hypoglossal-Fasiyal Sinir Tamiri

Grup 4'teki 12 adet deneğe uç-yan hypoglossal-fasiyal sinir tamiri yapıldı. Bu işlem için öncelikle kulağın arka kısmından ağız köşesine doğru seyreden bir deri insizyonu yapıldı. Bu sırada fasiyal sinirin bukkal dalı ortaya çıkarıldı. Bu dalın cerrahi işlem sırasında zarar görmemesine özen gösterildi. Bukkal dalın takibi ile zygomatik dal, r. marginalis mandibulae ve fasiyal sinirin ana gövdesine ulaşıldı. Daha sonraki aşamada marginalis mandibulae dalı mümkün olan en distal noktadan kesilerek proksimale doğru takip edildi. Bu işlemin yapılması ardından fasiyal sinirin ana gövdesi foramen stylomastoideum'dan çıkış yerinden hemen sonra 6.0 dikiş materyali ile bağlandı ve bağlama seviyesinin distal tarafından olacak şekilde kesildi. Daha sonra Y tüpünün kısa kollarına yerleştirilecek olan bukkal ve zygomatik dallar fasiyal sinirden ayrıldıkları seviyeden kesildi. Bu işlemin tamamlanması ile fasiyal sinir aorta Y tüpü implantasyonu için hazır duruma geldi (Şekil 3.2, 3.3).

Hypoglossal sinir ise m. digasticus'un laterale doğru çekilmesi ile ortaya çıkarıldı. Sinirin epinörium'una bir adet 10.0 dikiş materyali ile dikiş atıldı ve daha sonra bu dikiş materyali çekilerek bir makas yardımıyla sinir üzerinde bir epinöral pencere açıldı. Böylece hypoglossal sinir de aorta Y tüp implantasyonu için hazır duruma geldi (**Şekil3.2, 3.3**).

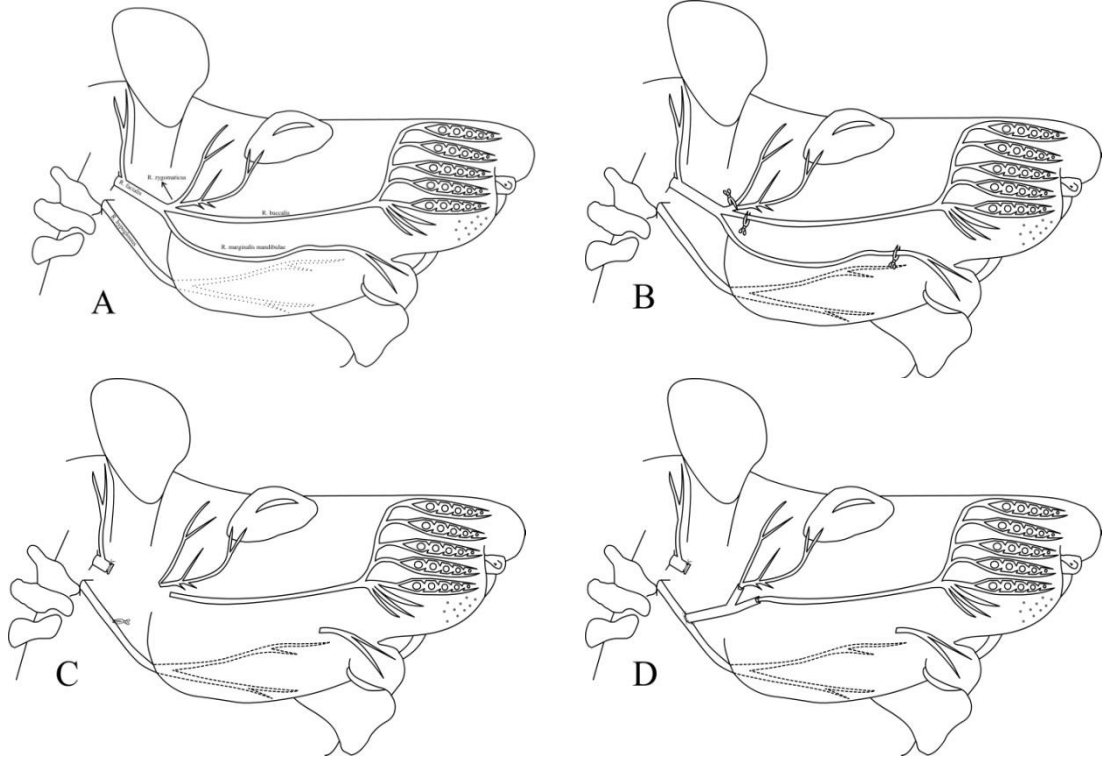
İkinci ekip tarafından cerrahi işlemleri yapılmış ve implantasyona hazır hale getirilmiş olan aorta Y tüpü cerrahi alan içerisine alındı. Daha sonra, hypoglossal sinirde epinöral pencerenin açıldığı bölge aorta Y tüpünün uzun koluna gelecek şekilde 10.0 dikiş materyali ile sabitlendi (**Şekil 3.2, 3.3**). Bukkal ve zygomatik dallar ise aorta Y tüpünün kısa kollarından çıkmayacak şekilde ikişer dikiş uygulanarak tespit edildi. Entübülasyon işlemi sırasında dikiş materyalinin sinir liflerine zarar vermeyecek şekilde sadece epineurium'dan geçirilmesine büyük özen gösterildi.

Yapılan cerrahi işlemler sonrasında denekler standart kafeslerine alındı. Uyanmalarına yakın bir zamanda deneklere Tramadol HCl (3 gün boyunca 20 mg/kg) verilerek postoperatif analjezileri sağlandı. Deneklerin karışmasını önlemek amacıyla sağ kulaklarına denek numarası yazılı olan metal bir küpe takıldı.



Şekil 3.2. Aorta Y tüpü ile yapılan uç-yan hypoglossal-fasiyal sinir tamiri.

A-Sinir tamiri yapılacak sinirlerin ortaya çıkarılması. **B-**Epinöral pencere açılması için hypoglossal sinirin epinörium'una bir dikişin uygulanması. **C-** Epinöral pencerenin açılması ve böylece %30 lifin hasarlanması **D-** Epinöral pencere açıklığının aorta Y tüpünün uzun koluna doğru yönlendirilmesi **E-** Epinöral pencerenin aorta Y tüpünün uzun kolundan başka bir alana yönlenmemesi için sinirin epinöriumunun tüpe sabitlenmesi. **F-** Cerrahi işlem sonucu uç-yan hypoglossal-fasiyal sinir tamirinin tamamlanması.

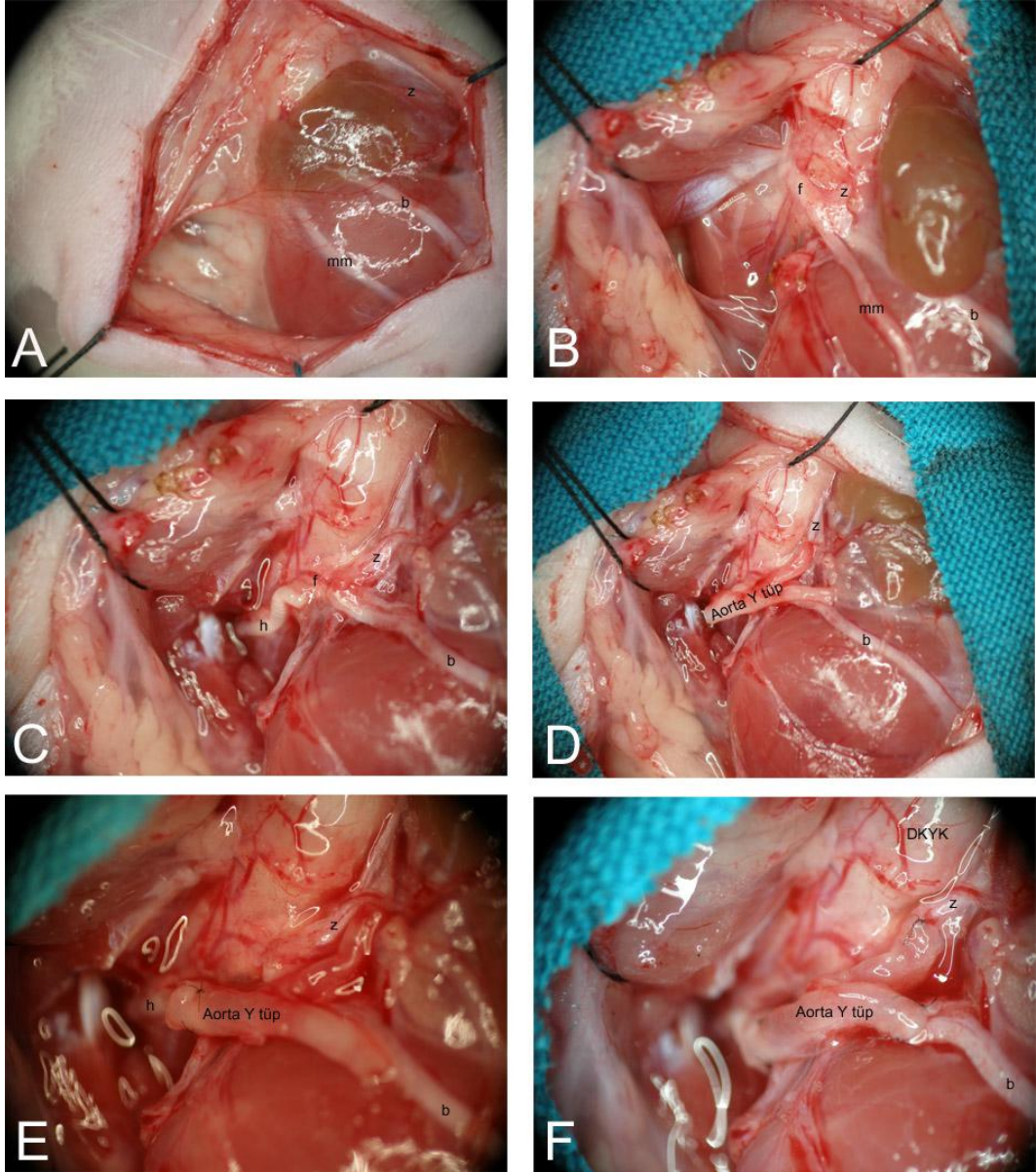


Şekil 3.3.Aorta Y tüpü ile yapılan uç-yan hypoglossal-fasiyal sinir tamiri.

A- Sinir tamiri yapılan sinirler. **B-** Fasiyal sinirin tamir için kesilmesi ve hazırlanması. **C-** Epinöral pencerenin açılması ve böylece %30 lifin hasarlanması **D-** Cerrahi işlem sonucu uç-yan hypoglossal-fasiyal sinir tamirinin tamamlanması.

