

**SIÇAN SİYATİK SİNİR ONARIMINI TAKİBEN UYGULANAN
5-FLUOROURASIL'IN EPİNÖRAL VE EKSTRANÖRAL
SKAR DOKUSU OLUŞUMUNA VE SİNİR REJENERASYONUNA
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI***

Dr. Ömer BUHŞEM 

Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrah, ORCID: 0000-0002-6438-6681

Geliş Tarihi/Received

26.02.2021

Kabul Tarihi/Accepted

18.04.2021

Yayın Tarihi/Published

30.04.2021

Correspondence: Ömer BUHŞEM, E-mail: buhsem@gmail.com

** Bu çalışma, yazarın uzmanlık tezinden türetilmiştir.*

ÖZET

Epinöral ve ektranöral skar oluşumu periferik sinir cerrahisinin sonucunu olumsuz etkileyen faktörlerden biridir. Epinöral skar oluşumu iletim bloğuyla sonuçlanır ve aksonal rejenerasyona mekanik engel teşkil eder, ektranöral skar oluşumu yapışıklıklara ve sinirlerin komşu dokulara tutunmalarına yol açmaktadır. Bu çalışmada, bir antimetabolit ajan ve fibroblast proliferasyonunun güçlü inhibitörü olan 5-fluorourasil (5-FU) kullanılmıştır. Çalışmada altmış Sprague-Dawley tipi sıçan iki gruba ayrılmıştır. Her sıçanda sol siyatik sinir ile tibial ve peroneal komponentler açığa çıkarıldı ve künt diseksiyon ile ayrılmıştır. Siyatik sinir keskin ve dik olarak trifurkasyondan 15 mm önce kesildi ve uç-uca epinöral sütür ile onarılmıştır. Birinci grupta (n=30) 50 mg/ml 5-FU, ikinci grupta (n=30) izotonik emdirilmiş gazlı bez 5 dakika süreyle onarım hattı ve çevreleyen doku etrafına uygulanmıştır.. Her grup, sıçanların 4,8 ve 12. haftalarda değerlendirmeler (seri fonksiyonel yürüme şablonu analizleri, elektrofizyolojik çalışmalar, kas kitlesi değerlendirilmesi, histomorfolojik değerlendirme ile skar ve yapışıklıkların makroskopik değerlendirilmesi) için sakrifiye edildiği üç alt gruba ayrılmıştır. Yapılan değerlendirmelerde ıslak gastrokinemus kas ağırlığı ve elektrofizyolojik çalışmalar iki grup arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir. Yürüme şablonu analizleri, 8, 10 ve 12. haftalarda 5-FU grubunun izotonik grubuna kıyasla fonksiyonel olarak anlamlı derecede daha fazla rejenerasyonu göstermiştir. Makroskopik değerlendirme ve histolojik çalışmalar, 5-FU'in, epinöral ve ektranöral skar oluşumu ile yapışıklıkları yara iyileşmesini bozmadan anlamlı derecede azalttığını ortaya çıkarmıştır.

Anahtar Kelimeler: Epinöral Skar Dokusu, Ektranöral Skar Dokusu, Sinir Rejenerasyonu, 5-Fuorourasil

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF THE 5-FLUOROURACIL APPLIED AFTER RAT SCIATIC NERVE REPAIR ON THE EPINEURAL AND EXTRANEURAL SCAR TISSUE FORMATION AND NERVE REGENERATION

ABSTRACT

Epineural and extraneural scarring is one of the factors negatively influencing the result of peripheral nerve surgery. Epineural scarring results in conduction block and establishes a mechanical barrier to axonal regeneration and extraneural scarring may lead to adhesions and tethering of nerves to adjacent tissues. In this study 5-Fluorouracil (5-FU), an antimetabolite agent and potent inhibitor of the proliferation of fibroblasts was used. Sixty Sprague-Dawley rats were divided into two groups. In each rat left sciatic nerve with tibial and peroneal components were exposed and separated with blunt dissection. Sciatic nerve was sharply and perpendicularly transected 15 mm before trifurcation and end-to-end coaptation was done with epineural suture. In the first group (n=30) 50 mg/ml 5-FU, in the second group (n=30) saline soaked sponge applied around the repair site and surrounding tissue for 5 minutes. Each of the groups was divided into three subgroups in which rats were sacrificed at 4, 8, and 12 weeks for assessments (serial functional walking track analysis, electrophysiologic studies, muscle mass evaluation, histomorphologic evaluation and gross evaluation of scar and adhesions). It was concluded that wet weight of gastrocnemius muscle and electrophysiologic studies demonstrated no significant difference between two groups. Walking track analysis indicated significantly more functional regeneration in the 5-FU group than saline group at 8, 10, and 12 weeks. Gross evaluation and histologic studies have demonstrated that 5-FU significantly reduces epineural and extraneural scar formation and adhesions without impair wound healing.

Key Words: Epineural Scar Tissue, Extraneural Scar Tissue, Nerve Regeneration, 5-Fluorouracil

INTRODUCTION

En iyi koşullarda gerçekleştirilen cerrahi onarıma karşın yaralanmış periferik sinirin rejenerasyonunu ve klinik sonuçları etkileyen çeşitli etkenler vardır. Bunlardan biri, yara iyileşmesinin kaçınılmaz sonucu olarak kontrol dışı gelişen, onarım alanındaki skar oluşumudur (1-3). Periferik sinir yaralanmasını takiben oluşan epinöral skar, mekanik bir engel oluşturarak aksonların distal sinir güdüğündeki uygun fasiküllere doğru filizlenmesini güçleştirir ve iletim bloğuna yol açar (3-5). Ekstranöral skar oluşumu ise sinirin komşu dokulara yapışmasına neden olarak, ekstremitte ve eklem hareketleri sırasında sinirin normal longitudinal kayma hareketini engeller (6-8). Hareket sırasında sinirde oluşan gerginlik ve iskemi uzun sürdüğünde, onarılan sinirde ayrıca bir hasar oluşabilir (9). Bu nedenle epinöral ve ekstranöral skar oluşumunun azaltılması, cerrahi girişimin başarısını artırmakla birlikte, gerekli olduğunda ikincil ameliyatı da kolaylaştırarak komplikasyon riskini azaltır.

