

Erişkin Sıçan Spinal Korduna İnterkostal Sinir Anastomozu

Turan Kutluk*, Kaya Aksoy**, Zeki İpekoğlu*, Muammer Doygun**

ÖZET. Bu çalışmada sıçanlarda, spinal kordda travmatik lezyon sonrası implante edilen interkostal sinirin medulla spinalise konneksiyonu ve oluşan skar dokusu üzerindeki etkisi incelenmiştir. Medulla spinalise sadece kavite açılan kontrol grubunda (n=10), kalınlığı 0.02 ile 0.2 mm arasında değişen skar dokusunun oluştuğu görülürken, interkostal sinirin bu kaviteye implante edildiği gruptaki (n=14) medulla spinalis ile konneksiyon sağlanan yedi sıçanda skar dokusunun oluşumunda belirgin azalma olduğu görüldü. Konneksiyon gelişmeyen sıçanlarda skar dokusunun kalınlığında, kontrol grubuna göre fark yoktu.

Anahtar Kelimeler. Medulla spinalis, interkostal sinir, implantasyon.

SUMMARY. In this study intercostal nerve was implanted into traumatic rat spinal cord and effects on scar formation in spinal cord were examined. While in control group (n=10) only a cavity was prepared in spinal cord, implantation of intercostal nerve into the cavity was performed in the other group (n=14). Control group showed a scar formation ranging 0.02 and 0.2 mms in thickness where as connection achieved seven rats in implantation group scar formation was reduced significantly. Scar thickness was found to be similar in implantation group without connection and the control group.

Key Words. Medulla spinalis, intercostal nerve, implantation.

Son yıllarda yapılan araştırmalar spinal kord lezyonlarında rejenerasyon ve rekonstrüksiyon olayının araştırılması yönüne kaydırılmıştır^{1,2,3,4,5,6,7,8}.

1928'de Ramon Y Cajal sinir sistemi rejenerasyonundan bahsetmiş, daha sonraları periferik sinirin distal ucu tavşanlarda beyin dokusu içine konulmuş, diğer çalışmalarda travma sonrası oluşan skar engelleyici değişik ajanlar ve skar dokusunun bunlara karşı reaksiyonları incelenmiştir. Spinal bölgeye periferik sinir greftleri, spinal ganglion greftleri, omental greftleri, serebellar ve serebral greftler konarak çalışmalara devam edilmiştir^{2,3,4,5,7,8}.

Araştırmamızda da, spinal kordda travmatik lezyon sonrası implante edilen interkostal sinirin medulla spinalise konneksiyonu, oluşan skar dokusunu etkilemedeki rolü histolojik olarak incelenmiştir.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi Nöroşirürji Ameliyathanesinde yapıldı. Wistar cinsi 200-250

gm. ağırlıkta sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar iki guruba ayrılarak incelendi.

Deney grubu (DG) (n=14): Kontrol grubunda dorsal bölgede laminektomi yapılarak spinal kordda kavite hazırlandı ve spontan iyileşmeye bırakıldı.

Sıçanlar sodium thiopental (30 mg/kg) intraperitoneal verilerek uyutuldu. Sırt bölgesinde orta hat cilt insizyonu ile girildi ve dorsal 9-10 laminektomi yapıldı. Dorsolateral bölgeden medulla spinalise 2-3 mm.'lik vertikal insizyon yapılarak kavite oluşturuldu. Daha sonra bir üst mesafeden interkostal sinirin medulladan çıkışından laterale uzanışı kosta içi tarafından mikrodisseksiyon ile bulunarak interkostal sinirin distal uç kısmı kesilip sinir serbest hale getirildi.

Distal uç, transpozisyon sonrası spinal kordda hazırlanan kaviteye anastomoz edildi. Kontrol grubunda ise sadece kavite açılarak spontan takibe alındı. Her iki grupta da sıçanlar bir ay süreyle kontrol altında tutuldu. daha sonra dekapite edilerek dorsaldeki operasyon bölgeleri açıldı. Graft konulan bölge, üst ve alt segmenti de içine alacak şekilde, kolumna vertebralis blok halinde çıkartıldı.