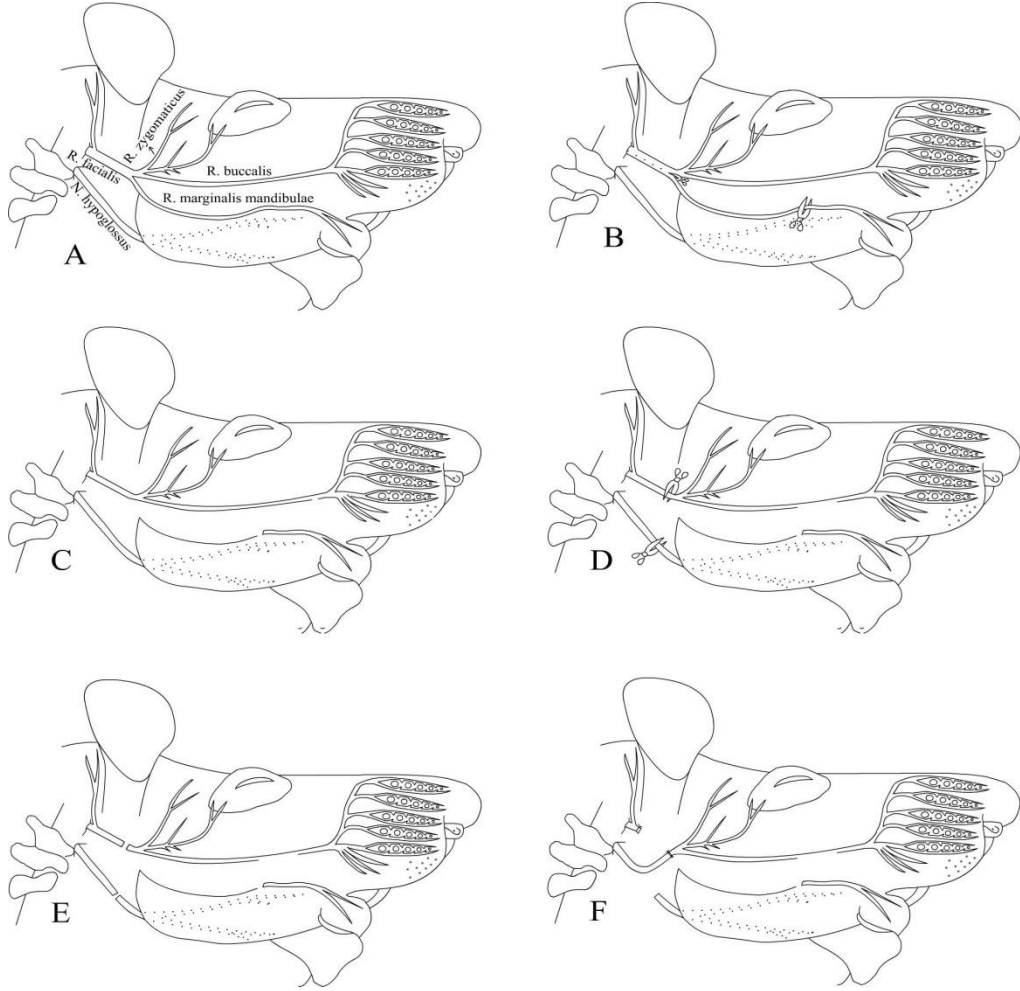
3.3.3. Aorta Y Tüp İle Uç-Uca Hypoglossal-Fasiyal Sinir Koaptasyonu (HFA)

Grup 3'teki 12 adet deneye hypoglossal-fasiyal sinir tamiri yapıldı. Bu işlem için uç-yan hypoglossal-fasiyal sinir tamirinde yapılan cerrahi prosedür (fasiyal sinir'in ortaya çıkarılma işlemi, r.marginalis mandibulae'nin eksizyonu, fasiyal sinirin ana gövdesinin kaldırılması ve bağlanması, hypoglossal sinirin cerrahi işleme dahil edilmesi) bu gruptaki denekler içinde yapıldı. Daha sonra fasiyal sinirin bukkal ve zygomatik dalları kesilerek Y tüpün kısa kollarına koapte edilmek üzere hazır hale getirildi. Hazırlanmış olan aorta Y tüpünün uzun koluna hypoglossal sinirin proksimal ucu, Aorta Y tüpünün üst kısazygomatik dal; alt kıs koluna ise bukkal dalikişer dikiş (10.0) uygulanarakentübüle edildi(Şekil 3.4, 3.5). Hypoglossal sinirden köken alan sinir liflerinin serbest bir şekilde yön bulması ve uygun hedefe yönelmesine olanak sağlaması açısından hypoglossal sinir, r.buccalis ve r.zygomaticusun'un uç dalları arasında 10 mm mesafe bırakılarak cerrahi işlem gerçekleştirildi. Deneklerin uyanmalarına yakın bir zamanda deneklere Tramadol HCl (3 gün boyunca 20 mg/kg) verilerek postoperatif analjezileri sağlandı. Deneklerin karışmasını önlemek amacıyla sağ kulaklarına denek numarası yazılı olan metal bir küpe takıldı.



Şekil 3.4. Y tüp Hypoglossal-fasiyal anastomoz

A-Cilt kesisi sonrası cerrahi alan ortaya çıkarıldığında fasiyal sinirin dalları. **B**-fasiyal sinir ve dallarının görünümü. **C**-hypoglossal sinirin çıkarılması **D**-Aorta Y tüpünün cerrahi alan içerisine alınması **E**-Aorta Y tüpünün uzun koluna hypoglossal sinire iki dikiş ile koaptasyonu **F**-zygomatik ve bukkal dalların entübüle edilmesi. **b**: bukkal dal, **f**: fasiyal sinir, **h**:hypoglossal sinir, **mm**: Marginalis mandibulae dalı, **z**: zygomatik dal, **DKYK**: dışkulak yolu kıkırdağı



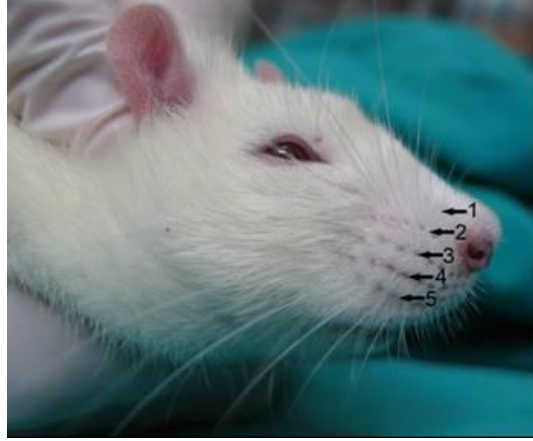
Şekil 3.5.Hypoglossal ve fasiyal sinirlerin direkt anastomozunun şematik gösterimi (HFA koaptasyon).

A: Normal fasiyal sinir anatomisi. **B:** Marginalis mandibulae dalının kaldırılması. **C:** **R.** marginalis mandibulae'nin kaldırılması sonrası fasiyal sinir görünümü. **D:** Fasiyal sinir ana gövdesi ile hypoglossal sinirin kesilmesi. **E:** Fasiyal sinir ve dalları ile hypoglossal sinirin kesilmesi sonrası sinir dallarının görünümü. **F:**Hypoglossal ve fasiyal sinirlerin direkt anastomozu.

3.4. Sakrifikasyon Öncesi Yapılan İşlemler

3.4.1. Vibrisseal Motor Performansının Değerlendirilmesi İçin Vibrisseal Kıl Hareketlerinin Video Kaydı

Hafif anestezi altında deneğin vibrisseal kıllarından 3. sıranın en arkadaki 2 kılı hariç diğer kıllar kesildi (ratlarda bıyık kılları 5 sıra şeklinde dizilmişlerdir (**Şekil 3.6**). Bu kıllardan 3. sıranın en arkadaki 2 kıl en kalın ve en uzun kıllardır). Daha sonra denek aktif eksplorasyon hareketi sırasında 3-5 dakika boyunca vibrisseal kıl hareketleri video kamera (Sony Handycam DCR-SR70 HDD Camcorder) ile kayıt edildi.

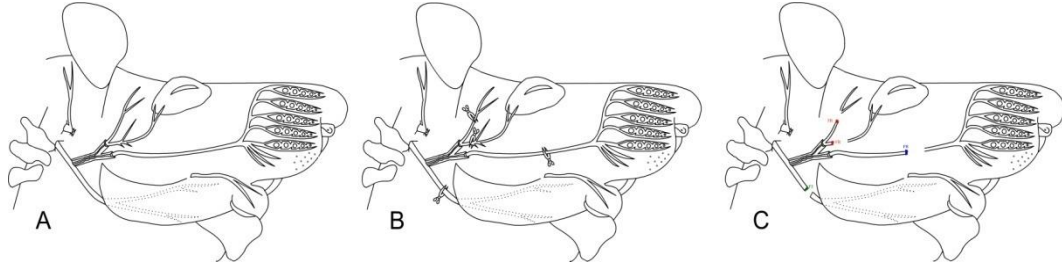


Şekil 3.6.Ratın vibrisseal kıllarının dizilimi.

3. sıranın en arka kısmında bulunan iki kıl en uzun ve en kalın kıllardır.

3.4.2. Floresan İşaretleyici İle Retrograd İşaretleme

Her gruptan 6 denek bu amaç için kullanıldı. Bu uygulama için denekler 4. ayın sonunda anestezi edildi. Daha sonra cilt kesisi yapılarak zygomatik ve bukkal dallara ulaşıldı. Bu dalların distal tarafları bir penset yardımıyla tutularak bir mikromakas ile proksimal kısımları kesildi. Bu aşamadan sonra proksimal kısma herhangi bir müdahale (tutma, kesme v.b.) uygulanmadı. Distal kısımlar ise uygun miktarda kesilerek cerrahi alandan uzaklaştırıldı. Daha sonra karanlık ortamda tutulan ve günışığına maruz kalması minimum seviyede olmasına dikkat edilen Flouro Ruby (FR), Fast Blue (FB) ve Flouro Emerald (FE) floresan işaretleyicilerin uygulanması aşamasına geçildi. Bu işaretleyicilerden FR zygomatik dala; FB bukkal dala, FE ise hypoglossal sinirin distal bölümüne uygulandı (**Şekil 3.7**). Bu boyaların kristalleri dalların proksimal kısımlarının üzerine kaplayacak şekilde sinir dalı üzerine bir insülin enjektörü yardımıyla bırakıldı. Kontaminasyonun önlenmesi amacıyla FR, FB, FE için ayrı insülin enjektörü kullanıldı. Bu işaretleyicilerin uygulamasından sonra denekler bir saat süreyle bu şekilde bekletildi. Bu beklemin nedeni kristallerin sinir içerisine nüfuz etmesi ve retrograd transportun başlamasıdır. Bekleme süresinin sonunda cerrahi alan bol serum fizyolojik ile yıkanıp kurutularak cerrahi kesi kapatıldı. Deneklerin uyanmalarına yakın bir zamanda deneklere Tramadol HCl (3 gün boyunca 20 mg/kg) verilerek postoperatif analjileri sağlandı.



Şekil 3.7.Floresan işaretleyicilerin uygulanması.

A: 4 aylık süreçte aorta Y tüpü içerisinde rejenere olan hypoglossal sinir lifleri. **B:** zygomatik, bukkal dalın ve hypoglossal sinirin distal bölümünün kesilmesi. **C:**Flouro Ruby (FR), Fast Blue (FB) ve Flouro Emerald (FE) kristallerinin uygulanması.