Uzun yıllardır kanser tedavisinde kullanılan antimetabolitler, birincil olarak DNA ve RNA sentezini engelleyen kemoterapi ajanlarıdır (10). Bu ajanlar içerisinde pirimidin analoglarından biri olan 5-fluorourasil (5-FU), replike olan hücrelerde ribonükleotidleri deoksiribonükleotidlere çevirmek için gerekli olan timidilat sentetazı inhibe ederek DNA sentezini engeller (10-12). Prolifere hücreler kemoterapötik ilaçlara dinlenme halindeki hücrelerden daha duyarlıdır (13). Hem in vitro (14,15) hem in vivo (16) olarak bir kez 5-FU uygulanmasını takiben ilaç konsantrasyonuna bağlı olarak, fibroblastların 36 güne kadar büyümelerinin durduğu saptanmıştır ve bu etki çevre alana relatif etkisiz fokal bir etkidir. Düşük dozda 5-FU ile büyümesi durdurulan hücrelerin halen migrasyon, sekresyon gibi bazı fonksiyonları sürdürdükleri ve yara iyileşmesinde yer alma kapasitesine sahip oldukları saptanmıştır (17-19). Lokal, toksik olmayan, önemli bir hücre ölümüne yol açmadan uzun süreli fibroblast büyümesini durduran 5-FU, göz doktorları tarafından glokom filtrasyon cerrahisi sonrası skar dokusu oluşumundan korunmak amacı ile başarıyla kullanılmaktadır (15,20). Aynı mekanizmadan yola çıkılarak tavşanlarda yapılan deneysel çalışmalarda, ameliyat sırasında yüzeysel olarak bir kez 5-FU uygulanımının fleksör tendon yaralanması sonrası adezyon oluşumunu azalttığı saptanmıştır (21).

Bu çalışmada sıçan siyatik sinir kesisinin onarımını takiben yüzeysel olarak bir kez, 5 dakika süreyle uygulanan 5-FU'in epinöral ve ektranöral skar dokusu oluşumuna ve sinir rejenerasyonuna etkisi araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Veri Toplama Süreci

Çalışma için gerekli etik izin alındıktan sonra Uludağ Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (DENTAM) elde edilen 240-270 gr ağırlığında, 60 adet Sprague-Dawley tipi dişi sıçan kullanıldı. Hastalıklı olmadıklarından emin olunan 60 sıçan tartılarak araştırma için 2 ana gruba rastgele ayrıldı [Grup 1 : kesi + epinöral onarım + izotonik (n = 30);Grup 2 : kesi + epinöral onarım + 5-fluorourasil (n = 30)]. Herbir grup ayrıca kendi içerisinde 3 alt gruba ayrıldı.[A:4. haftada değerlendirme için sıçanların sakrifiye edildiği grup (n=10);B :8. haftada değerlendirme için sıçanların sakrifiye edildiği grup (n=10);C :12.haftada değerlendirme için sıçanların sakrifiye edildiği grup (n=10)].

Anestezi için intraperitoneal ketamin hidroklorid 35 mg/kg (Ketalar) ve xylazine 5 mg/kg (Rompun) kullanıldı. Traş ve % 10 povidon-iyot ile ameliyat bölgesinin temizliğini takiben,

prone pozisyonunda sol arka kalça ve uyluk boyunca longitudinal insizyonla gluteal kas ayrılarak sol siyatik sinire ulaşıldı. Sinir, vasküler pedikülü hariç çevre dokulardan serbestleştirildikten ve tibial ve peroneal dallar birbirinden künt olarak diseke edildikten sonra, sural, peroneal ve tibial sinirlerin trifurkasyonundan 15 mm önce mikromakas ile keskin ve dik olarak kesildi (Şekil 1).



Şekil 1. Cerrahi Yöntem

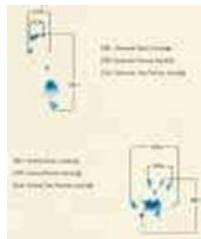
Kesik sinir mikrocerrahi teknik kullanılarak ameliyat mikroskopu altında 8/0 atravmatik naylon sütün materyali ile epinöral sütün yöntemiyle uç-uca koapte edildi. Onarılan sinir hattına ve çevre dokuya yüzeysel olarak 5 dakika süreyle 1 ml miktarında, birinci grupta gazlı beze emdirilmiş izotonik, ikinci grupta gazlı beze emdirilmiş 50 mg/ml 5-fluorourasil uygulandı. Bu süre sonunda tüm ameliyat sahası izotonik ile yıkanarak, kesiler 4/0 kromik katgüt ile dikildi. Çalışma sırasında her iki grupta 6. ve 8. haftada eklem kontraktürü gelişen birer sıçan çalışmadan çıkarılarak yerlerine yeni sıçanlar konuldu.

Verilerin Analizi

Sıçanlardaki epinöral ve ektranöral skar dokusu ve sinir iyileşmesi 4, 8 ve 12. haftalarda fonksiyonel, makroskopik, elektrofizyolojik ve histomorfolojik olarak incelendi.

Fonksiyonel İnceleme

Walking track (yürüme şablonu) analizi Tüm sıçanlara ameliyat sonrası, sakrifiye edilene kadar 2 haftada bir yürüme şablonu analizleri yapıldı. Sıçanlar, 10x10x100 cm boyutlarında bir ucu kapalı ve karanlık tahta koridorda, tabana her hayvan için ayrı emici kağıt yerleştirildikten sonra, her iki ayağı metilen mavisine batırılarak yürütüldü (22,23,24-27). Kağıt üzerinde oluşan ayak izlerinden ölçümler yapıldı (Şekil 2).



Şekil 2. Siyatik sinir lezyonu olan sıçandan elde edilen tipik yürüme şablonu.

Şekilde normal kontrol tarafta (sağ) ve sinir onarımı yapılan deneysel tarafta (sol) yapılan ölçümler görülmektedir. Baskı uzunluğu (BU), topuktan 3. parmağa kadar olan uzaklık; parmak ayırıklığı (PA) : 1. ve 5. parmak arasındaki uzaklık; orta parmak ayırıklığı (OA) : 2. ve 4. parmak arasındaki uzaklıktır. Her sıçanda deneysel (DBU, DPA, DOA) ve kontrol (NBU, NPA, NOA) taraflarda cetvelle ölçüldü (Şekil 2). Her üç ölçüm için, normal (sağ bacak) ve deneysel (sol bacak) değerler arasındaki farkın normal değerlere bölünmesi ile bir faktör oluşturuldu. Bunlar:

Baskı uzunluk faktörü (BUF) = $DBU - NBU/NBU$,

Parmak ayırıklık faktörü (PAF) = $DPA - NPA/NPA$,

Orta parmak ayırıklık faktörü (OAF) = $DOA - NOA/NOA$ olarak hesaplandı.

Bu faktörler daha sonra Bain-Mackinnon-Hunter (BMH) siyatik fonksiyon indeksinin (SFİ) hesaplanmasında kullanıldı (28).

$SFİ = -38.3 (BUF) + 109.5 (PAF) + 13.3 (OAF) - 8.8$

Sıfır indeksi normal fonksiyonu, - 100 indeksi teorik olarak tam fonksiyon kaybını yansıtmakla beraber, teknik olarak, kullanılan formüldeki sabitler nedeniyle - 100 den büyük değerler mümkündür.

Makroskopik Değerlendirme

Sıçanların sakrifiye edildiği 4, 8, 12. haftalarda anestezi sonrası eski insizyon alanları yeniden eksplore edildi. Cilt bütünlüğü, kas fasyası bütünlüğü, çevre kas dokusuna sinirin yapışıklığı ve tibial ve peroneal sinir dallarının ayrılabilirliği, Petersen' in (30) tarif ettiği sayısal derecelendirme şemasına göre değerlendirildi (Tablo-1).