Mikroskopik incelemeye alınacak parçalar % 8 formalin ile tespit edilerek parafin blokları hazırlandı. Bu bloklardan alınan transvers ve

* Araş. Gör.; Uludağ Ü. Tıp Fak. Nöroşirürji ABD

** Doç. Dr.; Uludağ Ü. Tıp Fak. Nöroşirürji ABD

Geliş Tarihi: 31.12.1992

Kabul Tarihi: 16.6.1993

longitudinal kesitlerde greftin olduğu bölümler Hematoksilen X Eosin ile boyanarak aksonal devamlılık, fibrioglial skar dokusu oluşumu ve mikroskobik kalınlığı, kavite, spongiöz yapı oluşumu, gliosis, periferik sinirdeki değişimler incelendi.

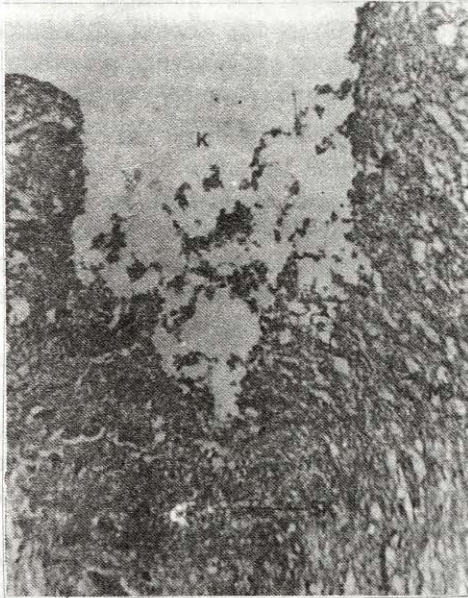
Bulgular

Kontrol grubunda, genel olarak spinal kordda açılmış olan kavitenin histolojik incelenmesinde; fibroglial skar dokusunun oluştuğu ve bu skar dokusunda glial elemanların reaksiyonu görüldü.

Tablo: I- Kontrol grubu

KG	Fibrokollajenöz Doku	Kalınlık	Glial Reaksiyon
1	+	0.04 mm	+
2	+	0.10 mm	+
3	+	0.02 mm	+
4	+	0.07 mm	+
5	+	0.07 mm	+
6	+	0.20 mm	+
7	+	0.11 mm	+
8	+	0.20 mm	+
9	+	0.05 mm	+
10	+	0.05 mm	+

Tablo I'de görüldüğü üzere kavite oluşturulup spontan rejenerasyona bırakılan bütün sıçanların spinal kordunda lezyona uğrayan bölgede fibrokollajenöz doku oluşumu ve glial reaksiyon gözlemlendi. Mikroskopik ölçümde fibro glial skar dokusu kalınlığı 0.02 mm 0.20 mm arasında değişmekte idi (Resim 1).



Resim: 1

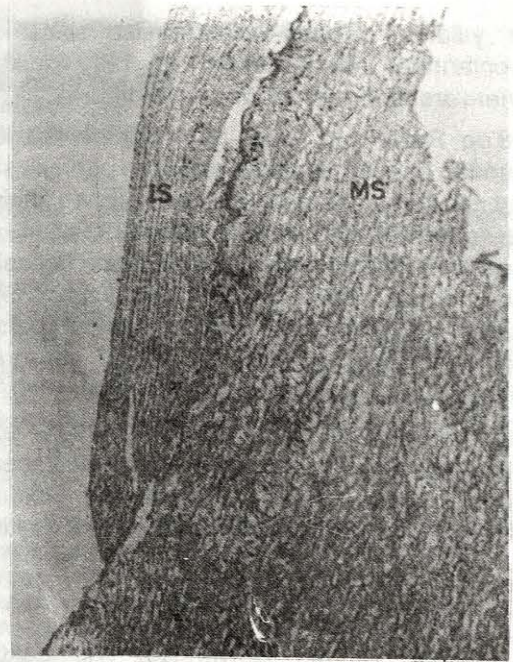
(KG No: 3) 16x10 büyütmede Spinal korda açılan kavitede oluşan fibrokollajenöz skar dokusu ve içinde fibroblastlar görüldü. Medulla spinallis beyaz cevherde interstisyel ödem saptandı.

K: Kavite, SK: Skar dokusu, MS: Medulla spinallis

Deney grubundaki 14 sıçandan 7'sinde interkostal sinir ve spinal kord arasında konneksiyonun sağlanmış olduğu, diğerlerinde greftin tutmadığı görüldü. Tablo II'de görüldüğü gibi periferik sinir anastomozunun sağlandığı 7 sıçanda fibrokollajenöz doku oluşumu ve kalınlığının bariz bir şekilde azalma olduğu tesbit edildi. Anastomozun gerçekleşmediği deneklerde skar dokusu kalınlığında kontrol grubuna göre farklılık olmadığı ve interkostal sinir ucunda da demyelinizasyon fibroz doku oluşumu şeklinde dejeneratif değişiklikler saptandı (Resim 2,3,4).

Tablo: II- Deney grubu genel histolojik bulguları

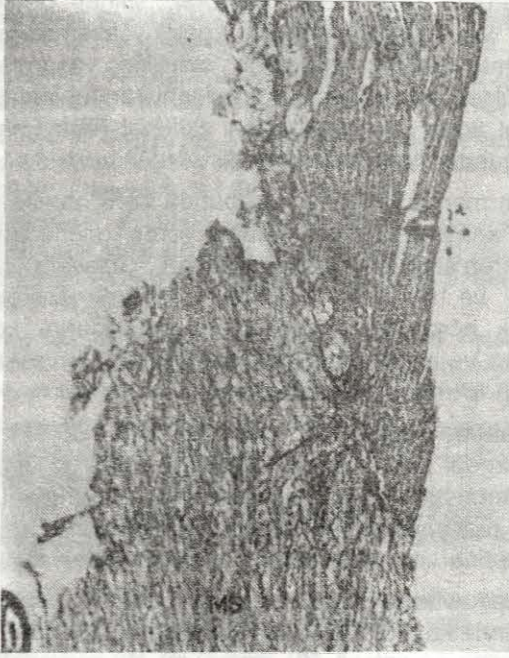
DG	Konneksiyon	Fibrokollajenöz doku ve kalınlığı	Periferik sinir canlılığı	Periferik sinir dejener.	Gliosis
1	Mevcut	+ 0.01 mm	+	-	-
2	Mevcut	+ 0.01 mm	+	-	-
3	Mevcut	- 0 mm	+	-	-
4	Mevcut	+ 0.02 mm	+	-	-
5	Mevcut-Zayıf	+ 0.02 mm	+	-	-
6	Mevcut	+ 0.02 mm	+	-	-
7	Mevcut	+ 0.01 mm	+	-	-
8	Yok	+ 0.04 mm	-	+	+
9	Yok	+ 0.20 mm	-	+	+
10	Yok	+ 0.05 mm	-	-	+
11	Yok	+ 0.02 mm	-	+	+
12	Yok	- 0 mm	-	+	-
13	Yok	+ 0.05 mm	-	+	+
14	Yok	+ 0.05 mm	-	+	+



Resim: 2

(DG No: 2) 6.3x10 büyütmede interkostal sinirin medulla spinalise anastomoz yerinde 0.01 mm kalınlıkta fibrokollajenöz skar dokusu ve interkostal sinir, spinal kord konneksiyonu görülmektedir.

IS: İnterkostal sinir, MS: Medulla spinallis.



Resim: 3

(DG. No: 4) 16x10 büyütmede anastomoz yerinin mikroskopik incelenmesinde interkostal sinir, medulla spinalis konneksiyonunun sağlandığı, skar dokusunun azaldığı görülmektedir.

MS: Medulla spinalis, IS: İnterkostal sinir.



Resim: 4

(DG No: 10) 16x10 büyütmede rezeke olan interkostal sinir segmentinde fibrozis, medulla spinaliste interstisyel ödem ve fibrokollajenöz skar dokusu görülmektedir.

IS: İnterkostal sinir, MS: Medulla spinalis.

Tartışma

Spinal kord fonksiyonlarının düzeltilmesi amacıyla deney hayvanlarında özel görevleri olan nöronların yerine aynı görevi görecek nöronların konulması ile değişik sistem greft çalışmaları araştırmacılar tarafından denenmeye devam edilmektedir.^{2,3,4,5,6,7,9,10}

Periferik sinir yaralanmasında ise fonksiyonel işlemi kısıtlayan reaksiyonlar zinciri oluşur. Eğer distal uç uygun bir ortamda ise başarılı bir rejenerasyon imkanı mevcuttur. Aksonal filizlenme ile hedefe yönelme şeklinde rejenerasyon olur.^{1,3,4,5,6,7,11}

Çalışmamızda lezyona uğramış spinal kord ve buraya konulan distal ucundan kesilmiş periferik sinirin etkisi incelenmiş, literatürde bahsedilen spinal kord rejenerasyonu ve uygun yere konulan periferik sinirin aksonal büyüme ve konneksiyonu sağlaması histolojik çalışmada gösterilmiştir.

Spinal kord, periferik sinir anastomozu yapılan diğer çalışmalarda spinal korda açılan kaviteye siyatik sinirden alınan periferik sinir segmenti yerleştirilmiştir. Greftlerden bir yıl sonra her iki doku arasında çok hafif bir kavitasyon saptanmıştır. Aksonal uzantı rejenerasyonun aksonların oluşturduğu assending trakt şeklinde görülmüştür.³

Ayrıca spinal korda implante edilen periferik sinir greftinin hem intraspinal nöronlar hem de dorsal root ganglionları tarafından innerve edilebildiği saptanmıştır.⁵

Çalışmamızda interkostal sinir grefti konulan yerin mikroskopik incelenmesinde periferik sinirin canlılığını koruduğu, az miktarda skar dokusu arasından medulla spinalis ile periferik sinirin konneksiyon halinde oldukları, vaskülaritenin artmış olduğu, medulla spinaliste interstisyel ödem ve gliozisin kaybolduğu saptanmıştır.

Sceats ve arkadaşlarının çalışmasında 73. günde periferik sinir anastomoz yerinde nöroma benzeri bir yapı görülmüş, periferik sinirde Wallerian dejenerasyon olarak "foamy" dejenerasyon izlenmiş, histolojik olarak tam bir devamlılığın sağlanmadığı saptanmış, az sayıda greft ve spinal kord arasında aksonların geçiş halinde oldukları görülmüş ve bu çalışma 146 ve 149. günlerde tekrarlandığında dejenerasyona ait bulguların ilerlediği saptanmıştır.⁷

Çalışmamızda konulan periferik sinir tek bir segment halinde olmayıp interkostal sinirin kord çıkışından itibaren devamlılığı sağlanmıştır. Spinal korda konulan greftlerin rezeke olduğu 7 denekte incelenen peraparatlarda periferik sinirin dejenerasyonu görülmüştür. Medulla spinalis ile konneksiyon sağlayan 7 deneğin periferik sinirlerinde dejenerasyona ait bulgu saptanmamıştır. Çalışmamızda interkostal sinir anastomozundan bir ay sonra histolojik kesitler alınmıştır.

Turbes'in çalışmasında ise bulgularımıza paralellik gösteren spinal korda anastomoze edilen interkostal sinirin distal segmente doğru büyüdüğü saptanmıştır. Çok sayıda sinir lifinin "Schwann" benzeri hücre kitlesini geçerek spinal korda uzandığı görülmüştür⁸.

Araştırmamızda periferik sinirin anastomoze edilen bölgede kord ile konneksiyon sağladığı, canlılığını koruduğu ve medula spinaliste dejenerasyona ait bulgu olmadığı, özellikle skar dokusunun azaldığı saptanmıştır. Rezeke olan periferik sinir kesitlerinin olduğu preparatlarda ise periferik sinirde dejenerasyon ve yanısıra, özellikle kavitede skar dokusunun devam ettiği gözlenmiştir.

Çalışmamızda greft olarak konulan interkostal sinirin spesifik ve nonspesifik etkilerinin olup olmadığı araştırılmıştır. Kontrol grubunda spinal kord kesisi yapılmış ve müdahale edilmeden beklendiği taktirde burada skar dokusunun oluştuğu görülmüştür. Bu skar dokusunun mikroskopik ölçümlerinde 0.02-0.20 mm kalınlık arasında değişen değerleri tesbit edilmiştir. İnsizyon yerinde dejeneratif değişiklikler, kistik kavitasyon ve fibrogliyal skar dokusunun oluşması literatürde olduğu gibi araştırmamızın deney grubunda da histolojik olarak saptanmış olmasına karşın kontrol grubu ile kıyaslamada bariz olarak fibrogliyal skar dokusunda azalma görülmüştür.

Greft çalışmalarındaki esas amaç da, ilk olarak posttravmatik spinal kordda gelişen skar dokusunun sağlam nöronlarda ve spinal ganglionda oluşan aksonal filizlenmenin normal doku ile birleşimine mekanik bir engel olduğu düşünülerek bu durumun ortadan kaldırılmasına yöneliktir^{2,5,6,7,9,10}.

Kord travmasını takip eden kısa sürede gri cevherde oluşan mikro petesial kanamalar beyaz cevhere yayılarak kord dokusunda sirkülasyon bozukluğuna yol açar. Morfolojik değişiklikler birkaç gün içinde kontüzyon alanlarından ödem alanları haline döner. Bir süre sonra da hücre nekrozu ödemi bunu takip eder. Nekroz, nöral büzülme, sitoliz ve skar dokusunun gliozisi ile karakterize bir tablo açığa çıkar^{2,12,13,14,15,16,17,18}.

Çalışmamızda kontrol grubun insizyon yerinin histolojik kesitlerinde, spinal kord travmasında bahsedilen hücre nekrozu, nöral büzülme ve fibrogliyal skar dokusunun oluştuğu gözlenmiştir.

Aksonal hasarlanmanın oluştuğu bu lezyonlardan sonra spinal kordda oluşan ödem, parenkim içine konan greftin ekstraparenkimal hale gelmesine ve greftin yaşama şansının azalmasına neden olmaktadır. Ayrıca "eicosanoid"lerin ortaya çıkmasında spinal kord kan akımını azaltmaktadır^{2,7,9,10,19}. Ayrıca greft çalışmalarında gösterildiği gibi likör sirkülasyonunun olduğu yerde yaşama şansının daha iyi olduğu savunulmaktadır^{1,2,3,4,5,6,7,10,20}.

Literatürde embriyonik serebral, spinal, periferik sinir ve spinal ganglion greft çalışmalarında implante edilen hücrelerin özellikle yaşamlarını sürdürdükleri, olgunlaşma süreçlerini tamamladıkları, spinal kord ve gangliondan aksonal filizlenmenin olduğundan bahsedilmektedir^{2,5,6,7,9,10}.

Araştırmamızda deney grubunda kord, interkostal sinir anastomozunun olduğu yerde rejenerasyon gösteren sinir lifleri, kan damarları, "Schwann" hücreleri ve bunların uzantıları görüldü. Histolojik olarak nöron ve nörogliaların canlılıklarını korudukları ve anastomoz sahasında özellikle vaskülaritenin artmış olduğu saptandı.

Literatürde implantın yaşaması (% 50-72) ve meningeal skarın erken greftlerde daha az olduğu saptanmıştır. Fakat geç greftlerde de implant ve kord füzyonunun iyi olduğu ve miplantın lezyon kavitesine konnekte olduğu gözlenmiştir^{3,5,6,10,20}.

Ayrıca kavitede oluşan konnektif dokunun greftlerin hepsinde kaybolduğu veya azaldığı saptanmıştır^{9,20}.

Deney grubunda anastomoz bölgelerinin kesitleri literatürde bahsedilen erken greft koymanın konneksiyon yönünden daha iyi olduğu görüşünü desteklemiştir. Skar dokusunda kıyaslamada (p<0.001) anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

Bu greftlerin yaşama ve gelişmesi için yapılan değişik çalışmalarda ortaya çıkan rejenerasyonun hücrenel veya aksonal işlevlerden çok "nerve growth faktör" ile olduğu da ileri sürülmektedir^{2,5,7,8,10,21,22,23}.

Greftin amacının hasarlanmış nöronal bölgeye gerekli trofik maddeleri taşıyarak hücrenin morfolojik, biyomik ve işlevsel özgülüğünü aksoplazmik trasport yolu ile sağlamak ve hem hasarlanmış hem de normal nöronlardan aksonal filizlenmeyi artırarak leze bölgeyi proksimal ve distalinde konneksiyon oluşturacak hale getirmek olduğu söylenebilir^{2,3,5,6,7,9,10}.

Bu tip çalışmalarda oluşturulan lezyonların, çalışmamızda olduğu gibi insan spinal kord lezyonlarına uygun bir model olmasına çalışılmaktadır. Morfolojik iyileşme tesbit edilmesine karşın fonksiyonel iyileşmeye katkı oranı tam ispat edilememektedir.

Doç. Dr. Kaya AKSOY
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi
Nöroşirürji ABD
Tel: 4428081
16059 Görükle/BURSA

Kaynaklar

1. Agnati, LF: Regeneration in the central nervous system. Advances and technical standards in Neurosurgery. New York Springer-Verlag Wien 1988:3,50,

2. Coşkun, N: Erişkin siçan spinal korduna embriyonik serebellar ve spinal dokuların transplantasyonu. Uzmanlık tezi. U.Ü.T.F. Nöroşirürji Anabilim Dalı. 1-48, 1989.
3. David HW: Peripheral nerve implants in the spinal cord in experimental animals. Paraplegia 22:230-237, 1984.
4. Divitis E, Donzelli R: Experimental model of nervous anastomosis between intercostal and lumbar nerves in the rabbit. J Neurosurg Sci 28:153-156, 1984.
5. Fernandez E, Pallini R, Minciacchi D, Sbriccoli A: Peripheral nerve autografts to the rat spinal cord: Study on the origin and course of regenerating fibres. Acta Neurochir 82:57-63, 1986.
6. Kao CC: Comparison of healing process in transected spinal cords grafted with autogeneous brain tissue, sciatic nerve and nodose ganglion. Exp Neurol 44:424-439, 1979.
7. Sceats DJ, Friedman WA, Sybert GW, Ballinger WE: Regeneration in peripheral nerve grafts to the cat spinal cord. Brain Res 362:149-156, 1986.
8. Turbes CC, Freeman LW: Peripheral nerve-spinal cord anastomosis for experimental cord transection Neurol 8:857, 1958.
9. Ducker TB, Hamit HF: Experimental treatments of acute spinal cord injury J Neurosurg 30:693-697, 1969.
10. Richardson PM, Mc Quinnes UM, Aquaço AJ: Peripheral nerve autografts to the rat spinal cord: studies with axonal tracing methods. Brain Res 237:147-62, 1982.
11. Munz M, Rasminsky M, Aquaço A: Functional activity of rat brainstem neurons regenerating axons along peripheral nerve grafts. Brain Res 340:115-125, 1985.
12. Deecke LMD, Tator CMD: Neurophysiological assessment of afferent and efferent conduction in the injured spinal cord of monkeys. J Neurosurg 39:65-73, 1973.
13. Ducker TB, Kindt GW, Kempe LG: Pathological findings in acute experimental spinal cord trauma. J Neurosurg 35:701-707, 1971.
14. Fried LC, Goodlan R: Microangiographic observations of the experimentally traumatized spinal cord. J Neurosurg 35:709, 1971.
15. Lahr PS, Stelzner DJ: Anatomical studies of dorsal column axons and dorsal root ganglion cells after spinal cord injury in the newborn rat. J Comp Neurol 293:377-398, 1990.
16. Pallini R, Fernandez E, Sbriccoli A: Retrograde degeneration of corticospinal axons following transection of the spinal cord in rats. J Neurosurg 68:124-128, 1988.
17. Siegal JD: A comparison of the regeneration potential of dorsal root fibers into gray or white matter of the adult rat spinal cord. Exp Neurol 109:90-7, 1990.
18. Tator CH, Rivlin AS, Lewis AJ: Effect of acute spinal cord injury on axonal counts in the pyramidal tract of rats. J Neurosurg 61:118-123, 1984.
19. Iizuka H, Yamato T: Experimental spinal cord injury, quantitation of axonal damage by automated image analysis. J Neurosurg 64:304-308, 1986.
20. Kuhlengel KA: Implantation of cultured sensory neurons and "Schwann" cells into lesioned neonatal rat spinal cord. J Comp Neurol 1:74-91, 1990.
21. Korfali E, Doygun M, Ulus IH, Rakunt C, Aksoy K: Effect of neuronotrophic factors on adrenal medulla grafts implanted into adult rat brains. Neurosurg 22:994-997, 1988.
22. Taniuchi M, Clark B: Induction of nerve growth factor receptor in "Schwann" cells after axotomy. Neurobiol 83:4094-4098, 1986.
23. Urschel BA: Schwann cell neuronal interactions in the rat involve nerve growth factor. J Comp Neurol 1:114-22, 1990.