3.5. HayvanlarınSakrifikasyonu ve Dokuların Elde Edilmesi

Floresan boya kristallerinin uygulanma işleminden 7 gün sonra denekler yeterli anestezi sonrası torakotomi yapılarak kalbin sol ventrikülünden girildi ve 250-300 ml serum fizyolojik ile damar sistemi perfüze edildi. Bunun ardından 0.1M fosfat tamponu (pH:7.4) ile hazırlanan %4'lük paraformaldehit ile transkardial fiksasyon gerçekleştirildi. Bu işlemin sonrasında beyin sapı (hypoglossal nükleustaki işaretlenmiş nöronların tespiti için), M. levator labii superioris (polinnervasyonun tespit edilmesi için) çıkarıldı.

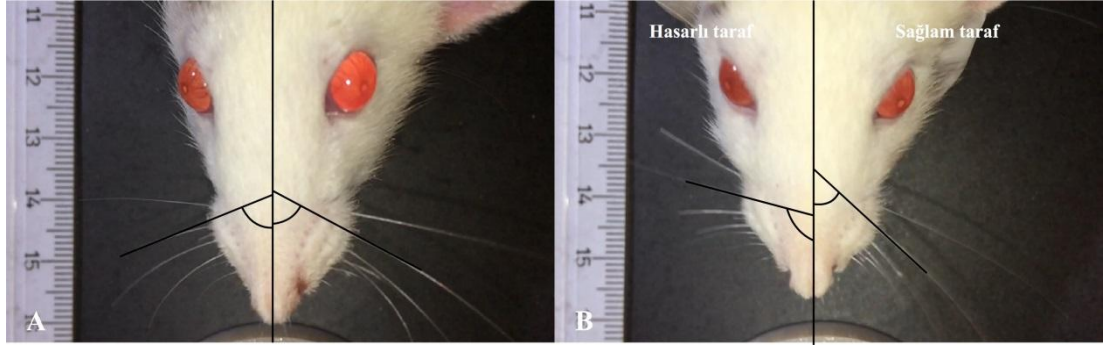
Transkardial perfüzyonun ardından opere ve opere olmayan taraftaki M. levator labii superioris, cerrahi mikroskop altında çıkarıldı. Bunun için disseksiyona gözün medial köşesinden başlandı. Kasın buradaki tutunma kısmı kesildikten sonra kas distale doğru takip edildi. Bu sırada kasın altında seyreden N. infraorbitalis'te kesildi. Kıl folikülleri seviyesine geldikten sonra vibrisseal kıllara ait olan kıl folikülleri derin seviyede kesilerek, kas bütün olarak çıkarıldı. Daha sonra denekten çıkarılan kaslar inceleme gününe kadar 0.1M fosfat tamponu (pH:7.4) ile hazırlanan %4'lük paraformaldehit içerisinde bekletildi.

3.6. Analiz

3.6.1. Vibrisseal Motor Performansın Değerlendirilmesi

Her denekten elde edilen video kaydıdan denek başının hareketsiz olduğu 1.5 saniyelik fragmanlar seçilerek biyometrik analiz ile incelendi. Deneğin burnunun ucu ve her iki gözünün iç köşesi referans noktası olarak kullanıldı. Her bir vibrisseal kılın taban noktası ve gövdesi üzerinde tabandan 0.5 cm uzaktaki birer nokta bilgisayar ortamında oluşturuldu (Şekil 3.8). Bu şekilde sağ ve sol taraf olmak üzere dört vibrisseal kıla ait sekiz nokta yardımıyla biyometrik analiz gerçekleştirildi. Biyometrik analizde aşağıdaki parametreler değerlendirildi.

- Protraksiyon (öne doğru bıyık hareketi) bıyık gövdesi ve midsagittal plan arasında kalan rostral açı derece olarak ölçüldü. Açının küçülmesi güçlü protraksiyonu göstermektedir.
- Bıyık hareketi frekansı (protraksiyon ve retraksiyon frekansı-her saniyedeki ileri-geri hareket)
- Amplitüt (en fazla retraksiyon ve en fazla protraksiyon arasındaki farkın derece olarak değeri)
- Açısal hız (saniyedeki açı değişimi)
- Protraksiyon sırasında açısal hızlanma (saniyenin karesindeki açı değişimi).



Şekil 3.8. Vibrisseal motor performansın biyometrik analizi.
Normal (A) ve sağ tarafta sinir tamiri uygulanan denek (B).

3.6.2. Lezyon Alanındaki Kollateral Dallanmanın Belirlenmesi

Lezyon alanındaki kollateral dallanmanın belirlenmesi için sakrifikasyon gününde elde edilen ve analiz gününe kadar 0.1M fosfat tamponu (pH:7.4) ile hazırlanan %4'lük paraformaldehit içerisinde +4°C ısıda karanlıkta saklanan beyin sapı dokuları vibratomla (Leica, VM1000S) frontal olarak kesildi ve 50 µm'lik kesitler alındı. Kesitler lamlara (Superfrost Plus, Menzel) alınarak oda sıcaklığında kurutulduktan sonra floresan mikroskopta uygun filtreler kullanılarak incelendi. Floresan işaretleyici taşıyan nöronlar optik dissektör yöntemi ile sayıldı. Bu amaçla, hypoglossal çekirdekten geçen her dördüncü kesit kullanıldı. Floresan işaretleyici ile işaretlenmiş olan hypoglossal motor nöronların farklı görüntüleri uygun yazılım [Optimas 6.5 (Optimas Corporation, Bothell, Washington, USA)] yardımıyla birleştirildi. Bu teknik ile sadece FR, sadece FB, sadece FE, FR+FB, FR+FE, FB+FE, FR+FB+FE ile işaretlenen nöronların elle sayımı ve tanımlanması yapıldı.

3.6.3. M. Levator Labii Superioris'in Reinnervasyonun Değerlendirilmesi

Dördüncü postoperatif ayın sonunda her gruptan kalan altı denek bu amaç için kullanıldı. Hedef kas reinnervasyonunun değerlendirilmesi, motor son plak reinnervasyonunun kalitesi monoinnerve (tek akson), motor son plak sayısının poliinnerve (çift veya daha fazla akson) olanlara oranıyla belirlendi. M. levator labii superioris çıkarıldıktan sonra PBS'te hazırlanan %20 sükröz içerisinde üç gün (kriyo koruma için) bekletildi. Dokulardan 30 µm kalınlığındaki longitudinal kesitler kriyostatla (Leica CM 1510S) kesildi ve cam lamalar üzerine alındı. Total kas kitlesinden 32-37 adet kesit elde edildi. İmmun boyamaya işleminin başlatıldığı güne kadar slaytlar -80°C de saklandı. Kas içinde bulunan aksonların ve motor son plakların görüntülenmesi için kasın her üç kesitinden biri kullanıldı. Alınan kesitler elektrostatik çekimle kesitlerin üzerine yapışmasını sağlayan SuperFrost Plus slaytlar (Art. No. J1800AMNZ, Menzel-Gläser, Germany) üzerine alındı. Elde edilen kesit serisi immunohistokimyasal ve histokimyasal boyama işlemine alındı. Boyama için slaytlar oda sıcaklığında bekletildi ve daha sonra 3x10' 0,1 M PBS (pH 7,4) de yıkama işlemi yapıldı. Spesifik olmayan bağlanmalara karşı PBS içerisinde %0,2 Triton X-100 (Sigma), %0,02 sodium azide (Merck, Darmstadt, Germany) ve %5 normal sheep serum (NSS) ile 30 dk boyunca oda sıcaklığında bloklama uygulandı. Bloklama işleminden sonra Kesitler PBS içerisinde 1:1000 oranında hazırlanmış ve %0,5 lambda-carrageenan (Sigma) ve % 0,02 sodium azide içeren birinci antikor (rabbit polyclonal against neuronal class III β-tubulin, Covance, No. PRB- 435P) ile

4°C de bir gece inkübe edildi. Bütün bu işlemler kapaklı cam küvetlerde (20 slaytlık ve 250 ml kapasiteli, Carl Roth, Karlsruhe, Germany) yapıldı. Ertesi sabah slaytlar oda sıcaklığında PBS'te yıkandı (3x10' 0,1 M PBS (pH 7,4)) . Bu işlemden sonra 2.antikor aşamasına geçildi. PBS ile hazırlanmış lambda carrageenan içerisinde 1:400 oranında seyreltilmiş ikinci antikor (Cy3-conjugated sheep antirabbit IgG) ile 2 saat boyunca oda sıcaklığında karanlıkta inkübe edildi. Bu antikor floresan ışımaya yaydığı için bu ve bundan sonraki bütün aşamalar karanlıkta gerçekleştirildi. Aynı yıkama işleminin ardından kesitler PBS-sodium azide solüsyonu içerisinde 1:500 oranında seyreltilmiş Alexa Fluor 488-conjuge alpha-bungarotoxin (Molecular Probes) ile gece boyunca inkübe edildi. Son yıkama işleminden sonra kesitler oda sıcaklığında kurutuldu ve üzerleri kapatıldı. Kesitler "rhodamine" (No. 15, Carl Zeiss) ve "fluorescein" (No. 9, Carl Zeiss) filtreleriyle Axioskop 50 epiflorasan mikroskopta incelendi. Alfa-bungarotoksinle boyanan yapı asetil kolin reseptörü içeren motor son plak, beta-tubulin ile boyanan yapı ise motor son plak üzerine gelen sinir lifini belirtmektedir. Bir akson ile innerve olan motor son plak monoinnervasyon, iki veya daha fazla akson ile innerve olan motor son plak ise poliinnervasyon olarak değerlendirildi. Gözlem sırasında kendisine hiçbir sinir lifi gelmeyen motor son plaklar da gözlemlendi. Yeşil renkte görülecek olan motor son plak ve kırmızı renkte görülecek olan aksonların görüntüleri uygun yazılım kullanılarak superimpoze edildi. Bu plaklar da denerve olarak değerlendirildi.

3.6.4. Dil Kası Performansının Değerlendirilmesi

Bu performansın değerlendirilmesi için öncelikle denek uygun pozisyona getirilerek ve ağzı açılarak dilini dışarıya çıkarması sağlandı. Daha sonra fotoğraflanıp dilin deviyasyon seviyesi derece olarak ölçüldü. Bunun için deneklerin alt kesici dişlerinin orta noktası ve burun ucu referans noktası olarak belirlendi.