Sinir yapışıklığı, sinirin çevreleyen kas boşluğundaki yapışıklığını, sinir ayrılabilirliği, tibial ve peroneal sinir elemanlarının birbirine yapışıklığını değerlendirmek için kullanıldı. Bu sınıflamada ise Derece 1 sinirin serbest veya ayrılmak için minimal künt diseksiyona ihtiyaç duyulduğunu, Derece 2 ayırmak için orta veya kuvvetli künt diseksiyon gerektiğini, Derece 3 ayırmak için makasla keskin diseksiyona ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir (Tablo-1).

Doku	Derece	Tanımlama
Cilt ve kas fasyası	1	Cilt veya kas fasyası tamamen kapalı
	2	Cilt veya kas fasyası kısmen açık
	3	Cilt veya kas fasyası tamamen açık
Sinir yapışıklığı ve sinir ayırılabilirliği	1	Diseksiyona gerek yok veya orta derecede künt diseksiyon
	2	Kuvvetli künt diseksiyona gereksinim var
	3	Keskin diseksiyona gereksinim var

Tablo 1:Yapışıklığın makroskopik olarak değerlendirildiği sayısal derecelendirilmesi

Cilt ve kas fasyası bütünlüğü yara iyileşmesinin değerlendirilmesinde kullanıldı. Derece 1 tam kapanmayı (Şekil 3A), Derece 2 yaranın kapanmasındaki kısmi yetersizliği (Şekil 3B), Derece 3 kapanmayan yarayı göstermektedir (Şekil 3C).

A Fasyadaki tam kapanma

B Kapanmada kısmi yetersizlik



C Kapanmayan Fasya

Şekil 3. Yara iyileşmesinin değerlendirilmesi

Elektrofizyolojik çalışma

İlk ameliyatlardan 4, 8 ve 12 hafta sonra komputerelektromyografi cihazı ile sinir ileti hızı (SİH) ölçümleri yapıldı (Şekil 4). Anestezi altında, opere edilen sol siyatik sinir ve kontrol grubu olmak üzere sağ siyatik sinir diseke edilerek açığa çıkarıldı. Bipolar stimülasyon elektrodu onarım hattının yaklaşık 1 cm proksimaline, bipolar kayıt elektrodu ise onarım hattının yaklaşık 1 cm distaline yerleştirilerek aksiyon potansiyellerinin kaydı yapıldı. Kurumayı önlemek amacıyla elektrodlar ve sinirin içinde bulunduğu poş sıvı vazelin ile dolduruldu. Aksiyon potansiyellerinin, her iki elektrod arasındaki mesafeye bölünmesiyle sinir ileti hızları (metre/saniye) bulundu. Her sıçanda deneysel (sol) taraftaki SİH değerin kontrol (sağ) taraftaki değere bölünmesi ile bireysel farklılıklar giderilerek, her sıçan için belirli bir indeks elde edildi.



Şekil 4. Sinir ileti hızlarının ölçümünün yapıldığı komputerelektromyografi cihazı

Histolojik çalışma

Elektrofizyolojik çalışmaların tamamlanmasından sonra siyatik çentikten popliteal fossaya kadar uzanan siyatik sinir, onarım hattı ve çevreleyen dokuyu içerecek şekilde çıkarıldı. Alınan doku % 10 formalin ile fikse edildikten sonra alkol solusyonları ile dehidrate edilerek parafine yerleştirildi. Onarım hattının 1 cm proksimalinden ve 1 cm distalinden transvers, onarım hattından longitudinal olarak 5 mm kalınlığında alınan kesitler hematoksilin ve eosin ile boyandı. Myelinizasyona bakmak için myelin boyama (Weil metodu ile) yapıldı, onarım hattından alınan kesitler, kollajene bakmak için ayrıca ‘Masson trichrome’ ile boyandı. Histolojik kesitlerde aşağıdaki değerlendirilmeler yapıldı.

Onarım alanında organizasyon: Onarım alanından alınan longitudinal kesitlerde organizasyona bakıldı ve 1’den 5’e kadar derecelendirilerildi.



Şekil-5: Onarım alanından alınan longitudinal kesitlerde kötü (A), orta (B) ve iyi (C) organizasyonu gösteren örnekler (Hematoksilen-eosin boyama, X10).

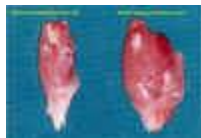
Akson ve fiber çapı, akson/fiber çapı oranı: Onarım hattının 1 cm distalinden alınan transvers kesitlerde ışık mikroskobu ile 4, 8 ve 12. haftalardaki akson ve fiber çapları incelendi. İmmersiyon yağı ile X40 büyütmede çekilen fotoğraflar bir ölçüm göstergesiyle birlikte, bilgisayar ortamında 5 kat daha (X200) büyütülerek akson ve fiber çapları ölçüldü (Şekil 6). Elde edilen ortalama akson çapı oranları, ortalama fiber çapı oranlarına bölünerek myelinizasyon derecesi hakkında bilgi verecek indeksler elde edildi.



Şekil 6. İmmersiyon yağı ile X40 büyütmede çekilen fotoğraflar

Skar dokusu kalınlığı: Sekizinci haftada onarım hattından alınan ve masson trichrome ile boyanmış longitudinal kesitlerin aynı mikroskopta X4 büyütme ile fotoğrafları çekildi. Bilgisayar ortamında 2.5 kat (X10) büyütülen görüntülerde sabit bir skala yardımıyla sinirin ve siniri çevreleyen skar dokusunun kalınlığı ölçüldü. Ortalama skar dokusu kalınlığı, ortalama sinir dokusu kalınlığına bölünerek her sinir için bir indeks belirlendi.

Islak Gastrokinemus ağırlığı: Elektrofizyolojik inceleme ve histolojik çalışma için örneklerin alınmasını takiben 12. haftada bilateral gastrokinemus kaslarının ıslak ağırlıkları ölçüldü (Şekil 7). Femura yapıştığı yerden ve kalkaneusa girdiği yerden diseke edilerek çıkarılan kasların ağırlık ölçümleri yapıldıktan sonra deneysel taraftaki değer kontrol tarafındaki değere bölünerek bireysel farklılıklar giderildi ve her sıçan için bir oran elde edildi.



Şekil 7. Onikinci haftada bilateral gastrokinemus kaslarının ıslak ağırlıkları

Şekilde siyatik sinir lezyonu olan deneysel (sol) taraftaki kasın kontrol (sağ) taraftaki normal kasa göre daha atrofik olduğu görülmekte.