3.7. Veri Analizi

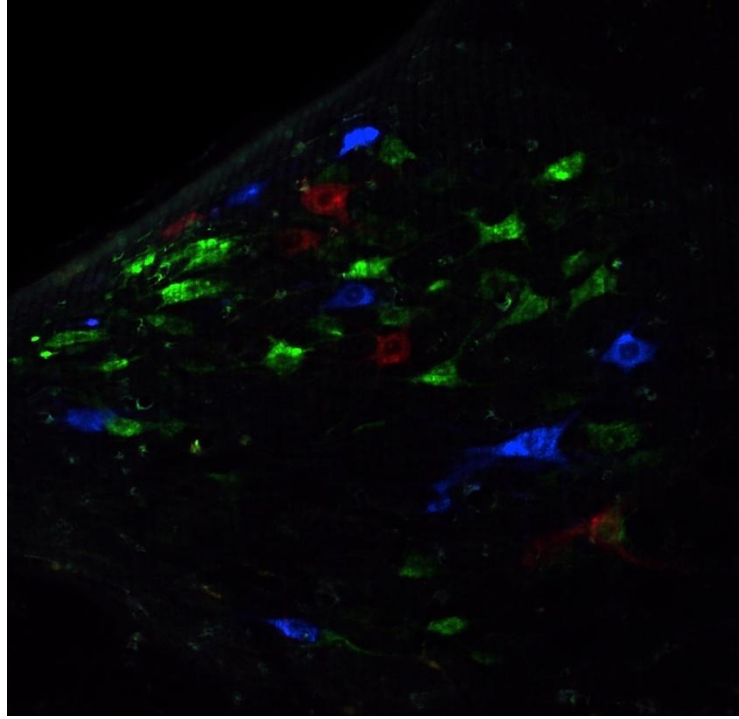
Her gruptaki 12 deneğin vibrissel kas hareketleri ile ilgili görüntülerin analizi sonucu elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) ile test edildi. Bu analiz yapılmadan önce her gruba ait verilerin normal dağılıma sahip olmasına dikkat edildi. Varyans analizi sonucu istatistiksel anlamlılık ($p < 0.05$) tespit edilmesi durumunda bu anlamlılığın hangi gruplar arasında olduğunun tespit edilmesi amacıyla Tukey testi *Post-hoc* test kullanılmıştır.

Her gruptaki 12 deneğin 6 deneğine floresan işaretleyici uygulaması sonrası elde edilen beyin kesitlerindeki nöron sayılarının tespiti ile elde edilen veriler Kruskal Wallis varyans analizi ile test edildi. Varyans analizi sonucu istatistiksel anlamlılık ($p < 0.05$) tespit edilmesi durumunda bu anlamlılığın hangi gruplar arasında olduğu da tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılık Bonferoni düzeltme katsayısı dikkate alınarak tespit edildi. Tüm analizlerde Statistica 6.0 (StatSoft, Tulsa, OK, USA) adlı software kullanılmıştır.

BULGULAR

4.1. Lezyon Alanındaki Kollateral Aksonal Dallanma

Nucleus nervi hypoglossi'ye ait olan nöronların bir kısmının pencere açılması nedeniyle myotopik organizasyonunun kaybolduğu tespit edildi. Ayrıca lezyon alanındaki kollateral aksonal dallanmadan dolayı nucleus nervi hypoglossi'nin her tarafında çift (FR+FB, FR+FE, FB+FE) veya üçlü (FR+FB+FE) işaretlenmiş perikaryonlar tespit edildi. Yapılan hesaplama sonucunda Aorta Y tüp ile hypoglossal-fasiyal sinir tamiri grubunda (Grup 3) lezyon alanındaki kollateral aksonal dallanma oranı 13 ± 1 iken Aorta Y tüp ile uç-yan hypoglossal-fasiyal sinir tamiri grubunda (Grup 4) ise 3 ± 1 olarak hesaplandı. İki grup arasındaki veriler değerlendirildiğinde, Aorta Y tüp ile uç-yan hypoglossal-fasiyal sinir tamiri grubundaki (Grup 4) lezyon alanındaki kollateral aksonal dallanma oranının istatistiksel olarak düşük olduğu tespit edildi (**Tablo 4.1, Grup 3 ve 4, Şekil 4.1**).



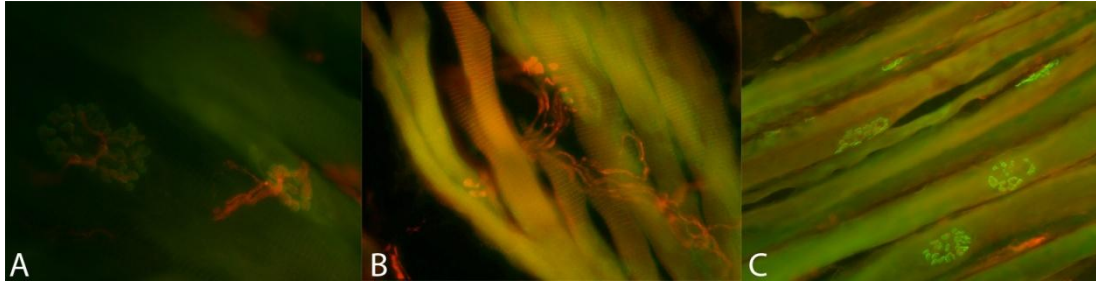
Şekil 4.1. Hypoglossal sinir nükleusundaki nöronların görünümü.

Mavi olarak görünen nöronlar Fast Blue ile işaretlenmiş ve bukkal dala ait nöronlardır.
Kırmızı olarak görünen nöronlar FR ile işaretlenmiş ve zygomatik dala ait nöronlardır.
Yeşil olarak görünen nöronlar ise FE ile işaretlenmiş ve hypoglossal sinire ait olan nöronlardır.

4.2. M. Levator Labii Superioris'in Reinnervasyon Paterni

Kas reinnervasyon kalitesi M. levator labii superioris'in (LLS) reinnervasyon paterninin tespiti ile değerlendirildi (**Şekil 4.2**). Kontrol grubunda, bütün motor son plakların herbirinin tek bir akson tarafından innerve edildiği tespit edildi ve bu innervasyon paterni monoinnerve olarak değerlendirildi. Her iki tip HFA sonrasında

(koaptasyon veya Y-tüp) çok sayıda poliinnerve motor son plak (iki veya daha fazla akson tarafından innerve edilen) gözlemlendi. Reinnervasyon paterninin tespiti amacıyla yapmış olduğumuz sayımlar sonucunda LLS'nin Aorta Y tüp ile hypoglossal-fasiyal sinir tamiri (Grup 3) grubunda poliinnervasyon oranı 23 ± 5 iken ve Aorta Y tüp ile uç-yan hypoglossal-fasiyal sinir tamiri grubundaki poliinnervasyon oranı 22 ± 4 olarak tespit edildi. Her iki onarım şeklinin poliinnervasyon oranları üzerine anlamlı bir etkisi ($p < 0.05$) tespit edilmedi (Tablo 4.2, Grup 3 ve 4). Sonuç olarak, Y tüp yardımıyla yapılan HFA'nın LLS'nin reinnervasyon kalitesini arttırmadığı tespit edildi. ($p < 0.05$).



Şekil 4.2. Motor son plakların innervasyon paterni.

Yeşil renk bungarotoxin ile işaretlenen motor son plağı, kırmızı ise beta tubulin ile işaretlenen sinir liflerini göstermektedir. **A:** monoinnerv motor son plak, **B:** poliinnerve motor son plak. **C:** non-innerv motor son plak.

4.3. Motor Fonksiyonun Video Tabanlı Görüntü Analizi İle Değerlendirilmesi

Fasiyal sinirin paralizisi edildiği “N. facialis kesim modeli”nin en önemli avantajlarından biri operasyon sonrası vibrisseal ritmik hareketlerin göreceli iyileşmesinin gözlemlenebilmesi ve bu hareketlerin kantitatif olarak değerlendirilebilmesidir.

4.3.1. Davranışsal Vibrisseal Bıyık Hareketlerinin Gözlemlenmesi

Fasiyal sinirin kesilmesi ardından oluşan kas denervasyonu sonrası yaklaşık olarak ilk on gün süresince vibrisseal kılların kaudal konumda hareketsiz olarak kaldığı tespit edildi. Operasyondan 10-14 gün sonra cerrahi rekonstrüksiyon yönteminden bağımsız olarak vibrisseal kılların protraksiyon sırasında ağız civarına kadar ulaştığı gözlemlendi.

4.3.2. Bıyık Hareketlerinin Biometrik Analizleri

4.3.2.1. Kontrol ve Sham Grubu

Eksplorasyon hareketi sırasında bıyıkların 6 Hz frekansla geri hareket ettiği ölçüldü. Maksimum protraksiyon açısı 65° , amplitüt ise 64° olarak ölçüldü. Bu hareketlerin sagittal açısal hızı $1200^\circ/\text{saniye}$ ve sagittal açısal hızlanması da $65000^\circ/\text{saniye}^2$ olarak tespit edildi, Grup 1).

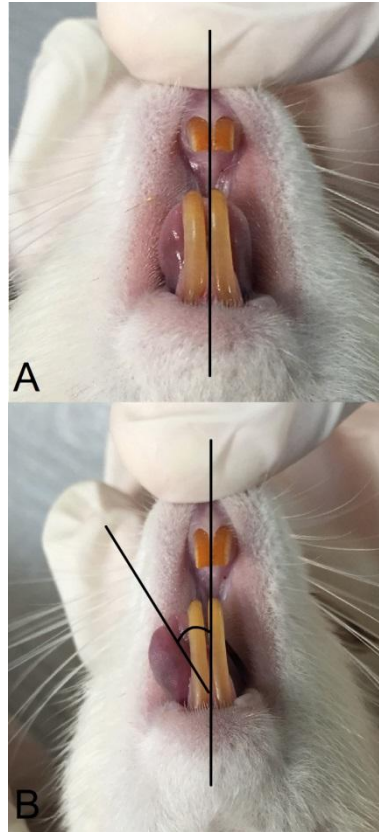
4.3.2.2. Hypoglossal-Fasiyal Anastomoz Uygulanan Gruplar

Aorta Y tüp ile hypoglossal-fasiyal sinir tamiri grubunda (Grup 3) ve Aorta Y tüp ile uç-yan hypoglossal-fasiyal sinir tamiri grubunda (Grup 4) ait sıçanların analiz sonuçları kontrol ve Sham grubu ile karşılaştırıldığında fonksiyonel bozukluğun

belirgin olduğu tespit edildi. Buna göre Grup 3'te maximum protraksiyon açısında artış (kontrol grubuna göre +%49), amplitütte düşüş (-66%); bunun yanı sıra protraksiyon sırasında açısız hız (-39%) ve hızlanmada (-46%) düşüş gözlemlendi. Grup 4'te maximum protraksiyon açısında artış (kontrol grubuna göre +%67), amplitütte düşüş (-92%); bunun yanı sıra protraksiyon sırasında açısız hız (-49%) ve hızlanmada (-53%) düşüş gözlemlendi. Bu durum, operasyon sonrası aktif protraksiyon fazı sırasında yetersiz vibriseal kas fonksiyonlarına sebep olduğu şeklinde yorumlandı. Bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde her iki HFA tamirinden dört ay sonra bile vibriseal kıl hareketlerinin fonksiyonlarının şiddetli bir şekilde bozulduğu gözlemlendi, (Grup 3 ve 4). Sonuç olarak, Aorta Y tüp ile hypoglossal-fasiyal sinir tamiri grubunda (Grup 3) ve Aorta Y tüp ile uç-yan hypoglossal-fasiyal sinir tamiri grubunda (Grup 4) uygulanan cerrahi rekonstrüksiyon modelinin vibriseal kıl hareketlerinde bir iyileşme sağlayamadığı tespit edildi.

4.4. Motor Fonksiyonun Video Tabanlı Görüntü Analizi İle Değerlendirilmesi

Dil performansının değerlendirilmesi için uygulanan ölçüm yönteminde dilin deviyasyon seviyesi Aorta Y tüp ile hypoglossal-fasiyal sinir tamiri grubunda (Grup 3) 41 ± 6 derece ve Aorta Y tüp ile uç-yan hypoglossal-fasiyal sinir tamiri grubunda (Grup 4) ise 6 ± 4 derece olduğu tespit edildi (Şekil 4.3). Kontrol ve Sham gruplarında ise herhangi bir deviyasyon gözlenmedi.



Şekil 4.3. Dil kası performansının analizi A. Normal. B. Sinir tamiri uygulanan denek.

Tablo 4.1.Deney gruplarında gözlenen kollateral aksonal dallanma

Kontrol, sham, Aorta Y tüp ile hypoglossal-fasiyal sinir tamiri (Grup 3) ve Aorta Y tüp ile uç-yan hypoglossal-fasiyal sinir tamiri grubundaki deneklere ait dokular 112'nci post operatif günde uygulanan çift ve üçlü retrograd işaretlemenin 10 gün sonra dokular analiz edildi. Grup 3 ve 4 karşılaştırıldığında Grup 4'te gözlenen kollateral aksonal dallanma derecesinin istatistiksel açıdan anlamlı seviyede az olduğu gözlemlendi. (ANOVA Tukey's test, $p < 0.05$ veya Kruskal-Wallis, Dunn's test $p < 0.05$) * ile gösterilmiştir.

Deney grupları	Sadece zygomatik dala projekte olan nöronlar (FR)	Sadece bukkal dala projekte olan nöronlar (FB)	Sadece dile projekte olan nöronlar (FE)	Zygomatik ve bukkal dallara projekte olan nöronlar (FR+FB)	Zygomatik dal ve dile projekte olan nöronlar (FR+FE)	Bukkal dal ve dile projekte olan nöronlar (FB+FE)	Zygomatik dal,bukkal dal ve dile projekte olan nöronlar (FR+FR+FE)	Kollateral aksonal dallanma derecesi
1-Kontrol	465±101	1577±179	3688±335	0	0	0	0	0
2- Sham	453±91	1557±180	3774±276	0	0	0	0	0
3- HFA-Y-tüp	1273 ± 382	1735 ± 153	0	112±10	170±14	220±14	32±25	13±1
4- HFA-Y-tüp + ETS	306 ± 26	578 ± 168	3116±169	51±5	44±6	14±3	13±2	3±1*

Tablo 4.2.Motor son plakların reinnervasyon paterni

Kontrol, sham, Aorta Y tüp ile hypoglossal-fasiyal sinir tamiri (Grup 3) ve Aorta Y tüp ile uç-yan hypoglossal-fasiyal sinir tamiri grubundaki deneklere ait dokular 112'nci post operatif günde alınan M. levator labii superioris'in motor son plaklarının analizi yapıldı. Grup 3 ve 4 karşılaştırıldığında Grup 4'te gözlenen poliinnerve motor son plak sayılarının istatistiksel açıdan anlamlı seviyede az olduğu gözlemlendi. (ANOVA Tukey's test, $p < 0.05$ veya Kruskal-Wallis, Dunn's test $p < 0.05$) * ile gösterilmiştir. **NMK:** Nöro muskuler kavşak

Deney grupları	Mono-innervasyon NMK oranı (yüzde)	Poli-innervasyon NMK oranı (yüzde)	Non-innervasyon NMK oranı (yüzde)
1-Kontrol	100	0	0
2- Sham	100	0	0
3- HFA-Y-tüp	76 ± 4	23 ± 5	1 ± 1
4- HFA-Y-tüp + ETS	75 ± 5	22 ± 4	3 ± 2

Tablo 4.3.Vibrisseyal motor performansın biyometrik analizi

Kontrol, sham, Aorta Y tüp ile hypoglossal-fasiyal sinir tamiri (Grup 3) ve Aorta Y tüp ile uç-yan hypoglossal-fasiyal sinir tamiri grubundaki deneklere ait dokular 112'nci alınan video kayıtları analiz edildi. Grup 4 ve 3 karşılaştırıldığında Grup 4'te gözlenen amplitüde istatistiksel açıdan anlamlı seviyede az olduğu gözlemlendi. (ANOVA Tukey's test, $p < 0.05$ veya Kruskal-Wallis, Dunn's test $p < 0.05$) * ile gösterilmiştir.

Deney grupları	Frekans (Hz)	Maximum protraksiyondaki açı (derece olarak)	Amplitüt (derece olarak)	Protraksiyon sırasında açısal hız (derece/saniye)	Protraksiyon sırasında açısal hızlanma (derece/saniye ²)
1-Kontrol	7.2 ± 1.1	65 ± 7	64 ± 8	1.188 ± 253	61243 ± 30116
2- Sham	6.9 ± 0.9	64 ± 18	62 ± 15	1.246 ± 364	64113 ± 26021
3- HFA-Y-tüp	3 ± 1.2	97 ± 9	21 ± 1	676 ± 217	16909 ± 5436
4- HFA-Y-tüp + ETS	2 ± 0.9	109 ± 8	5 ± 1*	577 ± 132	14447 ± 3324

TARTIŞMA

Bu çalışmada uç-yan tarzda ve arada Y şeklinde olan bir tüp yardımıyla uygulanan hypoglossal fasiyal sinir koaptasyonu sonucusunin lezyon alanında kollateral aksonal dallanmanın azaltıldığı, hypoglossal sinirin bir epinöral pencere ile hasarlanması sonucu dil hareketlerinde anlamlı düzeyde fonksiyon kaybının olmadığı; hypoglossal sinirden kaynaklanan liflerin ise aorta Y tüpü gibi bir tüpü geçmek zorunda kalması ve böylece distal sinir ucuna ulaşmasının zor olması nedeniyle sinir fonksiyonlarının kollateral aksonal dallanma ile paralel olmayan şekilde fonksiyon kazanımı olarak yansımadığı tespit edildi.

Özsoy ve ark.(66) tarafından yapılan çalışmada sıçanlarda fasiyal sinir hasarı sonrası rehabilitasyon tekniği olarak manuel stimülasyonun HFA sonrası etkili olup olmadığının tespit edilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada Grup 3'te de uygulandığı üzere aorta Y tüpü kullanılarak hypoglossal sinir Y tüpünün uzun koluna, fasiyal sinirin bukkal ve zygomatik dalı ise tüpün kısa olan iki koluna koapte edilmiştir. Tüp kullanılmadan oluşturulan HFA tekniğinde ise hypoglossal sinirin proksimal ucu, fasiyal sinirin distal ucuna koapte edilerek sinir tamiri gerçekleştirilmiştir. 1. postoperatif günden itibaren deneklere günlük manuel stimülasyon terapisi uygulanmış ve çalışmanın sonucunda manuel stimülasyonun aorta Y tüpü kullanılan grupta kollateral aksonal dallanmayı azalttığı; buna karşın poliinnervasyon paternini azaltmadığı ve bununla beraber fonksiyonel iyileşme üzerine etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Klasik HFA+ manuel stimülasyon grubunda ise manuel stimülasyon uygulanmayan HFA grubuna kıyasla vibrissel kıllarda amplitüd ve açışal hızda olumlu bir gelişme rapor edilmiştir. Ancak aynı etki HFA+ manuel stimülasyon + Aorta Y tüpü uygulanan grupta tespit edilmemiştir. Çalışmamızda Özsoy ve ark.'nın yapmış oldukları çalışma ile aynı çizgide veri elde edilmiştir. Her ne kadar en iyi bilinen sinir koaptasyonu uç-uca (end-to-end) olmasına karşın sinir uçları arasında uzun bir boşluğun bulunması ve hedefte pek çok sinir dalının bulunması durumunda aradaki boşluğun bir sinir grefti ve/veya bir tüp yardımıyla kapatılması gerektiği aşıkardır. Çalışmamızda da bu boşluk deneysel olarak izogenik bir aorta Y tüpü ile kapatılmıştır. Ayrıca ana sinir kütüğünün yani fasiyal sinirin proksimal bölümünün cerrahi uygulanmaya kısıtlılık getirecek bir pozisyonda olması (intraserebral düzeyde kesi) nedeniyle farklı bir sinir kaynağı bulunması gerektiği durumlarda tercih edilen hypoglossal sinir seçeneği üzerinde durulması gereken bir seçenektir. Bu sinirin total paralizisini uygulamak yerine (hastanın zaten paralize olmuş bir fasiyal siniri olmasına karşın intakt bir sinirin sakrifiye edilmesi sözkonusudur) epinöral bir pencere ile sinirin minimal hasarlanması ve bu hasarlanan liflerden kaynaklanacak aksonların distal sinir dallarına hedeflemesinin yapılması ana strateji olması gerektiği kanaatindeyiz. Bu nedenle bu liflerin filizlendikten sonra distal hedefe giderken nasıl bir seyir davranışı gösterdiklerinin amaçlandığı çalışmamızda bu liflerin kollateral aksonal dallanma davranışlarının azaldığı ancak hedef kaslarına ulaşma sonrasında hedef kaslardaki motor son plakların uzun süren bir denervasyon döneminden sonra reinnervasyon yeteneklerin zayıf kaldığını düşünmektedir. Henüz bilmediğimiz bir

sebepten sinir hasarının olduğu alanda cerrahi tekniklerin çok başarılı bir şekilde uygulanmasına karşın distal hedefteki kasların aynı derecede bir fonksiyon kazanımına sahip olamadıkları görülmektedir. Bunun nedenleri arasında mimik kaslarının motor ünite sayısının fazla olması, hedef kas olarak reinnerve edilmesi gereken kas sayısının fazla olması, somatotopik bir organizasyona sahip olan bu kasların sinir hasarı sonrası somatotopik organizasyonu bozulan veya başka bir sinir kaynağı tarafından reinnerve edilmesindeki zorluklar/bilinmeyenler sayılabilir.

Günümüzde uç-uca koaptasyon sinir rekonstrüksiyonunda altın standart olarak kabul edilmektedir. Ancak her zaman uç-uca koaptasyonun yapılamadığı farklı hasarlar olabilmektedir. Bu durumlarda değişik cerrahi seçenekler uzun yıllar boyunca uygulanmıştır. Uç-yan koaptasyon da bu ihtiyaçtan ortaya çıkmış bir cerrahi tekniktir. Uç-yan koaptasyonun teorik olarak iki yararı vardır. 1- Donör sinirin feda edilmesine gerek yoktur. Böylece mevcut bir travmaya yeni bir travmadaha eklenmez. 2- Hasarlı sinirin donör sinire koapte edilmesi sonucunda motor son plakların atrofiye olması önlenir ve böylece iyileşme daha kolaylaşır (67).

Uç-uca koaptasyon ile uç-yan koaptasyonun karşılaştırıldığı çalışmalar (68) olmasına karşın hiçbir teknik uç-uca koaptasyon kadar başarı sağlayamamaktadır (67). Ancak geniş defektlerin olduğu durumlarda yeni tekniklerin uygulanması da kaçınılmazdır.