BULGULAR

Fonksiyonel İncelemeye İlişkin Bulgular

İkinci haftada teorik olarak tam fonksiyon kaybını gösteren -100 değerine yakın olan 5-FU grubundaki SFİ (-93.61±0.68) değeri ile izotonik grubundaki SFİ (-93.61±0.68) değerleri, çalışma süresince düzelerek normal fonksiyonu gösteren 0 değerine yaklaştı ve 12. haftada 5-FU grubu SFİ değeri - 60.80±0.24, izotonik grubu SFİ değeri -65.21±0.21 düzeylerine geldi (Tablo 2).

Sıçan no	2. Hafta		4. Hafta		6. Hafta	
	5-FU	İzotonik	5-FU	İzotonik	5-FU	İzotonik
1	- 94.0	- 92.6	- 84.1	- 89.3	- 85.9	- 85.9
2	- 96.9	- 93.2	- 86.2	- 82.1	- 86.3	- 86.1
3	- 93.0	- 99.5	- 83.7	- 86.8	- 84.7	- 84.2
4	- 93.7	- 91.7	- 85.2	- 87.2	- 84.3	- 85.3
5	- 92.9	- 93.6	- 84.3	- 86.4	- 85.2	- 83.8
6	- 94.2	- 92.8	- 82.8	- 83.5	- 87.0	- 84.5
7	- 95.1	- 92.8	- 85.6	- 88.5	- 83.8	- 85.4
8	- 93.2	- 94.1	- 84.9	- 84.8	- 86.6	- 86.6
9	- 94.3	- 93.0	- 83.1	- 85.3	- 86.3	- 87.1
10	- 93.0	- 92.8	- 84.0	- 85.1	- 85.7	- 85.1
Ortalama	- 94.03±0.38	- 93.61±0.68	- 84.39±1.08	- 85.32±0.61	- 85.58±0.33	- 85.40±0.33
P değeri	<i>P > 0.05</i>		<i>P > 0.05</i>		<i>P > 0.05</i>	

Sıçan no	8.Hafta		10. Hafta		12. Hafta	
	5- FU	İzotonik	5-FU	İzotonik	5-FU	İzotonik
1	- 69.8	- 73.6	- 63.6	- 66.2	- 61.4	- 64.5
2	- 70.2	- 74.2	- 61.8	- 67.1	- 60.2	- 65.1
3	- 67.6	- 71.3	- 62.6	- 66.4	- 61.1	- 64.8
4	- 69.0	- 73.8	- 65.2	- 65.8	- 60.6	- 65.6
5	- 71.6	- 74.4	- 64.1	- 65.5	- 62.3	- 66.2
6	- 71.2	- 72.8	- 62.2	- 67.3	- 59.8	- 64.2
7	- 68.3	- 73.1	- 63.7	- 66.8	- 60.7	- 65.5
8	- 70.5	- 71.8	- 61.2	- 68.1	- 61.4	- 64.7
9	- 69.7	- 70.6	- 64.0	- 67.8	- 60.5	- 65.4
10	- 70.1	- 74.7	- 63.5	- 66.9	- 60.0	- 66.1
Ortalama	- 69.80±0.38	- 73.03±0.44	- 63.19±0.38	- 66.79±0.26	- 60.80±0.24	- 65.21±0.21
P değeri	<i>P < 0.001</i>		<i>P < 0.001</i>		<i>P < 0.001</i>	

Tablo 2. Siyatik sinir kesisi ve onarımını takiben elde edilen Siyatik Fonksiyon İndeksi (SFİ) değerleri

Tablo 2’de 8, 10 ve 12. haftalarda 5-FU gurubu SFİ değerlerindeki iyileşmenin izotonik grubuna göre anlamlı derecede ($p < 0.001$) fazla olduğu görülmektedir. Postoperatif ilk 6 haftada her iki grup SFİ değerleri arasında non-parametrik student-t testi ile yapılan değerlendirmede istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmadı ($p > 0.05$). Özellikle 6. haftadan 8. haftaya geçerken her iki grupta da fonksiyonel iyileşmenin hızlandığı, 8, 10 ve 12. haftalarda 5-FU grubu SFİ’ndeki düzelmenin (dolayısıyla fonksiyonel iyileşmenin) izotonik grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p < 0.001$) daha fazla olduğu görüldü (Tablo 2).

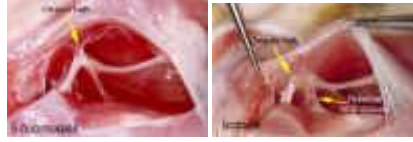
Makroskopik Değerlendirmeye İlişkin Bulgular

Yara iyileşmesinin değerlendirildiği cilt ve kas fasyasının kapanmasına bakıldığında, izotonik ve 5-FU grubundaki tüm hayvanların ciltlerinin tamamen kapandığı, özellikle 4. haftada olmak üzere 5-FU grubunda bazı hayvanlarda fasya kapanmasında kısmi yetersizlik olduğu görüldü. Ancak cilt ve kas fasyası kapanmasında, her iki grup arasında Mann-Whitney U non-parametrik test ile yapılan istatistiksel değerlendirmede anlamlı farklılığa rastlanmadı ($p > 0.05$) (Tablo 3)

Haftalar	Cilt bütünlüğü			Kas fasyası			Sinir dokusu			Ayrılabilirlik		
	4	8	12	4	8	12	4	8	12	4	8	12
Sıçan no	(5-FU / izotonik)			(5-FU / izotonik)			(5-FU / izotonik)			(5-FU / izotonik)		
1	1/1	1/1	1/1	2/1	1/1	1/1	1/2	2/2	2/3	2/2	2/3	1/2
2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/2	2/2	2/2	1/2	1/2
3	1/1	1/1	1/1	2/1	2/1	1/1	1/2	2/3	2/2	1/2	2/2	2/3
4	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/2	1/2	3/2	1/2	2/2
5	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/2	1/3	1/2	1/2
6	1/1	1/1	1/1	2/2	2/1	2/1	1/2	2/2	2/3	2/3	2/3	2/3
7	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	2/1	2/3	2/3	2/2	2/2	2/2
8	1/1	1/1	1/1	2/1	1/1	1/1	1/2	1/2	1/2	1/2	1/3	1/2
9	1/1	1/1	1/1	3/1	1/1	1/1	1/2	2/3	2/3	2/2	2/2	1/2
10	1/1	1/1	1/1	1/2	1/1	1/1	1/1	1/2	1/2	1/2	½	2/3
Ortalama	10/10	10/10	10/10	16/12	12/10	11/10	11/15	15/22	16/24	17/22	15/23	15/23
P değeri	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05	<0.05

Tablo 3. Petersen’in sayısal derecelendirme şeması esas alınarak gerçekleştirilen, yara iyileşmesinin, diseksiyon sırasındaki yapışıklığın değerlendirme sonuçları

Diseksiyon kolaylığı, skar dokusu ve yapışıklığa bakıldığında 8 ve 12. haftalarda yine aynı test ile yapılan istatistiksel değerlendirmede 5-FU lehine anlamlı derecede ($p < 0.05$) farklılıklar gözlemlendi (Tablo 3). 5-FU grubunda izotonik grubuna kıyasla epinöral skar dokusunun daha az olduğu, diseksiyonun ve sinir ayrılabilirliğinin daha kolay olduğu, çevre kas dokusuna yapışıklığın daha az olduğu görüldü (Şekil 8). Descriptive Characteristics of the Participants (n=174)