Pekçok deneysel çalışma uç-yan koaptasyonun donör sinir aksonlarının kollateral aksonal filizlenmeye olanak verdiğini ve böylece sinir liflerinin distal hedeflerine gidebildiğini göstermiştir. Ayrıca uç-yan koaptasyon ile iskelet kaslarının kontrolünün sağlanmasında agonistik ve antagonistik donör sinirlerin kullanılabilceğini göstermiştir (69).

Uç-yan koaptasyonun yeniden poplarite kazandığı 1992 yılından itibaren literatürde pek çok çalışma bu konuda yayınlanmıştır. Uç-yan koaptasyon ile ilgili sonuçların pek çoğu vaka raporlarından ve seçilmiş vaka serilerinden oluşmakla birlikte bu vakalar periferik sinir sisteminin değişik yaralanmalarına sahip vakalardan seçilmişlerdir. Bu vaka serilerinde miks sinir liflerini içeren sinirlerdeki hasarlanmalara sahip vakalardan oluşması dikkat çekicidir (bkz. **Tablo 5.1**).

Tablo 5.1.Farklı niteliklerdeki sinirlerin uç-yan koaptasyon ile tamiri

	Referans
Brachial pleksus hasarı	(70-76)
Miks sinir lezyonları	(72, 77-82)
Digital sinir hasarları	(72, 83-87)
Radial sinirin duyuusal dalının nöroması	(88-89)
Fasiyal sinir hasarları	(40-41, 90)

Uç-yan koaptasyonun efektifliği konusunda geniş bir seriyi içeren çalışma(lar) henüz literatürde mevcut değildir. Bunun yanı sıra otolog sinir greftlemesi veya alternatif rekonstrüksiyon tekniklerinin (biyolojik, sentetik tüpler) uç-yan koaptasyon ile karşılaştırıldığı randomize kontrollü çalışmalar da henüz

yayınlanmamıştır. En geniş seriyi içeren çalışma da 56 vakayı (bu vakaların büyük çoğunluğu brakial pleksus ve onun terminal dallarının etkilendiği sinir hasarına sahip vakalardır) içermektedir (74). Digital sinir hasarları dikkate alındığında klinik çalışmalar uç-yan koaptasyonun distal duyuşal reinnervasyonun sağlanmasında güvenli bir teknik olduğunu desteklemektedir (69).

Yukarıda tabloda belirtilen yayınların ışığında diğere sinir tamir metotları ile karşılaştırılan uç-yan koaptasyonunda sinir iyileşmesinin daha zayıf kaldığı bildirilmiştir. Bu durum, sinir rejenerasyonu ve özellikle uç-yan sinir koaptasyonu konusunda daha fazla bilgi birikimine ihtiyaç duyduğumuzu açık olarak ortaya koymaktadır.

Aorta Y tüpünün sinir rekonstrüksiyonunda bir tüp olarak kullanılması yeni bir uygulama değildir. Ancak yeni olan aorta Y tüpünün daha önceleri olmadığı şekilde saf motor sinir liflerinde kullanılması ve cerrahi olarak dar bir alanda kullanılmasıdır. Daha önceleri miks sinir liflerinin koaptasyonunda kullanılan aorta Y tüpü çalışmalarında duyuşal bir lifin motor bir sinir lifine (veya tam tersi) rejenerasyonu mümkündür. Bu da literatürdeki çelişkili sonuçları açıklayabilecek ölçüdedir ve çalışmamızın anafikri bu temel üzerine oturmaktadır. Vücudumuzda pek çok miks yapıda sinirimiz olmasına ve bu sinirlerin yaralanmasının görülmesine rağmen periferik sinirlerin rejenerasyonu konusundaki mevcut bilgilerimiz brakial pleksus, sakral pleksus ve dalları gibi miks yapıdaki (hatta intrafasiyal topografiye sahip) sinirlerin yaralanmasına dayanmaktadır. Ancak mevcut bilgilerimiz sinir cerrahisinde çok değişik mikrocerrahi teknikleri kullanılmasına ve optik sistemlerdeki gelişmelere rağmen neden yeteri oranda iyileşemediklerini açıklayamamaktadır. Elektrik kablolarının (kopan aksonlar) uç-uca bağlanmasından öte sinir dokusunun rejenerasyonu ile ilgili olarak bilmediğimiz pek çok şey vardır. Bu nedendir ki çalışmalarımızda sadece saf motor sinirler (hypoglossal-fasiyal sinirin motor dalı) seçilmiştir.

Uç-yan sinir koaptasyonu oluşturmadan önce donör sinirde epinöral ya da perinöral pencere açma işlemi literatürde geniş kapsamda tartışılan bir konudur (89, 91-94). Gerçekten de donör sinir yüzeyinde herhangi bir lezyon olmaksızın terminolateral sinir rejenerasyonu oluşmasına rağmen(95-96);pek çok deneysel çalışmalar donör sinirde açılan epinöral pencere ile sinir rejenerasyonun daha üstün olduğunu göstermiştir(91-94). Epinöryumda küçük bir parçanın kaldırılmasıyla yapılan ETS tekniğinin daha etkin olduğu geniş kapsamda kabul edilmektedir(91). Ayrıca, perinöral sütün epinöral sütürden daha fazla kollateral filizlenmeyi uyardığı, donör sinirde daha fazla hasar oluştuğu için perinöral sütün ile daha iyi akson rejenerasyonu elde edildiği rapor edilmiştir (97). Bir başka çalışmada ise(98) aynı deney modeli kullanarak ancak donör sinirde epinöral pencere açarak oluşturulan ETS tekniğinde donör sinirden alıcı sinire akson gelişimini, donör sinirde herhangi bir hasar olmaksızın meydana geldiğini rapor etmişlerdir. Bu durum, aksonların pencere açılmaksızın sinir etrafında sarılmış bir tabakadan karşıya geçemeyeceğini düşündürmesinden dolayı tartışma konusu olmuştur. Pek çok hümorale faktörlerin tanımlanmasına rağmen, ETS tekniğinden sonra sinir rejenerasyonunun moleküler mekanizması tam anlamıyla net değildir (99).

Yapılan çalışmalar sinir rejenerasyonunun kollateral filizlenme ve terminal dallanma olarak iki farklı yolla meydana geldiğini göstermektedir (99-101). Pekçok faktörün kollateral aksonal filizlenme ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Sinir rejenerasyonuna etki eden büyüme faktörleri, merkezi ve periferik sinir hasarlarında tanımlanmış olmasına rağmen literatürde kollateral filizlenmeyi uyaran birkaç faktör rapor edilmiştir (102-103). Sinir büyüme faktörü (NGF), siliyer nörotrofik faktör (CNTF) ve fibroblast büyüme faktörü (FGF-I) gibi faktörler *in vivo* ortamda intakt aksonda kollateral filizlenmeyi artırmaktadır (104-105). Bu durum Al-Qattan ve Al-Thunyan'ın yaptıkları çalışmada (97) yumuşak doku içeren silikon tüp içerisinde kollateral filizlenmenin uyarımında neden başarısız olduğunu açıklamaktadır. Silikon tüp içerisinde Schwann hücrelerinin olmayışı sinir rejenerasyonunda nörotrofik faktörlerin etkisini yok etmektedir. NGF, FGF-I/II, IGF-I/II kollateral aksonal filizlenmeyi artıran anahtar faktörlerdir (106-108). Sinir koaptasyonunda bu diğer faktörlerin veya tanımlanmış olan faktörlerin etkileşiminin olup olmadığı konusunda pek çok soru cevaplanamamış olması bu konuda pek çok çalışmanın yapılması gerektiğini ortaya koymaktadır. Bütün bu yapısal parametrelerin sinir fonksiyonu ile uyumlu sonuçlar ortaya çıkarıp çıkaramadığının da bir diğer önemli konu olarak yeni çalışmalara temel oluşturacağı kanaatindeyiz.

SONUÇLAR

Uç-uca (end-to-end) sinir koaptasyon metodunun iyi bilinen ve en sık uygulanan sinir koaptasyon metodu olmasına karşın sinir uçları arasında uzun bir boşluğun bulunması durumunda aradaki boşluğun bir sinir grefti ve/veya bir tüp yardımıyla kapatılması gereklidir. Çalışmamızda da bu boşluk deneysel olarak izogenik bir aorta Y tüpü ile kapatılmıştır. Periferik sinir yaralanması sonrası, aksonal yaralanma bir seri moleküler, ultrastrüktürel ve hüresel yanıt oluşur venöroprotektif-nörotrofik nitelikte çeşitli moleküllerin sentezinde de bir artışın olduğu bilinmektedir (109).

Çalışmamızda cerrahi çalışma alanı açısından zor olan bir bölgede hypoglossal ve fasiyal sinirler arasında Aorta Y tüpü kullanılarak ve hypoglossal sinire minimal hasar verilerek uygulanan uç-yan sinir koaptasyonunda hasarlanan hypoglossal sinir liflerinin fasiyal sinirin bukkal ve zygomatik dallarına yönelimleri araştırılmıştır. Kollateral aksonal dallanmada azalma tespit edilmesine karşın bu olumlu etki sinirin distal hedefindeki kasta bir fonksiyon kazanımı olarak ortaya çıkmamıştır. Buna rağmen farklı bir sinirin sakrifiye edilerek var olan hasara yeni bir hasar eklemek yerine epinöral bir pencere ile sinirin minimal hasarlanması ve bu hasarlanan liflerden kaynaklanacak aksonların distal sinir dallarına hedeflemesinin yapılması ana strateji olması gerektiği kanaatindeyiz. Uç-yan sinir koaptasyon tekniği ile aksonal dallanmada bir azalma gerçekleşmesine rağmen bu durum fonksiyonel iyileşme üzerinde etki göstermemiştir. Bu nedenle sinir morfolojisi ve fonksiyonel iyileşmeyi engelleyen temel mekanizmaların aydınlatılması ve yeni tedavi stratejilerinin ortaya çıkarılması gerekliliği önem kazanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Rosberg HE, Carlsson KS, Dahlin LB. Prospective study of patients with injuries to the hand and forearm: costs, function, and general health. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* 2005;39(6):360-9.
2. Rosberg HE, Dahlin LB. Epidemiology of hand injuries in a middle-sized city in southern Sweden: a retrospective comparison of 1989 and 1997. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* 2004;38(6):347-55.
3. Guntinas-Lichius O, Irintchev A, Streppel M, Lenzen M, Grosheva M, Wewetzer K, et al. Factors limiting motor recovery after facial nerve transection in the rat: combined structural and functional analyses. *Eur J Neurosci.* 2005 Jan;21(2):391-402.
4. May M, Schaitkin BM. History of facial nerve surgery. *Facial Plast Surg.* 2000;16(4):301-7.
5. Terzis JK, Konofaos P. Nerve transfers in facial palsy. *Facial Plast Surg.* 2008 May;24(2):177-93.
6. Kecskes G, Herman P, Kania R, Salvan D, El Bakkouri W, Huy PT, et al. Lengthening temporalis myoplasty versus hypoglossal-facial nerve coaptation in the surgical rehabilitation of facial palsy: evaluation by medical and nonmedical injuries and patient-assessed quality of life. *Otol Neurotol.* 2009 Feb;30(2):217-22.
7. de Faria SD, Testa JR, Borin A, Toledo RN. Standardization of techniques used in facial nerve section and facial movement evaluation in rats. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2006 May-Jun;72(3):341-7.
8. Briche T, Poncet JL, Diard JP, Michau N, Clement P, Verdalle P, et al. [Rehabilitation of the paralyzed face by hypoglossal-facial nerve anastomosis. An analysis of 7 cases]. *Ann Otolaryngol Chir Cervicofac.* 1999 Sep;116(4):228-36.
9. Darrouzet V, Guerin J, Bebear JP. New technique of side-to-end hypoglossal-facial nerve attachment with translocation of the infratemporal facial nerve. *J Neurosurg.* 1999 Jan;90(1):27-34.
10. Anderl H. Cross-face nerve transplantation in facial palsy. *Ann Chir Gynaecol.* 1982;71(1):70-6.
11. Galli SK, Valauri F, Komisar A. Facial reanimation by cross-facial nerve grafting: report of five cases. *Ear Nose Throat J.* 2002 Jan;81(1):25-9.
12. Baker DC, Conley J. Facial nerve grafting: a thirty year retrospective review. *Clin Plast Surg.* 1979 Jul;6(3):343-60.
13. Labbe D, Huault M. Lengthening temporalis myoplasty and lip reanimation. *Plast Reconstr Surg.* 2000 Apr;105(4):1289-97; discussion 98.
14. Chen YS, Hsu CJ, Liu TC, Yanagihara N, Murakami S. Histological rearrangement in the facial nerve and central nuclei following immediate and delayed hypoglossal-facial nerve anastomosis. *Acta Otolaryngol.* 2000 Jun;120(4):551-6.
15. Roland JT, Jr., Lin K, Klausner LM, Miller PJ. Direct Facial-to-Hypoglossal Neuroorrhaphy with Parotid Release. *Skull Base.* 2006 May;16(2):101-8.

16. Lundborg G, Dahlin LB. The pathophysiology of nerve compression. *Hand Clin.* 1992 May;8(2):215-27.
17. Terzis JK, K.L. S. *The Peripheral Nerve. Structure Function and Reconstruction.* New York,; Raven Press,; 1990.
18. Angelov DN, Guntinas-Lichius O, Wewetzer K, Neiss WF, Streppel M. Axonal branching and recovery of coordinated muscle activity after transection of the facial nerve in adult rats. *Adv Anat Embryol Cell Biol.* 2005;180:1-130.
19. Koeppen AH. Wallerian degeneration: history and clinical significance. *J Neurol Sci.* 2004 May 15;220(1-2):115-7.
20. Brushart TM, Seiler WAt. Selective reinnervation of distal motor stumps by peripheral motor axons. *Exp Neurol.* 1987 Aug;97(2):289-300.
21. 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(4):258-67.
22. Tos P, Battiston B, Geuna S, Giacobini-Robecchi MG, Hill MA, Lanzetta M, et al. Tissue specificity in rat peripheral nerve regeneration through combined skeletal muscle and vein conduit grafts. *Microsurgery.* 2000;20(2):65-71.
23. Ferreira MC, Besteiro JM, Tuma Junior P. Results of reconstruction of the facial nerve. *Microsurgery.* 1994;15(1):5-8.
24. Guntinas-Lichius O. The facial nerve in the presence of a head and neck neoplasm: assessment and outcome after surgical management. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2004 Apr;12(2):133-41.
25. Hundeshagen G. Effect of mechanical stimulation of the vibrissal muscles on the recovery of whisking after hypoglossal-facial nerve anastomosis (HFA) in adult rats. 2006.
26. Guntinas-Lichius O, Hundeshagen G, Paling T, Streppel M, Grosheva M, Irintchev A, et al. Manual stimulation of facial muscles improves functional recovery after hypoglossal-facial anastomosis and interpositional nerve grafting of the facial nerve in adult rats. *Neurobiol Dis.* 2007 Oct;28(1):101-12.
27. Hizay A, Ozsoy U, Demirel BM, Ozsoy O, Angelova SK, Ankerne J, et al. Use of a Y-tube conduit after facial nerve injury reduces collateral axonal branching at the lesion site but neither reduces polyinnervation of motor endplates nor improves functional recovery. *Neurosurgery.* 2012 Jun;70(6):1544-56; discussion 56.
28. Skouras E, Ozsoy U, Sarikcioglu L, Angelov DN. Intrinsic and therapeutic factors determining the recovery of motor function after peripheral nerve transection. *Ann Anat.* 2011 Jul;193(4):286-303.
29. Kunihiro T, Higashino K, Kanzaki J. Classic hypoglossal-facial nerve anastomosis after acoustic neuroma resection. A review of 46 cases. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.* 2003 Jan-Feb;65(1):1-6.
30. Baker RS, Stava MW, Nelson KR, May PJ, Huffman MD, Porter JD. Aberrant reinnervation of facial musculature in a subhuman primate: a correlative analysis of eyelid kinematics, muscle synkinesis, and motoneuron localization. *Neurology.* 1994 Nov;44(11):2165-73.
31. Bento RF, Miniti A. Anastomosis of the intratemporal facial nerve using fibrin tissue adhesive. *Ear Nose Throat J.* 1993 Oct;72(10):663.
32. Kimura J, Rodnitzky RL, Okawara SH. Electrophysiologic analysis of aberrant regeneration after facial nerve paralysis. *Neurology.* 1975 Oct;25(10):989-93.

33. Montserrat L, Benito M. Facial synkinesis and aberrant regeneration of facial nerve. *Adv Neurol.* 1988;49:211-24.
34. Sumner AJ. Aberrant reinnervation. *Muscle Nerve.* 1990 Sep;13(9):801-3.
35. Sadjadpour K. Postfacial palsy phenomena: faulty nerve regeneration or ephaptic transmission? *Brain Res.* 1975 Sep 23;95(2-3):403-6.
36. Graeber MB, Bise K, Mehraein P. Synaptic stripping in the human facial nucleus. *Acta Neuropathol.* 1993;86(2):179-81.
37. Moran CJ, Neely JG. Patterns of facial nerve synkinesis. *Laryngoscope.* 1996 Dec;106(12 Pt 1):1491-6.
38. Naff NJ, Ecklund JM. History of peripheral nerve surgery techniques. *Neurosurg Clin N Am.* 2001 Jan;12(1):197-209, x.
39. Ozsoy U, Hizay A, Demirel BM, Ozsoy O, Bilmen Sarikcioglu S, Turhan M, et al. The hypoglossal-facial nerve repair as a method to improve recovery of motor function after facial nerve injury. *Ann Anat.* 2011 Jul;193(4):304-13.
40. Manni JJ, Beurskens CH, van de Velde C, Stokroos RJ. Reanimation of the paralyzed face by indirect hypoglossal-facial nerve anastomosis. *Am J Surg.* 2001 Sep;182(3):268-73.
41. May M, Sobol SM, Mester SJ. Hypoglossal-facial nerve interpositional-jump graft for facial reanimation without tongue atrophy. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1991 Jun;104(6):818-25.
42. Angelov DN, Gunkel A, Stennert E, Neiss WF. Recovery of original nerve supply after hypoglossal-facial anastomosis causes permanent motor hyperinnervation of the whisker-pad muscles in the rat. *J Comp Neurol.* 1993 Dec 8;338(2):214-24.
43. Ichihara S, Inada Y, Nakamura T. Artificial nerve tubes and their application for repair of peripheral nerve injury: an update of current concepts. *Injury.* 2008 Oct;39 Suppl 4:29-39.
44. Shah SB, Jackler RK. Facial nerve surgery in the 19th and early 20th centuries: The evolution from crossover anastomosis to direct nerve repair. *Am J Otol.* 1998 Mar;19(2):236-45.
45. Streppel M, Heiser T, Stennert E. [Historical development of facial nerve surgery with special reference to hypoglossal-facial nerve anastomosis]. *HNO.* 2000 Nov;48(11):801-8.
46. Van de Graaf RC, FF IJ, Nicolai JP. Sir Charles Alfred Ballance (1856-1936) and the introduction of facial nerve crossover anastomosis in 1895. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2009 Jan;62(1):43-9.
47. Hwang K, Kim SG, Kim DJ. Facial-hypoglossal nerve anastomosis using laser nerve welding. *J Craniofac Surg.* 2006 Jul;17(4):687-91.
48. Stennert E. Bell's palsy--a new concept of treatment. *Arch Otorhinolaryngol.* 1979;225(4):265-8.
49. Anonsen CK, Duckert LG, Cummings CW. Preliminary observations after facial rehabilitation with the ansa hypoglossi pedicle transfer. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1986 Mar;94(3):302-5.
50. Ito M, Kudo M. Reinnervation by axon collaterals from single facial motoneurons to multiple muscle targets following axotomy in the adult guinea pig. *Acta Anat (Basel).* 1994;151(2):124-30.

51. Vleggeert-Lankamp CL, de Ruiter GC, Wolfs JF, Pego AP, Feirabend HK, Lakke EA, et al. Type grouping in skeletal muscles after experimental reinnervation: another explanation. *Eur J Neurosci.* 2005 Mar;21(5):1249-56.
52. Grimby G, Einarsson G, Hedberg M, Aniansson A. Muscle adaptive changes in post-polio subjects. *Scand J Rehabil Med.* 1989;21(1):19-26.
53. Trojan DA, Gendron D, Cashman NR. Electrophysiology and electrodiagnosis of the post-polio motor unit. *Orthopedics.* 1991 Dec;14(12):1353-61.
54. Brushart TM, Gerber J, Kessens P, Chen YG, Royall RM. Contributions of pathway and neuron to preferential motor reinnervation. *J Neurosci.* 1998 Nov 1;18(21):8674-81.
55. Angelov DN, Neiss WF, Streppel M, Andermahr J, Mader K, Stennert E. Nimodipine accelerates axonal sprouting after surgical repair of rat facial nerve. *J Neurosci.* 1996 Feb 1;16(3):1041-8.
56. Bischoff A, Grosheva M, Irintchev A, Skouras E, Kaidoglou K, Michael J, et al. Manual stimulation of the orbicularis oculi muscle improves eyelid closure after facial nerve injury in adult rats. *Muscle Nerve.* 2009 Feb;39(2):197-205.
57. Guntinas-Lichius O, Wewetzer K, Tomov TL, Azzolin N, Kazemi S, Streppel M, et al. Transplantation of olfactory mucosa minimizes axonal branching and promotes the recovery of vibrissae motor performance after facial nerve repair in rats. *J Neurosci.* 2002 Aug 15;22(16):7121-31.
58. Lykissas MG. Current concepts in end-to-side neurorrhaphy. *World J Orthop.* 2011 Nov 18;2(11):102-6.
59. Tos P, Battiston B, Nicolino S, Raimondo S, Fornaro M, Lee JM, et al. Comparison of fresh and predegenerated muscle-vein-combined guides for the repair of rat median nerve. *Microsurgery.* 2007;27(1):48-55.
60. Letievant E. *Traites des Sections Nerveuses.* Paris: J.B. Bailliere; 1873.
61. Papalia I, Geuna S, D'Alcontres FS, Tos P. Origin and history of end-to-side neurorrhaphy. *Microsurgery.* 2007;27(1):56-61.
62. Powers CA. II. The Bridging of Nerve Defects: A Contribution to the Surgery of Nerves. *Ann Surg.* 1904 Nov;40(5):632-43.
63. Sherren J. Some points in the surgery of the peripheral nerves. *Med J.* 1906;20:297-316.
64. Kennedy R. On the restoration of co-ordinated movements after nerve crossing, with interchange of function of the cerebral cortical centres. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1901;194:127-64.
65. Harris W, Low V. On the importance of accurate muscular analysis in lesions of the brachial plexus; and the treatment of Erb's palsy and infantile paralysis of the upper extremity by cross-union of the nerve roots. *Br Med J.* 1903;2:1035-7.
66. Ozsoy U, Demirel BM, Hizay A, Ozsoy O, Ankerne J, Angelova S, et al. Manual stimulation of the whisker pad after hypoglossal-facial anastomosis (HFA) using a Y-tube conduit does not improve recovery of whisking function. *Exp Brain Res.* 2014 Jun;232(6):2021-33.
67. Jung JM, Chung MS, Kim MB, Baek GH. Contribution of the proximal nerve stump in end-to-side nerve repair: in a rat model. *Clin Orthop Surg.* 2009 Jun;1(2):90-5.
68. Haastert K, Joswig H, Jaschke KA, Samii M, Grothe C. Nerve repair by end-to-side nerve coaptation: histologic and morphometric evaluation of axonal origin