Şekil 8. Sekizinci haftada 5-FU grubunun ve izotonik grubun onarım alanları

Sıçan no	5-FU	Kontrol	İndeks	İzotonik	Kontrol	İndeks
1	53.5	75.0	0.71	0	67.8	0
2	0	59.5	0	53.5	68.4	0.78
3	44.6	66.6	0.67	46.2	78.5	0.59
4	50.0	85.7	0.58	50.6	71.4	0.71
5	71.4	89.2	0.80	0	65.4	0
6	56.5	93.7	0.60	62.5	89.2	0.70
7	53.5	67.8	0.79	84.8	98.2	0.86
8	65.2	98.2	0.66	59.5	82.1	0.72
9	0	82.1	0	56.5	84.8	0.66
10	75.0	84.8	0.88	64.2	80.3	0.80
Ortalama			0.56 ± 0.09			0.58 ± 0.09
P			P > 0.05	(4. Hafta)		

Sıçan no	Kontrol	İndeks	İzotonik	Kontrol	İndeks	
1	75.8	82.1	0.92	62.5	71.4	0.87
2	60.7	68.4	0.89	78.5	89.2	0.88
3	84.8	89.2	0.95	65.4	80.3	0.81
4	50.5	81.5	0.62	56.5	78.5	0.71
5	64.2	98.2	0.65	82.1	93.7	0.87
6	67.8	80.3	0.84	51.6	67.8	0.76
7	51.6	78.5	0.66	66.6	75.8	0.82
8	80.3	93.7	0.86	75.0	82.1	0.91
9	68.4	65.4	1.04	65.2	84.8	0.76
10	71.4	78.5	0.91	80.3	102.5	0.78
Ortalama		0.83 ± 0.04			0.81 ± 0.02	
P		P > 0.05	(8. Hafta)			

Sıçan no	5-FU	Kontrol	İndeks	İzotonik	Kontrol	İndeks
1	78.5	80.3	0.94	68.3	82.1	0.83
2	84.5	75.8	0.89	89.2	78.5	1.13
3	89.2	102.5	0.87	80.3	93.7	0.85
4	75.8	81.5	0.93	93.7	84.8	1.10
5	60.7	82.1	0.73	62.5	89.2	0.70
6	82.1	93.7	0.87	80.3	82.1	0.97
7	65.4	67.8	0.96	67.8	75.8	0.89

8	80.3	75.8	1.05	84.8	80.3	1.05
9	93.7	89.2	1.05	75.8	81.5	0.93
10	71.4	65.4	1.09	78.5	71.5	1.09
Ortalama			0.93 ± 0.03			0.95 ± 0.04
<i>P</i>			<i>P</i> > 0.05 (12. Hafta)			

Tablo 4. 4, 8 ve 12. haftalarda ölçülen Sinir İleti Hızları (SİH – m/sn) ve SİH indeksleri (indeks = deneysel (sol) taraf SİH / kontrol (sağ) taraf SİH)

Histomorfolojik Çalışmaya İlişkin Bulgular

Onarım alanında organizasyon: 4, 8 ve 12. haftalarda onarım alanında organizasyon değerlerine bakıldığında 5-FU grubunda organizasyonun daha iyi olduğu gözlenmekle birlikte Mann-Whitney U non-parametrik test ile yapılan değerlendirmede 5-FU ve izotonik grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$) (Tablo5).

Sıçan no	4. hafta	8.hafta	12. hafta
	5-FU / izotonik	5-FU / İzotonik	5-FU / İzotonik
1	2 / 2	2 / 1	4 / 1
2	3 / 2	1 / 2	3 / 2
3	3 / 2	3 / 2	4 / 2
4	2 / 2	4 / 2	3 / 3
5	3 / 2	3 / 3	2 / 4
6	4 / 3	5 / 3	3 / 3
7	1 / 2	2 / 4	3 / 2
8	3 / 1	3 / 2	4 / 2
9	2 / 3	3 / 3	3 / 3
10	2 / 2	3 / 2	2 / 4
Toplam	25 / 21	29 / 24	31 / 26
<i>P değerleri</i>	<i>P</i> > 0.05	<i>P</i> > 0.05	<i>P</i> > 0.05

Tablo 5. 4, 8 ve 12. haftalarda onarım alanındaki organizasyonun değerlendirme sonuçları

Akson ve fiber çapı, akson / fiber çapı oranı: 5-FU ve izotonik gruplarında 4, 8 ve 12. haftalarda akson çaplarında önemli bir artış gözlenmedi. Non-parametrik student-t testi ile yapılan değerlendirmede her iki grup arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p > 0.05$). Fiber çaplarında ise her iki grupta da artış olduğu, 8 ve 12. haftalarda 5-FU grubundaki artışın izotonik grubuna göre anlamlı derecede ($p < 0.05$ ve $p < 0.001$) daha fazla olduğu görüldü. Fiber çaplarının artışındaki bu farklılık akson / fiber çapı oranına da yansiyarak 8 ve 12. haftalarda izotonik grubuna kıyasla 5-FU grubu lehine istatistiksel olarak anlamlı değerler bulundu (Tablo 6).

Sıçan no	*Akson çapı 4. hafta		Akson çapı 8. hafta		Akson çapı 12. hafta	
	5-FU	İzotonik	5-FU	İzotonik	5-FU	İzotonik
1	3.0	3.1	3.2	3.1	3.3	3.3
2	3.1	3.1	3.2	3.0	3.2	3.3
3	3.2	3.0	3.1	3.2	3.2	3.2
4	3.1	3.2	3.3	3.0	3.3	3.1
5	3.3	3.2	3.2	3.2	3.2	3.3

Ömer RUHŞEM

6	3.0	3.3	3.1	3.3	3.0	3.2
7	3.4	3.1	3.1	3.0	3.4	3.3
8	3.1	3.3	3.2	3.1	3.3	3.2
9	3.1	3.1	3.4	3.3	3.2	3.3
10	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2
Ortalama	3.15±0.04	3.16±0.03	3.20±0.02	3.14±0.03	3.23±0.11	3.24±0.02
<i>P</i>	<i>P</i> > 0.05		<i>P</i> > 0.05		<i>P</i> > 0.05	
<i>değerleri</i>						

* □m

Sıçan no	*Fiber çapı 4. hafta		Fiber çapı 8. hafta		Fiber çapı 12. hafta	
	5-FU	İzotonik	5-FU	İzotonik	5-FU	İzotonik
1	6.5	6.3	6.9	6.4	8.9	7.1
2	6.4	6.2	7.1	6.3	8.5	7.3
3	6.6	6.1	6.9	6.5	8.7	7.1
4	6.5	6.5	7.2	6.4	8.8	6.9
5	6.7	6.4	6.9	6.3	8.7	6.8
6	6.3	6.6	7.0	6.6	8.2	7.0
7	6.8	6.3	7.2	6.2	9.0	7.1
8	6.4	6.7	7.1	6.5	8.9	6.8
9	6.7	6.8	7.5	6.6	8.5	6.9
10	6.3	6.4	7.2	6.4	8.6	7.3
Ortalama	6.52±0.05	6.43±0.07	7.10±0.05	6.40±0.04	8.68±0.07	7.03±0.05
<i>P değerleri</i>	<i>P</i> > 0.05		<i>P</i> < 0.05		<i>P</i> < 0.001	

* □m

Sıçan no	Akson/Fiber çapı 4. hafta		Akson/Fiber çapı 8. hafta		Akson/Fiber çapı 12. hafta	
	5-FU	İzotonik	5-FU	İzotonik	5-FU	İzotonik
1	0.46	0.49	0.46	0.48	0.37	0.46
2	0.48	0.50	0.45	0.48	0.38	0.45
3	0.48	0.49	0.45	0.49	0.37	0.45
4	0.48	0.49	0.46	0.47	0.38	0.45
5	0.49	0.50	0.46	0.51	0.37	0.49
6	0.48	0.50	0.44	0.50	0.37	0.46
7	0.50	0.49	0.43	0.48	0.38	0.46
8	0.48	0.49	0.45	0.48	0.37	0.47
9	0.46	0.46	0.45	0.50	0.38	0.48
10	0.51	0.50	0.44	0.50	0.37	0.44
Ortalama	0.48±0.01	0.49±0.01	0.44±0.09	0.48±0.01	0.37±0.01	0.46±0.04
<i>P</i>	<i>P</i> > 0.05		<i>P</i> < 0.05		<i>P</i> < 0.05	
<i>değerleri</i>						

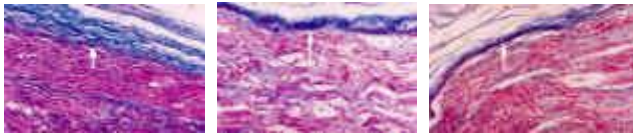
* □m

Tablo 6. 4, 8 ve 12. haftalarda 5-FU ve izotonik grubundaki akson ve fiber çapları ile akson / fiber çapı oranları ve istatistiksel karşılaştırmaları

Skar dokusu kalınlığı: Sekizinci haftada 5-FU ve izotonik gruplarına ait skar dokusu kalınlığının sinir dokusu kalınlığına bölünmesi ile elde edilen indeks değerleri student-t testi ile karşılaştırıldı (Tablo 7). İzotonik grubuna oranla 5-FU grubundaki skar kalınlığının istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az olduğu görüldü ($p < 0.05$) (Şekil 9).

Sıçan no	Skar dokusu / Sinir dokusu kalınlığı	
	5-FU	İzotonik
1	0.186	0.312
2	0.220	0.380
3	0.155	0.208
4	0.219	0.340
5	0.166	0.277
6	0.137	0.215
7	0.162	0.306
8	0.243	0.186
9	0.192	0.200
10	0.166	0.153
Ortalama	0.184 ± 0.01	0.257 ± 0.07
<i>P değeri</i>	$P < 0.05$	

Tablo 7. Sekizinci haftada 5-FU ve izotonik grubuna ait skar dokusu kalınlığının sinir dokusu kalınlığına bölünmesi ile elde edilen indeks değerleri



A

B

C

Şekil 9..Sekizinci haftada izotonik grubundaki (A) skar dokusu kalınlığının (ok) 5-FU grubuna (B,C) oranla daha fazla olduğu görülmekte (Masson trichrome boyama, X40).

Islak Gastrokinemus Kas Ağırlığı: Onikinci haftada ıslak gastrokinemus kas ağırlıklarına bakıldığında izotonik grubundaki kasların 5-FU grubundakilere oranla biraz daha atrofik ve hafif olduğu gözlemlendi. Ancak parametrik Student-t testi ile yapılan istatistiksel değerlendirmede, 5-FU kas ağırlığı indeksi (ortalama 0.64±0.003) ile izotonik kas ağırlığı indeksi (ortalama 0.60±0.006) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p > 0.05$) (Tablo-8).

Sıçan no	5-FU	Normal	İndeks	İzotonik	Normal	İndeks
1	1.2240	1.8786	0.6515	0.8987	1.7402	0.5164
2	1.0285	1.7508	0.5850	0.1451	1.8692	0.6126
3	1.0608	1.8008	0.5891	0.8289	1.8060	0.4589
4	1.2051	1.8236	0.6608	1.1486	1.8317	0.6270
5	1.0776	1.7949	0.6004	1.1960	1.7926	0.6671
6	1.1760	1.8028	0.6523	1.1257	1.7981	0.6260
7	1.2102	1.7854	0.6778	1.2088	1.8110	0.6675
8	1.1660	1.7950	0.6496	1.0890	1.7320	0.6288
9	1.2260	1.9050	0.6436	1.2120	1.9350	0.6264
10	1.1985	1.7622	0.6801	1.0910	1.8205	0.5993
Ortalama İndeks	*0.64±0.003		*0.60±0.006			

*p>0.05

Tablo 8. Onikinci haftadaki her sıçanda bilateral ıslak gastrokinemus kas ağırlıkları

Tabloda görüldüğü gibi deneysel (sol) taraftaki değerler normal (sağ) taraftaki değerlere bölünerek bireysel farklılıklar giderildi ve her sıçan için bir indeks belirlendi. Parametrik Student-t testi ile yapılan istatistiksel değerlendirmede izotonik ve 5-FU grupları arasında anlamlı farklılık bulunmadı (p>0.05).

TARTIŞMA

Çalışmanın yapıldığı tarihte, literatürde yer alan diğer çalışmalar incelendiğinde birçok araştırmacının epinöral ve ekstranöral skar oluşumunu azaltmak için çeşitli farmakolojik ajanlar kullanmış olduğu görülmüştür. Hiçbirisi rutin olarak klinik kullanım alanı bulamamakla birlikte, Aprotinin (29), Adcon-T/N (bir karbonhidrat polimer jeli) (30), cis-Hidroksiprolin (cis-hipro) (31, 31), östrojen-progesteron, metilprednizolon-asetat (32) ve TGF-b'ya (transforming growth factor beta) karşı oluşturulmuş antikor (33), bu farmakolojik

ajanlardan bazılarıdır. Periferik sinir cerrahisinde skar oluşumunu azaltmak amacıyla kullanılacak olan farmakolojik ajanın, tercih edilmesi için bazı özelliklere sahip olması gerekir. Bunlar; 1) ucuz ve kolay bulunabilir olmalı, 2) kullanıldığı dozda dokulara toksik etkisi olmamalı, 3) yara iyileşme sürecini ve periferik sinir rejenerasyonunu olumsuz etkilememeli, 4) etkisi mümkün olduğunca bölgesel olmalı, 5) uzun etkili olmalı ve mümkün olduğunca az sayıda tekrar uygulanımına gereksinim olmalı, 6) farklı veya benzer endikasyonlarla halen klinikte uygulanımı olan bir ilaç olmalıdır. Bu çalışmada, yapılan deneysel ve klinik çalışmalarla, yukarıda sözü edilen özelliklere sahip olduğu gösterilmiş olan 5-FU kullanılmıştır.

Kolorektal, meme, mide, karaciğer, pankreas, mesane, over gibi kanserlerde uzun yıllardır kullanılan 5-fluorourasil, pirimidin analogu olan bir antimetabolittir. Antimetabolit tip antikanser ilaçlar nükleik asitlerin genellikle bir ya da bir çok sentez basamağını inhibe ederler (10). Vücutta relatif olarak etkisiz olan 5-FU metabolik yolda giderek daha aktif olan, 5-fluorouridine 5-monofosfat, 5-fluorouridine trifosfat (FUTP), 5-fluoro 2-deoksiüridilat (FUDR), 5-fluorodeoksiüridin 5-monofosfat, 5-fluorouridine gibi metabolitlere dönüşür (10,12). Fluorourasil ve metabolitleri, timidilat sentetaz ile birleşerek bu enzimin etkisini inhibe ederler. Timidilat sentetazın katalize ettiği uridilatın timidilata dönüşümü engellenir ve replike olan hücrede timin sentezinin bozulması ile DNA sentezi duraklar. FUDR, timidilat sentetazı yarışmalı olarak inhibe eder ve DNA sentezi için gerekli bir deoksinükleotid olan deoksitimidin trifosfatın oluşumunu bloke eder (10-12). Bu inhibisyonlar geri dönüşümlüdür ve fluorourasil ortamdan kaldırıldığında hücrelerin normale dönmesi beklenir (15). Bununla birlikte fluorourasil özellikle yüksek dozlarda RNA yapısına katılır (11). Bunun sonucunda, bu ilaçların fibroblastlar üzerindeki uzun süreli geri dönüşümsüz etkilerini açıklayabilecek, RNA oluşumu ve işlevini inhibe edici etkileri ortaya çıkar (34).

Kanser tedavisinde kullanımının yanı sıra 5-FU, hücre çoğalmasındaki bu inhibe edici etkisi dolayısıyla farklı klinik durumlarda da kullanım alanı bulmuş ve çeşitli araştırmalara konu olmuştur. Çoğalan hücrelerin kemoterapi ilaçlarına dinlenme halindeki hücrelerden daha duyarlı oldukları bilinmektedir (13). Fluorourasil, skar oluşumunun ana hücre mediatörleri olan fibroblastların kuvvetli bir inhibitörüdür (35). Malign olmayan hücre kültürlerinde yapılan çalışmalar, 5-FU'in fibroblast proliferasyonunu etkili şekilde inhibe ettiğini göstermiştir (36). Başka bir çalışmada 5-FU'in insan fibroblast kültürlerine eklenmesinin kollajen sentezini anlamlı ölçüde azalttığı gösterilmiştir (37). Hem in vitro, (14,15) hem in

vivo (16) olarak bir kez 5-FU uygulanmasını takiben, ilacın konsantrasyonuna bağlı olarak, fibroblastların 36 güne kadar büyümelerinin durduğu saptanmıştır. Birkaç dakikalık temas sonrası fluorourasilin ortamdaki yikanarak uzaklaştırılmasına rağmen, kültüre doku fibroblastları üzerinde lokalize uzamış bir etki söz konusudur (16). Tümör hücrelerinde maksimum hücre içi serbest fluorourasil depolanmasının 200 saniye içerisinde olduğu gösterilmiştir (15). Bu da ilacın hücre içi birikiminin çok hızlı olduğunu gösterir, bu süre sonrasında ortamdaki uzaklaştırılsa bile hücre ve ekstrasellüler matriks tarafından alınan ilaç, metabolize olarak etkisini göstermeye başlar. Fluorourasilin kültüre insan fibroblastlarının proliferasyonuna inhibitör etkisinin geç başladığı yani, inkübasyon sonrası etkinin 2. günden sonra başladığı saptanmıştır (38). Bu gecikmenin ilacın daha aktif metabolitlere dönüşümüne bağlı olduğu düşünülmüştür. Fluorourasilin klinik olarak uygulanabileceği en yüksek konsantrasyon 50 mg/ml dir. Daha yüksek konsantrasyonlar ilacın çözünebilirliğine bağlı olarak mümkün değildir (16).

SONUÇ

1. 5-FU'in sinir rejenerasyonuna olumsuz bir etkisinin olmadığı, aksine yapılan fonksiyonel incelemede, 8. haftadan sonra ilaç kullanılmayan kontrol (izotonik) grubuna kıyasla fonksiyonel olarak daha fazla rejenere olduğu (muhtemelen epinöral skar dokusunun daha az oluşuna bağlı), yine 8. haftadan sonra myelinizasyon sürecinin kontrol (izotonik) grubuna göre daha hızlı geliştiği saptandı.

2. Makroskopik değerlendirmede, 5-FU'in yara iyileşmesine olumsuz bir etkisinin olmadığı, ektranöral skar dokusu ve yapışıklıkları azalttığı, diseksiyonu ve sinir ayırılabilirliğini kolaylaştırdığı görüldü.

3. Histolojik değerlendirmede, epinöral skar oluşumunun 5-FU grubunda, ilaç kullanılmayan kontrol (izotonik) grubuna oranla daha az olduğu saptandı.

Gerçekleştirdiğimiz bu deneysel çalışma sonucunda, periferik sinir cerrahisi sırasında yüzeysel olarak bir kez uygulanan 5-FU'in, epinöral ve ektranöral skar dokusunu ve yapışıklıkları azalttığı saptandı. Ayrıca yara iyileşmesi ve sinir rejenerasyonunu olumsuz etkilemediği için, nispeten ucuz, kolay bulunabilir ve bir kez uygulanımla uzun süreli etki gösterdiği için, klinik olarak farklı dokularda benzer endikasyonlarla başarıyla kullanılmış olduğu için, periferik sinir cerrahisinde, epinöral ve ektranöral skar dokusu ve yapışıklıkların önlenmesinde 5-FU'in klinik uygulanıma uygun bir ajan olduğu kanısı edinildi .

KAYNAKLAR

1. Abercrombie, M., and M. Johnson. 1946. Collagen content of rabbit sciatic nerve during Wallerian degeneration. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 9: 113-118.
2. Abercrombie, M., and M. Johnson. 1947. The effect of reinnervation on collagen formation in degenerating sciatic nerves of rabbits. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 10: 89-92.
3. Sunderland, S. 1968. ²Nerves and Nerve injuries² Williams & Wilkins. Baltimore
4. Millesi, H. Healing of nerves. *Clin. Plast. Surg.* 4: 459, 1977
5. Mackinnon, S. E., and Dellon, A. L. Nerve Injury and Regeneration. In S. E. Mackinnon and A. L. Dellon (Eds.), *Surgery of the Peripheral nerve.* New York: Thieme Medical Publishers, 1988
6. Hunter JH: Recurrent carpal tunnel syndrome, epineural fibrous fixation, and traction neuropathy. *Hand Clin* 7: 491-504, 1991
7. McLellan DL, Swash M: Longitudinal sliding of the median nerve during movements of the upper limb. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 39: 566-570, 1976
8. Wilgis EFS, Murphy R: The significance of longitudinal excursion in peripheral nerves. *Hand Clin N Am* 2: 761-766, 1986
9. Lundborg G: *Nerve Injury and Repair.* Edinburgh, Churchill Livingstone, 1988
10. Heidelberger C: Fluorinated pyrimidines and their nucleosides. In *Handbook of Experimental Pharmacology*, Vol 38, Sartorelli AC and Johns DG, editors. New York, Springer-Verlag, , part 2, pp. 193-231. 1975
11. Evans RM, Laskin JD, and Hakala MT: Assesment of growth-limiting events caused by 5-fluorouracil in mouse cells and in human cells. *Cancer Res* 40: 4113, 1980
12. Ardalan B and Glazer R: An update on the biochemistry of 5-fluorouracil. *Cancer Treat Rev* 8: 157, 1981
13. Graham-Smith, D.G. and Aronson, J.K. : The principles of cancer chemotherapy. In the *Oxford Textbook of Clinical Pharmacology and Drug Therapy.* Pp.591-3, 1989
14. Khaw, P.T., Ward, S., Porter, A., Grierson, I., Hitchings, R.A. and Rice, N.S. The long-term effects of 5-fluorouracil and sodium butyrate on human Tenon's fibroblasts. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 33: 2043-52, 1992
15. Khaw, P.T., Sherwood, M. B., MacKay, S.L., Rossi, M.J. and Schultz, G. Five minute treatments with fluorouracil, floxuridine and mitomycin have long-term effects on human Tenon's capsule fibroblasts. *Arch. Ophthalmol.* 110 : 1150-4, 1992
16. Khaw, P. T., Doyle, J.W., Sherwood, M.B., Grierson, I., Schultz, G. and McGorray, S. Prolonged localised effects from 5-minute exposures to fluorouracil and mitomycin C. *Arch. Ophthalmol.* 111: 263-7, 1993

17. Occeleston, N.L., Daniels, J.T., Tarnuzzer, R.W., et al. Single exposures to antiproliferatives. Long-term effects on ocular fibroblasts wound-healing behaviour. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 38: 1998, 1997
18. Yamamoto, T., Varani, J., Soong, H.K. and Lichter, P.R. Effect of 5-fluorouracil and mitomycin-c on cultured rabbit subconjunctival fibroblasts. *Ophthalmology* 97: 1204, 1990.
19. Heath, T.D., Brown, C.S. and Stern, W.H. Ocular cicatricial disease: Drug effects in vitro on cell proliferation, contraction and viability. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 31: 1245, 1990
20. Lanigan, L., Sturmer, J., Baez, K., Hitchings, R. and Khaw, P. Single intraoperative application of 5-flourouracil during filtration surgery: Early results. *Br. J. Ophthalmol.* 78: 33, 1994
21. Akali, A., Khan, U., Khaw, P.T., McGrauther, D.A. Decrease in adhesion formation by a single application of 5-Fluorouracil after flexor tendon injury. *Plast. Reconstr. Surg.* 153: 151-158; 1999
22. Bain, J., Mackinnon, S., and Hunter, D.A. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast. Reconstr. Surg.* 83: 129, 1989.
23. Hare, G.M.T., Evans, P.J., Mackinnon, S.E., et.al. Walking track analysis: A long term assesment of peripheral nerve recovery. *Plast. Reconstr. Surg.* 89: 251, 1992.
24. Brown, C.J., Mackinnon, S.E., Evans, P.J., Self evaluation of walking track measurement using a sciatic function index. *Microsurgery* 10: 226, 1989. 24
25. Brown, C.J., Evans, P.J., Mackinnon, S.E., İnter and intraobserver reliability of walking track analysis used to assess sciatic nerve function in rats. *Microsurgery* 12: 76, 1991. 25
26. Dellon, A.L., and Mackinnon, S.E. Sciatic nerve regeneration in the rat. Validity of walking track assesment in the presence of chronic contractures. *Microsurgery* 10: 220, 1989. 26
27. Hare, G.M.T., Evans, P.J., Mackinnon, S.E., Walking track analysis: Utilization of individual footprint parameters. *Ann. Plast. Surg.* 30: 147, 1993.
28. Bain, J.R., Mackinnon, S.E., Hunter, R.T., Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *83(1): 129-38, 1989*
29. Görgülü, A., Imer, M., Şimşek, O., Sencer, A., Kutlu, K., Çobanoğlu, S. The effect of aprotinin on extraneural scarring in peripheral nerve surgery: An experimental study. *Acta Neurochir.* 140(12): 1303-7, 1998.
30. Petersen, J., Russel, L., Andrus, K., Mackinnon, M., Silver, J. Reduction of extraneural scarring by ADCON-T/N after surgical intervention. *Neurosurgery*, 38(5): 976-83, 1996
31. Pleasure, D., Bora, W.F., Lane, J., Prockop, D.: Regeneration after nerve transection: effect of inhibition of collagen synthesis. *Exp. Neurol.* 45, 72-78, 1974.
32. NACHEMSON, A.K., LUNDBORG, G., MYRHAGE, R., and RANK, F. Nerve regeneration and pharmacological suppression of scar reaction at the suture site: An experimental study on the effect of estrogen-progesterone, methylprednisolone-acetate and cis-hydroxyproline in rat sciatic nerve. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.* 19: 255, 1985.

33. Nath,R.K., Kwon, B., Mackinnon, S.E., Jensen, J.N., Reznik, S.:Antibody to transforming growth Factor beta reduces collagen production in injured peripheral nerve. 102(4):1100-6; 1998.
34. Maybaum, J., Ullman, B., Mandel, H.G., Day J.L., Sadee W. Regulation of RNA- and DNA-directed actions of 5-fluoropyrimidines in mouse T-lymphoma (s-49) cells. Cancer Res. 40: 4209-4215, 1980.
35. Ophir, A. Effects of 5-fluorouracil on proliferating fibroblasts in vivo. Exp. Eye. Res. 53, 799-803, 1991.
36. Blumenkranz, M.S., Claflin, A., Hajek, A.S. Selection of therapeutic agents for intra-ocular proliferative disease: cell culture evaluation. Arch. Ophthalmol. 102: 598-604, 1984.
37. Blumenkranz, M.S., Hernandez, E., Ophir, A., Norton E.W.D. 5-fluorouracil: new applications in complicated retinal detachment for an established antimetabolite. Ophthalmol. 91, 122-30, 1984.