- in a rat sciatic nerve model. *Neurosurgery*. 2010 Mar;66(3):567-76; discussion 76-7.
69. Tos P, Artiaco S, Papalia I, Marcoccio I, Geuna S, Battiston B. Chapter 14: End-to-side nerve regeneration: from the laboratory bench to clinical applications. *Int Rev Neurobiol*. 2009;87:281-94.
 70. Amr SM, Moharram AN. Repair of brachial plexus lesions by end-to-side side-to-side grafting neuroorrhaphy: experience based on 11 cases. *Microsurgery*. 2005;25(2):126-46.
 71. Ferraresi S, Garozzo D, Ravenni R, Dainese R, De Grandis D, Buffatti P. Hemihypoglossal nerve transfer in brachial plexus repair: technique and results. *Neurosurgery*. 2002 Feb;50(2):332-5.
 72. Haninec P, Samal F, Tomas R, Houstava L, Dubovwy P. Direct repair (nerve grafting), neurotization, and end-to-side neuroorrhaphy in the treatment of brachial plexus injury. *J Neurosurg*. 2007 Mar;106(3):391-9.
 73. Malessy MJ, Hoffmann CF, Thomeer RT. Initial report on the limited value of hypoglossal nerve transfer to treat brachial plexus root avulsions. *J Neurosurg*. 1999 Oct;91(4):601-4.
 74. Mennen U. End-to-side nerve suture in clinical practice. *Hand Surg*. 2003 Jul;8(1):33-42.
 75. Pienaar C, Swan MC, De Jager W, Solomons M. Clinical experience with end-to-side nerve transfer. *J Hand Surg Br*. 2004 Oct;29(5):438-43.
 76. Viterbo F, Franciosi LF, Palhares A. Nerve graftings and end-to-side neuroorrhaphies connecting the phrenic nerve to the brachial plexus. *Plast Reconstr Surg*. 1995 Aug;96(2):494-5.
 77. Kaykicioglu A, Karamursel S, Agaoglu G, Kecik A, Celiker R, Cetin A. End-to-side neuroorrhaphies of the ulnar and median nerves at the wrist: report of two cases without sensory or motor improvement. *Ann Plast Surg*. 2000 Dec;45(6):641-3.
 78. Kostakoglu N. Motor and sensory reinnervation in the hand after an end-to-side median to ulnar nerve coaptation in the forearm. *Br J Plast Surg*. 1999 Jul;52(5):404-7.
 79. Luo Y, Wang T, Fang H. [Preliminary investigation of treatment of ulnar nerve defect by end-to-side neuroorrhaphy]. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. 1997 Nov;11(6):338-9.
 80. Mouilhade F, Barbary S, Aparad T, Dautel G. End-to-side neuroorrhaphy for median nerve repair after elbow tumor resection: case report. *J Hand Surg Am*. 2009 Jan;34(1):83-6.
 81. Ogun TC, Ozdemir M, Senaran H, Ustun ME. End-to-side neuroorrhaphy as a salvage procedure for irreparable nerve injuries. Technical note. *J Neurosurg*. 2003 Jul;99(1):180-5.
 82. Yuksel F, Peker F, Celikoz B. Two applications of end-to-side nerve neuroorrhaphy in severe upper-extremity nerve injuries. *Microsurgery*. 2004;24(5):363-8.
 83. Giovanoli P, Frey M. [Ambulatory surgery in clinical practice: limits and possibilities]. *Praxis (Bern 1994)*. 1996 Sep 10;85(37):1146-8.
 84. Landwehrs GM, Bruser P. [Clinical results of terminolateral neuroorrhaphy in digital nerves]. *Handchir Mikrochir Plast Chir*. 2008 Oct;40(5):318-21.

85. Pelissier P, Riahi R, Casoli V, Martin D, Baudet J. [Terminal-lateral nerve anastomoses. Preliminary clinical report of two cases]. *Ann Chir Plast Esthet.* 2001 Apr;46(2):129-33.
86. Voche P. [Our experience about ten end-to-side sensitive nerve sutures at the hand]. *Ann Chir Plast Esthet.* 2005 Aug;50(4):264-9.
87. Voche P, Ouattara D. End-to-side neuroorrhaphy for defects of palmar sensory digital nerves. *Br J Plast Surg.* 2005 Mar;58(2):239-44.
88. Marcoccio I, Adani R. Digital neuromas: Sensation recovery through terminolateral nerve repair. *Riv Chir Mano.* 2008;1:64-71.
89. Al-Qattan MM. Terminolateral neuroorrhaphy: review of experimental and clinical studies. *J Reconstr Microsurg.* 2001 Feb;17(2):99-108.
90. Hammerschlag PE. Facial reanimation with jump interpositional graft hypoglossal facial anastomosis and hypoglossal facial anastomosis: evolution in management of facial paralysis. *Laryngoscope.* 1999 Feb;109(2 Pt 2 Suppl 90):1-23.
91. Lundborg G. *Nerve Injury and Repair.* Edinburgh: Churchill Livingstone; 2005.
92. Lundborg G, Zhao Q, Kanje M, Danielsen N, Kerns JM. Can sensory and motor collateral sprouting be induced from intact peripheral nerve by end-to-side anastomosis? *J Hand Surg Br.* 1994 Jun;19(3):277-82.
93. Zhang Z, Soucacos PN, Beris AE, Bo J, Ioachim E, Johnson EO. Long-term evaluation of rat peripheral nerve repair with end-to-side neuroorrhaphy. *J Reconstr Microsurg.* 2000 May;16(4):303-11.
94. Zhao JZ, Chen ZW, Chen TY. Nerve regeneration after terminolateral neuroorrhaphy: experimental study in rats. *J Reconstr Microsurg.* 1997 Jan;13(1):31-7.
95. Hayashi A, Yanai A, Komuro Y, Nishida M, Inoue M, Seki T. Collateral sprouting occurs following end-to-side neuroorrhaphy. *Plast Reconstr Surg.* 2004 Jul;114(1):129-37.
96. Matsumoto M, Hirata H, Nishiyama M, Morita A, Sasaki H, Uchida A. Schwann cells can induce collateral sprouting from intact axons: experimental study of end-to-side neuroorrhaphy using a Y-chamber model. *J Reconstr Microsurg.* 1999 May;15(4):281-6.
97. al-Qattan MM, al-Thunyan A. Variables affecting axonal regeneration following end-to-side neuroorrhaphy. *Br J Plast Surg.* 1998 Apr;51(3):238-42.
98. Viterbo F, Trindade JC, Hoshino K, Mazzoni A. Two end-to-side neuroorrhaphies and nerve graft with removal of the epineural sheath: experimental study in rats. *Br J Plast Surg.* 1994 Mar;47(2):75-80.
99. Beris A, Lykissas M, Korompilias A, Mitsionis G. End-to-side nerve repair in peripheral nerve injury. *J Neurotrauma.* 2007 May;24(5):909-16.
100. Hopkins WG, Brown MC, Keynes RJ. Nerve growth from nodes of Ranvier in inactive muscle. *Brain Res.* 1981 Oct 5;222(1):125-8.
101. Slack JR, Hopkins WG, Williams MN. Nerve sheaths and motoneurone collateral sprouting. *Nature.* 1979 Nov 29;282(5738):506-7.
102. Caroni P, Grandes P. Nerve sprouting in innervated adult skeletal muscle induced by exposure to elevated levels of insulin-like growth factors. *J Cell Biol.* 1990 Apr;110(4):1307-17.
103. Liuzzi FJ, Tedeschi B. Peripheral nerve regeneration. *Neurosurg Clin N Am.* 1991 Jan;2(1):31-42.

104. Gurney ME, Yamamoto H, Kwon Y. Induction of motor neuron sprouting in vivo by ciliary neurotrophic factor and basic fibroblast growth factor. *J Neurosci.* 1992 Aug;12(8):3241-7.
105. Isaacson LG, Saffran BN, Crutcher KA. Nerve growth factor-induced sprouting of mature, uninjured sympathetic axons. *J Comp Neurol.* 1992 Dec 15;326(3):327-36.
106. Thanos PK, Tiangco DA, Terzis JK. Enhanced reinnervation of the paralyzed orbicularis oculi muscle after insulin-like growth factor-I (IGF-I) delivery to a nerve graft. *J Reconstr Microsurg.* 2001 Jul;17(5):357-62.
107. Tiangco DA, Papakonstantinou KC, Mullinax KA, Terzis JK. IGF-I and end-to-side nerve repair: a dose-response study. *J Reconstr Microsurg.* 2001 May;17(4):247-56.
108. Caplan J, Tiangco DA, Terzis JK. Effects of IGF-II in a new end-to-side model. *J Reconstr Microsurg.* 1999 Jul;15(5):351-8.
109. Raivich G, Makwana M. The making of successful axonal regeneration: genes, molecules and signal transduction pathways. *Brain Res Rev.* 2007 Feb;53(2):287-311.

ÖZGEÇMİŞ

Arzu HİZAY, 28.05.1984 tarihinde Antalya’da doğdu. İlk öğrenimini Gazi Mustafa Kemal İlkokulu ve Sefa Akın İlköğretim Okulu’nda, orta öğrenimini Muratpaşa Lisesinde tamamladı. Lisans eğitimini 2001-2006 yılları arasında Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji/Zooloji bölümünde tamandıktan sonra, 2007 yılında Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anatomi Anabilim Dalında, Anatomi Yüksek Lisans Programına başladı ve “Siyatik siniri besleyen vasa nervorum’un kaldırılması sonrası oluşan dejenerasyon alanlarının morfometrik incelenmesi ve FK506’nın bu dejenerasyon üzerine etkisi” başlıklı tezini 2010 yılında tamamlayarak aynı yıl doktora eğitimine başladı. Halen Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anatomi Anabilim Dalı’nda Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktadır.