

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ DİŞ ve ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**ANKAFERD BLOOD STOPPER ile DÜŞÜK ENERJİ SEVİYELİ
LAZER' İN SİNİR DOKUSU İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
HİSTOPATOLOJİK ve BİYOKİMYASAL OLARAK
KARŞILAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Dt. Başak KURDOĞLU

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. İhsan Levent ARAL

ANKARA
Mart 2013

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ DİŞ ve ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**ANKAFERD BLOOD STOPPER ile DÜŞÜK ENERJİ SEVİYELİ
LAZER' İN SİNİR DOKUSU İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
HİSTOPATOLOJİK ve BİYOKİMYASAL OLARAK
KARŞILAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Dt. Başak KURDOĞLU

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. İhsan Levent ARAL

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 03/2011-32 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
Mart 2013

KABUL ve ONAY

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Ana Bilim Dalı Doktora Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 05/03/2013



İmza
Prof. Dr. İnci Rana KARACA
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı

İmza

Prof. Dr. İhsan Levent ARAL
Gazi Üniversitesi



İmza

Prof. Dr. Aysel ARICIOĞLU
Gazi Üniversitesi



İmza

Prof. Dr. Mustafa ÖZTÜRK
Gazi Üniversitesi



İmza

Prof. Dr. Hakan Alpay KARASU
Ankara Üniversitesi



İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	I
İÇİNDEKİLER	II
ŞEKİLLER	IV
RESİMLER	V
GRAFİKLER	VIII
TABLolar	IX
SEMBOLLER ve KISALTMALAR	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Sinir Dokusu	3
2.2. Periferik Sinir Yaralanması	15
2.3. Periferik Sinir Yaralanmasının Sınıflaması	23
2.5. Periferik Sinir İyileşmesi	27
2.6. Oral ve Maksillofasiyal Bölgede Periferik Sinir Yaralanmaları	34
2.7. Lazerler	58
2.8. Ankaferd Blood Stopper (Ankaferd Kanama Durdurucu)	79
3. GEREÇ ve YÖNTEM	83
3.1. Deneysel Çalışma Grupları	83
3.2. Kullanılan Malzemeler	85
3.3. Cerrahi Protokol	88
3.4. Histopatolojik Çalışmalar	97
3.5. Biyokimyasal Analiz	98
3.6. İstatistiksel Değerlendirme	100
4. BULGULAR	101
4.1. Histopatolojik Bulgular	101
4.2. Biyokimyasal Analiz	121
5. TARTIŞMA	131
6. SONUÇ	160
7. ÖZET	163
8. SUMMARY	165
9. KAYNAKLAR	167

10. EKLER	215
10.1. Etik Kurul Onayı	215
10.2. Teşekkür	216
11. ÖZGEÇMİŞ	217

ŞEKİLLER

Şekil 1: Transkripsiyon faktörleri tarafından denetlenen Schwann hücre farklılaşması ve matürleşmesi.	6
Şekil 2: Periferik sinir anatomisi. Miyelinli ve miyelinsiz sinir liflerinin şematize edilmesi.	8
Şekil 3: Periferik sinirin vasküler desteği.	9
Şekil 4: Periferik sinirin histolojik yapısı.	12
Şekil 5: Duyu sinirlerinin çeşitli sonlanma tipleri.	15
Şekil 6: Yaralanma sonrası dejenerasyon ve rejenerasyon. (A) Normal nöron ve sinir lifi. (B) Wallerian dejenerasyonu. Aksotomi sonrası distal bölgede ve miyelin kılıfta parçalanma. (C) Distalde Schwann hücrelerinin Büngner bandı oluşturmak üzere sıralanması. Aksonal filizlenmenin Schwann hücrelerinde saklı nörotropik faktörlerle aktivasyonu ile gelişmesi. (D) Hedef organla aksonal birleşme, sinir lifi matürasyonu ve remiyelinizasyonu.	21
Şekil 7: Büngner bandı oluşumu ve bazal laminaya komşu bölgede dejenerasyon.	22
Şekil 8: Hücrel ve moleküler tedavi örnekleri ve uygulama şekilleri.	49
Şekil 9: Üçüncü molar diş çekimi sonrası inferior alveolar sinir yaralanmasının tedavisini gösteren algoritma.	54
Şekil 10: Üçüncü molar diş çekimi sonrası lingual sinir yaralanmasının tedavisini gösteren algoritma.	57
Şekil 11: Uyarılmış emisyon gösteren aktif bir atomun, 2 foton açığa çıkararak kararlı hale geçebilirliği.	61
Şekil 12: Şematik olarak lazer cihazı.	62
Şekil 13: Elektromanyetik Spektrum.	65
Şekil 14: Lazer-doku etkileşimi.	67
Şekil 15: Düşük enerji seviyeli lazerlerin mitokondriye etkileri.	69
Şekil 16: ABS' nin içeriğini oluşturan bitkiler.	79
Şekil 17: Rat siyatik sinirinin şematik görünümü. Hata!	Yer
tanımlanmamış.	işareti

Şekil 18: Western Blot analiziyle GAP-43 protein bandı X-ray görüntülemesi 130

RESİMLER

Resim 1: Inferior alveoler sinir hasarında ekstraoral DESL uygulama noktaları. 76

Resim 2: Inferior alveoler sinir hasarında intra oral DESL uygulama noktaları. 76

Resim 3: Hastayı ve hekimi korumak için gözlükler 78

Resim 4: Deney hayvanlarının 6'şarlı gruplar halinde kafeslere ayrılması.84

Resim 5: Ankaferd Blood Stopper (Ankaferd Kanama Durdurucu) 10 ml sprey formu. 86

Resim 6: BTL 2000 Ga-Al-As Diyot düşük enerji seviyeli lazer cihazı, ağız içi, ağız dışı probu ve koruyucu gözlük. 87

Resim 7: Siyatik sinirde ezilme yaralanması oluşturmak için kullanılan portegü. (yaklaşık 50-55 newton) 87

Resim 8: Ön ve arka bacaklarından sabitlenen ratların hazırlanması. 89

Resim 9: Steril yeşil örtü ve antiseptik solüsyonla bölgenin hazırlanması.90

Resim 10: Cilt ve fasya kesisiyle kaslara ulaşım. 90

Resim 11: Kasların ekarte edilmesiyle siyatik sinire ulaşım. 91

Resim 12: Siyatik sinirin diseksiyondan sonra, portegü yardımıyla ezilerek yaralanma oluşturulması.. 91

Resim 13: Ezilmiş siyatik sinirin makroskopik görüntüsü. 92

Resim 14: Dokuların sırasıyla rezorbe olabilen suture ile kapatılması. 92

Resim 15: Cilt insizyonunun basit suturelarla kapatılması. 93

Resim 16: İşlem sonunda cildin tekrar silinmesi. 93

Resim 17: Yaralanma oluşturulduktan sonra siyatik sinire direkt ABS uygulanması. 94

Resim 18: Cildin kapatılmasının hemen ardından 4 ayrı noktadan DESL uygulanması. 95

Resim 19: İşlemi takiben 4 gün boyunca 3 farklı noktadan DESL uygulaması. 95

Resim 20: Ötenazi sırasında siyatik sinirin tekrar ortaya çıkarılması.	96
Resim 21: Siyatik sinirin sakrumun altında siyatik çentikten, trifurkasyon bölgesinin 10 mm altına kadar eksize edilmiş görüntüsü.	96
Resim 22: Çıkarılan örneklerin fiksasyon amacıyla gruplara göre %10'luk formaldehite konulması.	97
Resim 23: Eppendorf tüpüne ve formaldehite konulan örnekler.	98
Resim 24: Kontrol 3. hafta grubunda, perinöryumda (➡), epinöryumda (➤) gözlenen yaygın ödem ve kapillerler (▲). (Hematoksilen-Eozin x100)	101
Resim 25: Kontrol 3. hafta grubunda, sinir liflerinde yer yer birleşme (⇨), endonöryumda ödem (⇨) ve kapillerlerin (▲) izlenmesi. (H-Ex400)	102
Resim 26: Kontrol 5. hafta grubunda; perinöryumda (➡) gözlenen ondülasyon. (H-Ex400)	103
Resim 27: Kontrol 5. hafta grubunda perinöryum (➡) ve aksonların (★) izlenmesi. (H-Ex400)	103
Resim 28: Kontrol 5 hafta grubunda; endonöryumda ödem (⇨), aksonlar (★) ve kapillerlerin (▲) gözlenmesi. (H-Ex400)	104
Resim 29: Kontrol 12. hafta grubunda; perinöryum (➡) ve küçük lif gruplarının (➡) izlenmesi. (H-Ex100)	105
Resim 30: Kontrol 12. hafta grubunda endonöryum (⇨), Schwann hücreleri (☞) ve kapillerlerin (▲) gözlenmesi. (H-Ex400)	105
Resim 31: DESL uygulanan 3. hafta grubunda; küçük büyütmeli incelemelerde perinöryum (➡), epinöryum (➤) ve kapillerlerin (▲) izlenmesi. (H-Ex100)	106
Resim 32: DESL 3. hafta grubunda sinir liflerinde yer yer birleşme (⇨) ve aksonların (★) gözlenmesi. (H-Ex400)	107
Resim 33: DESL 5. hafta grubunda perinöryum (➡), epinöryum (➤) ve kapillerlerin (▲) izlenmesi. (H-Ex100)	108
Resim 34: DESL 5. hafta grubunda gözlenen aksonlar (★) ve kapillerler (▲). (H-Ex400)	108
Resim 35: DESL 12. hafta grubunda izlenen perinöryum (➡), epinöryum (➤) ve kapillerler (▲). (H-Ex100)	109
Resim 36: DESL 12. hafta grubunda gözlenen aksonlar (★) ve kapillerler (▲). (H-Ex400)	110

Resim 37: ABS 3. hafta grubunda izlenen perinöryum (➡), epinöryum (➤) ve kapillerler (▲). (H-Ex100)	111
Resim 38: ABS 3. hafta grubunda gözlenen aksonlar (★) ve Schwann hücrelerinde hiperplazi (☞). (H-Ex400)	111
Resim 39: ABS 5. hafta grubunda izlenen perinöryum (➡), epinöryum (➤) ve kapillerler (▲). (H-Ex100)	112
Resim 40: ABS 5. hafta grubunda; aksonlar (★) ve mast hücrelerinin (m) gözlenmesi. (H-Ex400)	113
Resim 41: ABS 12. hafta grubunda izlenen perinöryumda (➡), epinöryumda ödem (➤) ve artmış kapillerler (▲). (H-Ex100)	114
Resim 42: ABS 12. hafta grubunda izlenen endonöryumda fibrozis (❖) ve dejenerasyon (➡). (H-Ex400)	114
Resim 43: ABS 12. hafta grubunda dikkati çeken aksonlar (★) ve küçük sinir teli grupları (➡). (H-Ex400).	115
Resim 44: ABS ve DESL 3. hafta grubunda izlenen perinöryum (➡), epinöryum (➤) ve kapillerler (▲). (H-Ex100).	116
Resim 45: ABS ve DESL 3. hafta grubunda görülen aksonlar (★) ve eozinofiller (e). (H-Ex400)	116
Resim 46: ABS ve DESL 5. hafta grubunda perinöryumda ödem (➡) ve epinöryumun (➤) izlenmesi. (H-Ex100)	117
Resim 47: ABS ve DESL uygulanan 5 hafta grubunda; büyük büyütme incelemelerde gözlenen perinöryum (➡) ve aksonlar (★). (H-Ex400)	118
Resim 48: ABS ve DESL 5. hafta grubunda görülen kapillerler (▲) ve yakınlarında yerleşik mast hücreleri (m). (H-Ex400)	118
Resim 49: ABS ve DESL 12. hafta grubunda; perinöryum (➡), epinöryum (➤) ve kapillerlerin (▲) izlenmesi. (H-Ex100)	119
Resim 50: ABS ve DESL 12. hafta grubunda gözlenen aksonlar (★) ve kapillerler (▲). (H-Ex400)	120
Resim 51: ABS ve DESL 12. hafta grubunda izlenen fibrotik değişiklikler (❖). (H-Ex400)	120

GRAFİKLER

- Grafik 1:** GAP-43 protein ifadenmesinin gruplara göre ortalama dağılımı. 122
- Grafik 2:** 3. haftada sakrifiye edilen ratların GAP-43 protein ifadenmesinin gruplara göre ortalama değışimi. 123
- Grafik 3:** 5. haftada sakrifiye edilen ratların GAP-43 protein ifadenmesinin gruplara göre ortalama değışimi. 124
- Grafik 4:** 12. haftada sakrifiye edilen ratların GAP-43 protein ifadenmesinin gruplara göre ortalama değışimi. 125
- Grafik 5:** Kontrol grubunda GAP-43 proteininin haftalara göre ortalama değışimi. 126
- Grafik 6:** ABS grubunda GAP-43 proteininin haftalara göre ortalama değışimi. 127
- Grafik 7:** DESL grubunda GAP-43 proteininin haftalara göre ortalama dağılımı. 128
- Grafik 8:** ABS+DESL grubunda GAP-43 proteininin haftalara göre ortalama dağılımı. 129

TABLÖLAR

Tablo 1: Seddon ve Sunderland Sınıflaması.	27
Tablo 2: Gruplar (n=72)	85
Tablo 3: Western Blot ile GAP-43 protein analizi, grupların normalizasyon değerleri.	121

SEMBOLLER ve KISALTMALAR

ABS	Ankaferd Blood Stopper
TME	Temporomandibuler Eklem
ACh	Asetilkolin
Erk1/2	Ekstraselüler Sinyal Düzenleyici Kinaz 1 - 2
JNK	c-Jun N-terminal Kinaz
ATF3	Aktive Eden Transkripsiyon Faktörü 3
STAT3	Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatör 3
mV	milivolt
NCAM-L1	Nöral Hücre Adezyon Molekülü
GAP-43	Growth Associated Protein 43 (Büyüme ile ilişkili Protein)
Dhh	Desert Hedgehog Molekülü
NGF	Sinir Büyüme Faktörü
IL-10	İnterlökin-10
LIF	Lösemi İnhibitör Faktör
IL-6	İnterlökin-6
CNTF	Siliar Nörotropik Faktör
NGL1	Nörogulin
kDa	kilo dalton
c-Jun	c-Jun Transkripsiyon Proteini
JunD	JunD Transkripsiyon Proteini
P311	P311 Transkripsiyon Proteini
Sox11	Sox11 Transkripsiyon Proteini
c-EBPb	Genişletici Bağlanma Proteini
BDNF	Beyinden Derive (türetilen) Nörotropik Faktör
NT-3	Nörotropin 3
NT-4	Nörotropin 4
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü
Ca⁺²	Kalsiyum
µM	mikroMOLAR
IAS	İnferior Alveolar Sinir

LS	Lingual Sinir
SNAP	Ortodromik Duyusal Sinir Aksiyon Potansiyeli
BR	Kırpma Refleksi
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
COX-2	Siklooksijenaz 2
ACTH	Adrenokortikotropik Hormon
MSH	Melanosit Stimüle Edici Hormon
NGC	Sinir Kondüitleri
VEGF	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü
Sc	Schwann hücresi
DESL	Düşük Enerji Seviyeli Lazer
LLLT	Low Level Laser Therapy
UV	Ultraviyole
mW	miliWatt
Ga-Al-As	Galyum-Alüminyum-Arsenid Diyot Lazer
Ga-As	Galyum-Arsenid Diyot Lazer
FDA	ABD Gıda ve İlaç İdaresi
He-Ne	Helyum-Neon Lazer
CO₂	Karbondioksit Lazer
nm	nanometre
Er:YAG	Erbiyum:Yttriyum Alüminyum Garnet Lazer
Nd:YAG	Neodymiyum:Yttrium Alüminyum Garnet Lazer
LED	Light Emitting Diode Lazer (Işık Saçan Diyot)
In-Ga-Al-P	İndiyum-Galyum-Alüminyum-Fosfat Lazer
mJ	milijul
J	jul
ATP	Adenozintrifosfat
° C	Santigrat Derece
Ho:YAG	Holyum: Yttriyum Alüminyum Garnet Lazer
ALP	Alkalen Fosfataz
BSSRO	Bilateral Sagittal Split Ramus Osteotomisi
Hz	Hertz
cc	santimetreküp

L3-L6, L4-L5	Lumbar Vertebra 3-6,4-5
J/mm²	Joule/milimetrekare
mg/kg	miligram/kilogram
HCl	Hidroklorür
H-E	Hematoksilen-Eozin
Tris-HCl	Tris Hidroklorid Tampon
NP-40	Nonil Fenoksipolietoksiletanol
EDTA	Etilendiamintetraasetik Asit
SDS	Sodyum Dedosil Sülfat
APS	Amonyum Perssülfat
TEMED	Tetrametiletildiamid
mAmp	miliamp
PVDF	Poliviniliden Diflorür
TBST	Tris-Tween Tamponu
HRP	Yabanciturpu Peroksidazı (Horseradish Peroksidaz)
ECL	Enhanced Chemiluminescence
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences (Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi)
LSD	Fisher'ın En Küçük Önemli Fark Testi
SNK	Student Newman Keuls
TENS	Transelektriksel Sinir Stimülasyonu
CGRP	Kalsitonin Gen-İlişkili Peptid
VTE	Vitamin E Asetat
MTE	Metilkobalamin
IGF-1	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1
BRX-220	Bimoclomol (Biorex molekülü)
PRP	Trombosit Zengin Plazma
t-PA	Doku Plazminojen Aktivatörü
ES	Elektrik Stimülasyonu
TNF-α	Tümör Nekroz Faktör-alfa
cAP	Konsantrasyon Bağımlı Potansiyel Farkı
F1	GAP-43

pp46	GAP-43
pp57	GAP-43
nöromodülin	GAP-43
B-50	GAP-43
mRNA	mesajcıRNA
nMSCs	Sinir Doku Kaynaklı Mezenşimal Kök Hücre
DRG	Dorsal Kök Ganglionu
SFI	Siyatik Fonksiyonel İndeks
MHz	Megahertz
λ	dalga boyu

1. GİRİŞ

Yüz ve özellikle ağız ve çevresi dokular günlük hayattaki önemi nedeniyle periferik reseptörlerin en yoğun olarak bulunduğu bölgelerdir. Bu durum vücudun diğer bölgelerine göre oral ve maksillofasiyal bölgedeki nörolojik rahatsızlıkların tolere edilebilmesini daha güç bir duruma getirmektedir.¹

Oral ve maksillofasiyal bölgede cerrahi işlemler sırasında veya künt ve delici travma gibi çeşitli nedenlerle sinir sistemini de etkileyebilecek değişik derecede hasarlar oluşabilmektedir.² Gömülü üçüncü molar diş çekimi operasyonları, dentoalveolar cerrahi, lokal anestezi madde enjeksiyonları, implant uygulamaları, endodontik tedavi, TME cerrahisi ve artroskopisi, benign veya malign tümör operasyonları, ortognatik cerrahi gibi uygulamalarda meydana gelen trigeminal ve fasial sinir yaralanmaları çoğunlukla iyatrojeniktir, ancak bazı durumlarda da anatomik varyasyonlar nedeniyle kaçınılmaz olmaktadır. Sinir yaralanmaları maksillofasiyal travmanın direkt bir sonucu olabildiği gibi cerrahi müdahale sırasında da meydana gelebilir.³ Tedavisi yapılmadığı takdirde nörojenik ağrılar veya nöroma gibi oluşumlar meydana gelmekte, bölgede hissizlik ve fonksiyon kaybı kalıcı hale gelebilmektedir.^{3,4}

Periferik sinir patolojisinin doğası gereği yaralanma geçirmiş bireyler çok çeşitli iyileşme şekilleri gösterirler ve özellikle de şiddetli bir yaralanmanın ardından önceki fonksiyonel duruma geri dönüş oldukça zordur. Bu gibi durumlarda uygun tedavi yaklaşımları ile uzun dönemli disfonksiyonlar azaltılabilir.⁵

Sinirde meydana gelen dejenerasyonlar yaralanmanın şiddetine göre ezilme, sıkışma veya kopma şeklinde olabilirler.⁶ Sinirde oluşan hasarların tedavisinde; yaralanmanın şekline göre farmakolojik ve cerrahi teknikler kullanılmaktadır.² Sinir mikrocerrahisi (sütüre etme, siyanoakrilat vb. materyallerle anostomoz), steroid, B, C ve E vitaminleri, düşük enerji seviyeli lazer tedavisi veya lazerle anostomoz tedavileri günümüzde uygulanan tedavi şekilleridir.⁷⁻¹⁰

Oral ve maksillofasiyal bölgede anatomik zorluklara bağlı olarak kopan siniri dikmek genellikle zordur. Bu nedenle günümüzde invaziv olmayan yöntemler hem hekimler hem de hastalar tarafından daha çok tercih edilmektedir.¹¹

Bu çalışmada amacımız invaziv olmayan iki ajanı karşılaştırmaktır. Bitkisel bir ajan olan Ankaferd Blood Stopper ile Düşük enerji seviyeli lazerin, sinir iyileşmesi üzerine etkilerini hem histopatolojik hem de biyokimyasal olarak değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sinir Dokusu

Sinir dokusu, organizmanın iç ve dış çevresinin duyuşal değişimlerinde tepki oluşumunu belirleyecek olan birimleri içeren temel doku sistemidir.¹² İnsanda ve diğer omurgalıların tümünde bulunan sinir sistemi morfoloji ve fonksiyonlar açısından farklılıklar gösteren iyi gelişmiş bir beyin ve omuriliği kapsayan merkezi sinir sistemi ile merkezle alıcılar ve diğer organlar arasındaki bağlantıyı sağlayan periferik sinir sistemi olarak ele alınmaktadır.^{5,12,13} Her iki sistemin de temel hücresel elemanları nöral ektodermin farklı bölgelerinden gelişen nöronlar ve glial hücrelerdir.¹² İnsan ve diğer omurgalıların sinir sistemleri arasındaki fark, beyin kabuğunun (korteks) gelişme ve özelleşme düzeyleri arasındaki farklılıklardan kaynaklanır.^{12,13}

Periferik sinir sistemi motor, duyuşal, sempatik, parasempatik nöronları ve çoğunluğu bunların karışımını içeren sinirlerden oluşmaktadır. Periferik mesaj götüren efferent yollar, iskelet kaslarını innerve eden somatik motor sinirler ve düz kas, kardiyak kaslar ve salgı bezlerinin aktivitesini sağlayan sempatik ve parasempatik olarak ayrılan otonom sinir sistemidir. Periferden merkeze duyuşaları götüren afferent yollar ise dokunma, pozisyon, titreşim ve ağrı gibi duyuşaları iletmektedir.⁵

2.1.1. Sinir Dokusunun Histogenezi

Sinir sistemi veya sinir dokusu embriyonik germinatif tabakalardan biri olan ektodermin, nöral ektoderm olarak farklılaşan bölümünden gelişir. Nöral ektoderm tek tabakalı silindirik epitel

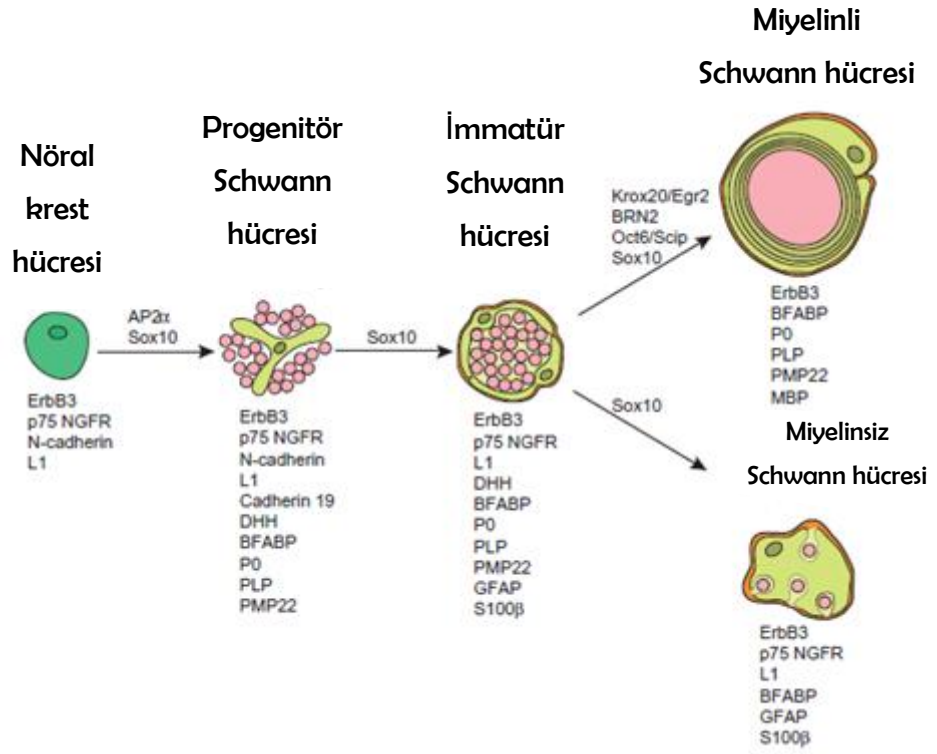
halindedir.^{12,13} Nöral plak duvarı mitotik bölünmelerle kalınlaşarak çok sıralı bir epitel haline gelir. Plak giderek derinleşip orta kısmında nöral girinti denilen içe doğru bir çökme alanı meydana gelir ve mitoz bölünmelerle ortaya içi boş boruya benzer bir yapı çıkar. Nöral tüp olarak gelişen bu yapı, organizmanın sinir sisteminin tümünü oluşturur.^{12,13} Nöral tüpün ependim hücre tabakasındaki ektoderm hücrelerinin çoğalması ve farklılaşmasıyla primitif sinir hücreleri olan nöroblastlar ve nöroepitel hücrelerinden gelişen primitif destek hücreleri olan spongioblastlar (glioblast) olmak üzere iki çeşit hücre grubu oluşur.^{12,13} Nöronlar tüm uzantılarıyla birlikte nöroblastlardan, glia hücreleri de glioblastlardan farklılaşırlar.^{12,14}

2.1.2. Sinir Sisteminin Sitolojik-Histolojik Özellikleri

Merkezi ve periferik sinir sistemini oluşturan yapılardaki temel doku elemanları sinir hücreleri (nöronlar), destek hücreleri (glia hücreleri) ile çok az gevşek bağ dokusu ve kan dokusudur.^{5,12-14} Sinir dokunun genetik, morfolojik ve biyolojik birimleri olan nöronlar çevrelerindeki fiziksel ve kimyasal değişiklikleri algılayıp bunlara tepki göstermek üzere özelleşmiştir.^{5,12,13,15,16} Sayıları nöronlardan 10 kat daha fazla olan nöroglia hücreleri ise bağ dokusu gibi işlev görür ve sinir dokusunun elemanlarını birbirine bağlar, etraflarını çevirip boşlukları doldurur, fagositozu yürütür ve nöronlarla kan damarı arasında köprü görevi yaparak beslenmelerini sağlarlar.^{5,13}

Nöronlar içi sitoplazmayla dolu olan bir gövde (soma=perikaryon) ile çoğu kez birden fazla uzantılara sahiptir.^{5,12,13,15,17-19} Bunlardan kısa uzantılara dendrit, tek bir uzun uzantıya da akson denir.^{5,13} Periferik sinirlerin temel alt birimi aksondur.^{14,20,21} Sinir hücreleri binlerce

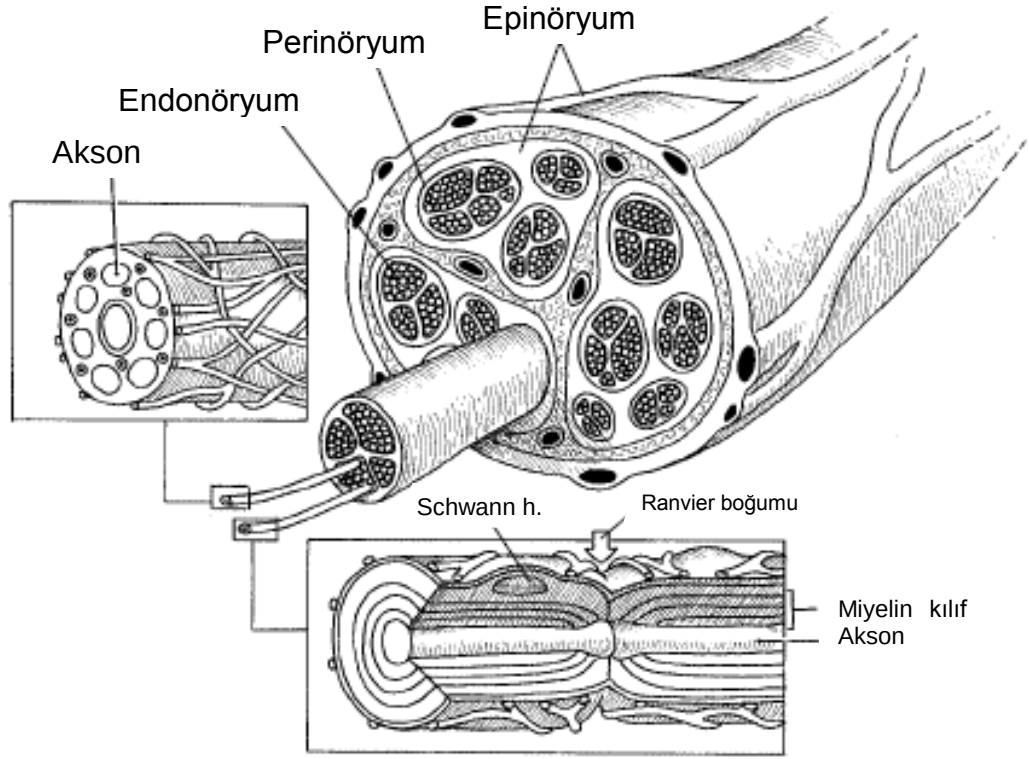
sinir hücresi kadar mesafeye uzanan aksonlara sahip olabilir.¹⁵⁻¹⁷ Dendrit, sinirin kaydedici kısmı olup, uyarıyı alan ve hücre gövdesine getiren yüzüdür. Akson ise efektör (götürücü) fonksiyona sahiptir.^{5,15,17} Her dendrit birincil, ikincil, üçüncül vb. dallara ayrılarak değişik şekiller oluşturur. Birçok dendrit yüzeyi sayısız iğne şeklinde çıkıntılarla kaplıdır. Bu çıkıntılar sinaptik iletişim bölgeleri olarak görev yapmaktadırlar. Dendritler farklı kalınlıkta olsalar da dallanarak kollateral denilen yan kolları oluştururlar. Dendritlerde küçük Nissl cisimcikleri, serbest ribozomlar, mitokondriler, ayrıca uzun, düz ve birbirine paralel duran nörotübül ve nörofilamentler bulunur.^{5,12-15} Her nöronda birkaç dendrit bulunurken yalnız tek bir akson bulunur. Aksonun perikaryondan çıktığı yere akson tepciği denir. Aksonlar sinir üzerinde oluşan bir aksiyon potansiyelinin yanıtını taşırlar.^{13,15,17} Aynı nöronun dendritlerinden genellikle daha ince ve çok daha uzun olur. Akson sitoplazmasına aksoplazma denir. Aksoplazma boyunca proteinler tarafından düzenlenen düz endoplazmik retikulum tübülsleri, uzun mitokondriler, nörotübüller, mikrotübüller, mikrofilamentler ve nörofilament olarak sınıflandırılan hücre iskeletini oluştururlar ve nörotransmitterler, proteinler ve organeller bu sistemler boyunca taşınırlar.^{5,13,14,16,20} Hücre zarı aksoplazmayı sarar ve buna aksolemma denir. Bu aksoplazmik birimi saran ise Schwann hücreleridir.^{5,15,20,22,23} Embriyolojik olarak nöral krestten derive olan Schwann hücreleri, periferik aksonların gelişmesi, migre olması ve hedef dokuya ulaşmasından sorumludurlar. Schwann hücresi bir veya daha fazla aksoplazmik birimi çevreler, akson büyümesini ve devamlılığına destek olur ve birbirinden ayırır.^{19,20,23,24} Çoğu akson miyelin denilen bir kılıfla örtülüdür. Miyelin kılıfın bulunup bulunmamasının nöronun fizyolojik özellikleri üzerinde çok önemli etkisi vardır.^{13,19,23,25,26}



Şekil 1: Transkripsiyon faktörleri tarafından denetlenen Schwann hücre farklılaşması ve matürleşmesi.²⁴

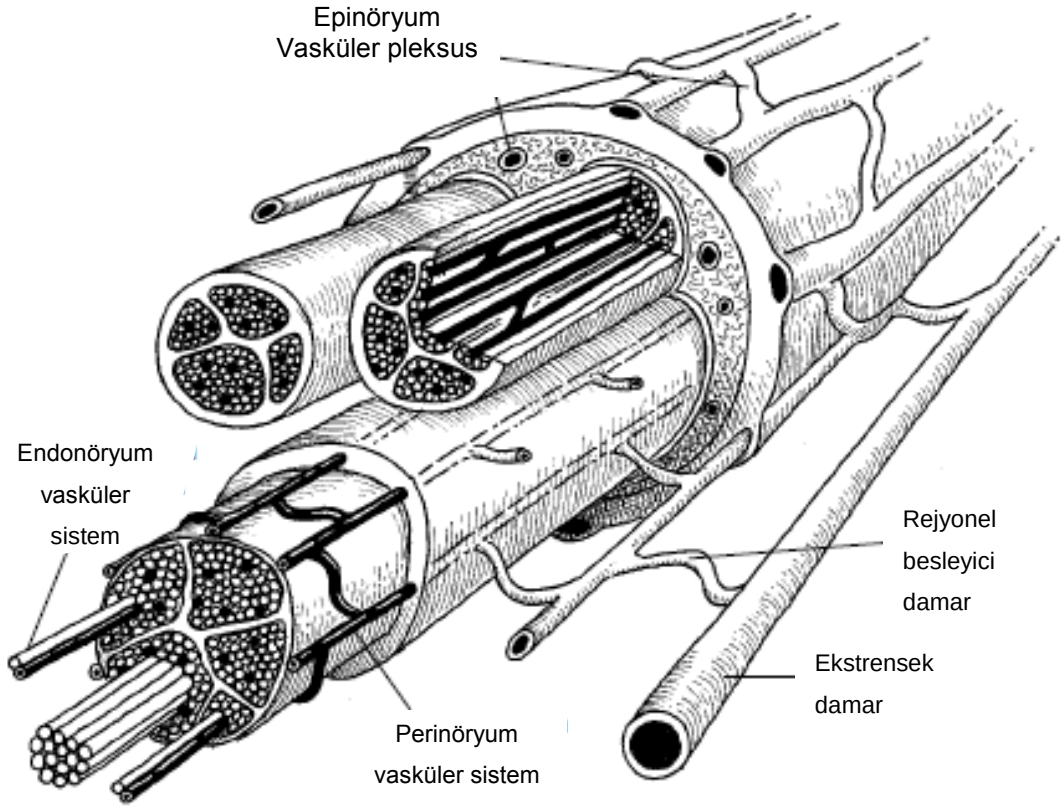
Periferel sinirler miyelinli motor ve duyusal aksonları, ayrıca miyelinsiz duyu ve otonomik aksonları içerirler.^{14,27} Schwann hücresinin plazma zarı aksoplazmanın etrafında ince tabakalardan oluşan bir sarmal oluşturur. Miyelin kılıf Shwann hücre gövdesinin plazma zarıyla devam eden çift kat lipoprotein sarmalından oluşur.¹⁵ Her bir Shwann hücresi ve bağlı olduğu miyelin örtü histolojik olarak ayrı belirgin bir bölgedir. Bu bölge internodal kısım olarak bilinir. İki internodal bölge arasında yaklaşık 1 mm uzaklıkta boşluklar (gap) görünür ve bu boşluklara Ranvier boğumu (nodu) denilmektedir. Akson dallanmaları her zaman bu kavşakta meydana gelir.^{5,14,20,28,29}

Schwann hücreleri tarafından miyelin üretimini düzenleyen akson geri bildirim mekanizması vardır. Bu mekanizma yaralanmadan sonra rejenerasyonda akson Schwann hücrelerinin üreteceği miyelin derecesine ve miktarına karar verir.^{5,14,20,21,30} Basal membranın hemen komşuluğunda endonöryum bulunur. Endonöryum çift tabaka kollajen, fibroblastlar ve vasküler bileşenlerden oluşan fibrositik bir stromadan meydana gelir ve aksonun etrafını saran tübüler bir yapı oluşturur. Örneğin bir yaralanma geliştiğinde akson komponentleri gibi dejenere olmaz. Aksonlar ve birleşik olduğu endonöryum sinir demeti, fasikülü (sinir veya kas liflerinin oluşturduğu küçük demet) ya da funikülü (sinir kordonu) diye adlandırılan agregatlar oluştururlar.^{5,20,21} Bir sinir kordonu daha geniş çaplı perinöryum diye tanımlanan, birbiriyle çok sıkı bağlantılar yapan yassı skuamöz hücrelerden oluşan kollajenöz bir zarfla çevrilidir.^{21,27,31} Perinöryum hem difüzyon bariyeri hem de vasküler yataklar için kafes gibi davranır.²⁰ Kordon demetini dıştan çevreleyen gevşek bir kollajen, elastin ve fibrosit ağı olan, siniri dıştan kaplayan epinöryumdur.^{13,20,27} Periferik sinirlerin yırtılma olmadan elastik deformasyona uğrama kabiliyetinin çoğu, epinöryumun gerilme kuvvetine ve elastik özelliklerine dayandırılabilir.^{5,20} Epinöryum distale gittikçe inceler, perinöryum ve epinöryum ise proksimalde, spinal kökte bulunmaz. Buradaki sinirler bu tabakaların daha ince olması veya bulunmaması sebebiyle yaralanmaya müsait olabilirler.⁵ Sinir kordonu periferik sinir rotası boyunca diğer kordonlarla çok sayıda pleksus oluşturur.^{14,21} Sinir gövdesinde tam bir kesi meydana gelmeden yaralanma olduğu takdirde, geride kısmi fonksiyon kalabilmesinin nedeni, sinir kordonu anatomisinin her 0.5 mm-15mm arası değişmesidir.^{5,20}



Şekil 2: Periferik sinir anatomisi. Soldaki karede miyelinsiz sinir lifi, alttaki karede miyelinli sinir lifi şematize edilmektedir.¹⁷

Periferik sinirlerin vasküler ihtiyacı, geniş bir kapiller ağ şeklinde dallanan ektranöral ve intranöral küçük segmental arteriollerle sağlanır.^{5,20,31} Ektranöral damarlar sinirin yanından gelir, intranöral damarlar ise endonöryum, perinöryum ve epinöryumun içinde bulunmaktadır.⁵ Perinöral dallar ve akson damarları arasındaki birçok anastomoz, segmental kesinti durumunda yeterli kollateral vasküler ihtiyacın karşılanmasını garanti altına almaktadır.²⁰ Endonöryumun kapiller ağı kompresyon yaralanmasına daha açıktır.⁵ Ayrıca endonöryumda lenfatik damarlar bulunmaz.³¹



Şekil 3: Periferel sinirin vasküler desteği.¹⁷

Periferel sinirler vücudun geri kalan kısmından kan-sinir bariyeriyle ayrılmıştır. Sinire ve kan-sinir bariyerine gelen travma siniri ekspoze etmekte ve immünolojik yanıtı tetiklemektedir.^{5,20}

Sinir hücreleri yapılarına göre unipolar, bipolar veya multipolar olarak, işlevlerine göre de duyu nöronları, ara nöronlar ve motor nöronları olarak sınıflandırılırlar.^{13,14,16,20} Duyu nöronları duyu sinir merkezlerine ileten duyu sinirleridir. Bunlara sensörük (duyusal) nöronlar da denir. Motor nöronlar kas veya salgı bezleri gibi efektör organları harekete geçiren sinir hücreleri olup, sinir merkezlerinden aldıkları uyarıları bu organlara götürürler. Ara nöronlar ise sinir merkezlerinde duyu ve

motor sinirlerini birbirine bağlayarak uyarının çeşitli yönere yönelmesini sağlarlar.¹³

Nöromüsküler kavşak periferik sinirden iskelet-kas sistemine geçiş bölgesidir. Sinir nöromüsküler kavşağa yaklaştığında miyelin kılıf ve Schwann hücresi sonlanır. Histolojik kesitlerde sinaptik aralık diye adlandırılan 200nm-300nm arası açıklık (gap) bulunduğu saptanmıştır. Sinirin terminal ucunda, sinaptik veziküllerden asetilkolin (ACh) salınımı gerçekleşir ve iskelet-kas sistemine sinir impulslarının iletimi sağlanır. Asetilkolin, asetilkolinesteraz enzimi tarafından parçalanıp metabolize olur veya yeni asetilkolin oluşturulması için tekrar döngüye katılır.^{14,20,32,33}

Duyusal reseptörler miyelinli ve miyelinsiz afferent sinir liflerinin periferik komponentidir ve nöral inputun önemli olduğu cilt, kas mekiği, eklem ve diğer bölgelerden çıkarlar. Bunlar çeşitli şekillerdeki enerjiyi sinir impulslarına çevirir.^{20,34,35}

2.1.3. Periferik Sinir Tipleri

Periferik sinirler akson çapına veya iletim hızına göre sınıflandırılırlar. Akson çapına göre yapılan sınıflandırmada I,II,III ve IV tip sinir vardır, I.tip en geniş, IV. Tip ise en küçük sinir lifleridir.^{5,14,20} Yalnızca duyu lifleri boyuta göre sınıflandırılırlar.⁵ Tip I,II,III aksonları miyelinli, tip IV aksonlar miyelinsizdir.^{5,20,36}

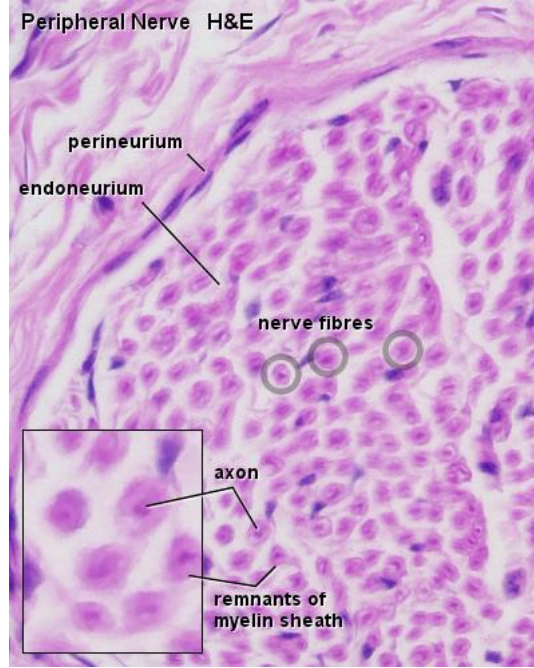
Sinir iletim hızına göre yapılan sınıflandırmada ise A, B ve C olmak üzere 3 tip sinir vardır. Hem motor hem de duyu sinirleri iletim

hızına göre sınıflandırılır.^{5,14,16} Aksonda ortalama elektrik ileti hızı 1-100m/sn'dir. Miyelinli liflerde Ranvier boğumu bu hızın artışını sağlar.³¹

Sinir liflerinden A tipi miyelinli liflerin dört alt sınıfı vardır.⁵ Büyük sinir telleri A grubunu oluşturur, uyarı saniyede 15-100 m yol almaktadır. Motor ve bazı duyu lifleri A grubuna dahildir.^{13,37} Alfa dalgaları en geniş çaplı miyelinli motor liflerini ve kaslardan gelen duyu lifleri temsil eder. Beta dalgaları cilt duyu reseptörlerinden gelen duyu lifleri göstermektedir. Gamma dalgaları ise intrafusel kas liflerinden çıkan gamma motor liflerince üretilir.²⁰

B tipi sinir potansiyeli ağır reseptörleri gibi daha küçük miyelinli lifler tarafından oluşturulmaktadır. Bu sinirlerde gelen uyarı saniyede 3-14 m yol alır.²⁰

C tipi potansiyel ise otonomik lifler gibi miyelinsiz liflerin iletiminden gelir. Uyarının 1 saniyede gitmesi için 0,5-2 m yol alması gerekir. C grubu otonom ve bazı duyu uyarılarını taşıyan liflerdir.^{13,14}



Şekil 4: Periferik sinirin histolojik yapısı.³⁸

2.1.4. Sinir Doku Fizyolojisi

Aksonlar yaralanmayı takip eden süreçte rejenerasyonla ilgili biyokimyasal maddelerin taşınmasını ve intraselüler beslenme fonksiyonlarını sağlayan alt üniteler içermektedirler.²⁰ Maddeleri sentezleme işlemi hücre gövdesindedir.¹³

Aksonda madde taşınması, akson veya son dallanma bölgelerine maddelerin iletilmesi ya da bu bölgelerden maddelerin geriye dönme işidir. Bu aksonal transport perikaryondan akson ucuna doğru 'öne doğru taşınma' (anterograd) ve buna zıt yönde 'geriye doğru taşınma' (retrograd) şeklinde iki yönlü gerçekleşmektedir.^{5,14,18,20} Nörotransmitterler ve şekerler, aminoasitler, nükleotitler ve kalsiyum iyonu gibi düşük

moleküler ağırlıklı maddeler hızlı taşınırken, proteinler yavaş taşınmaktadır.^{5,18,20}

Retrograd taşıma, organellerin hücre gövdesine geri dönüşü veya yeniden sentezlenmesi ve sinaptik vesikül parçaların hücre gövdesine dönmesidir. Her iki taşıma için de enerji kaynağı gereklidir.⁵ Retrograd taşımada aktive olmuş Erk1/2 (extracellular signal-regulated kinases 1 and 2), JNK (c-Jun N-terminal kinase), ATF3 (activating transcription factor 3), STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) gibi sinyaller görev alır. Bu sinyaller genetik büyüme programını başlatmak amacıyla hücre gövdesi içinde birbiri ardına bilgi aktarımını sağlarlar. Sinyal yolları ve düzenlenmeleri henüz tam olarak anlaşılamamıştır.^{14,18,39,40}

Sinir iletiminden primer olarak sodyum ve potasyum iyonları sorumludur. Sinir dokunun uyarılabilir membranlara benzer dinamik bir yapısı vardır. Dinlenme anında dışarıda daha fazla sodyum, hücre içinde ise daha fazla potasyum iyonu bulunur.⁵ Bu elektriksel ve kimyasal konsantrasyon farkı sodyum-potasyum adenosintrifosfataz (ATPaz) pompası tarafından sağlanır ve her 3 sodyum iyonu hücre dışına çıkarken 2 potasyum iyonu hücre içine pompalanır. Dinlenmede nöron içi daha negatif yüklüdür ve dinlenme membran potansiyeli -60 mV ile -90 mV arasındadır.^{5,17,20} Bir sinir yeterince stimüle olduğunda sodyum iyonları, hücre içine girer ve depolarizasyon başlar, bunu hemen repolarizasyon takip eder. Bu impuls düzenine aksiyon potansiyeli denir.^{5,17,20} Bir aksiyon potansiyeli, yalnızca hücre membranı uyarılabilir durumda olduğunda gerçekleşir.²⁰ Aksonla taşınan uyarı ya hep ya hiç prensibine göre hareket etmesine karşın, dendritler elektrik potansiyelindeki dereceli değişikliklere bağlı olarak çalışırlar. Ya hep ya hiç prensibinde uyarının gücü ne olursa

olsun, hep aynı aksiyon potansiyeli üretilmektedir.¹³ Sinir üzerinde herhangi bir noktada polarizasyon bir kez başladığında tüm membran depolarize olmak zorundadır. Bu yayılma hızına sinir iletim hızı denir. İletim hızı lif çapı, miyelinizasyon derecesi ve membran ısisına bağlıdır.²⁰

Bir impuls membran yüzeyinde ilerlerken nodal kavşaktan sıçrama tarzında aktarma olmaktadır. İmpuls aktarılırken atlamalar sebebiyle miyelinli aksondaki iletim hızı miyelinsiz aksona göre daha büyüktür, çünkü miyelinsiz sinirlerde sıçrama tarzında bir iletim mekanizması yoktur.^{5,20}. Daha geniş çaptaki miyelinsiz lifler daha geniş bir akıma ve daha hızlı lokal sinyal geçişine izin verir ve bu da daha yüksek iletim hızıyla sonuçlanır.^{5,13,17,20,36}

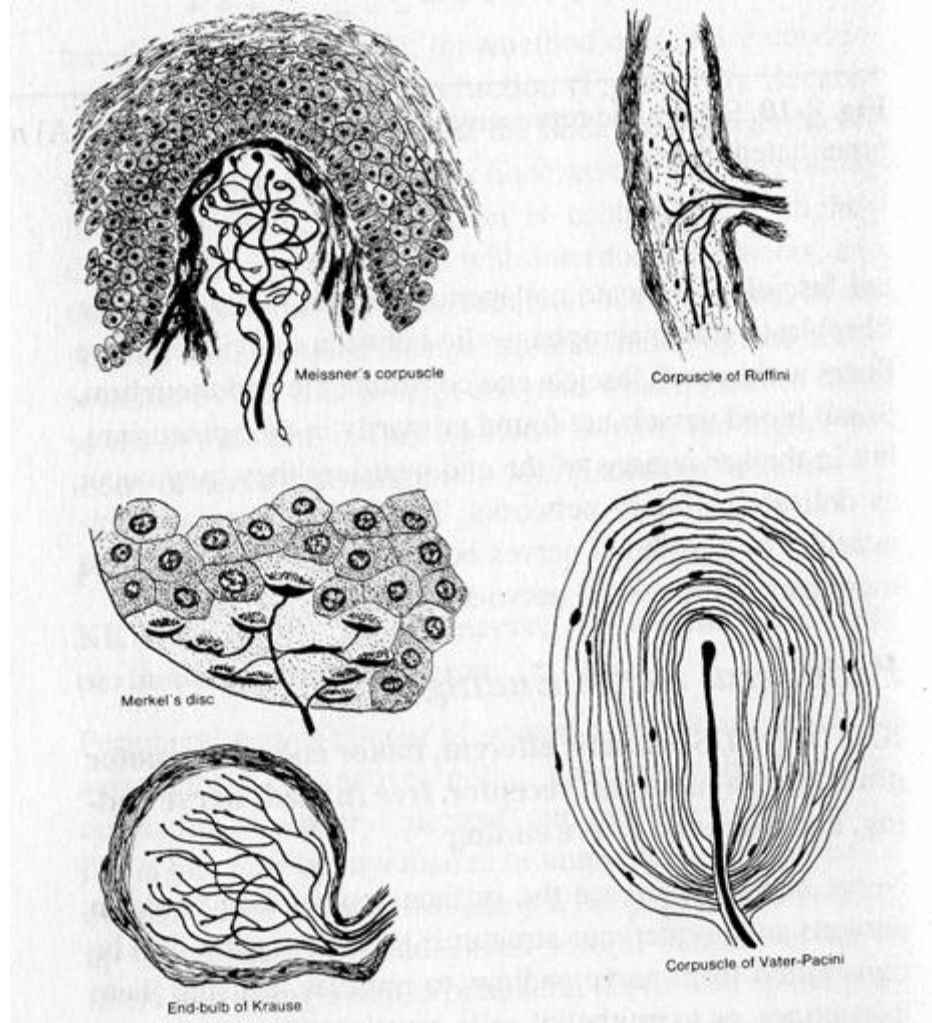
Duyusal ileti periferel reseptörler tarafından başlatılır ve dorsal spinal köke iletilir. Daha sonra impuls segmental gri bölgede refleksi arkını başlatır ve gerekirse daha yüksek merkezlere iletilir.^{41,42}

2.1.5. Sinir Sonlanmaları

Sinirler; kasta, epitelde ve bağ dokusunda olmak üzere üç yerde sonlanmaktadır. Dendritler reseptörlerde, aksonlar ise efektör organlar olan kas ve salgı bezlerinde sonlanmaktadır.^{13,14}

Çizgili kaslarda hem motor hem de duyu sinirleri sonlanır. Somatik motor sistemde tek bir alfa motor nöron ve innerve ettiği tüm kas lifleri motor birim (motor unit) olarak adlandırılır.^{5,13} Çizgili kastaki duyu sinirleri daha çok kas dokusunda, tendonda veya kas-tendon

bağlantısında yer alıp kas gerilmesi, acısı ve ağrısı hakkında bilgi toplamaktadır. Epitelde sonlananlar serbest sinir uçlarıdır. Bunlar, ağrı, acı, sıcak, soğuk ve basınç reseptörlerini oluşturmaktadır.^{14,20}



Şekil 5: Duyu sinirlerinin çeşitli sonlanma tipleri.¹⁴

2.2. Periferik Sinir Yaralanması

Periferik sinir yaralanmaları, travma geçiren hastaların %2,8'ini etkileyen, mikrocerrahi teknolojisinin gelişmesine rağmen, hem cerrah hem de hasta için tedavisi en zor ve geri dönüşü belirsiz, yaşam

boyu fonksiyon kaybı oluşturabilen, yaygın ve ciddi bir durumdur.^{15,18,43-45} Ayrıca kalıcı duyu ve motor fonksiyon bozukluğu ve nöropatik ağrı, sosyal problemler, uzun iyileşme periodu gibi problemler nedeniyle yaşam kalitesinde azalmayla sonuçlanmaktadır.^{4,27,46,47}

Periferik sinir yaralanmaları, aşırı stres veya baskıya bağlı gerilme, ezilme ve kesilme nedeniyle ya da yetersiz kanlanma, doğum travması, şiddete maruz kalma, elektrik çarpması, enfeksiyon, iskemi, donma, radyasyon veya toksine maruz kalma gibi sistemik ya da travmatik nedenlerle meydana gelmektedir.^{5,18,19,21,27,48-50}

Raporlara göre akut periferik sinir yaralanması 3500 yıl öncesine dayanmaktadır. Kayıtlar İncil' de geçen Piskopos Jacob'un bir melekle savaşı sırasında travmatik kalça çıkığına bağlı siyatik sinir yaralanması geçirdiğini göstermektedir. Kitaplar bunun siyatik sinirde nöropraksi yaralanması olduğunu yazmaktadır.⁴⁵

Savaş ve kazalara bağlı pek çok sinir travması meydana gelmiştir. Fakat 16. yüzyıla kadar spesifik bir onarım tekniği tanımlanmamıştır. İlk sinir onarımı Rhazes tarafından rapor edilmiştir. Ancak kesin sonucu yaralanmış sinir gövdesi onarımını detaylı olarak ilk tarif eden Gabriele Ferrara (1543-1627)'dir. Günümüz modern protokolüne benzer şekilde retrakte olmuş sinir uçlarını nazikçe çekerek, çeşitli şarapların karışımı içinde kaynattığı özel bir iğne yardımıyla çıplak gözle sütüre etmiş ve diktiği segmenti bir yağ karışımıyla izole etmiştir. Hastasına süturlara zarar gelmemesi için bacağı hareket etmeyecek şekilde yatak istirahati vermiştir.⁴⁵

Bazı yazarlara göre yaralanmadan sonra aksonlar rejenere olurlar. Merkezi sinir sisteminin aksine periferik sinir sisteminde belli bir dereceye kadar spontan rejenerasyon gerçekleşebilir.⁵¹ Bu tamir kapasitesine rağmen hastalarda genellikle hayal kırıklığı yaratan fonksiyonel sonuçlar alınmaktadır. Klinik iyileşme yaralanmanın büyüklüğüne ve şiddetine, akut veya kronik oluşuna, ayrıca medikal ya da cerrahi rehabilitasyon seçimine, akson rejenerasyonunun mesafesine ve gereken zamana bağlı olarak çok çeşitlilik göstermektedir.^{5,27,52-57}

2.2.1. Yaralanmaya Karşı Verilen Doku Cevabı

2.2.1.1. Wallerian Dejenerasyonu

Periferik sinir aksonunda bütünlüğün bozulduğu durumlarda (şiddetli ezilme veya keskin bir aletle kesilme, aksotomi) ortaya çıkmaktadır. Yaralı bölgenin distalinde, akson ve miyelin kılıfın bir süre içinde elipsoid denilen sferoid şekilli segmentlere dejenere olması, fiziksel fragmantasyonu, nörotübül ve nörofilamanların düzensizleşmesi ve sonuçta aksonal yapının tamamen bozulması ile karakterize olan Wallerian dejenerasyonu meydana gelmektedir.^{4,19,46,58-61}

İlk olarak Waller⁶¹ tarafından kurbağa glossofaringeal ve hipoglossal sinirlerinde tanımlanmıştır. İntakt aksonlar normalde çok düşük düzeyde intraselüler kalsiyum konsantrasyonu içermektedirler. Fakat sinir kesisinden sonra bu konsantrasyon yükselmektedir. Kalsiyum sensitif proteazları aktive eden bu değişiklikler akson sitoplazmasında degradasyona yol açmaktadır.^{45,61,62} Hasarın proksimalindeki akson sağlam kalmakta, ancak bir Ranvier boğumu kadar bölge dejenerasyona

uğramaktadır. Eğer yaralanma çok proksimaldeyse dejenerasyon retrograd şekilde hücre gövdesini de etkilemektedir.^{4,15,19,20,45,60}

Bu dejenerasyonun ilk sinyalleri 18-48 saat içinde başlayıp 4-11 gün arasında devam etmektedir. Dejenerasyonu takiben sinirin hasar gördüğü yerin distaline doğru günde yaklaşık 1-3 mm veya ayda 1 inch hızla rejenere olduğu söylenebilir.^{4,27,48,51,59}

Hem plazmolemma hem de Schwann hücrelerinden NCAM-L1, N-cadherin gibi adhezyon molekülleri salınır ve aksonal rejenerasyonu tetiklerler. Wallerian dejenerasyonu sırasında kan-sinir bariyeri permeabilitesi arttığından makrofajlar yaralanma bölgesine rahatlıkla göç edebilmektedir.⁴⁵ Yaralanmanın ardından 2-3 gün içinde kimyasal sinyaller (kemokinler ve interlekin-10 vb.) bölgeye gelecek olan monosit/makrofaj sistem hücrelerini çekmektedir. Bu hücreler debrisleri, artık Schwann ve bağ doku hücrelerini temizler ve uzaklaştırır.^{4,15,19,20,51,63}

Aksotomi, hücre gövdesinin proteinle dolup şişmesine neden olur. Buna kromatolizis denir.¹⁵ Yaralanma bölgesinin proksimalinde sinir hücre gövdesi gerekli besin faktörlerinden yoksundur ve sonuçta ya programlanmış hücre ölümüne (apoptosis) uğramakta ya da kromatolizis denilen geri dönüşümlü bir sürece girmektedir.^{4,14,19,27,46}

2.2.1.2. Aksonal Dejenerasyon

Toksik ve metabolik etkenler (heksakarbon toksisitesi) aksonal dejenerasyon denilen Wallerian dejenerasyonuna benzer bir

sürece zemin hazırlayabilmektedir. İlk başta aksonun en distal parçası ve miyelin kılıfı dejenere olmakta ve proksimale doğru günde 2-3 mm hızla ilerlemektedir. Bu 'geriye doğru ölüm' nöropatisi en sonunda merkezi sinir sistemi ile ilişkili yollara kadar uzanabilmektedir. Eğer aksonun bütünlüğü bozulmadan neden ortadan kaldırılırsa, haftalar veya aylar içinde fonksiyonuna kavuşabilmektedir.^{2,19,46,64}

2.2.1.3. Segmental Demiyelinizasyon

Schwann hücreleri ve miyelin kılıf akson dışında uzandığından kompresyonla yaralanmaya daha açıktır.^{2,19} Miyelin dejenerasyonu, primer olarak gerçekleşebildiği gibi akson yaralanmasına sekonder olarak da meydana gelebilir. Her iki durumda da yaralanma bölgesinde miyelin erozyonu oluşmaktadır ve böylece alttaki aksonun bir segmenti ekspozite olmaktadır. Buna segmental demiyelinizasyon denir ve yaralanma bölgesinde aksiyon potansiyelinin etkinliğinde azalmaya bağlı sinir iletiminde yavaşlama meydana gelmektedir. Şiddetli demiyelinizasyon yaralanma bölgesinden impuls geçişini tamamen engellemektedir. Buna kondüksiyon bloğu denir ve klinik olarak hissizlik ve/veya zayıflık gözlenir.¹⁹ Neden ortadan kalktığında 15 gün ila 6 ay arasında remiyelinizasyon tamamen sağlanmaktadır.² Segmental demiyelinizasyon travmatik yaralanmayla sınırlandırılmamalıdır, Guillain-Barre Sendromu ve multifokal motor nöropati gibi birçok periferik nöropatiyi de içermektedir.¹⁹

Periferik sinir yaralanmalarına karşı gelişen yanıt biyokimyasal ve morfolojik değişiklikleri kapsamaktadır. Yaralanmış sinirin her bir bölgesi kendine özgü bir tepki vermektedir.²⁰

2.2.1.4. Yaralanma Sonucunda Proksimal Sinir ve Ventral HÜcre Gövdesinde Meydana Gelen Değişiklikler

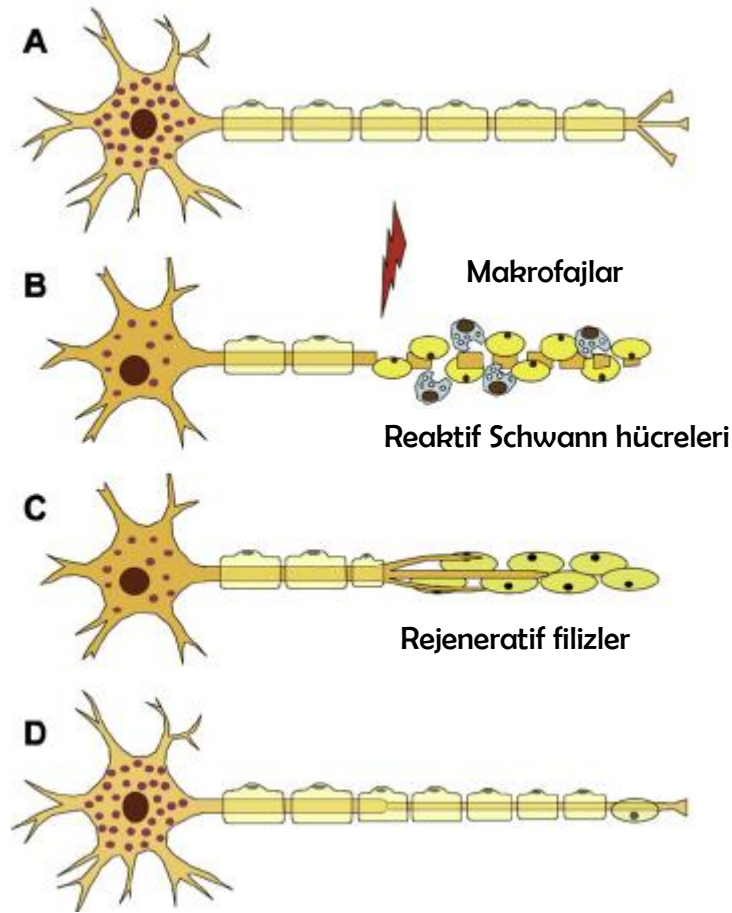
Sıkışma yaralanmalarında, nöronun distal segmentinin, proksimal segmentine nazaran daha fazla etkilendiği bildirilmektedir.¹⁷

Sinir gövdesi kopmuşsa, ayrılmış uçlarda hemen hemoraji ve pıhtı oluşumu gerçekleşmektedir. Yaralanmadan sonraki 1 saat içinde doku ödemine ve asit mukopolisakkaritlerin eksudasyonuna bağlı sinir içi şişlik gözlenebilmektedir. Şişlik ve doku bileşenleri 7-10 gün içinde bir pıhtı meydana getirmektedirler.²⁰

Yaralanmadan 24 saat sonra ise apoptozis başlamakta ve ardından aksoplazmik bileşenlerin kaybı izlenmektedir.¹⁸ Miyelin kılıf tabakalı görünümünü kaybetmeye başlar ve homojen bir granülasyon dokusuna karışır. Bu içi boş luminal yapı oluşturan buruşmuş lameller halkalar, sindirim çemberleri olarak adlandırılmaktadır. Zarar görmüş sinir dokudan dejenere miyelinin sindirimi ve uzaklaştırılması için makrofaj invazyonu başlar.²⁰ Makrofaj aktivitesinin kökeninin, bağ doku histiositleri ve periferik kandan farklılaşan monositler olduğu düşünülmektedir. Schwann hücreleri distal ucun akson yenilenmesinde çok önemli rol oynamaktadır. Etkili bir sinir rejenerasyonu için Schwann hücrelerinin dediferansiasyonu gereklidir.^{16,18,58}

Schwann hücreleri o anda aktif yanıt vermekte ve sindirilmiş aksoplazmanın uzun aksı boyunca yoğun bir şerit oluşturmak için prolifer olmaktadır. Bu şeritler fagositik özelliklere sahiptir ve dejenere olmuş akson kümelerini, miyelin fragmanlarını ve diğer hücresel debrisleri

sindirmektedirler. Mezenşimal hücreler prolifer olup, proksimal ucun sonunda kollajen birikimi başlatmaktadır. Bu ilk baştaki hemorajiden gelen fibrin kalıntıları, büyüme konisi distal gövdeye ulaşamazsa nöroma oluşumuna da sebep olabilmektedir.^{18,20,46,55,65}



Şekil 6: Yaralanma sonrası dejenerasyon ve rejenerasyon. (A) Normal nöron ve sinir lifi. (B) Wallerian dejenerasyonu. Aksotomi sonrası distal bölgede ve miyelin kılıfta parçalanma. (C) Distalde Schwann hücrelerinin Büngner bandı oluşturmak üzere sıralanması. Aksonal filizlenmenin Schwann hücrelerinde saklı nörotropik faktörlerle aktivasyonu ile gelişmesi. (D) Hedef organla aksonal birleşme, sinir lifi matürasyonu ve remiyelinizasyonu.⁶⁵

2.2.1.5. Distal Sinirde Meydana Gelen Değişiklikler

Distal tarafın proksimal ucunun özel bir durumu vardır. Bu bölgedeki aksonlar genişlemeye ve dejenere olmuş sinir ucunun diğer parçalarından izole olmaya meyillidirler. Bu birim dejenerasyondan önce 2 hafta kadar yaşamını sürdürebilir. Bağ doku bileşenleri erken dejeneratif fazda proliferer olur ve endonöral fibroblastlar bu izole olmuş segmentte iç içe geçerler. Bu şişlik glioma, schwannoma ya da distal nöroma olarak adlandırılmaktadır.²⁰

Miyelin debrislerine ve makrofajlardan üretilen sitokinlere cevap olarak Schwann hücreleri proliferer olup, uzunlamasına Büngner bandları denilen Schwann hücre bandlarını oluştururlar ve bölünüp endonöral tüpün bazal lamina sınırında kalırlar.^{15,27,43,48,58}



Şekil 7: Büngner bandı oluşumu ve bazal laminaya komşu bölgede dejenerasyon.⁶⁶

Büngner bandlarının oluşumu, büyüme faktörleri, nörotropik maddeler, sitokinler ve hücre adhezyon molekülleri gibi akson rejenerasyonunu destekleyen birçok proteinin artışı ve düzenlenmesiyle birlikte gerçekleşmektedir. Bunların arasında özellikle growth associated

protein 43 (GAP-43), Schwann hücrelerinin dediferansiasyonu sırasında kuvvetle yeniden düzenlenmektedir.^{15,42,45,46,58}

2.3. Periferik Sinir Yaralanmasının Sınıflaması

Periferik sinir yaralanmalarının tanı ve tedavisine olan ilginin artmasıyla, klinik değerlendirmede yaralanmanın tipi ve tanımlaması için standardizasyona ihtiyaç doğmuştur. Daha önceki sınıflamalar hikaye, fiziksel muayene, nörolojik muayene ve elektrodiagnoz gibi yardımcı tanı tekniklerini içeren indirekt metodlara dayanarak yapılmıştır. Sınıflama, klinik değerlendirme, medikal ve cerrahi tedaviyle prognozun belirlenmesi için rehber görevi görmektedir.^{67,68}

Günümüzde periferik sinir yaralanmasını tanımlayan ve prognoza ışık tutan Seddon ve Sunderland sınıflamaları olmak üzere iki sınıflandırma vardır.^{1,21,48,67}

İlk olarak 1943 yılında Seddon savaş deneyimlerine dayanarak travmatik sinir yaralanmasını üç aşamalı olarak sınıflandırmıştır.^{19,48}

2.3.1. Seddon Sınıflandırması

2.3.1.1. Nörapraksi

Sinir yaralanmasının en hafif formu nörapraksidir ve prognozu iyidir (neurapraxia).^{1,19-21,48,67}

Nörapraksi akson devamlılığında kayıp olmaksızın bir akson segmenti boyunca meydana gelen kondüksiyon bloğudur. Fizyolojik bir kesi olarak tanımlanmaktadır, fakat Wallerian dejenerasyonu yoktur, basal membran sağlamdır. Sinire yapılan akut bir müdahale impuls geçişinde kesintiyle sonuçlanır.²⁰ Bu durumda aksiyon potansiyeli segmentte yayılır, fakat yaralanmış alandan geçemez.^{19,27,48}

Nörapraksi segmental demiyelinizasyona bağlıdır ve Sunderland'in 1. Derece yaralanmasına denk gelmektedir.⁴⁸ Sinir iletimi genellikle ortalama 6-8 haftada bütünüyle düzelebilir.^{19,20} Bu tip yaralanmalar genellikle kompresyona bağlıdır.¹⁹ Yaralanmış bir sinirin innerve ettiği bölgelerde motor, dokunma, ısı, ağrı ve sempatik fonksiyon sırasıyla travmadan etkilenir. İyileşme süreci de tam tersi biçimde gerçekleşmektedir.²⁰

2.3.1.2. Aksonotmezis

Seddon sınıflandırmasına göre ikinci tip yaralanma olan aksonotmezis bağ doku kılıfının sağlam kaldığı bir ya da daha fazla aksonda (bir dereceye kadar devamlılıkta kayıpla birlikte) meydana gelen fiziksel bozulmadır.^{1,19-21,27,48,67}

Laserasyon, kontüzyon, ezilme veya gerilme, aşırı baskı ve enjeksiyon gibi daha şiddetli yaralanmalar aksonun anatomik olarak bozulmasına sebep olabilmektedir. Yaralanan bölgenin distalinde Wallerian dejenerasyonu meydana gelmektedir.^{19,48} Erken safhalarda demiyelinizasyon yaralanmanın başlıca komponentidir.¹⁹ Bu tip yaralanma genellikle insanlarda uzun kemik kırıklarıyla birlikte görülmektedir.

Aksoplazma ve hücre membranları zarar görmekte, ancak Schwann hücresi ve bağ doku elemanları sağlam kalmaktadır.^{20,48}

Klinik muayene, bölgelerdeki hasarı ortaya koyabilmektedir.²⁰ Aksonotmezisde endonöral kılıf devamlılığı kaybolmadığından dolayı, motor akson dallarının denerve motor liflerine doğru migre olma ve medikal tedavi olmadan spontan iyileşmenin gerçekleşme ihtimali yüksektir.^{19,48,65,67}

2.3.1.3. Nörotmezis

Üçüncü ve en şiddetli sinir yaralanması nörotmezis, periferik sinir gövdesinin bütün olarak kopmasını ifade etmektedir.^{1,18,20,48}

Aksonal bütünlük kaybolmuştur ve bağ doku kılıfında yırtılma mevcuttur.^{19,21,48,67}

Yaralanmış sinirin tüm otonom dallarının duyu ve motor innervasyonları kaybolmuştur. Klinik ve diagnostik muayene sinirin tüm klinik fonksiyonunu yitirdiğini göstermektedir. Histolojik olarak yaralanmanın distalindeki tüm aksonlarda dejenerasyon meydana gelir. Yaralanmanın 1-2 Ranvier boğumu proksimalinde de dejeneratif değişiklikler gözlenir.²⁰ Cerrahi olarak skar dokusunun eksizyonu ve sonrasında sinir anostomozu gerekmektedir.⁵⁹ Şiddetli çekme, çarpma ve laserasyon yaralanmaları sıklıkla nörotmezise neden olmaktadır ve genellikle nadir vakalar dışında bu tip lezyonlarda spontan iyileşme

gerçekleşmemektedir. Lezyon şiddetinin derecesine göre prognoz değişmektedir, ancak genellikle zayıftır.^{19,20,48,52}

Bazı tip yaralanmalar ise birden fazla kategoriye giren bir sınırdan kalmaktadırlar. Periferik sinir yaralanması tiplerini daha iyi tanımlamak ve geliştirmek amacıyla 1947'de Sunderland önceki sınıflamayı modifiye etmiş ve beş kategori tanımlamıştır.^{1,19,20}

1. ve 2. derece yaralanma sırasıyla Seddon'un nörapaksi ve aksonotmezis safhasıyla ilişkilendirilebilir.^{1,19-21} Bununla birlikte 2. derece yaralanma yalnızca aksonda bozulma olan yaralanmadır. Prognozu iyidir ve tamamen iyileşebilir.^{20,21} 3. derece yaralanma hem aksonal hem de endonöral devamlılığın bozulduğu, perinöryum ve epinöryumun sağlam kaldığı yaralanmadır ve prognozu kötüdür.¹⁹⁻²¹ 4. derece yaralanma epinöral kılıf sağlam kalırken aksonları, endonöryumu, yani sinir kordonunun tüm bileşenlerinin devamlılığında bozulma meydana gelen yaralanmadır. 5. derece yaralanma sinir gövdesinin tamamen koptuğunu gösterir.^{19,20} Cerrahi müdahale ve tedavi yapılmadan iyileşmesi mümkün değildir.^{18,27,69}

Aksonotmezis veya 2. ve 3. derece yaralanmalar uzun kemik kapalı kırıklarına bağlı traksiyon yaralanması olabilmektedir. Nörotmezis veya 4. ve 5. derece yaralanma ise uzun kemiklerin açık kırıkları, penetran yaralarla ilişkili olabilmektedir.^{20,64} Bazı ateşli silah yaralanmaları bölgedeki sinirleri çeşitli seviyelerde etkilemektedir ve altıncı sınıf sinir yaralanması olarak değerlendirilebilirler.¹⁹

Tablo 1: Seddon ve Sunderland Sınıflaması.^{1,19,70}

		Sınıflandırma	
Yaralanmış sinir komponenti	Sinirde meydana gelen değişiklikler	Seddon	Sunderland
Miyelin	Kondüksiyon bloğu	Nörapraksi	Grade 1
Akson	İntakt endonöryum, akson bütünlüğünde kayıp	Aksonotmezis	Grade 2
Endonöryum	Endonöral ve aksonal bütünlükte kayıp	Nörotmezis	Grade 3
Perinöryum	Perinöral, endonöral ve aksonal bütünlükte kayıp	Nörotmezis	Grade 4
Epinöryum	Epinöral, perinöral, endonöral ve aksonal bütünlükte kayıp	Nörotmezis	Grade 5
Kombinasyon	Diğer seviyelerin kombinasyonu	Diğer seviyelerin kombinasyonu	Grade 6

2.5. Periferik Sinir İyileşmesi

Sinir yaralanması düşünüldüğünde periferik ve merkezi sinir sistemi fonksiyonel olarak bütünleşmiştir, çünkü periferik sinir lezyonları her zaman merkezden yönetilmektedir.^{4,71-73}

Yaralanmaya karşı cevabı indükleyen aksonal sinyaller sinir hücre gövdesinde pek çok sinyal yolunu aktive etmekte ve “hücre ölümü” ve “rejeneratif cevap” olmak üzere iki karşıt sonuca neden olmaktadır.^{4,15}

Rejenerasyon ve tamir prosesi, sinir yaralanmasını takiben; nöron ve yaralanan saha arası segment (proksimal sinir), yaralanmış bölge, uç organ ve yaralanmış bölge arası segment (distal sinir ucu) ve hedef organ olmak üzere pek çok seviyede gerçekleşmektedir. Hafif yaralanmalarda rejenerasyon ve tamir neredeyse hemen başlamaktadır.⁴⁸

Miyelinli ve miyelinsiz liflerde yaralanan bölgenin proksimalinde aksonların hala intakt olduğu bölgede kendiliğinden yeni aksonlar oluşmaktadır. Bu aksonlar bazal lamina tarafından sarılmıştır ve rejenerasyon birimi olarak adlandırılmaktadır. Yeni tomurcuklar distal yönde ilerlerler. Proksimal ucun tomurcuklanması için aksonun, Cajal'ın 1890'da tanımladığı büyüme konisi (growth cone) içinde uzaması gerekmektedir.^{43,74}

Akson yaralanması sonrası distal uçta rejenerasyon hızı günde ortalama 1-3 mm'dir.^{20,27,45} Yine de bu hız etkilenmiş sinirin rejenerasyon yeteneğine ve yaralanmanın tipine göre değişmektedir.^{19,21}

2.5.1. Schwann Hücrelerinin Rolü

Schwann hücreleri periferik sinir sisteminin ana glial hücreleridir. Embriyogenez sırasında sinir boyunca gelişir, özelleşme, uzama ve terminal diferansiyasyondan sorumludurlar.⁷⁵ Periferik sinir sisteminin rejeneratif kapasitesi, matür merkezi sinir sisiteminden oldukça fazladır. Schwann hücreleri proliferasyon dışında, morfolojik değişiklikleri ve sonradan gerçekleşecek rejeneratif faz için gerekli molekülleri indüklemektedir.^{15,18,22,28,45,46,55,74}

Schwann hücreleri tarafından eksprese edilen Desert Hedgehog (Dhh) adlı sinyal molekülü periferik sinirin yapısal ve fonksiyonel bütünlüğü için önemlidir. Memelilerde Hedgehog ailesinin bir üyesi olan Dhh molekülü, perinöral doku kılıfının doğru şekillenmesi için gereklidir. İnsanlarda Dhh mutasyonu, çeşitli tiplerde nöropatlere sebep olmaktadır.^{76,77}

Schwann hücreleri makrofajlarla birlikte Wallerian dejenerasyonu sürecinde başlayıp, inflamatuvar süreci inhibe eden, sinir büyüme faktörü (NGF), Interlökin-10 (IL-10) gibi antiinflamatuvar sitokinleri, nörotropik faktörler üzerinde etkili mitojenleri sentezlemekte ve aksonal uzama ve remiyelinizasyon başlatmaktadır.^{19,45,78,79}

Büngner bandı oluşumundan sonra hücre gövdesi hasarın tamirinde gerekli protein üretimini arttırarak cevap vermektedir. Periferik sinir iyileşmesini düzenleyen ve kolaylaştıran üç temel mekanizma vardır.^{19,45}

Birincisi Schwann hücrelerinden salınan kemotrofik faktörler distal uca doğru aksonal dallanmayı tetiklemektedir.^{4,19,74}

İkincisi distal uçta yeni keşfedilen ninjurin proteini gibi adhezyon molekülleri ağı doğru planda akson büyümesini geliştiren iyi ayarlanmış kontak rehber sistemini sağlamaktadır.

Üçüncüsü ise yirmiden fazla proteinden oluşan semaforin ailesi üyelerini de içeren inhibitör faktörler etrafı saran perinöryumdan salınmaktadır. Akson dallarının yön değiştirerek büyümesini önlemektedirler.^{19,80}

Bunların dışında LIF (leukemia inhibitory factor), IL-6 (interleukin-6) ve CNTF (ciliary neurotrophic factor) diğer retrograd yaralanma sinyalleridir. Sürecin son fazında indüklenmiş sinyaller hedef innerve olmaya başladığında akson büyümesini durdurmaktadırlar.^{4,64} Motor nöronlarda ise postsinaptik asetilkolin reseptör gen sentezini düzenleyen ve motor ünit-kas özelleşmesini sağlayan nörogulinler (NGL1) proteinleri bulunmaktadır.⁸¹

2.5.2. Growth-Associated Protein 43 kDa (GAP-43)

GAP-43 esneklik proteinidir ve Schwann hücrelerinin akson büyümesinde rehberlik eden Büngner bandlarını oluşturmada fonksiyonu vardır.^{15,42,45,46,58}

Nörondaki ekspresyonunun artışı, rejeneratif büyüme için önemli olan ve aksotomiye verilen metabolik cevabın bir parçası olan GAP-43 ilgi çeken bir proteindir. GAP-43'ün asıl fonksiyonunun henüz bilinmemesine rağmen sinyal bildiriminde rol aldığı bilinen büyüme konisi içinde biriktiği, yaralanma sonrası büyümekte olan aksonda yüksek seviyelere ulaştığı gözlenmiştir.^{41,42,51,82}

Periferal aksotomi sonrası belirgin değişikliklerden biri de en başta GAP-43 olmak üzere, rejenerasyonla ilgili proteinlerin (growth-associated protein) artışıdır. Aksonal lezyonun ilk gününden itibaren distal uçta Schwann hücrelerinde GAP-43 artışı başlamakta ve aksonda proteinin biriktiği yer olan sinir büyüme konisi boyunca hızlıca artmakta, aksonun yeniden hedef dokuya ulaşmasıyla ve matürleşmeyle birlikte azalarak başlangıç düzeyine dönmektedir.^{4,24,82}

Çalışmalara göre, artan tüm rejenerasyon proteinleri, iyon kanallarındaki ve reseptörlerdeki değişiklikler, nöropatik ağrının gelişmesiyle de ilgilidir.^{4,83-87}

2.5.3. Sinir İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Sinir hasarı sonrası fonksiyonel iyileşmeyi pek çok faktör etkilemektedir.⁸⁸ Aksonların rejenerasyonu ve fonksiyonel bağlantılarını kazanması kişinin yaşına, etkilenen sinir gövdesine, lezyonun bölgesine ve tipine, cerrahi tamirin şekli ve zamanına ve aksonun büyüyerek kapatması gereken mesafeye bağlıdır.⁴ Aynı zamanda c-Jun, JunD, ATF3, P311, Sox11, c-EBPb ve STAT3 gibi transkripsiyon faktörlerinin ve büyüme faktörlerinin artışı, Schwann hücre proliferasyonu, nöronal hücre ölümüne ve özellikle duyu nöronlarında, sinir onarımının zamanlamasına ve tekniğine de bağlıdır. Nörobiyolojik veriler erken tamirin (birkaç hafta içinde) faydalı olduğunu belirtmektedir.^{18,64}

Sinir hücresinin hayatta kalabilmesi yalnızca lokal beslenme faktörlerine bağlı olmayıp, aynı zamanda hücrenin nöron dışı uydu dokulardan veya hedef dokulardan hücrenin direk etkilendiği besinsel

etkiyle de ilgilidir. Bu besinsel faktörlerin sinir hücresinin anabolik mekanizmasıyla düzenlendiği özel bir etkiyle örneğin, sinir büyümesi (oluşması) ve uzaması (sürdürülmesi) büyüyen aksonların mikro çevresindeki birçok faktöre de bağlı olabilir.¹⁷ Periferik hedef dokular yalnızca nöronların hayatta kalmasında değil, aynı zamanda nörotropik faktör sentezleyerek iyileşmesinde de önemli rol oynarlar. Bu nörotropik faktörlerin arasında en belirgini sinir büyüme faktörüdür (NGF) ve doku inflamasyonunda ve ağrı duyusu üzerinde düzenleyici etkisi vardır.⁸⁹

2.5.3.1. Embriyogenez: Gelişimsel Hücrel Ölüm

Erken embriyogenez sürecinde aksonların hedef dokuya ulaşma vaktinde, tüm nöronların belirli bir bölümü (%50-80'i) ölmektedir. Sinir hücresinin ölümü tropik faktörler arasındaki yarıştan dolayı gerçekleşmektedir.¹⁷

2.5.3.2. Nörotropik Faktörler

BDNF (brain-derived neurotrophic factor), nörotropin 3 (NT-3), nörotropin 4 (NT-4) ve FGF gibi nörotropik faktörler denerve motor ve duyu reseptörlerinde bulunan makromoleküler proteinlerdir. Ayrıca rejenerasyon sürecinde Schwann hücrelerinde de bulunmaktadır. Bu faktörler aynı zamanda sinir sağkalımı, uzaması ve maturasyonuna da yardımcı olmaktadır. Esas nörotropik faktör sinir büyüme faktörüdür (NGF).^{17,70,80}

2.5.3.3. Sinir Büyüme Faktörü (Nerve Growth Factor)

İn vitro çalışmalarda NGF yalnızca sağkalım faktörü olarak değil sinir oluşumunu ve bazı fonksiyonel ürünlerin ekspresyonunu destekleyen bir faktör olarak bulunmuştur. Tropik faktör olmasının yanında aksona rehberlik eden kemotropik faktördür ve büyüme konisinin morfolojisini etkilemektedir.^{17,65,70}

2.5.3.4. Nörotropik Sitokinler

Hasar görmüş nöronların sağkalımında ve rejenerasyonunda önemli rol oynayan nörotropik aktivite gösteren Interlökin-6 (IL-6), siliar nörotropik faktör (CTNF), lökemi inhibitör faktör (LIF), nörogulinler gibi maddelerdir.⁹⁰

2.5.3.5. Kalsiyum (Ca⁺²)

Kalsiyum iyonunun da transdüksiyon ve hücre içi sinyal alım görevleri vardır. Aksiyon potansiyelinin düzenlenmesinde ikincil mesajcı olarak rol oynar ve sitoplazmik hücre içi kalsiyum seviyesi büyüme konisinin motilitesini düzenlemektedir.⁸⁰ Wallerian dejenerasyonu sırasında intraselüler 200-300 µM Ca⁺² 'a ihtiyaç duyulur.⁶⁸

2.5.4. Endonöral Skar Oluşumu

Sinir iyileşmesi de konvansiyonel yara iyileşmesi gibi erken inflamatuvar fazı takiben, granülasyon fazı ve ardından remodeling dönemi ve skar formasyonu ile tamamlanmaktadır. Bu yüzden intranöral skar

kaçınılmaz olabilmekte ve akson rejenerasyonu engellenebilmektedir.⁴⁵ Skar hem tamir edilmiş sinirde hem de cerrahi müdahale yapılmamış sinirde oluşabilmektedir. Her iki durumda da nöroma gelişebilmektedir. Nöroma ektojik nöral uyarılar olarak disestezi gelişmesine neden olabilmektedir.^{45,91,92}

2.6. Oral ve Maksillofasiyal Bölgede Periferik Sinir Yaralanmaları

2.6.1. İnsidans ve Etyopatogenez

Baş ve boyun bölgesi periferik sinir hasarı inferior alveolar (IAS) ve lingual (LS) sinir başta olmak üzere trigeminal sinir, fasiyal ve hipoglossal sinirlerde pek çok nedenle meydana gelebilmektedir.^{3,52,91,93,94} Bu sinirlerin yaralanmasıyla his azalabilmekte veya ortadan kalkabilmektedir. Bunun dışında ağrılı his iletimi de meydana gelebilmektedir.⁶⁰

Maksillofasiyal sinir yaralanması neoplastik büyümeye bağlı olabileceği gibi, özellikle gömülü üçüncü molar dişlerin cerrahi çekimi, implant yerleştirilmesi, lokal anestezi enjeksiyonları, kemik içi implant yerleştirilmesi, osteotomiler, ortognatik cerrahi, kist eksizyonu veya tümör rezeksiyonu, preprotetik cerrahi, temporomandibuler eklem cerrahisi, fraktürlerin açık redüksiyonu, dudak damak yarığı tamiri gibi dentoalveolar cerrahi uygulamalar sonucu da meydana gelebilmektedir. Dudak, çene ucu, diş eti ve dilde parestezi veya dizestezi ve tat duyusunda azalma trigeminal sinir yaralanmasının muhtemel sekelleri arasındadır. Bu hoş olmayan cerrahi sonuçlar hastaların konuşma, yeme-içme, traş olma, makyaj yapma, diş fırçalama gibi neredeyse tüm sosyal aktivitelerini

etkilemekte ve kalıcı psikolojik problemlere yol açabilmektedir.^{1,27,47,52,91,93,95-97}

Ayrıca sinir yaralanmalarının daha iyi anlaşılmasıyla ve tamir tekniklerindeki son gelişmelerle birlikte, bu nörolojik bozukluklar hastalar için kabul edilemez ve tolere edilemez hale gelmiştir.^{1,27,47,52,91,95}

İnferior alveolar sinir direk yaralanmadan korunur şekilde mandibuler kanal içinde konumlanmıştır. Yine de üçüncü molar diş çekimi, implant yerleştirilmesi, osteotomi gibi uygulamalar sırasında mandibular kanalın bütünlüğünün bozulduğu durumlarda yaralanmaya yatkındır.⁹⁷

2.6.1.1. Gömülü diş operasyonları

Gömülü üçüncü molarların çekimi klinik diş hekimliği pratiğinde en sık uygulanan, basit prosedürlerden biridir.^{96,98,99} Gömülü üçüncü molar diş köklerinin inferior alveolar sinirle yakın anatomik ilişkide olduğu bilinmektedir. Bu nedenle çekimin inferior alveolar sinirde geçici ya da kalıcı paresteziyle sonuçlanacak bir yaralanma olması ihtimali oldukça yüksektir. Mandibular üçüncü molar dişlerin çekimine bağlı sinir hasarı insidansı %0,4-8,4 arasındadır. Vakaların birçoğunda duyudaki değişim geçici bir durumdur. Ancak 6 aydan uzun süren vakalar değişen derecelerde uzun süreli kalıcı olabilmektedir.^{52,92,95}

Gömülü üçüncü molar çekimi sonrası hipoesteziden anesteziye veya dizestezi olarak tanımlanan ağrılı paresteziye kadar değişen semptomlar görülebilmektedir.^{47,52,95}

Üçüncü molar cerrahisi en sık inferior alveolar sinirde, daha az sıklıkla lingual sinirde ve nadiren bukkal sinirde hasarla sonuçlanmaktadır.⁹⁵ Anatomik olarak inferior alveolar ven kanalda en üstte ilerleyen yapıdır. Dönel aletlerle kanal penetre olduğunda kanama, venin yaralandığının göstergesidir ve cerrah için bir uyarı niteliği taşımaktadır. Daha yoğun kanama venin altında ve sinirin üzerinde ilerleyen inferior alveolar arterin yaralandığına işaret etmektedir. Cerrahi olmayan üçüncü molar diş çekimi aşırı kuvvet uygulanmadıkça sinir hasarına sebep olmaz.⁵²

Lingual sinir yaralanması cerrahın tecrübesi, vakanın zorluğu, gömülülük derecesi, ramusun kalınlığı, lingual flep elevasyonu, operasyon süresi, cerrahi yaklaşım (lingual split tekniği) gibi birçok faktöre bağlıdır. Gömülü üçüncü molar çekimine bağlı lingual sinirde geçici etkiler %15 ve kalıcı zarar oranı %0,3-0,6 olarak bildirilmiştir.^{3,100} Dil birçok yaşamsal fonksiyonu olan önemli ve hassas anatomik yapıya sahip bir organdır.¹⁰⁰ Lingual sinir yaralanması ise beklenmedik duyu ve tat bozukluğu yaratabilecek bir komplikasyondur.¹⁰¹ Lingual sinirin iyatrojenik yaralanması anatomik yakınlığından dolayı üçüncü molar cerrahi çekimi sırasında bölgedeki kortikal tabakanın periosttan ayrılmasıyla meydana gelebilmektedir. Bazı lingual sinir yaralanmaları geçici duyu kayıplarına yol açarken, bazı vakalarda düzelme görülmeyebilmekte ve kalıcı duyu bozukluğu, duyu kaybı ve nörojenik semptomlar görülebilmektedir.

Lingual sinir fonksiyonunu kaybettiğinde hastalarda tekrarlayan ısırma lezyonları, tek taraflı hissizlik, parestezi veya dizestezi gibi nörojenik ağrı veya rahatsızlık, konuşma/telaffuz güçlüğü, çiğneme güçlüğü, aynı tarafta tat alma fonksiyonunda kayıp gibi ciddi rahatsızlıklar görülebilmektedir. Bazı hastalar spontan veya fonksiyonla ve ısı

değişikliğiyle artan nöbet şeklinde ya da devamlı nörojenik ağrı (allodini) çekmektedirler.¹⁰¹

Bazı durumlarda lingual sinir zamanla iyileşmeye yatkındır ve fonksiyonel olarak gelişme gösterebilmektedir. Bazı durumlarda tamamen normal veya normale yakın fonksiyona geri dönüş gerçekleşebilmektedir. Lingual sinir yaralanmalarının neredeyse tümü cerrahi işlem bittikten sonra farkedildiği için kesin tanı hemen konulamamaktadır. Duyu fonksiyon bozukluğunun güvenilir şekilde değerlendirilebilmesi için tekrarlayan muayeneler yapılmalı ve duyu kaybı derecesine kesin karar verilmelidir.¹⁰¹

Bukkal mukoperiostal flebin kaldırılması sırasında da mental sinir hasarı oluşabilmektedir. Ayrıca üst çenedeki palatal flep elevasyonu sonucu nasopalatin sinir yaralanabilmektedir. Alt 20 yaş operasyonu sırasında eksternal oblik çizgide yapılan insizyonla yanak içinde anesteziye neden olan bukkal sinir hasarı olabilir.⁵⁹ Lingual ayırma (lingual split) tekniği kullanılarak yapılan 20 yaş dişi cerrahisinde mylohoid sinir hasarı meydana gelebilmektedir.^{59,102,103}

2.6.1.2. Enjeksiyon Yaralanmaları

Lokal ve reyonel anestezi sırasında gerek tekniğin doğru kullanılmayışı, iğnenin yapısal özellikleri (ucun kıvrıklığı veya fabrikasyon hataları) ve gerekse enjeksiyon solüsyonunun içeriği sonucunda inferior alveolar/lingual sinir hasarı ortaya çıkabilmektedir. Bu oranın %0,6 ile %3 arasında olduğu bildirilmiştir.^{52,59}

2.6.1.3. İmplant Uygulamaları

İmplant uygulamaları sırasında mandibular kanalın yerinin iyi hesap edilmemesi nedeniyle lingual, mental ve inferior alveolar sinire hasar verilebilmektedir.¹⁰⁴

2.6.1.4. Endodontik Tedavi

Endodontik tedavi sırasında kanal aletleri, kanal dolgu materyalleri veya kimyasal ajanların neden olduğu direkt travma, baskı veya nörotoksik etkinin inferior alveolar sinirde, üst santrallerde kullanılan sodyum hipokloridin ise infraorbital sinirde paresteziye neden olabileceği belirtilmiştir.^{59,105}

2.6.1.5. Maksillofasiyal Travma

Çene-yüz bölgesinde meydana gelen travma sonucu oluşan mandibula kırıklarının %8 ila %66,7' sinde, orta yüz kırıklarının %15-46'sında sinir hasarı oluşabilmektedir. Submandibular alan cerrahisinde de fasiyal sinirin marjinal mandibular dalına, lingual sinire ve hypoglossal sinire hasar verilebilmektedir.¹⁰⁶

2.6.1.6. TME Cerrahisi ve Artroskopisi

Artroskopi sırasında aurikulotemporal sinir yaralanması oranının %23,4, açık eklem cerrahisi sırasında fasiyal sinir yaralanmasının ise yaklaşık %55 olduğu bildirilmektedir.¹⁰⁷

2.6.1.7. Ortognatik Cerrahi

Ortognatik cerrahide, gerek klasik cerrahi işlemlerde gerekse distraksiyon osteogenezisi işlemlerinde direkt travma ile veya indirekt olarak cerrahi işlem sırasında ve sonrasında oluşan germe kuvvetleri veya operasyon sonrası oluşan ödemin baskısı ile sinir hasarı meydana gelebilmektedir.^{108,109} Mandibuladaki distraksiyon sırasında %27 ila %52 arasında olan sinir hasarı oranı, sagittal split osteotomisi ile %70'lere çıkmaktadır.¹¹⁰

2.6.1.8. Diğer Nedenler

Periferik sinir yaralanmalarının tonsillektomi, entübasyon, laringoskopi, submandibular bez operasyonu veya tükrük bezi cerrahisi sırasında da meydana gelebildiği bildirilmiştir.¹¹¹ Lingual sinir yaralanması enfeksiyon, hematoma oluşumu ve şişlik nedeniyle de oluşabilmektedir.⁵²

2.6.1.9. Patolojik Anatomi

Trigeminal sinirin anatomisi kitaplardaki gibi komplikedir, fakat her hastada aynı değildir. Sinir pozisyonundaki veya ilişkili olduğu iskelet-kas yapılarındaki çeşitlilik, doğru cerrahi tekniğe rağmen sinir yaralanması insidansına katkıda bulunabilir. Aynı şekilde IAN'ın pozisyonu da çeşitlilik göstermektedir. Sinirin mandibular foramenden lateral mandibular gövde üzerinde mental foramene kadar kemik içinde çapraz ilerlediğinin bilinmesine rağmen mandibula içindeki pozisyonu önemli derecede superoinferior veya mediolateral yönde veya iki yönde birden çeşitlilik gösterebilmekte ve mandibular molar ve premolar dişlerle ilişkide olabilmektedir. Ayrıca yaşla birlikte mandibula rezorbsiyona uğradıkça

dişsiz mandibulada alveolar krete göre sinirde relatif değişiklikler olmaktadır.³

Genel kural olarak iyileşmekte olan sinir fonksiyonu zaman içinde monitorize edilmeli ve gözlemlenmelidir. Mikrocerrahi tamire sinir fonksiyonunun tamamen kaybolmuş olduğu ve Sunderland grade 4 ve 5 lezyonlarında karar verilmektedir.¹⁰¹

2.6.2. Sinir Hasarının Değerlendirilmesi

2.6.2.1. Tanı

Kısmi veya tam sinir yaralanmalarının tedavisinde zamanlama önemlidir. Bu nedenle yetersiz tanısal veya cerrahi girişimler sinir onarımının sonuçlarını kötüye götürebilmektedir. Doğru tanı koymak ve uygun tedaviyi başlatmak oldukça önemlidir. Tanı sırasında anatomiye iyi bilmek en önemli basamaktır. Duyusal fonksiyon testleri innervasyon alanına dokunmayla yapılır. Bölge cerrahi forseps (cildi nazıkçe sıkan) yardımıyla normal duyu alan bir bölgeyle karşılaştırılır. Elektrofizyolojik deneyler başlangıçta çok kullanışlı olmayabilir, fakat yaralanmadan üç hafta geçmiş, dejenerasyon ve kas denervasyonu bulguları gözlenen bazı vakalarda düşünülebilir. Ultrason muayenesi (yabancı cisim varlığında), MR görüntüleme ve bilgisayarlı tomografi yararlı olabilmektedir.¹⁸

Maksillofasiyal sinir hasarının varlığına ve derecesine karar verebilmek için, ilk aşamada geniş kapsamlı bir sorgulamayla, objektif ve subjektif ölçümlerin yapılması gerekmektedir. Objektif verilerin elde edilebilmesi için hastalar tedavi öncesi ve sonrası tam bir klinik duyu

testinden (duyu fonksiyon testi) ve daha kapsamlı elektrofizyolojik testlerden geçmelidir.^{1,27,67,92} Klinik testler, inferior alveolar sinirin (çene ucu-alt dudak) dağılım bölgesinde mekanoseptif ve nosiseptif reseptörler olmak üzere iki temel kategoriye ayrılmaktadır. Mekanoseptif testlerde göreceli objektif testler, statik hafif dokunma ve fırça yön ayrımı, iki nokta ayrımı olarak alt gruplara ayrılır. Tamamen objektif testler trigeminal somatosensoriyel tepkisel potansiyel ölçümü, ortodromik duysal sinir aksiyon potansiyeli (SNAP), ve kırpma refleksi (blink reflex-BR) metodları ile yapılabilir. Nosiseptif testler ise pin-prick (iğne) ve ısısal ayırım (lokalizasyon, keskin/künt ayrımı ve dental vitalite) testleridir. Her bir klinik test farklı sinir lifleri için spesifiktir. Örneğin iki nokta ayrımı geniş, miyelinli, yavaş adapte olan A alfa duyu sinirleri için dizayn edilmiştir. Statik hafif dokunma ve fırça sürtme testleri, hassasiyeti geniş, miyelinli, hızlı adapte olan A alfa duyu sinir liflerinin ayrımı için seçilmiştir.^{1,112}

Ağrı, ısı, dokunma, basınç ve proprioseptif duyular, perioral bölgelerden inferior alveolar, lingual, infraorbital ve mental sinirler aracılığıyla merkeze iletilirler. Bu duyuların her biri değişik yaralanma ve iyileşme şekilleri gösteren farklı tip duyu reseptörleriyle ve sinir lifleriyle algılanır. Yaralanma sonrası bu duyular test edilmeli ve iyileşmesi takip edilmelidir.^{69,113-116}

Trigeminal somatosensoryel tepkisel potansiyel testi, periferik sinirin duyu potansiyelini göstermektedir. Trigeminal yolun elektrofizyolojik olarak değerlendirilmesini sağlayan bir yöntemdir. Test edilen kutanöz bölgeye uyarıları alan elektrodlar yerleştirilir ve elektroensefalogramla santral sinir sisteminden gelen cevap sinyalleri kaydedilir. Bu yöntem invaziv olmayan, oldukça objektif ve çok güvenilir bir testtir. Diğer bir yöntem ise inferior alveolar sinir fonksiyonunun monitörize

edildiği ortodromik SNAP kayıt yöntemidir. Periferik sinir fonksiyonun değerlendirilmesinde rutin olarak elektromiyografiyle birlikte kombine kullanılır. Kayıt elektrodu temporomandibular eklemin önüne zigomatik arkın altına mümkün olduğunca trigeminal sinirin mandibular dalının yakınına yerleştirilir. Uyarıcı iğne uçları mental foramene mümkün olduğunca yakın yerleştirilir. Kayıtlar alınır ve sinir kondüksiyon hızı hesaplanır. Kırpma refleksi ise trigeminal sinirin farklı dallarının tek taraflı elektrik stimülasyonu ile uyarılabilen gözün her iki tarafındaki kapatma kaslarının kontraksiyon refleksidir.¹¹²

2.6.3. Oral Ve Maksillofasiyal Bölgede Periferik Sinir Yaralanmaları Konservatif ve Cerrahi Tedavileri

Yaralanmış periferik trigeminal sinirin onarılmasında asıl amaç duysal fonksiyonu restore etmek ve iyileştirmek, ayrıca ağrıyı azaltmak hatta elimine etmektir.³ Günümüzde yetişkin bir hastanın şiddetli bir travma sonrası normal duyu ve motor fonksiyonlarının geri gelmesini garantileyen tamir teknikleri mevcut değildir ve cerrahi tamir tekniklerinin belli bir seviyede kaldığına dair genel bir kanı mevcuttur.⁴ Periferik sinir sistemi yaralanmalarında mikrocerrahi, doku yapıştırıcı, hizalama, greftleme (allogreft, otogreft), lokal anestezi ve/veya steroid enjeksiyonu, immobilizasyon, splint, braket, fizik tedavi, ve lazerle kaynaştırma veya bunların dışında özel farmakolojik nonsteroidal antiinflatuar ilaçlar gibi konservatif tedaviler de söz konusudur.

2.6.3.1. Konservatif Tedaviler

Sinir Yaralanması tedavisinde kullanılabilecek farmakolojik ajanlar şunlardır:

2.6.3.1.1. Kortikosteroidler

Doku şişmesini ve enflamasyonu azaltarak sekonder yaralanmayı azaltabilecekleri ve ayrıca membran stabilize edici etkileri ile normal homeostazi sağlayabilecekleri düşünülmektedir.^{59,117}

2.6.3.1.2. Antioksidanlar

Steroidlerin antioksidan etkilerinden yararlanmak ve istenmeyen yan etkilerinden kurtulmak için kullanılırlar.^{59,118}

2.6.3.1.3. Gangliosidler

MSS'nde bol miktarda bulunan glikolipidlerdir. Sinir rejenerasyonu ve akson gelişimini hızlandırmakta ve dejenerasyonu engellemektedirler. Travmayı takiben 72 saat içinde verilebilirler.^{59,119,120}

2.6.3.1.4. Kaspaz İnhibitörleri

Nörolojik hasar oluşmasından sorumlu apoptik hücre ölümünü bloke etmektedirler.^{30,59}

2.6.3.1.5. Kalpain İnhibitörleri

Kalpain onarılamayacak kadar hasar görmüş hücrelerin hücre iskeletinin parçalanmasından sorumludur. Kalpain inhibitörleri, hücre apoptozunun yavaşlatılmasını ve hücre iskeletinin şekillenmesini sağlamaktadırlar.^{59,121}

2.6.3.1.6. Selektif COX-2 İnhibitörleri

Nöron koruyucu ve klinik iyileşmeyi artırıcı etkileri vardır.⁵⁹
(Örn: selekoksib)

2.6.3.1.7. Melanokortinler

Melanokortinlerin (ACTH, MSH) büyüyen miyelinli ve miyelinsiz akson filizlerinin sayısını artırarak sinir rejenerasyonunu geliştirdikleri belirtilmektedir.¹²²

2.6.3.1.8. Kalsiyum kanal blokörleri

Nifedipin, Nimodipine gibi Ca^{+2} kanal blokörlerinin sinir rejenerasyonuna olan etkileri üzerine son zamanlarda yapılan çalışmalarda yüz güldürücü sonuçlar elde edilmektedir.^{123,124}

2.6.3.1.9. Kitosan

Kitosan, kitinden deasetilasyonla üretilen bir polisakkarittir.¹²⁵ Özellikle kemik dokuda iskelet olarak kullanılan biyomateryaller arasındadır.¹²⁶ Sinir dokuda kullanıldığında düşük bir mekanik dayanıklılık sağladığı ve bu nedenle kullanımının sınırlı olduğu bildirilmiştir.¹²⁷

2.6.3.2. Periferik Sinir Cerrahi Tedavileri

Periferik sinir yaralanmaları sonucunda; sinir bütünlüğünün bozulması, 4 aydan fazla süren anesteziler veya hipoestezilerin gelişme göstermemesi cerrahi tedaviyi gerektirmektedir.^{59,128}

Sinir yaralanmalarının cerrahi tedavisinde yaralanmış sinir segmentinin açığa çıkarılabilmesi ve mikronörocerrahi endikasyonunun gerçekleştirilebilmesi esastır.⁹¹

Mikrocerrahi sinir tamirinin endikasyonları şunlardır:

- a) Sinir kesisi veya laserasyonun gözlenmesi veya şüphesi,
- b) Yaralanmadan 3 ay sonra anestezi halinde bir ilerleme görülmemesi,
- c) Nöroma veya sinir sıkışmasına bağlı ağrı,
- d) Yabancı cisim veya kanal deformitesine bağlı ağrı,
- e) His azalmasında ilerleme veya ağrıda artış¹

Mikrocerrahinin kontrendikasyonları:

- a) Merkezi nöropatik ağrı,
- b) Anestezi halinin düzeldiğinin görülmesi,
- c) Nöropraksi,
- d) Kabul edilebilir düzeyde parestezi,
- e) Metabolik nöropati,
- f) Sistemik durumu iyi olmayan hastalar,
- g) Yaşlılık
- h) Yaralanmanın üzerinden fazla vakit geçmiş olması¹

Periferik sinir cerrahi onarımı farklı şekillerde yapılabilir;

2.6.3.2.1.Dikiş

Epinöral veya fasiküler olmak üzere iki şekilde yapılabilir. Epinöral suture; tamamıyla kesik olmuş sinirlerde kısa sürede kolayca uygulanabilen klasik bir yöntemdir, fakat fasiküllerin tam uç uca yaklaştırılamaması dezavantajıdır.^{59,128} Ayrıca sinirin gereğinden fazla manuplasyonu ve buna bağlı travma ve sinirin ulaşılması zor anatomik bölgelerde oluşu bu tekniğin dezavantajları arasındadır.⁹³ Fasiküler dikiş yönteminde ise; fasiküler bütünlüğün daha kolay sağlanabilmesine karşılık daha uzun sürmesi ve uygulanabilirliğinin zor olması dezavantajdır.^{18,27,93}

2.6.3.2.2. Greft Uygulaması

Sinir allogrefti ve ksenogrefti iyi birer alternatiftir. Kas greftleri kullanılabilir. ^{15,59,129}

Pek çok donör sinir grefti tanımlanmıştır, ancak en kolay uygulanan sural grefttir.¹⁸ Greftin uzunluğu gerilim oluşmaması için önemliyken, özellikle sinir greftlerinde santral nekrozu önlemek adına greft çapı çok geniş olmamalıdır.^{59,129}

2.6.3.2.3. Sinir transferi

Periferik sinir cerrahisi alanındaki gelişmelerle birlikte yeni donör sinir kaynakları arayışı başlamıştır.¹⁵ Sinir transferi üst ekstremitelerde kullanılan bir tekniktir. Bu yöntemde proksimal sinirde hasar gören kısım distal tarafa taşınmaktadır.¹⁸ Birçok cerrah tarafından kabul görmüş bir mikrocerrahi tekniğidir, ancak sağlıklı duyu sinirini almak için ekstra insizyon gerekliliği ve donör bölgede his bozukluğu gibi dezavantajları da vardır.¹⁵

2.6.3.2.4. Uç-uca nörorafi

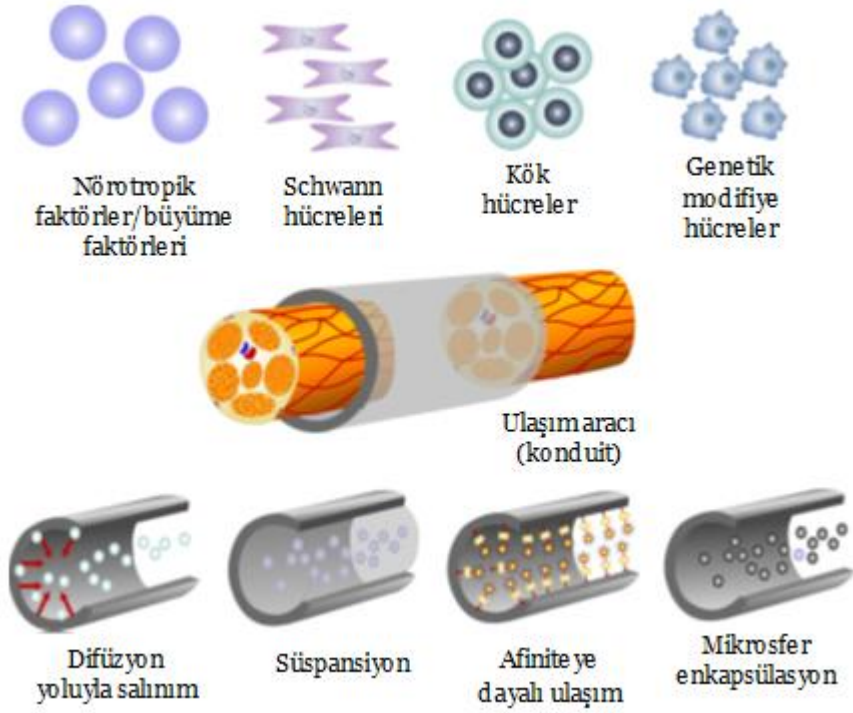
1990'larda tanımlanmış olan bu teknik proksimal sinir ucunun mevcut olmadığı durumlarda yaralanmış bir sinirin distal ucunu hasarsız bir donor sinirle uç-uca getirme işlemidir. Klinik olarak başarılı bir teknik olarak görünse de yapıştırılmış distal sinirde aksonların büyüme mekanizması tartışmalıdır.^{15,18}

2.6.3.2.5. Doku Adezivleri

Son zamanlarda sinir anastomozları, fibrin ve siyanoakrilat yapıştırıcı gibi adhezivlerin, cerrahi zorlukları azalttığı belirtilmektedir. Siyanoakrilat sentetik yapıştırıcı anastomozun devamlılığını gerilimsiz sağladığı ve viral transmisyonu engellediği için önerilmektedir.⁹³ Ancak mikronöral anastomoz sağlamada kullanılan bu materyallerin sinir fleksibilitesini ve elastisitesini azalttığı, sitotoksik etkisi ile uygulama bölgesinde büzülmeye ve progresif fibröz doku reaksiyonuna neden olduğu belirtilmiştir.¹³⁰

2.6.3.2.6. Nörotropik Faktörler ve Büyüme Faktörleri

Sinir rejenerasyonunun sağlanmasında sinir kondüitleri (NGC), büyüme faktörleri (vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), fibroblast büyüme faktörü (bFGF)), nörotropik faktörler (nörotrofin-3 (NT3), NGF vb.) ve hücre terapileri (Schwann hücresi (Sc), kök hücre) ile ilgili pek çok çalışma yapılmaktadır.¹³¹⁻¹³³



Şekil 8: Hücresel ve moleküler tedavi örnekleri ve uygulama şekilleri.¹³⁴

2.6.3.3. Oral ve Maksillofasiyal Bölge Sinirlerinin Tedavi Yöntemleri

Günümüzde hala üçüncü molar çekimi sırasında sinir hasarı yaşayan hastaların tedavisinde karışıklık devam etmektedir ve kesin uygulanan bir prosedür gelişmemiştir. Minör derecede hipoestezili ya da hafif parestezili kalan hastaların, herhangi bir müdahaleden yarar görmesi zor olabileceğinden, tedavi edilmeden bırakılmaları en iyi yaklaşım olabilmektedir. Oysa bariz bir duyu kaybı veya ağrılı bir duyu bozukluğu yani dizestezi müdahaleden fayda görebilmektedir.¹³⁵

2.6.3.3.1. Inferior Alveolar Sinir Hasarının Tedavisi

2.6.3.3.1.1. Üçüncü molar çekimi sırasında

Az sayıda hastada inferior alveolar sinir hasarı operasyon sırasında farkedilmektedir. Nörovasküler demet mandibuler kanalla korunmakta olduğu için kesiden sonra bile sinir uçları rekrakte edilmediği takdirde primer tamir gerektirmemektedir. Sinir damar paketinden gelen kanama nazikçe tamponla kontrol altına alınmalı, elektrocerrahi gibi yöntemler kullanılmamalıdır. İodoformlu patlar veya Surgicel gibi medikamanlar veya hemostatik ajanlardan da kaçınılmalıdır, çünkü bu materyaller sinirde kimyasal hasara sebep olabilmektedirler. Nadir vakalarda sinirin iki ucu yer değiştirebilir ve diş soketinden ayrılabilir. Bu durumda lup veya operasyon mikroskobu yardımıyla epinöral suture (8.0-9.0 monofilaman poliamid suture) yaklaştırılmaları gerekir. Bu prosedür ancak hasta genel anestezi altındayken mümkün olabilir. Bu aşamada sahaya ulaşım ve görüş oldukça zordur.¹³⁵

Loecher ve arkadaşları¹³⁶ üçüncü molar cerrahisi ve sinir hasarı konusu üzerine yaptıkları yayında gömülü dişin çekimi sırasında kullanılan tekniklerin yarattığı sinir hasarlarını göstermişlerdir. Bu yazarlara göre;

1) Mandibular kanalla çok yakın ilişkide olan köklere sahip dişin elevasyonu sırasında kompresyon yaralanması gerçekleşebilir. Sinirdeki minimal baskı veya birinci derece yaralanmalar Seddon'un nörapraksi olarak tanımladığı geçici kondüksiyon bloğuna sebep olmaktadır.

2) Daha şiddetli baskı veya ezilme yaralanması, yaralanan bölgenin distalindeki aksonda Wallerian dejenerasyonuna sebep olmaktadır ve

duyunun geri dönmesi aksonların rejenerasyonuna bağlıdır. Seddon bu ikinci derece yaralanmayı aksonotmezis olarak tanımlamıştır.

3) Gerilme yaralanması, örneğin lingual mukoperiosteal flep kaldırılması sırasında ve endonöryum veya perinöryumda rüptür meydana gelmesiyle üçüncü veya dördüncü derece yaralanma oluşabilmektedir.

4) Inferior alveolar sinir köklerin arasına giriyorsa ve çekim sırasında şiddetli şekilde yaralandıysa, Seddon'un nörotmezis olarak tanımladığı sinir gövdesinde tam kopma veya beşinci derece yaralanma meydana gelebilmektedir.

5) Pek çok yaralanma şekli bu sınıflamaya uymamaktadır ve daha komplikedir. Örneğin dönel aletler lingual siniri iki parçaya bölebilir veya gerebilir. Sinirin etrafındaki inflamasyon enfeksiyona yol açabilir veya yabancı cisim varlığı sinir fonksiyonunu değiştirebilir ve ağrı hissini arttırabilir.^{136,137}

2.6.3.3.1.2. Postoperatif kontroller sırasında

Klinisyenler sinir yaralanmalarını genellikle postoperatif kontrollerde operasyondan yaklaşık bir hafta sonra farketmektedirler. Bu aşamada hastada derin anestezi veya değişen derecelerde parestezi veya dizestezi mevcut olabilir. Eğer mental bölgede dudakta veya çene ucunda mekanik stimülasyonla uyarılan bir miktar his varsa, en azından bir kısım sinirin intakt kaldığının göstergesidir ve tamamen iyileşmesi mümkündür. Bunun yaralanma sahasında sinirsel aktivitenin başlayabileceği ve spontan iyileşmenin öngörülmediği spontan paresteziden (hasta tarafından etkilenmiş sahanın karıncalanması olarak tabir edilen) ayırt edilmesi gerekmektedir.¹³⁵ Bu şartlar altında 2 yıllık takipte herhangi bir gelişme

görülmezse veya histe değişiklik yoksa sinir disfonksiyonu olarak tanımlanmaktadır.⁵² Tam bir anestezi hali varsa uygun bir radyografiyle üçüncü molar diş bölgesinde mandibuler kanal görüntülenmelidir. Eğer kanalın tavanında kortikal kemik fragmanı yer değiştirmişse ve kanalda tıkanıklığa sebep olmuşsa alınması uygundur. Çoğu vakada tıkanıklık fark edilemez, fakat zamanla herhangi bir müdahalede bulunmadan iyileşme gerçekleşebilir. Sinir yaralanması durumunda hastaya çok iyi bilgi verilmeli ve bundan sonra olabilecekler anlatılmalıdır.¹³⁵

2.6.3.3.1.4. İyileşmenin İzlenmesi

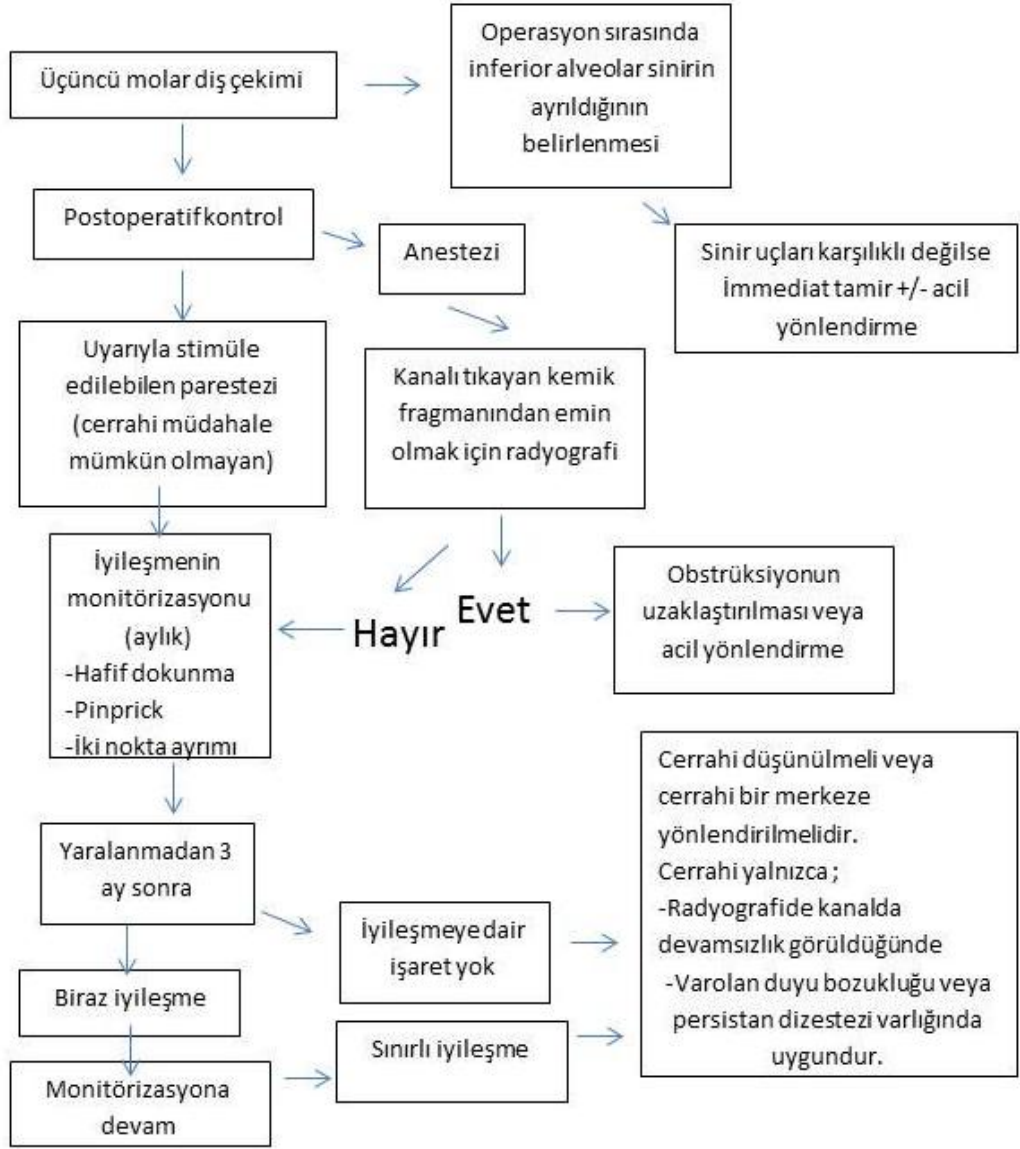
Duyu hissinin iyileşmesini izlerken pek çok değişik metod tanımlanmıştır, fakat rutin klinik kullanım için yalnızca basit bir yaklaşım yeterlidir. Hafif dokunma stimülasyonu, iğne stimülasyonu, iki nokta ayrımı ölçümleri erken iyileşmeyi yakalamak için yeterlidir. Bu testler aylık aralıklarla tekrarlanmalıdır.

Üç ay içinde herhangi bir iyileşmenin görülmediği hastalarda cerrahi tedavi düşünülmeli ve hastaya bildirilmelidir.¹³⁵

Bir başka deyişle gözle görülen yaralanmalarda 3 ay içinde tamir önerilirken sonradan teşhis konulmuş yaralanmalarda, azalmış sinir kondüksiyon bozukluklarında yaralanmadan sonraki 1 yıla kadar cerrahi tamir önerilmektedir.⁴⁷

IAS'e bağlı uzun süreli duyu değişikliklerinde kullanılabilen birkaç tedavi metodu vardır. Sinir tamirinde epinöral, perinöral tamir,

otojen interpozisyonel sinir grefti, ven grefti, entübülasyon, nörotropik faktörle veya tek başına çok fazla sayıda cerrahi yaklaşım vardır. Bazı kalıcı sinir değişiklikleri, kondüksiyon bloğuna bağlı veya kompresyon sonucu rejenerasyonu engelleyen ve siniri sıkıştıran skar dokusu oluşumuna bağlı olabilmektedir. Bu durum genellikle eksternal ve internal nörolizis gerektirir. Nöroma oluşumu durumunda ise nöromanın rezeksiyonu ve sağlıklı sinir fasikülleri kalana kadar segmentlerin debridmanı yapılmaktadır.^{91,92}



Şekil 9: Üçüncü molar diş çekimi sonrası inferior alveolar sinir yaralanmasının tedavisini gösteren algoritma.¹³⁵

2.6.3.3.2. Lingual Sinir Hasarının Tedavisi

2.6.3.3.2.1. Üçüncü Molar Çekimi Sırasında

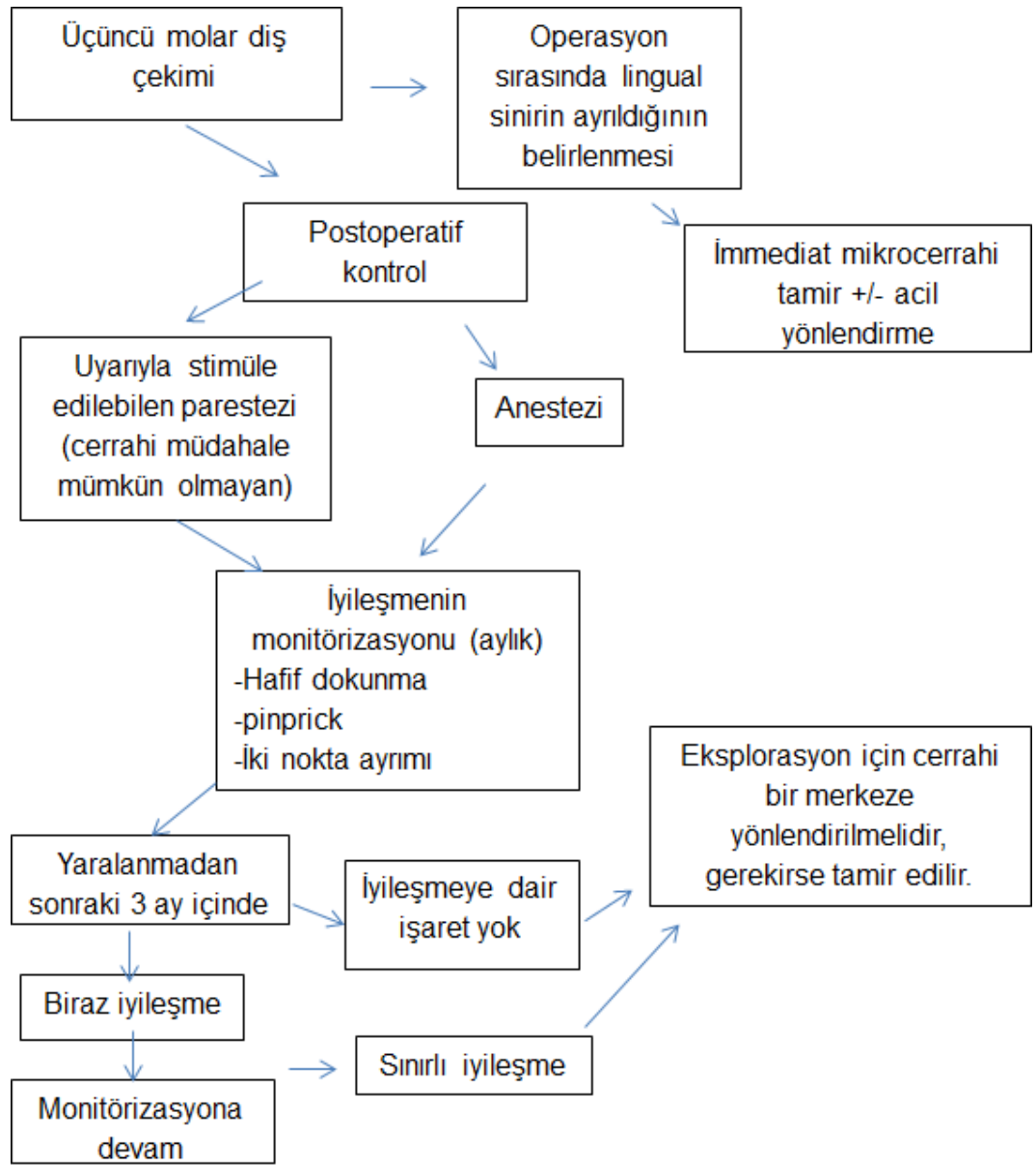
Üçüncü molar diş çekimi sırasında uygulanacak teknik sinir hasarı insidansını yakından etkilemektedir. Bu nedenle her türlü iyatrojenik yaralanmayı azaltmaya yönelik bir cerrahi teknik planlanmalıdır. Lingual flep retraksiyonundan kaçınılması bu açıdan iyi bir yaklaşımdır. Az sayıda hastada çekim esnasında lingual sinir hasarı kaydedilmiştir. Böyle durumlarda eğer hasta genel anestezi altındaysa immediat cerrahi tedavi uygulanmalıdır. 8/0 monofilaman poliamid epinöral suturela operasyon mikroskobu yardımıyla tamir önerilmektedir.¹³⁵

2.6.3.3.2.3. Postoperatif kontroller sırasında

Inferior alveolar sinir hasarında bahsedildiği gibi klinisyen genellikle yaralanmanın postoperatif döneminde durumun farkına varmaktadır. Bu erken safhada duysal değişikliğin şiddeti iyileşme potansiyelinin göstergesidir. Dile yapılan mekanik uyarılarla his alınabiliyorsa, sinirin en azından bir kısmı intakt kalmış ve fonksiyon göstermektedir. Bu nedenle tamamen iyileşmesi mümkün olabilir. Yine hasar bölgesinde nöral aktivitenin başlamasıyla spontan parestezi görülebilir ve bunu mekanik stimülasyonla alınan histen ayırd etmek gerekir. Bu testin sonucu ne olursa olsun, hastaya kısa aralıklarla kontrol önerilmeli ve bu sinir hasarı açıklanmalı, sekel ihtimali anlatılmalıdır. Bu kontrol süreci hissizliğin darbe yüzünden mi, yoksa kesi sonucu olup olmadığının ayırd edilmesine yardımcı olur.¹³⁵

2.6.3.3.2.4. İyileşmenin İzlenmesi

İnferior alveolar sinirdeki gibi yaklaşık birer aylık aralıklarla hafif dokunma, iğne stimülasyonu ve iki nokta ayrımı test sonuçları kaydedilmelidir. Üç ay içerisinde herhangi bir iyileşme görülmezse cerrahi müdahale önerilmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalar olası bir gecikmenin, sonucu az da olsa olumsuz etkilediğini göstermiştir. Eğer üç aylık süreçte sinirin iyileştiğine dair bir belirti görülürse, izlemeye sonraki 3-6 ay daha fazla ilerleme gözlenmeyene kadar devam edilmelidir. Bu aşamada zayıf bir iyileşme veya dizestezi mevcutsa operasyon düşünülmelidir.¹³⁵



Şekil 10: Üçüncü molar diş çekimi sonrası lingual sinir yaralanmasının tedavisini gösteren algoritma.¹³⁵

2.7. Lazerler

LASER ‘Radyasyonun uyarılmış emisyonu ile ışığın güçlendirilmesi’ anlamına gelen, *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* kelimelerinin baş harflerinden oluşmaktadır.^{138,139}

Lazerler klinik kullanım ve etki şekillerine göre;

1.Cerrahi (sert) Lazerler

2.Düşük Enerji Seviyeli Lazerler (Biostimülan) olarak ayrılırlar.

Tıbbın birçok dalında termal destrüktif ve selektif fotokoagülasyon özellikleri kullanılmaktadır. Ancak son zamanlarda düşük enerji seviyeli lazerler popüler hale gelmiş ve birçok araştırmada kullanımı artmıştır.¹⁴⁰

Terapötik lazerleri tanımlamak ve cerrahi lazerlerden ayırmak için yumuşak, soğuk, düşük yoğunluklu lazer, düşük enerji seviyeli lazerler gibi isimler verilmiştir. Terapötik lazerler sınıf 2-3, cerrahi lazerler ise sınıf 4 medikal cihazlar olarak sınıflandırılmaktadır. Bu lazerlerin etkisi fotobiyostimülasyon veya biyostimülasyon olarak bilinmektedir.¹⁴¹

Düşük enerji seviyeli lazer (DESL) terapisi, cerrahi olmayan bir yöntemdir. Primer faydası, ağrı, ödem ve inflamasyonu azaltmasıdır. Periodontal hastalıklar, çeşitli yaralar, temporomandibular bozukluklar ve fibromiyaljik durumlar düşük enerji seviyeli lazerlerle tedavi

edilebilmektedir.^{92,139,141,142} 30 yılı aşkın süredir düşük enerji seviyeli lazerler ilgi çekmekte ve medikal, dental, fizyoterapi ve veterinerlik alanlarında hala konu hakkında araştırmalar sürdürülmektedir.¹⁴¹

2.7.1. Tarihçe

Işık tedavisinin temelleri dereceli olarak aktinoterapi ve fototerapiye dönüşen helioterapiye dayanmaktadır. 1903'te Finsen lupus vulgaris tedavisi için lens ve filtre içeren bir karbon lambası geliştirerek Nobel ödülü kazanmıştır.^{139,141} Sonrasında tüberküloz ve açık yaraların tedavisinde aktinoterapi kullanılmıştır. 1919'da rikets tedavisinde UV radyasyonun kullanımı başlamıştır. Aktinoterapi aynı zamanda ülserlerin ve karbonküllerin iyileşmesini stimüle etmektedir ve akne vulgaris tedavisinde ve ağrının hafifletilmesinde kullanılmaktadır. Yine de potansiyel karsinogenik yan etkileri kullanımını sınırlandırmaktadır.¹⁴¹

İlk lazerin Los Angeles'ta 1960 yılında Theodore Maiman tarafından geliştirilmesinden sonra lazer araştırmalarına olan ilgi artmıştır.¹³⁹ 1960'ların sonlarında Budapeşte'de Dr. Andre Mester düşük enerji seviyeli yakut ve He-Ne lazerlerin potansiyel karsinogenik etkilerinin araştırmak üzere bir çalışma başlatmıştır.^{141,143} Dozajla ilgili önceden yapılmış deneyler Arndt-Schultz kuralını desteklemektedir; aynı dalga boyu düşük dozda stimülasyon sağlarken, yüksek dozda inhibisyon yapabilir. Çok düşük dozların herhangi bir etkisi olmaz, terapötik bir etki için belli bir doz aralığına ihtiyaç vardır. Bu aralığı aşan dozlar ise etkiyi inhibe etmektedirler.^{139,141} 1970'lerde düşük enerji seviyeli lazer uygulamaları başlamıştır. Düşük enerji seviyeli lazerler daha ucuz, daha yüksek güçte (30 mW ya da daha az) semikondüktörlerin kullanıldığı (Ga-Al-As veya Ga-As) Avrupa, Asya, Güney Amerika ve Avustralya'da

popülerlik kazanmaya başlamıştır. 1990'larda, makul fiyatlarda yüksek doz ileten lazerlerin gücü artmış ve daha etkili oldukları kanıtlanmıştır. En son karpal tünel sendromu ve iskelet kas kaynaklı minör kronik boyun ve omuz ağrısı tedavisinde FDA onaylı tedavide kullanılmaya başlanmış, ve terapötik lazerlerin pozitif etkinliği ve gelişimi kanıtlanmıştır.¹⁴¹

Oral ve maksillofasiyal bölgede ise düşük enerji seviyeli lazerler, yara iyileşmesi, aftöz ülser tedavisi, dişlerde plak formasyonunun inhibisyonu, diş çekim soketlerinin ve implant sonrası iyileşmesinin hızlandırılması, sinir yaralanmalarının tedavisi, ağrılı temporomandibuler eklem bozuklukları ve diğer fibromiyaljik hastalıklarda kullanılmaktadır.^{143,144}

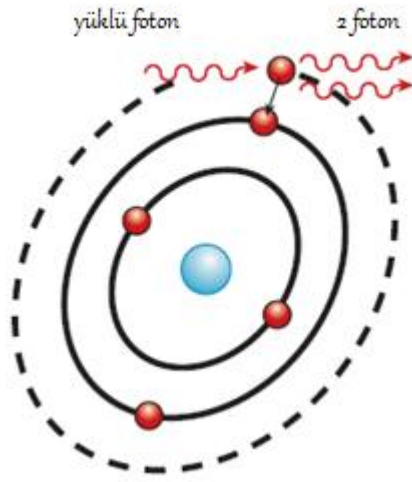
Ga-Al-As (Galyum-Alüminyum-Arsenid lazer 780-890 nm) 1980'lerin sonunda geliştirilmiştir. İlk başta 10 ila 30 mW arası tasarlanmış ancak 1990'ların sonunda 500 mW güce ulaşmıştır.¹⁴¹

2.7.2. Lazer Işınının Temel Özellikleri

2.7.2.1. Lazer Işınının Elde Edilmesi

Boltzman prensibine göre, alt enerji seviyesinde üst enerji seviyesinden daima fazla atom bulunmaktadır. Lazer için bunun tersine çevrilmesi gerekmektedir. Alt enerji seviyesine temel durum, üst enerji seviyesine de uyarılmış durum denilebilir. Bir atom temel durumda ise ve uygun dalga boyunda fotonlar içeren bir radyasyon alanı üzerine doğru geliyorsa, bir foton absorbe ederek uyarılmış duruma geçebilir. Bir süre sonra atom kendiliğinden aynı dalga boyunda bir foton yayacak ve tekrar

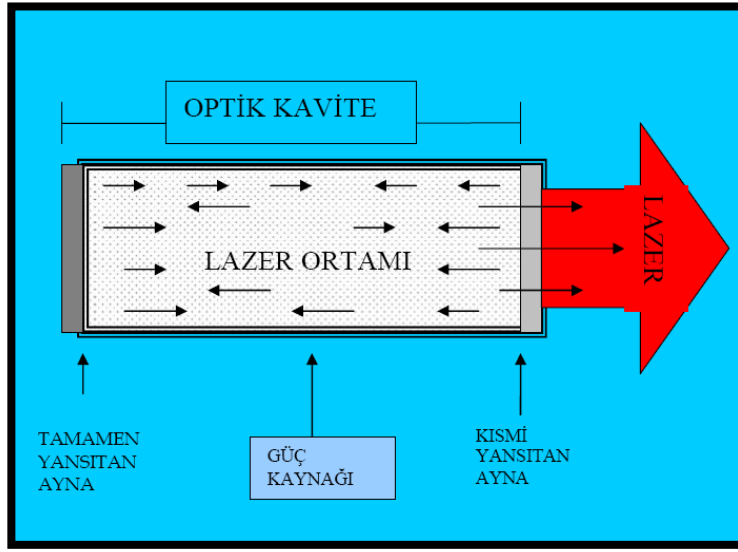
temel duruma dönecektir. Bu noktadan hareketle, Einstein 1917’ de uyarılmış atomun temel duruma dönmesi için bir başka yol olduğunu göstermiştir. Uyarılmış atom uygun dalga boyunda bir başka radyasyon alanına konulursa, foton salarak (emisyon) temel duruma geçmesi için uyarılacaktır. Spontan emisyonunda, salınan foton, gelen radyasyonla ilgisiz ve rastgele bir yönde olurken; uyarılmış emisyonunda, salınan fotonlar gelen ışınla eş zamanlı ve uyumludur (koherent). Lazer ışınları bu prensibe göre elde edilmektedir.¹⁴⁵



Şekil 11: Uyarılmış emisyon gösteren aktif bir atomun, 2 foton açığa çıkararak kararlı hale geçebilirliği.¹³⁸

Lazer aleti içinde lazer ortamı ve bu ortamın her iki tarafında birbirine paralel aynalar bulunmaktadır. Lazer ortamı başlangıçta aktif durumda değildir. Lazer ortamına gelen uyarıcı ışık, ortamı aktif hale getirir. Dışarıdan gelen bu uyarıcı ışık enerjisi, ortamdaki moleküllerin dizilimini tersine çevirirerek enerji verecek duruma getirmektedir. Uyarılmış bir atom tarafından üretilen bir fotonluk enerji, ışık kaynağınca uyarılmış diğer bir atomdan bir fotonluk enerji açığa çıkmasını sağlar ve iki fotonluk enerji birikir. Işık kaynağından çıkan foton enerjisi, belirli bir ortamdan geçirilerek bu ortamın atomlarındaki elektronların dönüş hızı arttırılmakta

ve böylece gelen ışıklardan çok farklı, yeni bir foton enerjisi elde edilerek, tek bir doğrultuda sevk edilmektedir. İlk ışık kaynağı veya bu ışığın geçtiği ortamı değiştirerek çok farklı özellikleri olan lazerler elde etmek mümkündür.¹⁴⁶



Şekil 12: Şematik olarak lazer cihazı.¹⁴⁷

2.7.3. Düşük Enerji Seviyeli Lazerler

Düşük enerji seviyeli olarak birçok lazer çeşidi kullanılmaktadır. Tedavi edici güç aralıkları 1-1000 mW arasında değişmektedir. Farklı dalga boyları ve farklı ışınım şekillerinde olabilirler.^{141,148}

2.7.3.1. Galyum-Alüminyum-Arsenid (Ga-Al-As) Diyot Lazer

820-830 nm dalga boyunda ve genellikle 10-70 mW'da kullanılmaktadır, fakat 500mW'a kadar gücü yükseltilmiştir.^{139,141} Yüksek doku penetrasyonlu lazer olarak bilinmektedir.¹⁴⁹ Dokulara rahat penetre olur, hemoglobin ve su tarafından oldukça az absorbe edilir. Oral mukoza ve kemiğin 4-8 mm altında seyreden sinir dokusuna ulaşabilmektedir.^{150,151} Yüksek penetrasyon özelliğinden dolayı Ga-Al-As diyot lazer, trigeminal sinir parestezisi tedavisinde kullanılır.¹⁵² Lezyona kontakt ettirilmeden uygulanır. Yine bazı vakalarda kontaktlı da çalışılabilir.¹⁵³

2.7.3.2. Galyum-Arsenid (Ga-As) Diyot Lazer

904-910 nm dalga boyunda kullanılan, yarı iletken lazer grubundadır. 100 mW çıkış gücüne kadar yükseltilebilir. Subkutanöz dokulara derin penetrasyon gösterir.

2.7.3.3. Argon-İon Lazer

458 ya da 514 nm dalga boylarında üretilmektedir. Görünür mavi veya mavi-yeşil ışık yaymaktadır. Vaskülerize dokular tarafından absorpsiyonu yüksek olduğundan vasküler malformasyonlarda kullanılmaktadır.¹⁵⁴ Fakat bu lazerin enerjisi 100-400 mW düzeyine düşürüldüğünde DESL tedavilerinde kullanılabilir.

2.7.3.4. He-Ne (Helyum-Neon) Lazer

Yaygın olarak kullanılan, ucuz, 633 nm dalga boyunda kullanılan bir lazer çeşididir. Epitelyal büyümeyi ve periferel sinir sistemi iyileşmesini indüklediği bildirilmiştir. Lezyonun yüzeyine uygulanmaktadır. Tedavi prosedürünün ihtiyacına göre kontaklı veya kontaklızs kullanılabilir. ^{150,155}

2.7.3.5. Defokus CO₂ Lazer

CO₂ lazerler daha çok cerrahi uygulamalarda kullanılmaktadır. Oral ve maksillofasiyal cerrahide en çok kullanılan lazerdir. DESL tedavisinde 10600 nm dalga boyunda, 0,5-1 mW güç aralığında atımlı, devamlı dalga halinde kullanılmaktadırlar. ^{139,156}

2.7.3.6. Er:YAG (Erbiyum:yttriyum alüminyum garnet) Lazer

2940 nm dalga boyunda ve daha sıklıkla sert doku lazeri olarak kullanılan Er:YAG lazer, atımlı (pulse) dalga halinde preemptif analjezi amacıyla ya da aftöz lezyonların tedavisinde kullanılabilir. ¹⁵⁷

2.7.3.7. Defokus Nd:YAG (Neodymiyum:yttriyum alüminyum garnet) Lazer

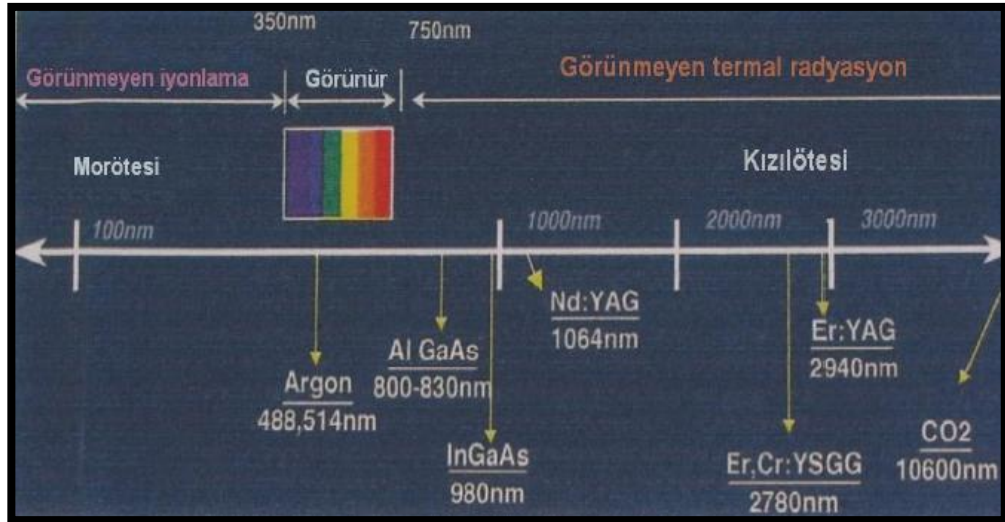
1064 nm dalga boyunda kızılötesi ışık yayan defokus Nd:YAG lazer genellikle oftalmolojide terapötik olarak kullanılmaktadır. ¹⁵⁷

2.7.3.8. LED (Light Emitting Diode) Lazer

600-660 nm dalga boyuna sahip yüksek güçte kombine lazerlerdir. LED lazerler diğerlerinden farklı olarak daha geniş çıkış alanına sahiptir. Daha az monokromatiktir (tek veya birkaç dalga boyu içermesi) ve daha az koherense (ışınlar arasındaki uyum, paralellik) sahiptir. Ancak ucuz olma avantajı vardır.¹⁴⁸

2.7.3.9. In-Ga-Al-P (İndiyum-Galyum-Alüminyum-Fosfat Lazer

1990'ların ortalarında yara iyileşmesinde He-Ne lazerlere alternatif olarak geliştirilmiştir. 630-700 nm dalga boyunda, 25-50 mW güçte kullanılmaktadır.¹⁴¹



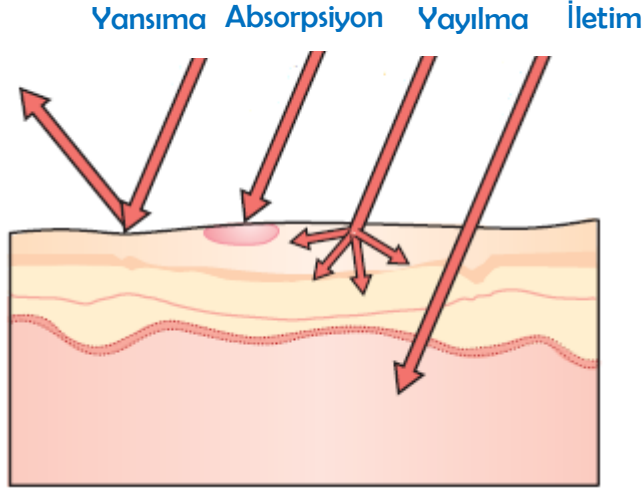
Şekil 13: Elektromanyetik Spektrum.¹⁵⁸

2.7.4. Dozaj ve Hesaplaması

Geniş bir terapötik doz aralığı olsa da önemli olan optimum dozu uygulamaktır. Verilecek enerji toplamı $mW \times \text{zaman}$ (örneğin; $100mW \times 10sn=1000mj=1 j$), doz ise enerjinin uygulama alanının cm^2 cinsinden ölçümüne bölünmesi ile bulunmaktadır. Örneğin alanın ölçümü $1 cm^2$ ise doz $1/1=1j/cm^2$ olur. Eğer alan $0,25 cm^2$ ise, doz $1/ 0,25= 4 j/cm^2$ olur. Lazer ışınları dokuya girdikten sonra yansıtılır, emilir, iletilir veya dağılır. Lazer probu ve hedef doku arasındaki dokunun kalınlığı ve dokunun türü göz önünde bulundurulmalıdır. Örneğin lazer ışığı mukoza ve yağ dokusundan kas dokusuna oranla daha kolay geçmektedir. Hemogloblin ve diğer pigmentler lazer ışığını kuvvetli emerler ve bu nedenle dozun yükseltilmesi gerekmektedir. Penetrasyon oranı dokuya basınç yapılarak, lazerin dokuya yaklaştırılması ve lokal iskemi yaratılarak arttırılabilir. Ayrıca cildin rengi de düşünülmelidir, çünkü melanin ışığa karşı yüksek emilim özelliğine sahiptir.^{159,160}

2.7.5. Lazer Doku Etkileşimi

Lazer ışınları dokuda yansıma, abzorpsiyon, yayılma ve iletim olmak üzere 4 şekilde reaksiyon verir. Lazerin etkinliğinin ortaya çıkabilmesi için istenen etki absorpsiyondur. Daha önce de bahsedildiği gibi doku kalınlığı, pigmentasyonu ve rengi absorpsiyonu etkiler.



Şekil 14: Lazer-doku etkileşimi.¹³⁸

2.7.6. Düşük Enerji Seviyeli Lazerlerin Etki Mekanizması

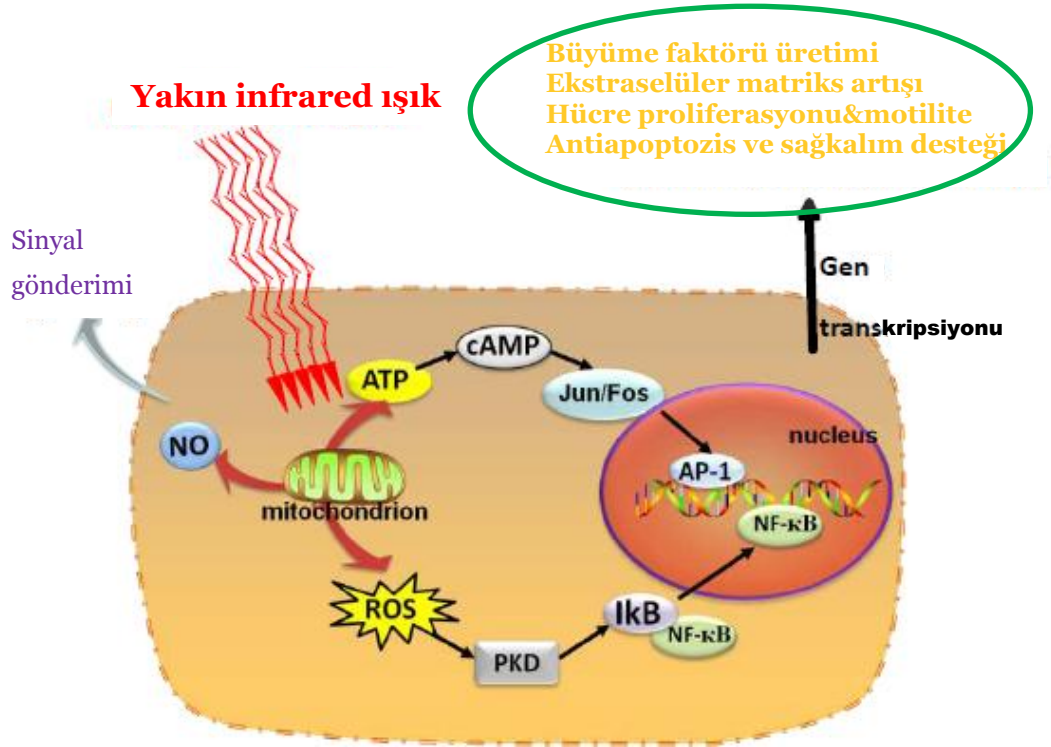
DESL'nin etkisi hücresel, hatta moleküler düzeyde gerçekleşir. En kaba tanımla hücrelere biyostimülatif ışık enerjisi sağlamaktadır. Hücresel fotoreseptörler ışığı emerek doğrudan hücrenin enerjisini üreten mitokondriye iletirler.

DESL'in tedavi edici mekanizmasını açıklayan teori fotokimyasal etkisi üzerinedir. Bu teoriye göre ışık biyolojik olaylardan sorumlu belli moleküllerce emilir. Bahsedilen fotoreseptörler ATP üretimini arttıran sitokrom C-oksidad gibi, endojen porfirinler ve solunum zincirinde rol oynayan moleküllerdir.¹⁶¹

DESL'de ışığın koherent (ışın dalgaları arasındaki uzamsal ve zamansal uyumluluk, paralellik) özelliği tedavi etkinliğinde çok önemlidir. Koherensin şiddeti ışık kaynağının spektral darlığına bağlıdır.

He-Ne lazerlerde tipik olarak en dar spektrum aralığı mevcutken, diyet lazerlerde 1 ila 100 nm arasındadır. Nonkoherent diyet sistemlerin de kendilerine özel etkileri vardır. Fakat etkileri yüzeysel dokularda sınırlı olmasına rağmen, ortaya çıkan metabolitlerin derin dokulara inmesi ile etkisi derinlere ulaşır. Yara iyileşmesi üzerine olan etkileri konusundaki çalışmalarda ışığın polarizasyonunun etkili olduğu belirtilmiştir. Nonkoherent ışıklarda polarizasyon özelliği dokuya girdikten hemen sonra kaybolur. Lazer ışığının koherent özelliği dokuya girdikten sonra da bozulmaz fakat koherent ve polarize adacıklar halinde benek denen parçalara bölünürler. Bu benekler dokunun tüm ışınlanan hacmi boyunca özelliğini kaybetmez. Benekler arasındaki yoğunluk farklılıklarından ötürü, ısı ve elektriksel gradyanlar oluşur. Bu gradyanlar hücreler ve organeller üzerinde baskı yaratırlar. Bu gradyant baskısı örneğin mitokondrilerde aktivite artışına neden olur. Lazerin diğer özelliklerinden penetrasyon karakteristiği, ışık konfigürasyonu ve ışığın gücü de lazerin etkinliğinde önemlidir.¹⁴¹

Düşük enerji seviyeli lazerler 0.1° C den düşük ısı yükselmelerinde dokudan geçebilir.¹⁴³ DESL'lerin lokal etki göstermelerinin yanında sistemik genel bir etkileri de vardır.¹³⁹ Kızılötesi lazerler (Nd:YAG, Er:YAG, Ho:YAG, CO₂) görünür lazerlere oranla daha derin doku penetrasyonu sergilerler. Bunun yanında lazerin tedavi etkisi için hedef hücrelere ulaşmasına gerek yoktur. CO₂ lazer, defokus pozisyonunda biyostimülatör olarak derin dokulardaki patolojilerde örneğin bir tendonitis vakasında kullanılabilir. Defokus pozisyonundaki bir lazerde doku penetrasyonu çok sınırlıdır ve uzak etkisi ancak kana dökülen metabolitler sayesinde olur.^{143,159,160}



Şekil 15: Düşük enerji seviyeli lazerlerin mitokondriye etkileri.¹⁶²

2.7.7. Oral Cerrahide Düşük Enerji Seviyeli Lazer Uygulamaları

DESL'ler diş hekimliğinde ve tıpta birçok alanda kullanılmaktadır. Oral ve maksillofasiyal cerrahide uygulamaları ise şu şekildedir:

2.7.7.1. Yara İyileşmesine Etkisi

DESL'in etki mekanizmasının anlatıldığı en popüler olay yara iyileşmesidir. Yapılan deneysel hayvan ve klinik çalışmalarla da etkinliği gösterilmiştir.¹⁶³⁻¹⁶⁵ Mester yaptığı elektron mikroskobu incelemelerinde yoğun kollajen fibril birikiminin, hücre proliferasyonunun arttığını ve

prostoglandin seviyesinin yükseldiğini belirtmiştir. Mikrosirkülasyonun artması sonucunda yara sınırları çevresinde bir renk değişimi, kızarıklığın artması gözlenir. Daha tedavinin başlangıç aşamasında hastada yara iyileşmesi hızlanmasının bir kanıtı olarak yara bölgesinde karıncalanma başlar.^{139,158} DESL'ye karşı ilk cevap uygulandığı bölgede ortaya çıkar. Ancak prostoglandinler, enkefalinler ve endorfinler gibi üretilen ve kan dolaşımına karışan fotokimyasal ürünlerin sekonder cevap oluşturduğu ve etkinin birkaç saat ile birkaç gün arasında devam ettiği bildirilmektedir.¹³⁹

2.7.7.2. Kemik İyileşmesi ve Osteointegrasyona Etkisi

Lazerin kemik formasyonuna etkisi henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Bu konuda en çok kabul gören hipoteze göre, lazer enerjisi sitokromları aktive ederek hücre aktivitesini, ATP ve ALP konsantrasyonunu artırarak kalsiyum salınımını sağlamaktadır.¹⁵⁶ Fraktürlerde, kemik defektlerinde, implant uygulamalarında ve diş çekiminde DESL uygulaması ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. DESL indükleyici faktör gibi davranarak osteoblastların osteositlere değişimini sağlamaktadır. Bazı çalışmalara göre de, DESL vaskülarizasyonu ve antienflamatuar etkiyi artırarak, kemik matriks üretimini stimüle etmektedir. Bu da mediatör salınımını ve mikrovaskülarizasyonu artırarak kemik iyileşmesini hızlandırmaktadır.^{139,155,166,167}

Osteointegrasyona olan katkısı dışında DESL günümüzde periimplant hastalıklarında da kullanılabilmektedir. Açığa çıkmış implant yüzeylerinin dekontaminasyonunun ardından greftleme teknikleriyle implant kaybı önlenebilmekte ve DESL yardımıyla reosteointegrasyon şansı artmaktadır.¹⁶⁸

2.7.7.3. Analjezik ve Antienflamatuar Etkisi

DESL'nin analjezik etkisinin altında yatan etkenler henüz açığa kavuşturulamamıştır. Düşünülen mekanizma ise DESL'in bazı nörokimyasal ajanların (serotonin, asetilkolin, histamin, prostoglandin) sentezi, salınımı ve mekanizması üzerine etkili olduğu şeklindedir. Bir diğer etki mekanizmasının da endorfin sentezinin artması, sinir C liflerinin ve bradikinin aktivitesinin azalması şeklinde olduğu düşünülmektedir.¹⁵³

DESL'in analjezik etki mekanizması çok iyi anlaşılamasa da nöral stimülasyonda değişiklik oluşturarak ağrı eşiğini yükselttiği ve prostoglandin sentezini indüklediği bildirilmiştir.¹⁵³

DESL'in kronik ağrı tedavisinde, miyofasial ağrı sendromu ve fibromiyalji sendromunda yararlı olduğu rapor edilmiştir.^{169,170}

2.7.7.4. Aftöz Stomatit, Aftöz Ülser ve Gingivitis Tedavisinde Kullanımı

Diş hekimliğinde DESL oral yumuşak doku tedavisinde kullanılmış ve eritema multiforme, gingivitis, periodontitis ve oral ülserlerin değişik formlarının tedavisinde başarılı sonuçlar alınmıştır. Gingival dokularda DESL uygulaması herhangi bir dejeneratif değişiklik olmaksızın, miyofibroblastların DNA sentezini stimüle etmekte ve fibroblastların miyofibroblastlara dönüşümünü sağlayarak yara iyileşmesini hızlandırmaktadır.^{154,171}

DESL protez vuruğuna bağlı mukozal lezyonların tedavisinde de kullanılmaktadır. Tedavi esnasında hasta protezini kullanmaya devam edebilmektedir.¹⁷²

Karyojenik ve periodontopatojenik bakterilerin eliminasyonunda, DESL'in antibiyotik ve antiseptiklere alternatif bir tedavi seçeneği olabileceği ortaya konulmuştur. DESL'in en önemli avantajı, etkisini konağın dokularına zarar vermeden başarabilmesi ve operatöre koruma sağlamasıdır.

2.7.7.5. Herpes Labialis ve Herpetik Gingivostomatit Tedavisinde Kullanımı

DESL'in herpes virüs enfeksiyonlarının etkisini azaltmada başarılı olduğu bildirilmiştir. Termal olmayan bu prosedür güvenli, ucuz ve invaziv olmayan bir tedavi modeli sunmaktadır. DESL'ler rekürrent herpes simplekslerde ataklar arasında kullanılarak tekrarlama insidansını düşürmek amacıyla önerilmektedir.¹⁷³ Çalışmalar UV radyasyonun tersine, herpes simpleks ve herpes zoster tedavisinde DESL'in immün sistemi stimüle edici etkisi olduğunu göstermiştir.^{173,174}

2.7.7.6. Yumuşak Doku Yaralanmalarında Kullanımı

Klinik çalışmalar, yaralı dokuda DESL kullanımının doku rejenerasyonunu hızlandırdığını göstermektedir. He-Ne veya argon lazer kullanımından sonra epitelizasyonun, vaskülarizasyonun ve fibroblastlardan kollajen sentezinin arttığı rapor edilmiştir.¹⁷⁵

2.7.7.7. Mukositisli Hastalarda Kullanımı

Oral mukositisler, yüksek doz kemo-radyoterapinin yaygın bir komplikasyonudur. Oral mukositislerin tedavisi, semptomları yok etmeye ve enfeksiyonu engellemeye yönelik yapılmaktadır. Bugün direkt oral mukositislere karşı yapılabilen etkili bir tedavi prosedürü bulunmamaktadır. Çalışmalar, He-Ne lazerin oral mukositisin şiddetini azalttığını ve yara iyileşmesini hem kolay hem de atravmatik bir şekilde hızlandırdığını göstermektedir.¹⁷⁶⁻¹⁷⁹

2.7.7.8. Sinir Kondüksiyonuna Etkisi

Sinir rejenerasyonunu hızlandırmada rol oynayan nörotropik faktörlere ve pek çok farmakolojik ajana ek olarak birçok fiziksel faktör vardır. Fizyoterapide rejeneratif amaçlar için terapötik cihaz kullanımı yaygındır. Elektrik akımı, ultrason, düşük enerji seviyeli lazer stimülasyonu hasta için erken fonksiyonel iyileşmeyi sağlamak amacıyla rejeneratif süreci hızlandırmaktadır.⁶⁰

DESL teorik olarak, Wallerian dejenerasyonunu ve rejenerasyonunu hızlandırmakta, tekrar büyüme hızını arttırmakta ve yeni sinir liflerinin miyelinizasyonunu hızlandırmaktadır.⁹² Raporlar immedat ve uzun süreli operasyon sonrası duyu bozuklukları insidansının %5 ile %90 arasında değiştiğini bildirmektedir. Bu kadar değişken sonuçlar, çalışma dizaynı, operasyonu yapan hekimlerin sayısının fazlalığı, duyu testlerinin standardize edilememesi ve duyu testlerinin sürelerinin değişken olması gibi kontrolü zor olan faktörlerden ileri gelmektedir.¹⁸⁰

Literatürde düşük enerji seviyeli lazerlerin özellikle inferior alveolar sinir olmak üzere, sinir rejenerasyonuna etkisini rapor eden birkaç çalışma mevcuttur.⁹² Düşük enerji seviyeli lazerler periferel sinirlerin fonksiyonel iyileşme ve rejenerasyonu için 1970'lerde kullanılmaya başlanmıştır. Bu zamana kadar çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Birçok hayvan çalışması ve klinik çalışma, DESL'nin hasarı azaltabileceğini, tamiri başlatabileceğini, aksonal dallanmayı stimüle edebileceğini, fakat etki mekanizmasının henüz tam anlaşılamadığını bildirmektedirler.⁶⁰ Sinir yaralanmalarında lazerin etkinliği üzerine yapılan son çalışmalar trigeminal sistem üzerinde denenmektedir.

İlk kez 1978'de çeşitli sinir yaralanmalarının tedavisinde DESL ile önemli bir başarı elde edildiği rapor edilmiştir. DESL kullanma girişimleri ile anterograd dejenerasyon önlenmekte ve sinir yaralanması sonrası hedef organın ulaşılabilirliğini devam ettirmektedir. Proksimal ve distal gövdelerin dejenerasyonunu minimize ederken, sinir rejenerasyonunu da geliştirmesinin mümkün olduğu bildirilmektedir. Yaralanmış periferel sinirlerde DESL'nin etkileri üzerine yapılan son klinik ve deneysel çalışmalar sinir fonksiyonunda artış, skar oluşumunda azalma, nöronlarda daha yüksek metabolizma ve miyelin üretiminde daha yüksek kapasiteye ulaşıldığını göstermektedir. Hem direkt uygulamada hem de transkutanöz DESL uygulamasında yaralanmış sinirde aksiyon potansiyeli şiddetinin arttığı klinik olarak gözlemlenmiştir. DESL transkutanöz uygulandığında alttaki periferel sinire ışının ulaştığı gösterilmiştir.⁹¹

Bilateral sagittal split ramus osteotomisi, mandibular prognatizm, retrognatizm ve asimetrisi düzeltmek için tercih edilen cerrahi prosedürlerden birisidir. Ancak trigeminal sinirin inferior alveolar

sinir ve terminal dalları ve de mental sinir bölgesinde dağılan kısmında postoperatif duyu bozukluğu kalması setback metodunun majör komplikasyonlarından biridir. Özellikle genç olmayan hastalarda 6 aydan uzun süren persiste parestezi yüksek morbidite ile sonuçlanmaktadır. Sinir lezyonu semptomları ise, mental sinirin dağılım alanı olan alt dudak ve çene bölgesinde değişen derecelerde hissizliktir. Çoğu sinir hasarı geri dönüşümlüdür, fakat kalıcı değişiklikler de meydana gelebilmektedir. Şu anda Bilateral Sagittal Split Ramus Osteotomisi (BSSRO) sonrası sinir iyileşmesini sağlayacak kabul edilmiş bir metod yoktur.^{112,180-182}

Üçüncü molar dişin çekimi sonrasında inferior alveolar sinir yaralanma insidansı %5 olarak rapor edilmiştir. Bu insidans mandibuler vestibuloplasti sırasında %88'e, BSSRO sırasında %100'e çıkabilir. DESL, cerrahiden sonra veya maksillofasiyal bölgeye travma sonucu trigeminal sinir dağılımında oluşan pareteziler için de önerilebilir bir tedavi seçeneğidir.^{183,184}

DESL'in sagittal split osteotomisi sonrası oluşan nörosensör hasar insidansını düşürme veya önleme kabiliyeti olduğundan, perioperatif süreçte de kullanılabilir.¹⁸⁵



Resim 1: İnférieur alveoler sinir hasarında ekstraoral DESL uygulama noktaları.⁹²



Resim 2: İnférieur alveoler sinir hasarında intra oral DESL uygulama noktaları.⁹²

2.7.7.9. Diş Çekimi Sonrası Yara İyileşmesine Etkisi

Çekim sonrası DESL'in yara iyileşmesi üzerine etki mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Fakat çekim soketine preoperatif ve postoperatif DESL uygulamanın ağrı ve şişliği azalttığı rapor edilmiştir.^{183,186}

2.7.7.10. TME Rahatsızlıklarında Kullanımı

DESL, TME düzensizliklerinde son yıllarda kullanılan bir tedavi yöntemidir. 6-10j arasında uygulanmaktadır. Analjezik, antienflamatuar ve biyostimülasyon etkisinden dolayı TME düzensizliklerinin tedavisinde önerilmektedir. DESL'in TME düzensizliği bulunan hastalarda, UV lazere göre daha derine penetre olduğu ve 700-1000 Hz arasındaki frekansta daha etkili olduğu rapor edilmiştir.^{158,187}

2.7.8. DESL'in Güvenilirliği ve Kontrendikasyonları

DESL tedavisi güvenilir bir tedavi seçeneğidir. Düşük dereceli ve atermal yapısından dolayı, yüksek güçlü lazer uygulamalarında görülen doku destrüksiyonu, epitelial rejenerasyonun gecikmesi, iyileşme sırasında küçük bir granülasyon dokusu oluşumu, termal yan etki gibi zararlar görülmemektedir. Otuz yıldır kullanılan DESL'lerin sağlıklı dokuda hiçbir zararlı etkisi olmadığı gibi, sistemik olarak da her hangi bir istenmeyen yan etki rapor edilmemiştir.^{188,189}

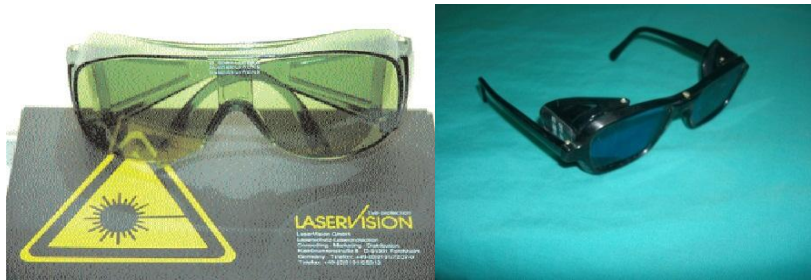
FDA'nın (Food and Drug Administration) sınıflandırılmasında Sınıf 2-3' te yer almaktadır. Bilinen potansiyel toksik etkisi lazer ışınının göz ile direkt temasına bağlı olarak, oküler zararın oluşmasıdır. Bunun için kullanılan dalga boyuna özel gözlüklerin hasta ve kullanıcı tarafından kullanılması gerekmektedir.¹⁹⁰

Bazı çalışmalar DESL'in sadece normal hücrelerin değil, tümör hücrelerinin de proliferasyonunu stimüle ettiğini göstermektedir.^{191,192} Oral KB hücre kültüründe (oral epidermoid karsinoma) yapılan

çalışmalarda farklı dalga boylarında pozitif biomodülatör etki görölmüştür.¹⁹³ Meme kanserine bağlı lenfödemde ise artış saptanmamıştır.¹⁹⁴ Kemik malignitelerinde yapılan bazı araştırmalar, her hücrenin farklı dalga boylarına ve farklı dozlara değişken yanıtlar verdiğini, bu nedenle kesin kontrendikasyonlara karar verebilmek için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu rapor etmişlerdir.¹⁹⁵

Kanser araştırmalarına göre cilt kanserlerinde, özellikle melanomalarda DESL kesinlikle kontrendikedir.¹⁹⁶

Kanseröz lezyonlar, tiroid bezi, gonatlar gibi hassas dokular için DESL kontrendikedir. Kanseröz değişim riski olmamasına rağmen, malignite şüphesi olan vakalarda da kullanılmamalıdır. Radyoterapiden 4-6 ay sonrasına kadar kullanılmamalı, kanamalı bölgelerden ve endokrin bezlerinden uzak tutulmalıdır. Epilepsi hastaları, ateşli hastalık geçiren bireyler, hamile bireylerde karın bölgesi, çocuklarda epifiz bölgeleri ve enfekte dokularda dikkatli kullanılmalıdır.¹⁹⁷ Bazı araştırmacılar da göz çevresindeki alanlarda ve vasküler bozukluklarda kullanılmaması gerektiğini rapor etmişlerdir. Ayrıca güneş ışığına karşı aşırı hassasiyeti olan bireylerde, enfekte yaralarda ve kalp hastalığı olan bireylerde, özellikle pacemaker kullanan hastalarda göğüs çevresinde kullanmak kontrendikedir.^{158,198}



Resim 3: Hastayı ve hekimi korumak için gözlükler

2.8. Ankaferd Blood Stopper (Ankaferd Kanama Durdurucu)

Aşırı hemoraji, özellikle kalıtsal veya kazanılmış kanama pıhtılaşma problemi olan hastaların rutin dental tedavileri sırasında majör bir komplikasyon olarak karşımıza çıkabilmektedir. Günümüzde antitrombotik, prokoagülan ve antifibrinolitik ilaçlar dental tedavi esnasında kanama kontrolü için sıklıkla kullanılmaktadır.¹⁹⁹

2.8.1. Ankaferd Blood Stopper'in İçeriği

Tarihte Anadolu'da geleneksel hemostatik ajan olarak kullanılmış, beş ayrı bitkiden elde edilen Ankaferd Blood Stopper (ABS) tescilli bitkisel bir ajandır. Kullanılan bitkiler: *Thymus vulgaris* (kekik) 5 mg/100 ml, *Glycyrrhiza glabra* (meyan) 9 mg/100 ml, *Vitis vinifera* (asma) 8 mg/100 ml, *Alpinia officinarum* (havlıcan) 7 mg/100 ml ve *Urtica dioica* (ısırgan) 6 mg/100 ml'dir.²⁰⁰



thymus vulgaris

glycyrrhiza glabra

vitis vinifera

alpinia officinarum

urtica dioica

Şekil 16: ABS' nin içeriğini oluşturan bitkiler.

2.8.2. ABS'nin Etki Mekanizması

ABS'nin temel etki mekanizması, canlı eritrosit agregasyonu için odak nokta sağlayan enkapsüle protein ağı oluşumundan geçmektedir. ABS tarafından indüklenen özellikle eritrositler olmak üzere kan hücreleriyle meydana gelen protein ağı, primer ve sekonder hemostatik sistemde koagülasyon faktörlerinden bağımsız olarak yer almaktadır. Yine ABS içindeki bu bitki kompozisyonu dokuyu oksijenize eder ve bu protein ağı hiçbir pıhtılaşma faktörünü etkilemeden tüm fizyolojik hemostatik süreci kapsar. Bu yüzden ABS, hem normal hemostatik parametrelere sahip bireylerde de hem de primer ve/veya sekonder hemostaz bozukluğu olan hastalarda etkili olabilmektedir.^{201,202}

2.8.3. ABS Güvenilirliği ve Kullanım Alanları

ABS, sterilitesi ve biyoyumumluluğunu belirten güvenilirlik ve etkinlik raporlarına dayanarak eksternal hemoraji kontrolünde ve dental kanamalarda topikal kullanımı resmi olarak Türkiye'de onaylandığından beri tedavi protokolüne alınmıştır. (Ankaferd Blood Stopper (Ankaferd Kanama Durdurucu) patent numarası 2007-0-114485; Trend Teknoloji İlaç AŞ, İstanbul, Türkiye)²⁰¹⁻²⁰⁴ Topikal hemostatik etkinliği hayvanlar üzerinde normal ve defektif hemostaz modellerinde denenmiştir. Birçok klinikopatolojik durumda, kanamayı önleme veya kontrol etme amacıyla topikal ABS uygulanmış ve kanama klinik olarak kontrol altına alınabilmektedir.²⁰²

Solüsyon formundaki birçok hemostatik ajanın kolayca çekim soketindeki sinir demetlerine rahatça temas etmesine rağmen ABS'nin nöral dokularla etkileşimi çok az bilinmektedir.²⁰³

2.8.4. ABS İçeriğindeki Bitkilerin zellikleri

ABS'nin içeriğindeki her bir bitki incelenmiş ve farklı etkileri bulunmuştur. Bunlardan *Urtica dioica* endotelial nitrik oksit salınımını serbest bırakarak, potansyum kanallarının açılmasını ve negatif inotropik hareketle vazorelaksasyon sağlayıp hipotansif cevap oluşturmaktadır. Yine de ABS'nin arterial dokulardaki kümülatif etkisi bilinmemektedir.²⁰⁵

Thymus vulgaris'in aterosklerozla ilişkili lipid peroksidasyon gibi *in vivo* oksidatif hasardan korumaya yardımcı olan çeşitli seviyelerde antioksidan aktivitesi olduğu ve bunun dışında antimikrobiyal ve antifungal etkileri gösterilmiştir.^{206,207}

Vitis vinifera üzerinde yapılan aşılama deneylerinde patojenlere karşı gelişmiş bir direnç göstermiştir.²⁰⁸ Ayrıca anti-tümör, antioksidan ve anti-aterosklerotik etkileri de vardır.²⁰⁹

Çin'de karın ağrılarında ilaç olarak ve baharat olarak kullanılan *Zingiberaceae* bitkisi, *Alpinia officinarum* lipopolisakkarit üreterek nitrik oksit üretimini inhibe etmektedir.^{201,204,210}

Glycyrrhiza glabra (Licorice bitkisi), binlerce yıldır yiyecek olarak ve alerji, bronşit, soğuk algınlığı, tüberküloz gibi solunum sistemi hastalıklarında, reflü mide yanması, gastrit gibi mide-barsak hastalıklarında, inflamatuvar bozukluklar, cilt hastalıkları ve karaciğer hastalıklarında ilaç olarak kullanılmaktadır. Anjiogenezisin, kronik inflamasyonun, bazı immün reaksiyonların ve neoplazinin patolojik

komponentidir. Glycyrrhiza glabra, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) üretimini ve sitokin bağımlı neovaskülarizasyonu azaltarak ve anjiogenezisi inhibe ederek antitümöral etki gösterir. Ayrıca antiinflamatuvar, antitrombin, antiplatelet, antioksidan ve antiaterosklerotik aktiviteleri de vardır.^{204,211}

2.8.5. ABS Yan Etkileri

Deneysel veya klinik topikal uygulamalar sırasında ne lokal ne de sistemik olarak herhangi bir istenmeyen yan etki ve/veya toksisiteye rastlanmamıştır.²⁰² ABS'nin neoplastik ve enfeksiyöz hastalıklar, erken yaşlanma, ateroskleroz ve diyabet gibi birçok patolojik durumdaki potansiyel rolüne karar verebilmek için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.²⁰⁴

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bitkisel bir ajan olan ABS ile düşük enerji seviyeli lazerin sinir dokusu iyileşmesine etkilerinin karşılaştırmalı olarak araştırılmasını amaçladığımız bu çalışmaya, Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'nın 07.04.2011 tarih ve B.30.2.GÜN.0.05.06.00/77-6486 sayılı izni alınarak (Ek-1) başlanmıştır. Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne doktora tez projesi olarak sunulmuş ve 03/2011-32 sayılı onay alınmıştır. Çalışmanın deneysel kısmı Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nin araştırma laboratuvarında, histopatolojik ve biyokimyasal incelemeler ise Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı'nda yapılmıştır.

3.1 Deneysel Çalışma Grupları

Çalışmada ortalama 250-300 gr ağırlığında 72 adet yetişkin dişi albino Wistar rat kullanılmıştır. Tüm deney hayvanları, Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden temin edilmiş ve çalışma süresince bakımları aynı merkezde yürütülmüştür. Deney süresi boyunca ratlar 6'şar hayvandan oluşan kafeslere yerleştirilerek, on iki saat gündüz on iki saat gece ışık düzeninde tutulmuş ve ad libitum beslenerek muhafaza edilmişlerdir.



Resim 4: Deney hayvanlarının 6'şarlı gruplar halinde kafeslere ayrılması.

Ratlar rastgele seçilerek 6'şarlı gruplar oluşturulmuştur. 72 adet rat, her grupta 6'şar adet olmak üzere 4 ana gruba ayrılmıştır.

1. grup: 24 adet rat Kontrol grubu. Bu gruptaki ratların sağ bacak siyatik sinirleri açığa çıkarılıp 1 dakika forseps yardımıyla sıkıştırılmıştır.

2. grup: 24 adet rat ABS grubu. Bu gruptaki ratların sağ bacak siyatik sinirleri açığa çıkarılıp 1 dakika forseps yardımıyla sıkıştırıldıktan sonra 0.2 cc ABS uygulanmıştır.

3. grup: 24 adet rat DESL grubu. Bu gruptaki ratların sağ bacak siyatik sinirleri açığa çıkarılıp 1 dakika forseps yardımıyla sıkıştırıldıktan sonra cilt üzerinden 4 noktadan DESL uygulanmıştır. Takip eden 4 gün boyunca yine cilt üzerindeki 3 noktadan DESL uygulaması yapılmıştır.

4. grup: 24 adet rat DESL+ABS grubu. Bu gruptaki ratların sağ bacak siyatik sinir açığa çıkarılıp 1 dakika forseps yardımıyla sıkıştırıldıktan sonra 0.2 cc ABS uygulanmış ve cilt üzerindeki 4 noktadan DESL uygulanmıştır. Takip eden 4 gün boyunca yine cilt üzerindeki 3 noktadan DESL uygulaması yapılmıştır.

Her gruptaki 18 adet rat 3. Hafta, 5. Hafta ve 12. haftada sakrifiye edilecek şekilde 3 alt gruba ayrılmıştır.

Tablo 2: Gruplar (n=72)

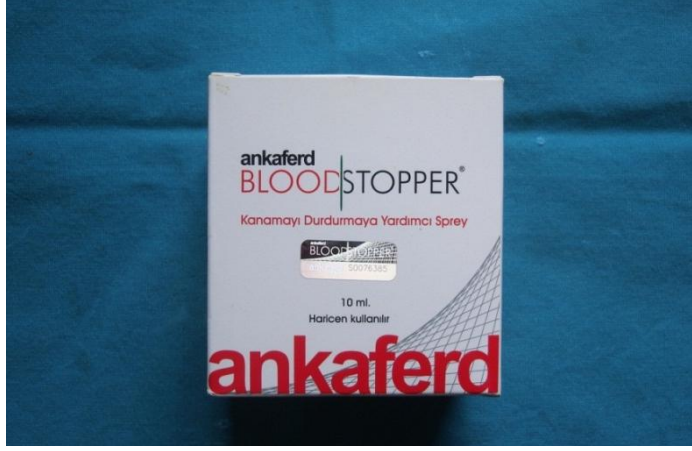
	Kontrol	ABS	DESL	DESL+ABS
3 hafta	(n:6)	(n:6)	(n:6)	(n:6)
5 hafta	(n:6)	(n:6)	(n:6)	(n:6)
12 hafta	(n:6)	(n:6)	(n:6)	(n:6)

Dört gruptaki toplam 72 rata da aynı şartlar altında aynı cerrahi işlem uygulanmıştır.

3.2. Kullanılan Malzemeler

3.2.1. Ankaferd Blood Stopper

Çalışmamızda denek hayvanlarının sağ siyatik sinirlerine sinir iyileşmesi üzerine olan etkilerini incelemek için ABS (Ankaferd İlaç Kozmetik A.Ş, İstanbul, Türkiye) uygulanmıştır.



Resim 5: Ankaferd Blood Stopper (Ankaferd Kanama Durdurucu) 10 ml sprej formu.

3.2.2. Galyum-alüminyum-arsenid Diyot Lazer (Ga-Al-As diyot lazer)

Sinir iyileşmesi üzerine etkilerini incelemek ve ABS ile karşılaştırmak için ratların sağ siyatik sinirlerine cilt üzerinden düşük enerji seviyeli lazer olarak 833 nm dalga boyu olan BTL-2000 taşınabilir lazer cihazı kullanıldı (BTL Industries Ltd., UK).



Resim 6: BTL 2000 Ga-Al-As Diyot düşük enerji seviyeli lazer cihazı, ağız içi, ağız dışı probu ve koruyucu gözlük.

3.2.3. Cerrahi Klemp

Portegü (Medisporex, Pakistan) yardımıyla 2 diş sıkılığında 1 dakika süreyle siyatik sinirde ezilme yaralanması oluşturuldu.

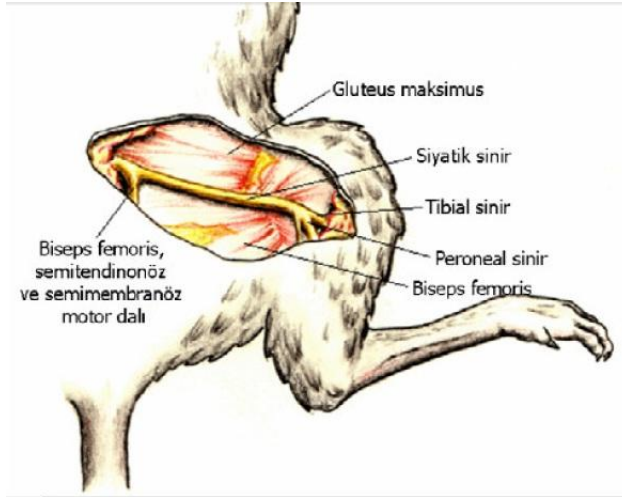


Resim 7: Siyatik sinirde ezilme yaralanması oluşturmak için kullanılan portegü. (yaklaşık 50-55 newton)

3.3. Cerrahi Protokol

3.1.1. Ratlarda Siyatik Sinir Anatomisi

Ratlarda siyatik sinir, diğer adıyla n. İschadicus, L3-L6 arası ancak majör komponentleri L4-L5'ten gelen spinal sinirlerin oluşturduğu lumbosakral trunkustan çıkar, sakral pleksusla birlikte pudental kastan ve superior gluteal arterden ayrılır. Siyatik sinir kuyruk kökü ve siyatik çentiğin kaudalinden bacağın derinine girer. Biseps femoris kasının anterior karnı ve inferior gluteal sinirin altında peroneal, tibial ve sural olmak üzere üç terminal dala ayrılır.^{212,213}

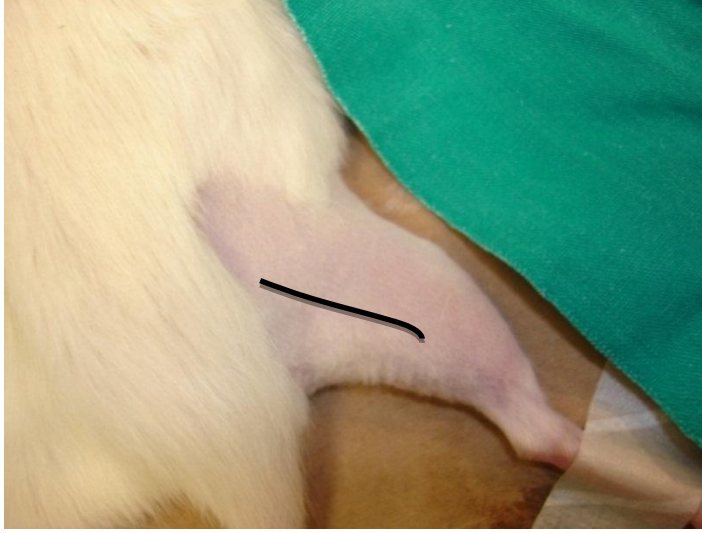


Şekil 17: Rat siyatik sinirinin şematik görünümü.²¹⁴

3.1.2. Cerrahi İşlemler

Çalışmaya alınan 72 adet rata 60 mg/kg Ketamin HCl 100 mg (Alfamine %10, EGE-VET) ve 4 mg/kg Ksilazin HCl (Alfazyne %2, Bayer) intraperitoneal verilerek genel anestezi sağlandı.

Uygulanan tüm cerrahi işlemler steril koşullar altında gerçekleştirildi. Deney hayvanları sakrum ve sağ arka bacak dış uyluk tüyleri traş edildikten sonra, önceden hazırlanmış ameliyat sehpalарına ön ve arka bacaklarından yapışkan band kullanılarak yüz üstü pozisyonda sabitlendi.



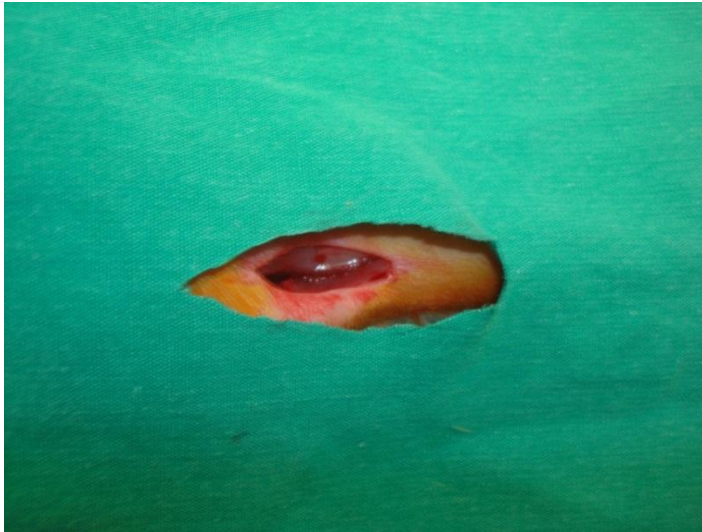
Resim 8: Ön ve arka bacaklarından sabitlenen ratların sağ arka bacak dış uyluklarının bilek ve sakruma kadar traş edilerek hazırlanması.

Bölge Povidone-iodine (Batticon®, Adeka) ile silinerek antisepsi sağlandı. Önceden her hayvan için ayrı olarak hazırlanmış steril yeşil örtü ile örtüldü.



Resim 9: Steril yeşil örtü ve antiseptik solüsyonla bölgenin hazırlanması.

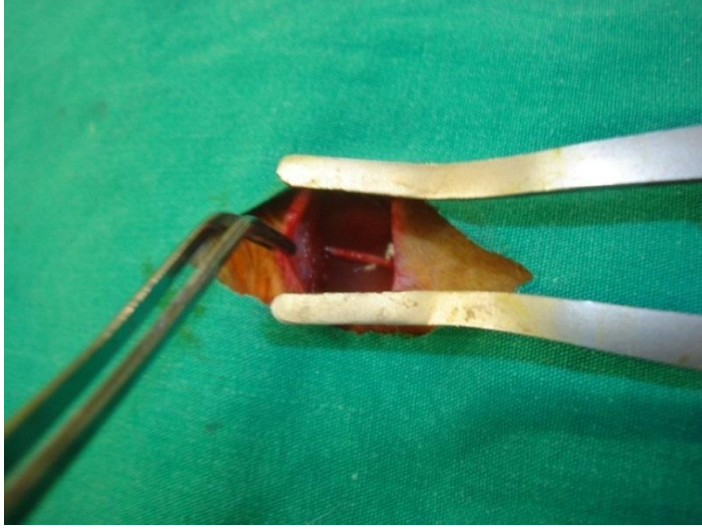
15 no'lu bisturi ile posterolateral yaklaşımla sakrumun 5-6 mm uzağında dış uylukta cilt kesisi yapıldı.



Resim 10: Cilt ve fasya kesisiyle kaslara ulaşım.

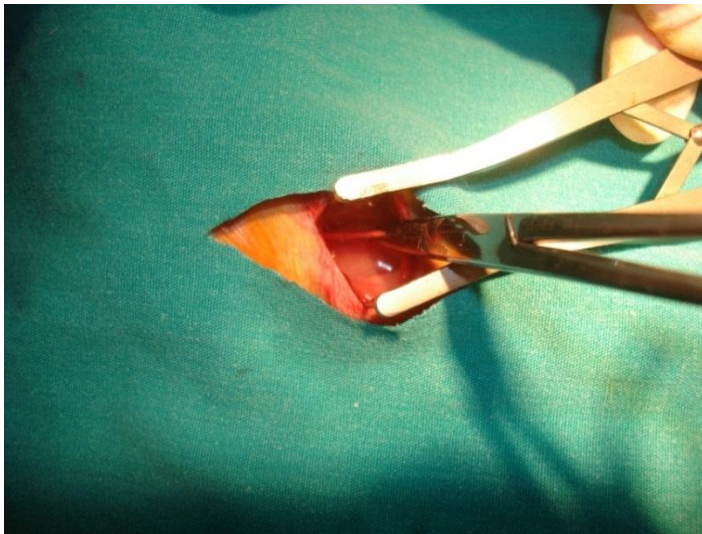
Gluteus maximus, Biseps femoris ve piriformis kasları künt diseksiyonla ekarte edilerek sağ siyatik sinirler sural, tibial ve peroneal

sinirlerin trifurkasyonuna kadar eksplere edildi. Popliteal fossada ulaşılan sinirin etrafındaki tüm kas ve dokular diseksiyonla ayrıldı.

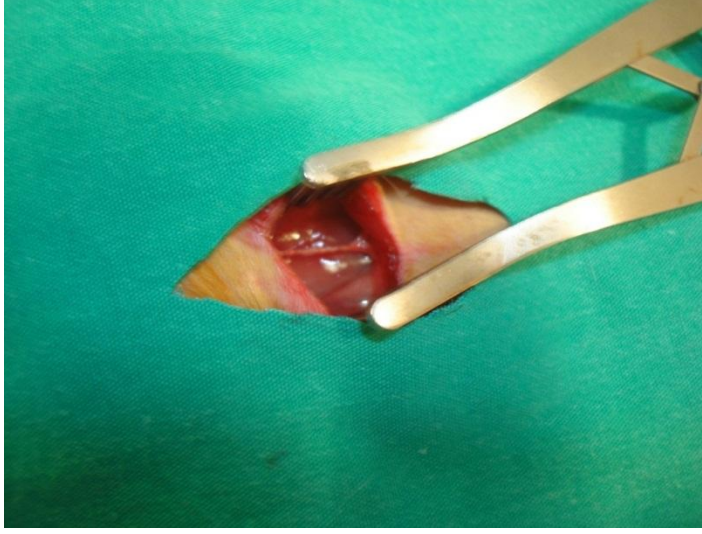


Resim 11: Kasların ekarte edilmesiyle siyatik sinire ulaşım.

Siyatik çentik ve trifurkasyon bölgesi arası siyatik sinir trasesinde, portegü yardımıyla 1 dakika süreyle ezilme oluşturuldu.



Resim 12: Siyatik sinirin tüm kas ve çevre dokulardan diseksiyonundan sonra, portegü yardımıyla 2 diş sıklığında ezilerek yaralanma oluşturulması.



Resim 13: Ezilmiş siyatik sinirin makroskopik görüntüsü.

Hemoraji kontrolünden sonra kas ve cilt sırasıyla 4.0 rezorbe olabilen örgülü suturelarla (4.0 pegesorb, doğsan, Trabzon, Türkiye) kapatıldı.



Resim 14: Dokuların sırasıyla rezorbe olabilen suture ile kapatılması.



Resim 15: Cilt insizyonunun basit sturlarla kapatılması

1. grupta ezilme oluşturulduktan sonra herhangi bir işlem yapmadan bölge sturlarla kapatıldı ve yara bölgesi Povidone-iodine ile silindi.



Resim 16: İşlem sonunda cildin tekrar silinmesi.

2. grupta ezilme oluşturulduktan sonra 0.2 cc Ankaferd Blood Stopper (Ankaferd İlaç Kozmetik A.ř, İstanbul, Türkiye) sinir etrafına insülin enjektörü yardımıyla damlatıldı, bölge suturelarla kapatıldı ve yara bölgesi Povidone-iodine ile silindi.



Resim 17: Yaralanma oluşturulduktan sonra siyatik sinire direkt ABS uygulanması.

3. grupta ezilme oluşturulduktan sonra bölge suturelarla kapatıldı, cilt üzerinden 4 noktadan $\lambda = 833$ nm, devamlı dalga, 70 mW frekansta, dansitesi 6 J/cm^2 , alan 1.0 cm^2 , her noktaya 1,42 dk olmak üzere 5,68 dk. DESL uygulandı. Takip eden 4 gün boyunca yine cilt üzerindeki 3 noktadan toplam 4,26 dk. DESL uygulaması yapıldı.



Resim 18: Cildin kapatılmasının hemen ardından 4 ayrı noktadan DESL uygulanması.

4. grupta ezilme oluşturulduktan sonra 0.2 cc ABS ve cilt üzerindeki 4 noktadan da DESL uygulandı. Takip eden 4 gün boyunca yine cilt üzerindeki 3 noktadan DESL uygulaması yapıldı.



Resim 19: İşlemi takiben 4 gün boyunca 3 farklı noktadan DESL uygulaması.

Denekler 3. hafta, 5. hafta ve 12. haftada histopatolojik ve biyokimyasal analiz yapmak üzere intraperitoneal ketamin/ksilazin enjeksiyonu (300/30 mg/kg) ile uyutularak ötenazi gerçekleştirildi. Çıkarılan siyatik sinirlerin yarısı histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehit solüsyonunda fikse edildi, diğer yarısı biyokimyasal inceleme için eppendorf tüplerine konulduktan sonra -80° C' de muhafaza edildi.



Resim 20: Ötenazi sırasında siyatik sinirin tekrar ortaya çıkarılması.



Resim 21: Siyatik sinirin sakrumun altında siyatik çentikten, trifurkasyon bölgesinin 10 mm altına kadar eksize edilmiş görüntüsü.

3.4. Histopatolojik Çalışmalar

3.4.1. Işık Mikroskopik Yöntem

Ötenazi sonrası deneklerin siyatik sinir dokuları alındı.



Resim 22: Çıkarılan örneklerin fiksasyon amacıyla gruplara göre %10'luk formaldehite konulması. (Histopatolojik ve biyokimyasal incelemeler için sinirin ikiye ayrıldığı bölge yeşil çizgiyle gösterilmiştir)

Alınan doku örnekleri, ışık mikroskopik inceleme için %10 'luk nötral formaldehit solüsyonunda fikse edildi ve rutin doku takip işlemlerinden geçirilerek parafine gömüldü. Hazırlanan parafin bloklardan mikrotomla (Leica SM 2000, Germany) polizinli lamlara 4-5 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler yapısal değişikliklerin değerlendirilebilmesi amacıyla, Hematoksilen-Eozin (H-E) boyanarak incelendi. Preparatlar, Leica DM 4000 (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programında değerlendirildi ve fotoğraflandı.

3.5. Biyokimyasal Analiz

Ötenazi sonrası deneklerin çıkarılan siyatik sinirleri biyokimyasal inceleme için eppendorf tüpleriyle kuru buz kaplarına konulduktan sonra -80° C' de muhafaza edildi.



Resim 23: Eppendorf tüpüne ve formaldehite konulan örnekler.

Hasar oluşturulup herhangi bir işlem yapılmayan, ABS uygulanan, DESL uygulanan ve hem DESL hem ABS uygulan siyatik sinirlerde GAP-43 protein ifadenmesi Western Blot yöntemiyle belirlendi.

3.5.1. Western Blot Prosedürü

Öncelikle, rat sinirlerinden elde edilen doku örneklerinin lizis solüsyonu (50 mM Tris-HCl [pH: 7,4], 100 mM NaCl, 1 mM EDTA, %1 NP-40) ile 1:10 oranında dilüsyonu yapıldı. Çalışılacak proteinin izolasyonu amacıyla dokuların homojenizatör (T25-B Ultra Turrax, IKA, Labortechnik, Almanya) yardımıyla homojenizasyon işlemi gerçekleştirildi.

Homojenizasyonu takiben dokunun proteinli kısmını ayırtmak amacıyla süspansiyon 14000 rpm' de, +4° C' de 15 dakika boyunca santrifüj edildi. Çalışılan proteinin hemen hemen tamamının sıvı faza geçmesi sağlandıktan sonra çökeltinin üstünde kalan sıvı (süpernatant kısmı) mikropipetler yardımıyla alındı.

Elde edilen her bir numuneye ait süpernatantların Bradford yöntemi ile total protein tayini yapıldı. Her bir numunede 30 µg protein olacak şekilde kuyucuklara eklenecek örneklerin µL' si hesaplandı. Protein tanımlama amacıyla yüklü moleküllerin elektriksel alanda ayrışmaları temeline dayanan elektroforez tekniği uygulandı. %5'lik paketleyici jel [Distile su, %30 akrilamid/bisakrilamid karışımı (29/1), 1 M Tris HCl; pH: 6,8, %10 sodyum dedosil sülfat (SDS), %10 amonyum persülfat (APS), tetrametiletilendiamid (TEMED)], %12 ayırıcı jel [Distile su, %30 akrilamid/bisakrilamid karışımı (29/1), 1,5 M Tris HCl; pH: 8,8, %10 sodyum dedosil sülfat (SDS), %10 amonyum persülfat (APS), tetrametiletilendiamid (TEMED)] içeren poliakrilamid jele yüklenerek 200 voltta yaklaşık 45 dakika elektroforez edildi. Elektroforez ile moleküler ağırlıklarına göre ayrılan proteinler 90 dakika boyunca 200 mAmp sabit akıma tabi tutulup %20 metanol içeren transfer tamponu içerisinde PVDF (0.22 µm poliviniliden diflorür) membrana transfer edildi.

Membran, bloklama solüsyonu ile 1 saat çalkalayıcıda inkübe edildi. %3' lük süt tozu ile bloklama işlemi tamamlanan membran 3 kez 10 dk TBST ile yıkandıktan sonra 10 ml Anti-Rat GAP 43 primer antikör ile gece boyu +4° C'de inkübasyona bırakıldı. Primer antikörler ile immün işaretlenen membranlar 3 kez TBST ile yıkandıktan sonra 2 saat oda sıcaklığında 10 ml HRP (horse radish peroksidaz) işaretli sekonder antikörler ile inkübasyona bırakıldı. Sekonder işaretlemeden sonra

membran 2 kez TBST ile yıkanarak 10 ml ECL (enhanced chemiluminescence) reaktif içerisine atıldı. Böylece, hedef protein bandları görünür hale getirildi. Ardından, membrandan gelen sinyaller X-ray filme basıldı. Elde edilen protein bantlarının dansiteleri Image-J programı yardımıyla piksel analiziyle kantite edildi.

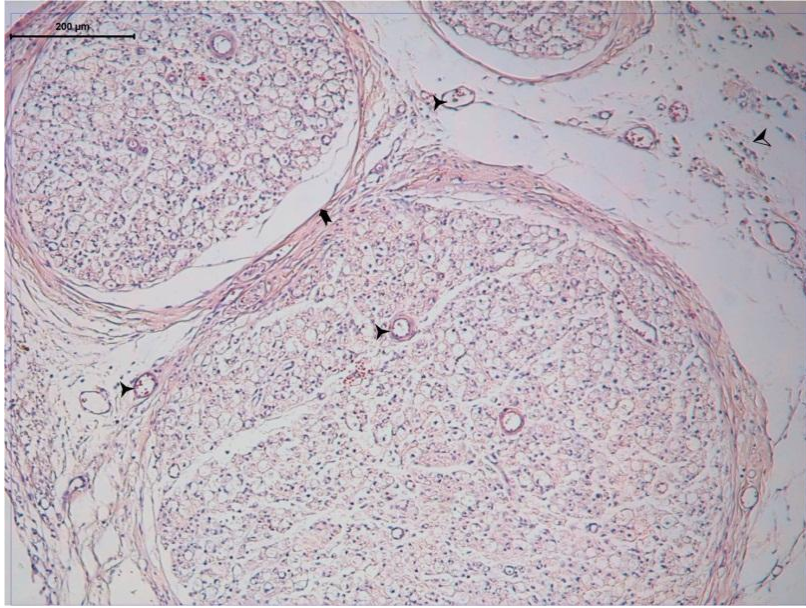
3.6. İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışmada bütün istatistiksel analizler SPSS 15.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Veriler için tanımlayıcı istatistikler sayısal olarak ifade edildi. Deney düzenine uygun model denklemi kurularak faktörün, cevap değişkeni üzerinde etkisi olup olmadığı varyans analizi ile araştırıldı. Normallik testi olarak Shapiro-Wilk, varyans homojenliği için ise Levene Testi kullanıldı. Tüm analizlerde %95 güven düzeyinde karar alındı. Çoklu gruplar arasında fark olup olmadığına Anova testi ile bakılıp; gruplar arası fark varsa, farklı-benzer olan gruplar Fisher'ın En Küçük nemli Fark Testi (LSD, Fisher's Least Significant Difference) ve Student Newman Keuls (SNK) testiyle tespit edildi.

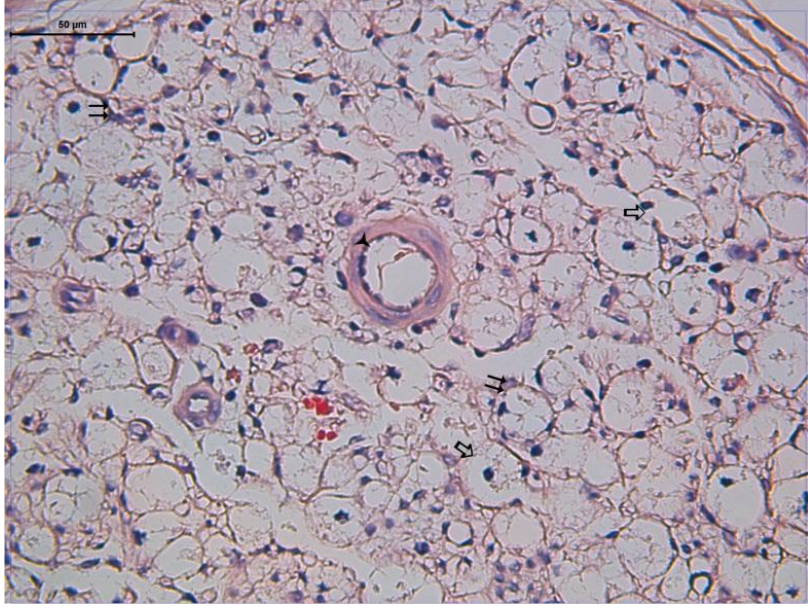
4. BULGULAR

4.1. Histopatolojik Bulgular

Kontrol 3. hafta grubunda epinöryum ve perinöryumda belirgin dejeneratif değişiklik ve yaygın ödem gözlemlendi. Perinöryumda yer yer tüm lif boyunca ödem dikkati çekti (Resim 24). Endonöryumda büyük büyütme ile incelemelerde miyelinli sinir lifinde dilatasyon, ödem ve yer yer sinir liflerinde birleşme belirlendi. Aynı zamanda sinir demetlerinde göreceli olarak damar dilatasyonu da dikkati çekti (Resim 25).

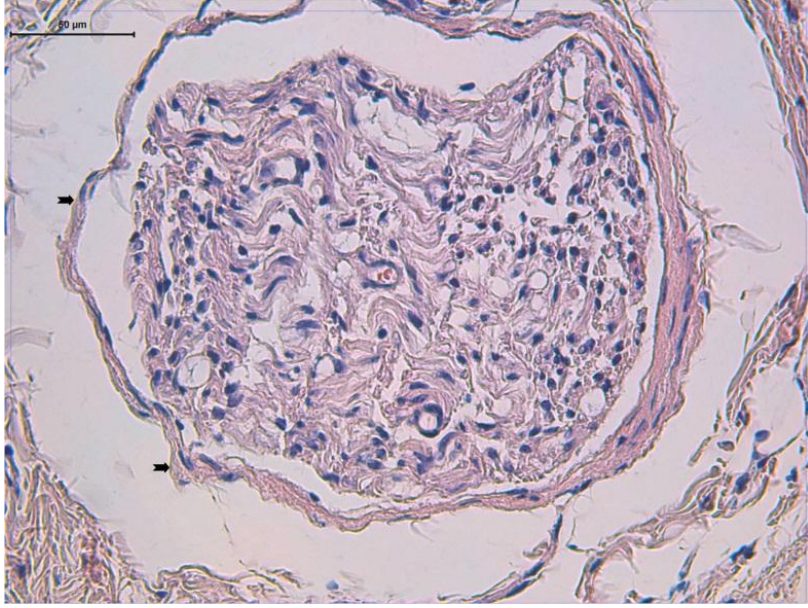


Resim 24: Kontrol 3. hafta grubunda perinöryumda (➡), epinöryumda (➤) gözlenen yaygın ödem ve kapillerler (▲). (Hematoksilen-Eozin x100)

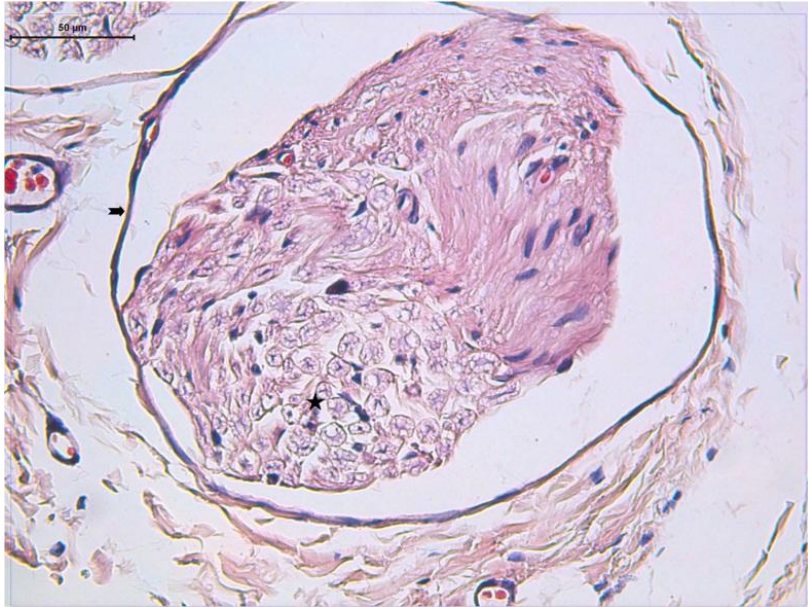


Resim 25: Kontrol 3. hafta grubunda; sinir liflerinde yer yer birleşme (⇔), endonöryumda ödem (⇔) ve kapillerlerin (∧) izlenmesi. (H-Ex400)

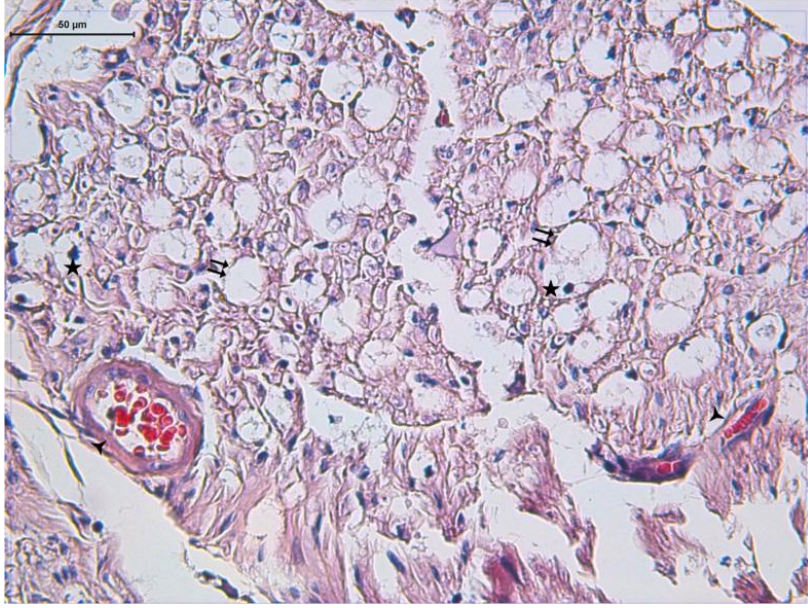
Kontrol 5. hafta grubunda, kontrol 3. hafta grubuna benzer dejenerasyonlar izlenirken ek olarak bazı sinir demetlerinde perinöryumda ondülasyonun varlığı mevcuttu (Resim 26). Bu grupta endonöryumdaki ödem daha belirgindi. Yer yer doku genelindeki ödemin devamlılığına bağlı olarak sinir demetinde, akson oranlarında azalma olduğu dikkati çekti (Resim 27-28).



Resim 26: Kontrol 5. hafta grubunda perinöryumda (⇒) gözlenen ondülasyon. (H-Ex400)

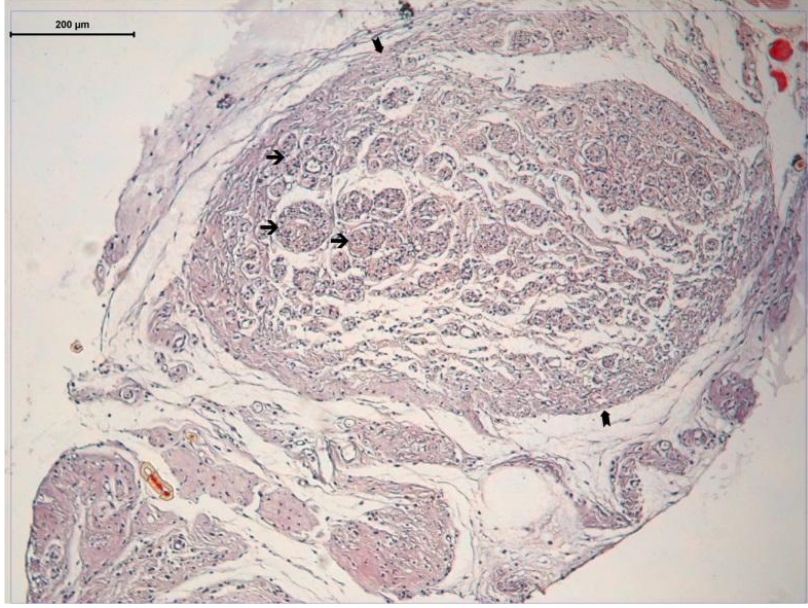


Resim 27: Kontrol 5. hafta grubunda perinöryum (⇒) ve aksonların (★) izlenmesi. (H-Ex400)

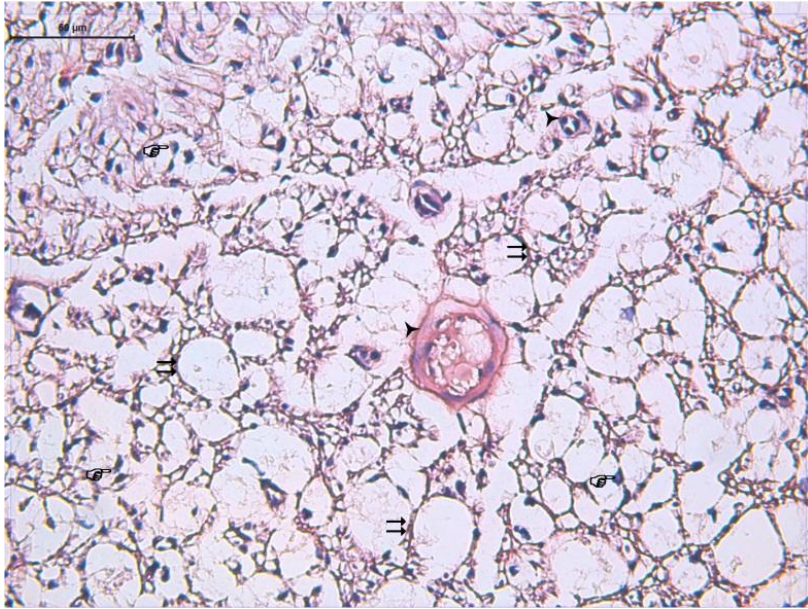


Resim 28: Kontrol 5 hafta grubunda; endonöryumda ödem (⇨), aksonlar (★) ve kapillerlerin (▲) izlenmesi. (H-Ex400)

Kontrol 12. hafta grubunda perinöryumdaki ödemde azalma gözlenirken endonöryumda devam ettiği gözlemlendi. Diğer iki gruptan farklı olarak sinir tellerinin küçük gruplar halinde bağ dokusu ile çevrelendiği belirlendi (Resim 29). Bu şekilde organize olmuş liflerde Schwann hücrelerinin hipertrofik olduğu dikkat çekti. Yine özellikle bu liflerde damar dilatasyonu son derece belirgindi (Resim 30).

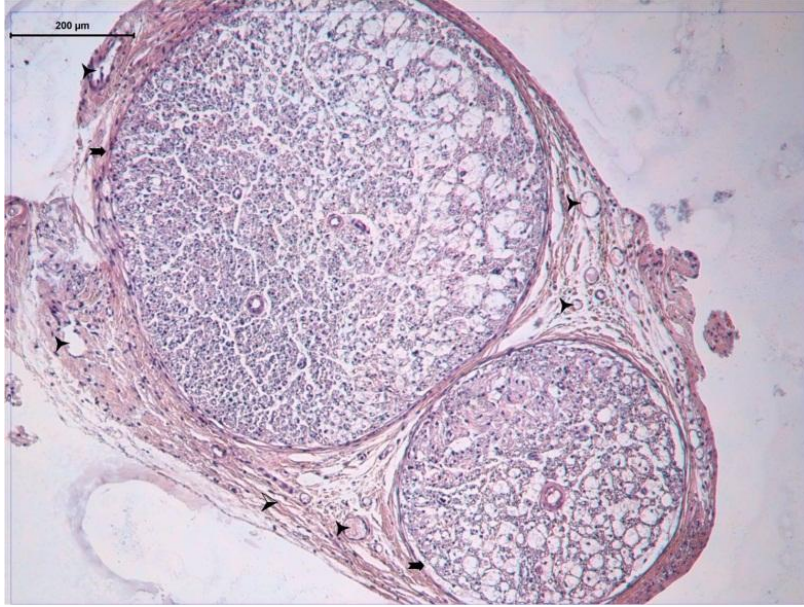


Resim 29: Kontrol 12. hafta grubunda perinöryum (⇨) ve küçük lif grupları (➔) izlenmesi. (H-Ex100)

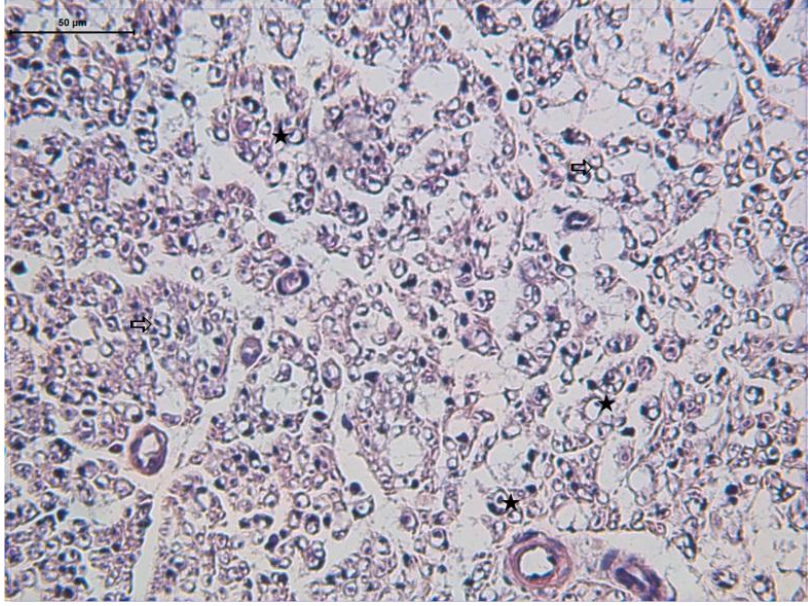


Resim 30: Kontrol 12. hafta grubunda; endonöryum (⇨), Schwann hücreleri (☞) ve kapillerlerin (^) gözlenmesi. (H-Ex400)

DESL uygulanan 3. hafta grubunda epinöryum ve perinöryumdaki ödemin yer yer ortadan kalktığı ve kontrol grubuna göre son derece azaldığı belirlendi. Ancak endonöryumdaki ödem ve damar dilatasyonu belirgindi (Resim 31). Büyük büyütme incelemlerde sinir lifi değerlendirildiğinde aksonların yer yer korunduğu ancak bir kısmında dilatasyon ve yer yer birleşmenin hala sürdüğü dikkati çekti (Resim 32).

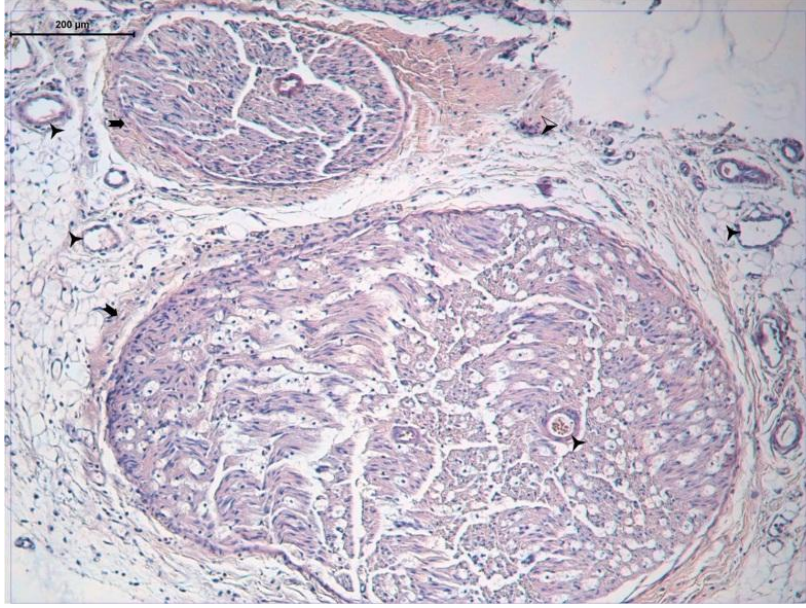


Resim 31: DESL uygulanan 3. hafta grubunda küçük büyütme incelemlerde perinöryum (➡), epinöryum (➤) ve kapillerlerin (▲) izlenmesi. (H-Ex100)

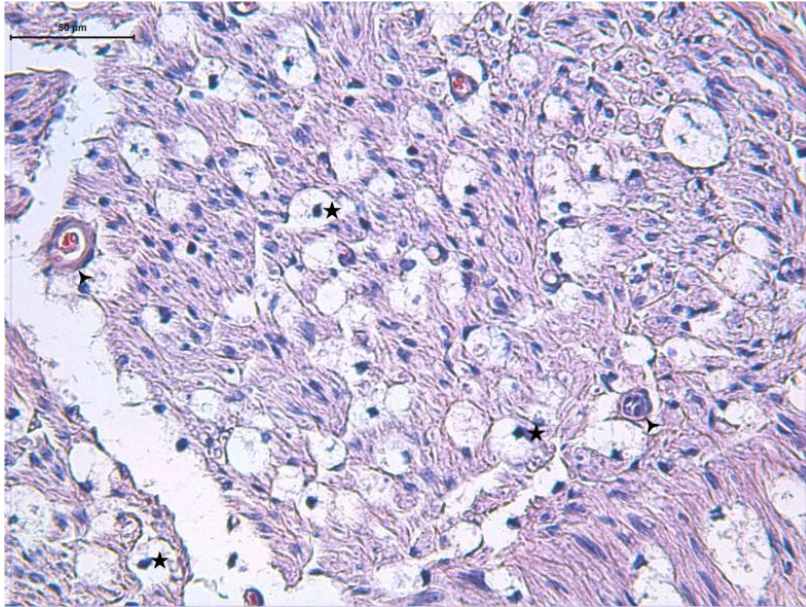


Resim 32: DESL 3. hafta grubunda; sinir liflerinde yer yer birleşme (⇨) ve aksonların (★) gözlenmesi. (H-Ex400)

DESL uygulanan 5. hafta grubunda epinöryum ve perinöryumdaki ödem bulgularının 3. hafta grubuna benzer olduğu, endonöryumda ödemin azaldığı, damar dilatasyonunun ise gerilediği izlendi (Resim 33). Bu grupta sinir liflerindeki organizasyon da normal görünüme yakındı. Yani; merkezde akson, çevrede miyelin kılıf normaldi. Az sayıda aksonda dilatasyon görüldü ve yer yer dilate sinir liflerinde akson izlenemedi (Resim 34).

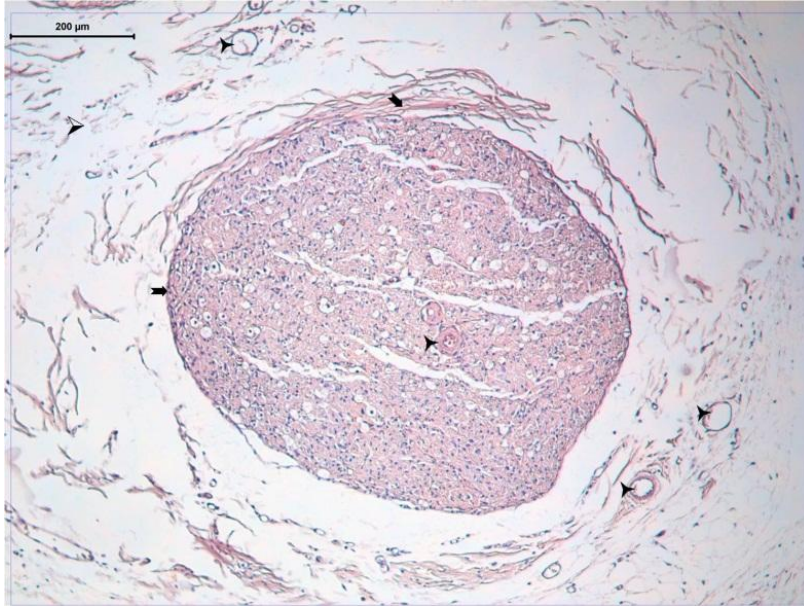


Resim 33: DESL 5. hafta grubunda perinöryum (➡), epinöryum (➤) ve kapillerlerin (▲) izlenmesi. (H-Ex100)

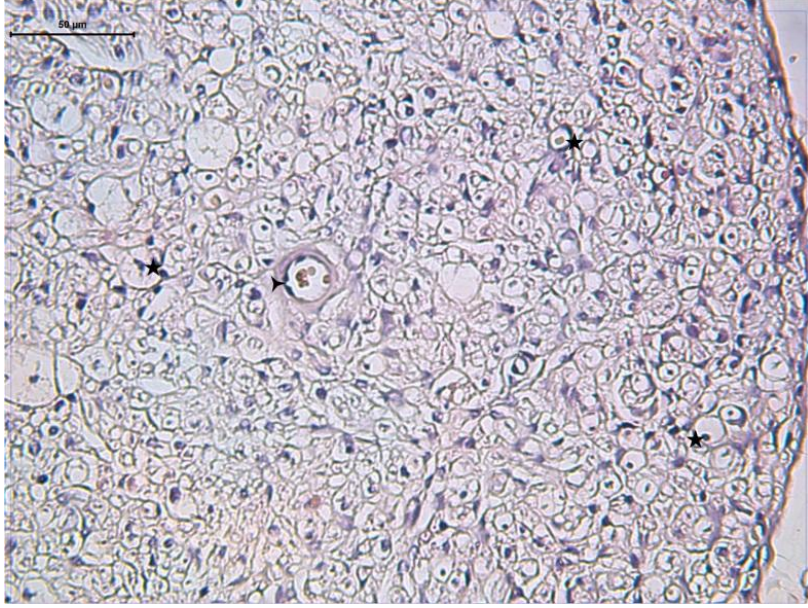


Resim 34: DESL 5. hafta grubunda gözlenen aksonlar (★) ve kapillerler (▲). (H-Ex400)

DESL uygulanan 12. hafta grubunda epinöryum ve perinöryumun bir önceki gruba benzerlik gösterdiği görüldü. Endonöryumdaki ödemin doku genelinde ortadan kalktığı belgindi (Resim 35). Büyük büyötmeli incelemelerde sinir liflerinin genel olarak normal boyut ve yapısına kavuştuğu ve aksonların sinir teli merkezinde yerleşim gösterdiği izlenirken, çok az sayıda dilate sinir liflerinin hala var olduğu gözlendi. Kapiller dilatasyonun ise azaldığı görüldü (Resim 36).

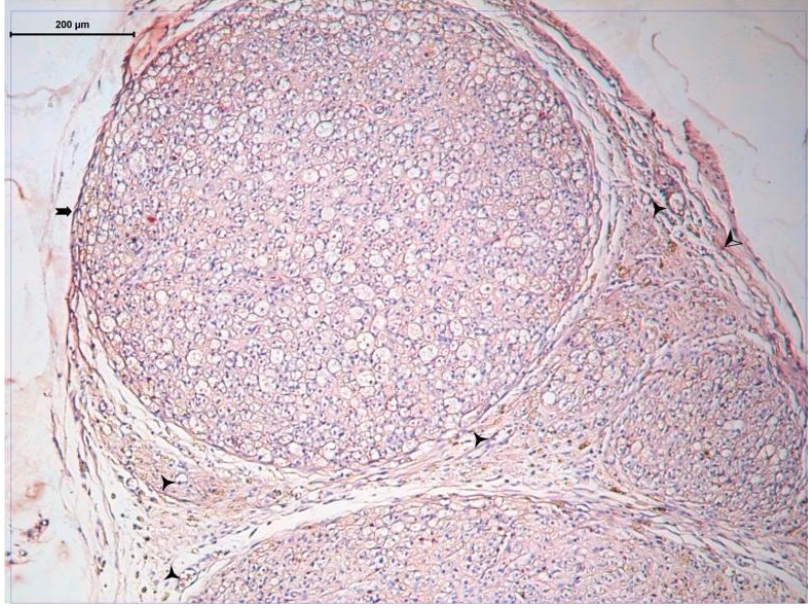


Resim 35: DESL 12. hafta grubunda izlenen perinöryum (→), epinöryum (➤) ve kapillerler (↗). (H-Ex100)

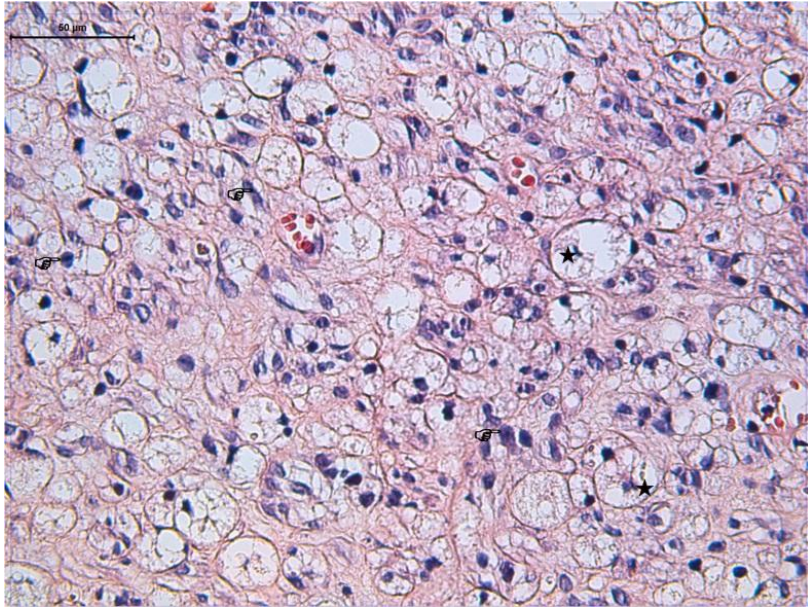


Resim 36: DESL 12. hafta grubunda gözlendiği aksonlar (★) ve kapillerler (▲). (H-Ex400)

ABS 3. hafta grubunda ödeme rastlanmadı, epinöryumda belirgin damar gelişimi ve bol miktarda kapillerler vardı (Resim 37). Büyük büyütmede aksonlarda yer yer dilatasyonla birlikte bu grupta, aynı döneme ait diğer gruplardan farklı olarak Schwann hücre hipertrofisi ve hiperplazisi dikkati çekti (Resim 38).

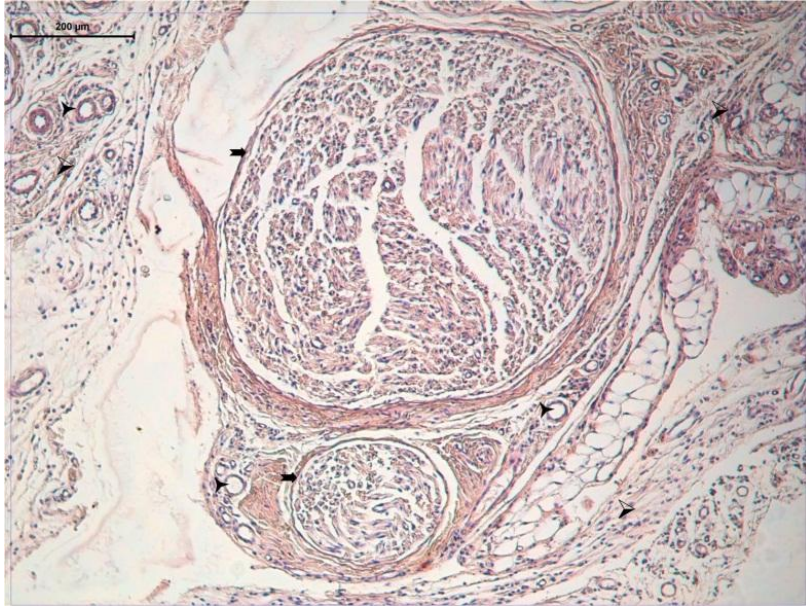


Resim 37: ABS 3. hafta grubunda izlenen perinöryum (⇔), epinöryum (➤) ve kapillerler (↖). (H-Ex100)

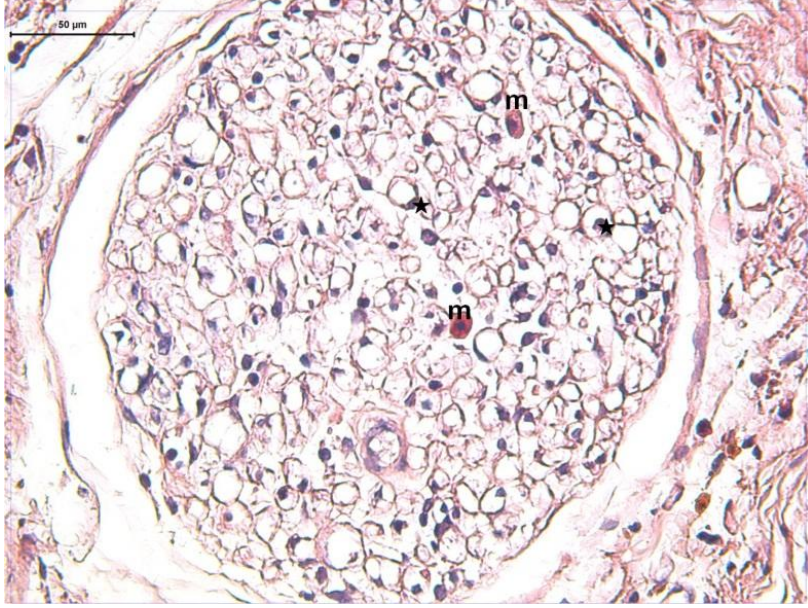


Resim 38: ABS 3. hafta grubunda gözlenen aksonlar (★) ve Schwann hücrelerinde hiperplazi (↗). (H-Ex400)

ABS 5. hafta grubunda perinöryumda yer yer ödem görüldü. 3. hafta grubu ile benzer olarak epinöryumdaki artmış damar sayısı dikkati çekti. Bir önceki gruptan farklı olarak epinöryumda daha belirgin olmak üzere, tüm bağ doku katmanlarında inflamasyon belirgindi (Resim 39). Büyük büyütme incelemlerde gerek epinöryum gerek endonöryumda belirgin olarak mast hücreleri gözlemlendi. Bu grupta sinir telleri yer yer normal yapıda gözlenirken, dilate liflerin varlığı da dikkat çekti. Sinir lifleri normal görünümde izlenirken, merkezde yerleşik olan aksonların diğer tüm gruplara göre göreceli olarak kalınlaştığı görüldü (Resim 40).

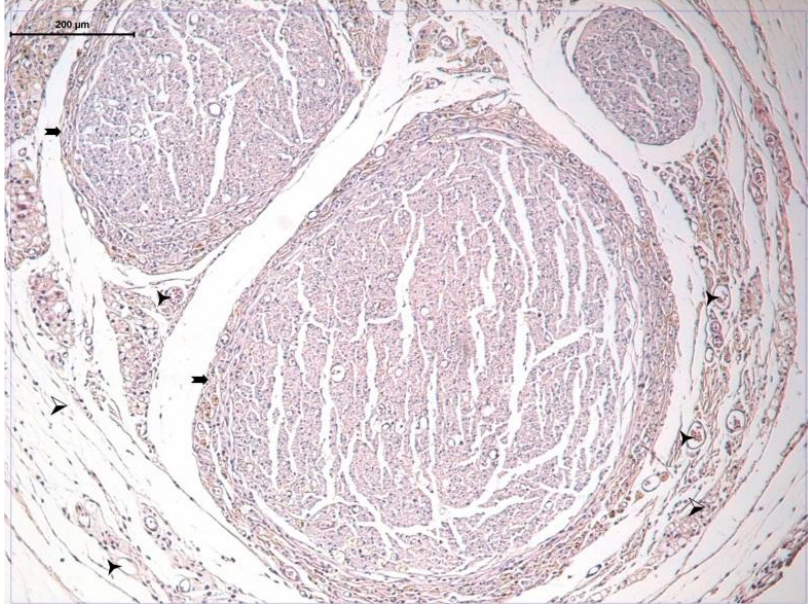


Resim 39: ABS 5. hafta grubunda izlenen perinöryum (→), epinöryum (➤) ve kapillerler (▲). (H-Ex100)

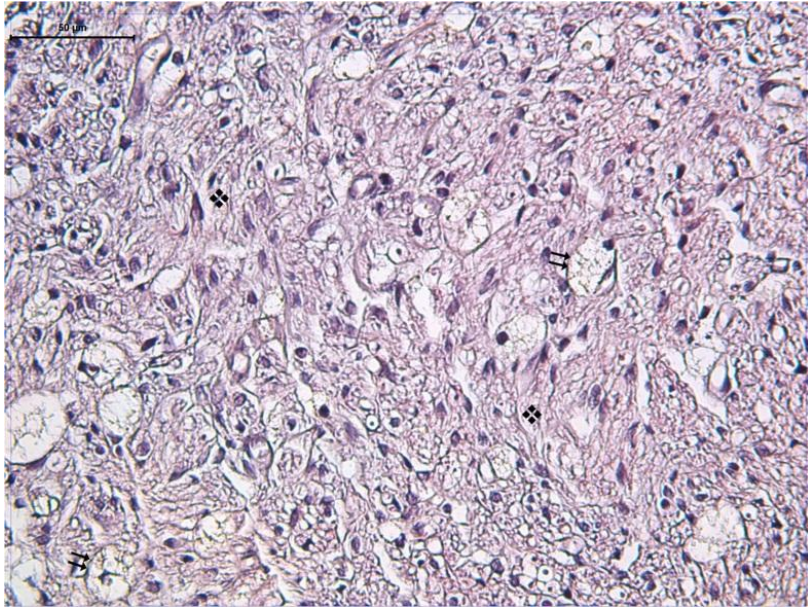


Resim 40: ABS 5. hafta grubunda; aksonlar (★) ve mast hücrelerinin (m) gözlenmesi. (H-Ex400)

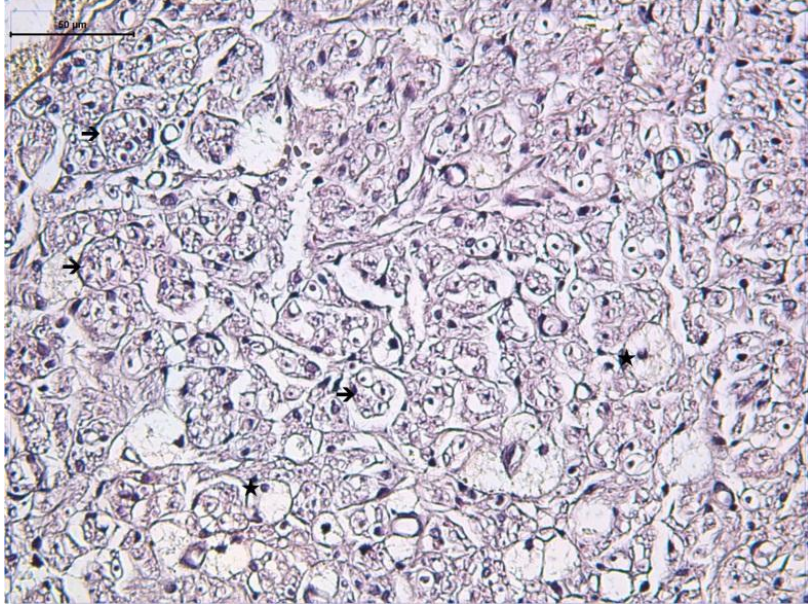
ABS 12. hafta grubunda epinöryumda ve endonöryumda belirgin ödem, ayrıca damar sayısında göreceli artış ve inflamasyon izlendi (Resim 41). Büyük büyütmede epinöryumda izlenen damarlanmanın, endonöryumda da varolduğu belirlendi. ABS 5. hafta grubundan farklı olarak sinir lifinde dejenerasyon izlenirken, endonöryumda fibrozis izlendi (Resim 42). Kontrol 12. hafta grubu ile benzer olarak bu grupta da endonöryumla sarılı sinir lif gruplarının oluştuğu dikkati çekti (Resim 43).



Resim 41: ABS 12. hafta grubunda izlenen perinöryumda (→), epinöryumda ödem (➤) ve artmış kapillerler (▲). (H-Ex100)

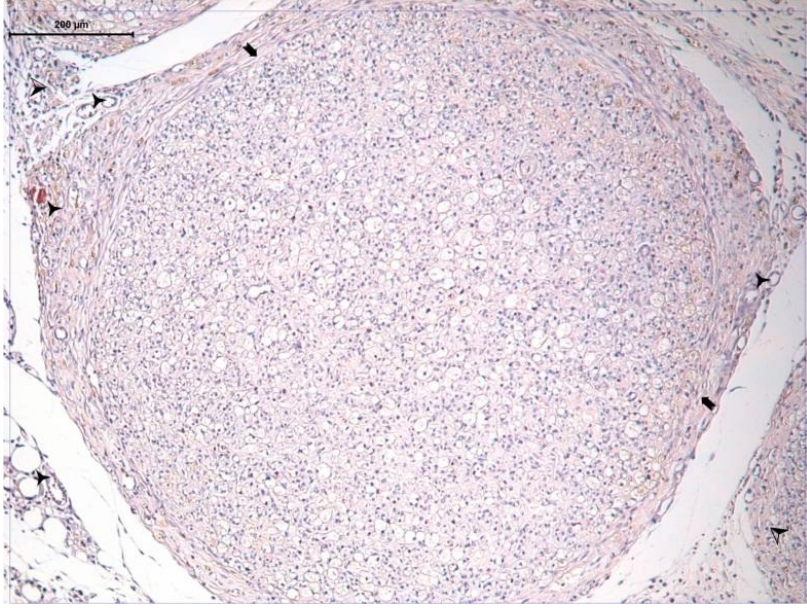


Resim 42: ABS 12. hafta grubunda izlenen endonöryumda fibrozis (◆) ve dejenerasyon (⇔). (H-Ex400)

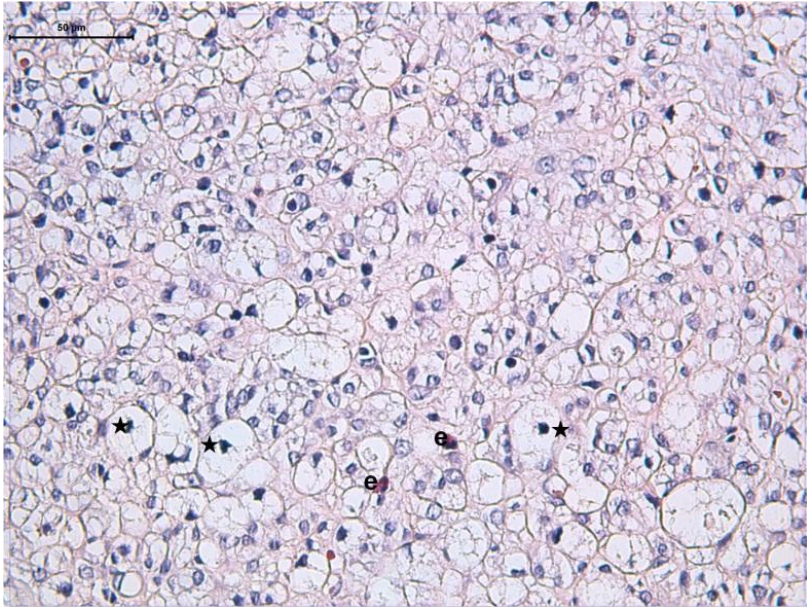


Resim 43: ABS 12. hafta grubunda dikkati çeken aksonlar (★) ve küçük sinir teli grupları (➔). (H-Ex400)

ABS ve DESL uygulanan 3. hafta grubunda epinöryumda yer yer ödem gözlenirken, perinöryumda ve endonöryumda gözlenmedi. Epinöryum ve perinöryumda damarlanmada belirgin artışla birlikte yoğun inflamasyon izlendi (Resim 44). Büyük büyütme incelemelerde sinir liflerinde yer yer dejeneratif değişiklikler izlenirken, bazılarının normal yapıda olduğu saptandı. Alerjik reaksiyon göstergesi olarak bilinen eozinofillerin varlığı gözlemlendi (Resim 45).

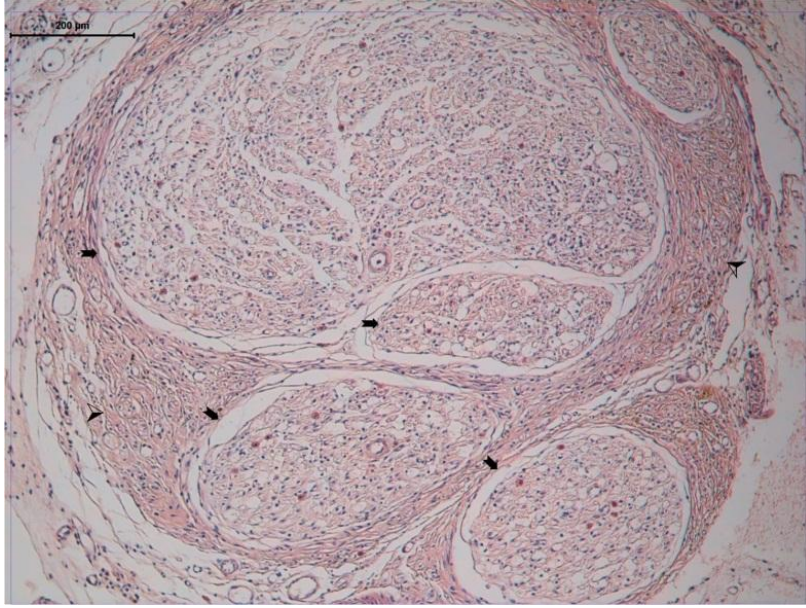


Resim 44: ABS ve DESL 3. hafta grubunda izlenen perinöryum (⇨), epinöryum (➤) ve kapillerler (▲). (H-Ex100)

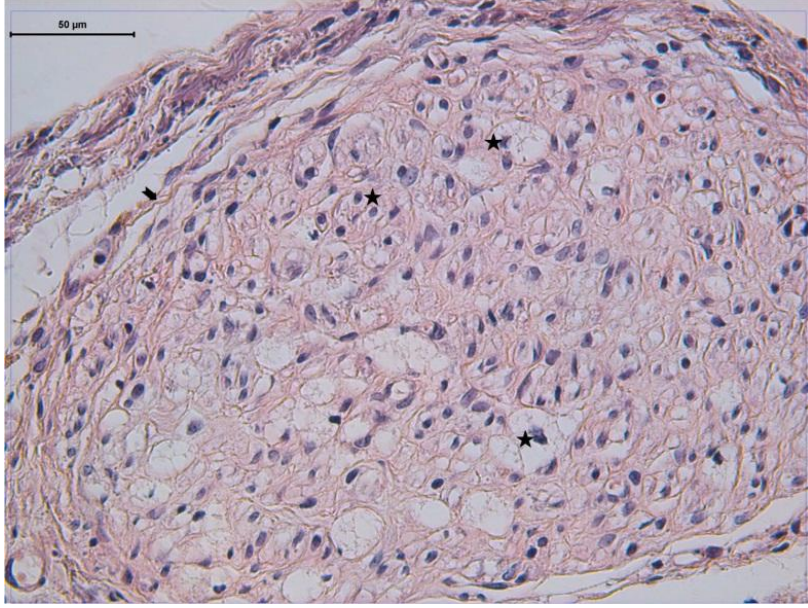


Resim 45: ABS ve DESL 3. hafta grubunda görülen aksonlar (★) ve eozinofiller (e). (H-Ex400)

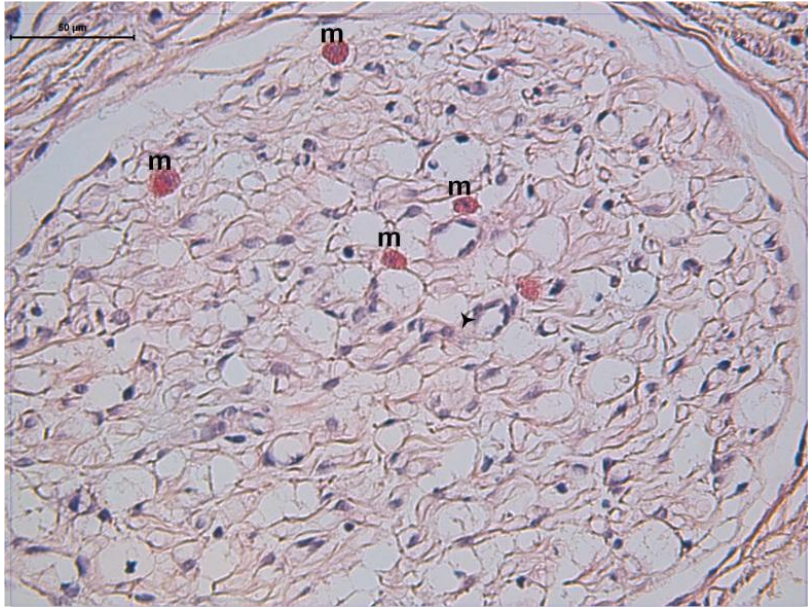
ABS ve DESL uygulanan 5. hafta grubunda epinöryumda ödem görülmezken, perinöryumda ödem izlendi. Ancak tüm bağ doku katmanlarında belirgin ve son derece yaygın inflamasyon varlığı dikkat çekti (Resim 46). Büyük büyütmele incelemelerde sinir liflerinin geneli normal yapıda izlenirken yer yer dilate liflere de rastlandı (Resim 47). Bu gruba ait kesitlerin bazılarında inflamasyonla bağlantılı olarak endonöryumda mast hücre infiltrasyonu belirgindi. Hücrelerin genellikle artmış sayıdaki kapillerlere yakın konumlandıkları dikkati çekti (Resim 48).



Resim 46: ABS ve DESL 5. hafta grubunda perinöryumda ödem (→) ve epinöryumun (➤) izlenmesi. (H-Ex100)

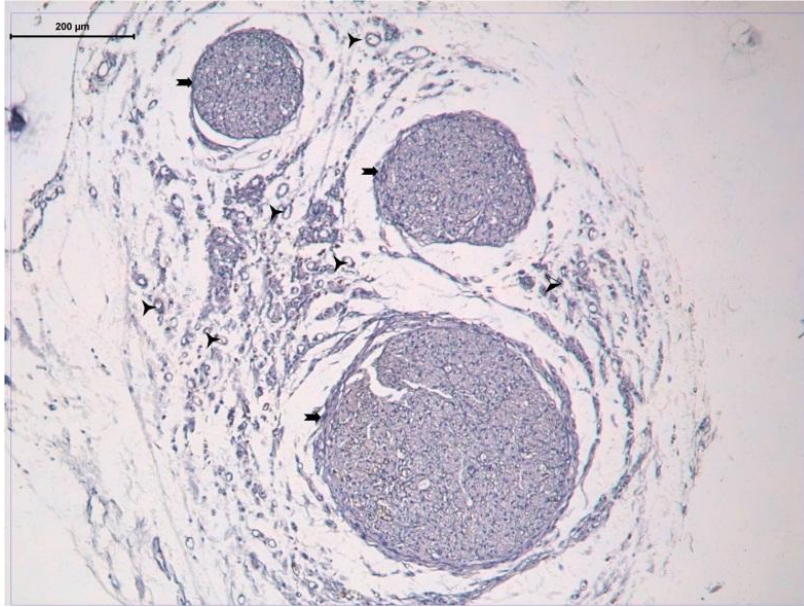


Resim 47: ABS ve DESL uygulanan 5 hafta grubunda büyük büyütme ile incelemelerde gözlenen perinöryum (→) ve aksonlar (★). (H-Ex400)

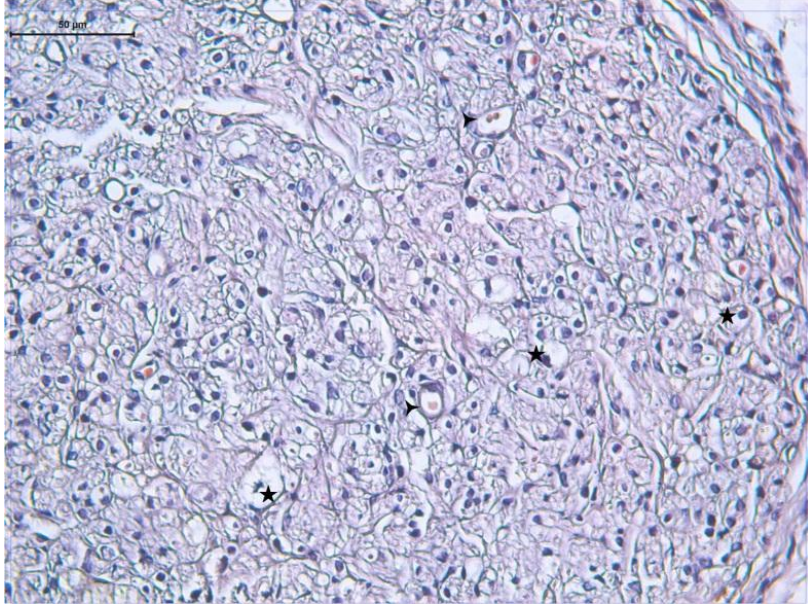


Resim 48: ABS ve DESL 5. hafta grubunda görülen kapillerler (→) ve yakınlarında yerleşik mast hücreleri (m). (H-Ex400)

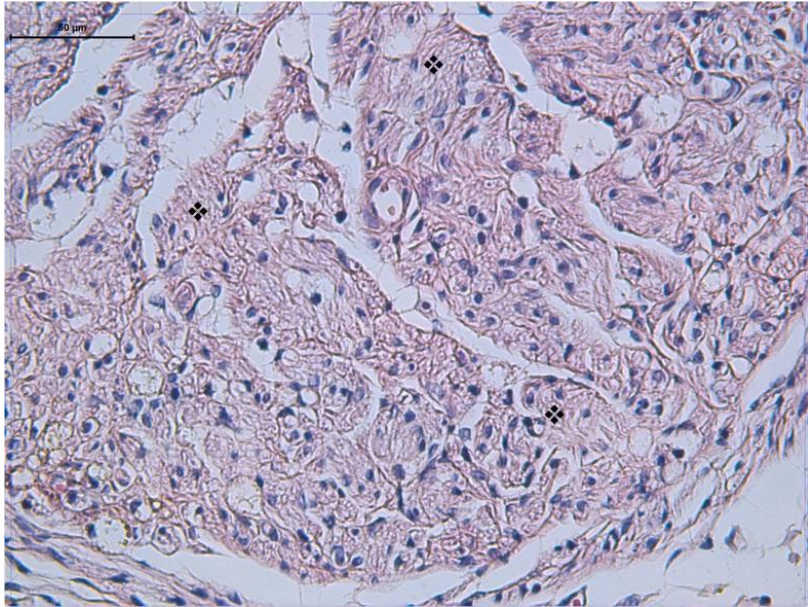
ABS ve DESL uygulanan 12. hafta grubunda küçük büyütmele incelemelerde epinöryumda yaygın ödem mevcuttu. Damarlanmadaki artış bu grupta da belirgindi. Perinöryumda ödemin azaldığı izlenirken, endonöryum normal yapıda izlendi (Resim 49). Büyük büyütmele incelemelerde endonöryumda inflamasyonun hala devam ettiği izlenirken, artmış damar sayısı belirgindi (Resim 50). Bazı örneklerde endonöryumda fibrotik değişiklikler gözlemlendi (Resim 51).



Resim 49: ABS ve DESL 12. hafta grubunda perinöryum (→), epinöryum (➤) ve kapillerlerin (●) izlenmesi. (H-Ex100)



Resim 50: ABS ve DESL 12. hafta grubunda gözlenen aksonlar (★) ve kapillerler (▲). (H-Ex400)



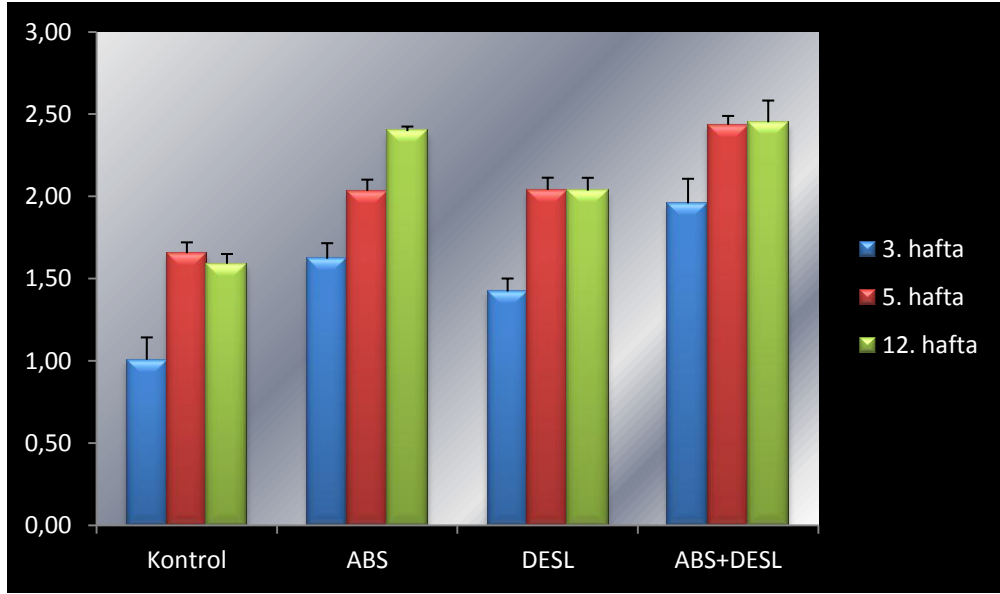
Resim 51: ABS ve DESL 12. hafta grubunda izlenen fibrotik değişiklikler (◆). (H-Ex400)

4.2. Biyokimyasal Analiz

Kontrol, ABS, DESL ve ABS+DESL gruplarında, birbirleri arasındaki ve her grubun kendi içinde sakrifikasyon günlerine göre GAP-43 protein ifadenmesi istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

Tablo 3: Western Blot ile GAP-43 protein analizi, grupların normalizasyon değerleri.

Hafta/ Gruplar	Kontrol	ABS	DESL	ABS + DESL	
3	n=6 1,01	n=6 1,62	n=6 1,42	n=6 1,96	Ortalama
	0,14	0,09	0,08	0,15	Std. Sapma
	$p=,000<0,05$ $p=,073$ $p=,001<0,05$				p değeri
	$p=,000<0,05$ $p=,008<0,05$				
5	n=6 1,66	n=6 2,03	n=6 2,04	n=6 2,44	Ortalama
	0,07	0,07	0,07	0,05	Std. Sapma
12	n=6 1,59	n=6 2,40	n=6 2,04	n=6 2,45	Ortalama
	1,15	0,03	0,08	0,13	Std. Sapma
	$p=,000<0,05$ $p=,001<0,05$ $p=,000<0,05$				p değeri
	$p=,000<0,05$ $p=,451$				

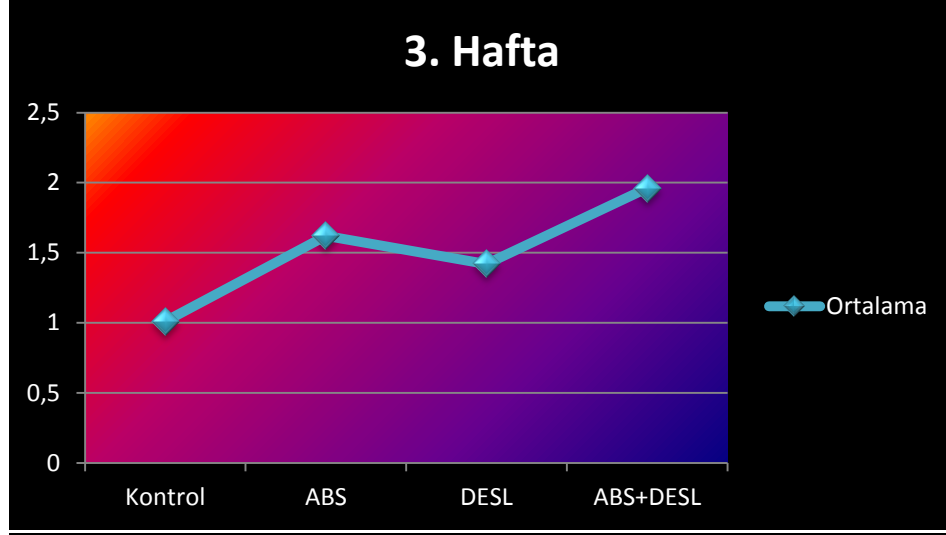


Grafik 1: GAP-43 protein ifadelenmesinin gruplara göre ortalama dağılımı.

3. haftada sakrifiye edilen ratlarda GAP-43 protein ifadelenmesi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak şu sonuçlara ulaşılmıştır:

- ABS uygulanan grupta GAP-43 protein ifadelenmesi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p=,000<0,05$)
- DESL uygulanan grupta GAP-43 protein ifadelenmesi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p=,000<0,05$)
- ABS+DESL uygulanan grupta GAP-43 protein ifadelenmesi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p=,000<0,05$)
- *ABS ve DESL grupları arasında GAP-43 protein ifadelenmesi açısından anlamlı fark yoktur. ($p=,073$)*
- ABS+DESL uygulanan grupta GAP-43 protein ifadelenmesi ABS uygulanan gruba göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p=,008<0,05$)

- ABS+DESL uygulanan grupta GAP-43 protein ifadenmesi DESL uygulanan gruba göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p=,001<0,05$) (Least Signifant Difference (LSD) Testi)

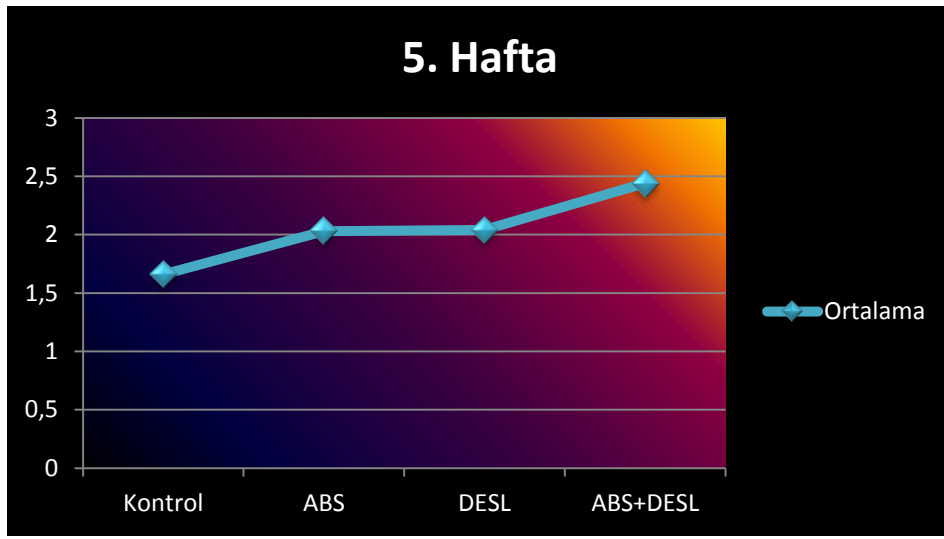


Grafik 2: 3. haftada sakrifiye edilen ratların GAP-43 protein ifadenmesinin gruplara göre ortalama değışimi.

5. haftada sakrifiye edilen ratlarda, GAP-43 protein ifadenmesi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak şu sonuçlara ulaşılmıştır:

- ABS uygulanan grupta GAP-43 protein ifadenmesi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p=,000<0,05$)
- DESL uygulanan grupta GAP-43 protein ifadenmesi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p=,000<0,05$)
- ABS+DESL uygulanan GAP-43 protein ifadenmesi kontrol grubuna göre grupta anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p=,000<0,05$)
- *ABS ve DESL uygulanan gruplar arasında GAP-43 protein ifadenmesi açısından farklılık yoktur. ($p=,912$)*

- ABS+DESL uygulanan grupta GAP-43 protein ifadenmesi ABS grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p=,000<0,05$)
- ABS+DESL uygulanan grupta GAP-43 protein ifadenmesi DESL grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p=,000<0,05$) (LSD testi)

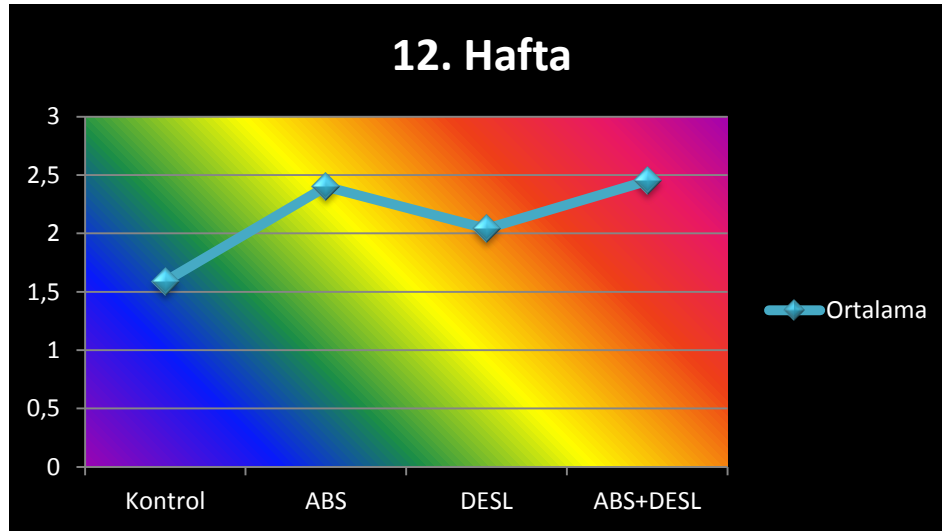


Grafik 3: 5. haftada sakrifiye edilen ratların GAP-43 protein ifadenmesinin gruplara göre ortalama değışimi.

12. haftada sakrifiye edilen ratlarda GAP-43 protein ifadenmesi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak şu sonuçlara ulaşılmıştır:

- ABS uygulanan grupta GAP-43 protein ifadenmesi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p=,000<0,05$)
- DESL uygulanan grupta GAP-43 protein ifadenmesi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p=,000<0,05$)
- ABS+DESL grupta GAP-43 protein ifadenmesi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p=,000<0,05$)

- ABS uygulanan grupta GAP-43 protein ifadenmesi DESL uygulanan gruba göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p=,001<0,05$)
- ABS ve ABS+DESL uygulanan gruplarda GAP-43 protein ifadenmesi açısından farklılık yoktur. ($p=,451$)
- ABS+DESL uygulanan grupta GAP-43 protein ifadenmesi DESL uygulanan gruba göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p=,000<0,05$) (LSD testi)

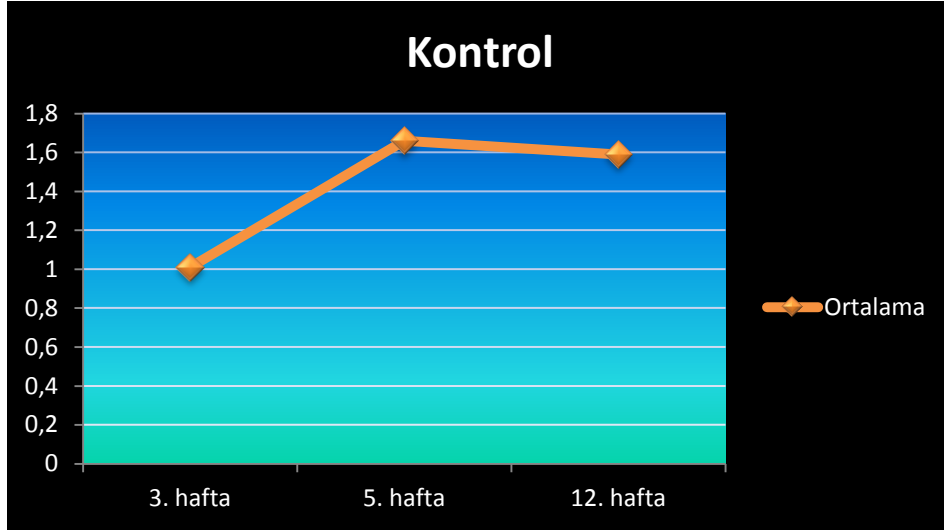


Grafik 4: 12. haftada sakrifiye edilen ratların GAP-43 protein ifadenmesinin gruplara göre ortalama değışimi.

Kontrol grubunda sakrifikasyon zamanları kıyaslandığında istatistiksel olarak şu sonuçlar elde edilmiştir:

- 5. hafta grubunda GAP-43 protein ifadenmesi 3. hafta grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p=,000<0,05$)
- 12. hafta grubunda GAP-43 protein ifadenmesi 3. hafta grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p=,000<0,05$)

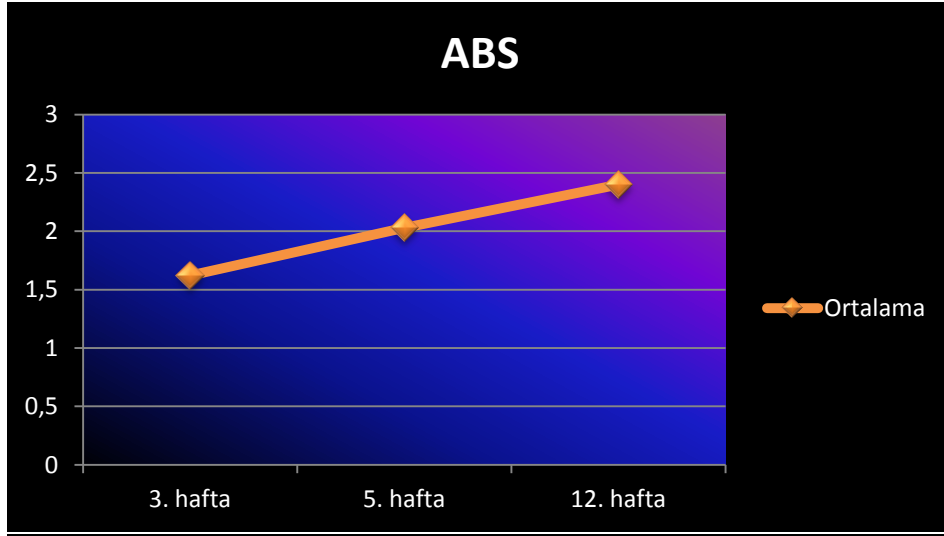
- 5. ve 12. haftalık gruplar arasında GAP-43 protein ifadenmesi açısından farklılık yoktur. ($p=,435$) (LSD testi)



Grafik 5: Kontrol grubunda GAP-43 proteininin haftalara göre ortalama değışimi.

ABS uygulanan grupta sakrifikasyon zamanları kıyaslandığında istatistiksel olarak şu sonuçlar elde edilmiştir:

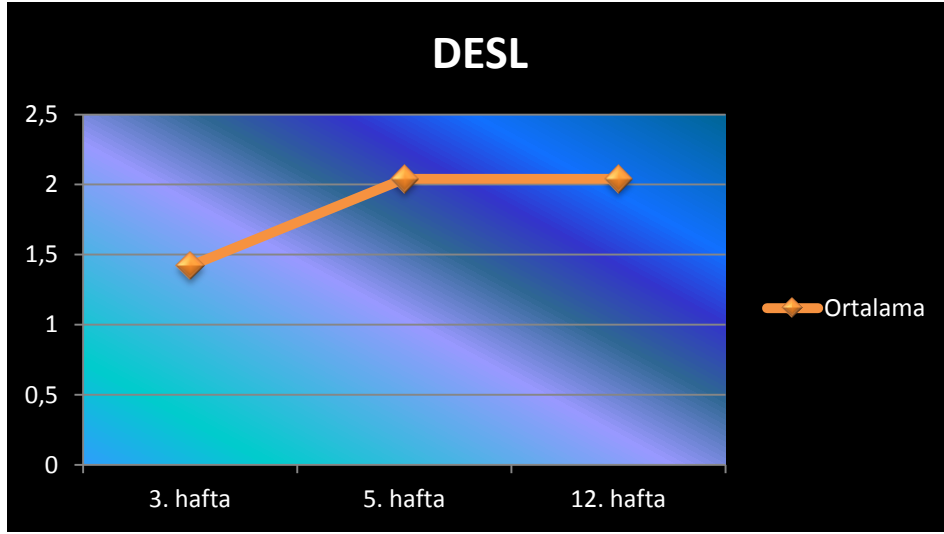
- 5. hafta grubunda GAP-43 protein ifadenmesi 3. hafta grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p=,000<0,05$)
- 12. hafta grubunda GAP-43 protein ifadenmesi 3. hafta grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p=,000<0,05$)
- 12. hafta grubunda GAP-43 protein ifadenmesi 5. hafta grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p=,0001<0,05$) (LSD testi)



Grafik 6: ABS grubunda GAP-43 proteininin haftalara göre ortalama değişimi.

DESL uygulanan grupta sakrifikasyon zamanları kıyaslandığında istatistiksel olarak şu sonuçlar elde edilmiştir:

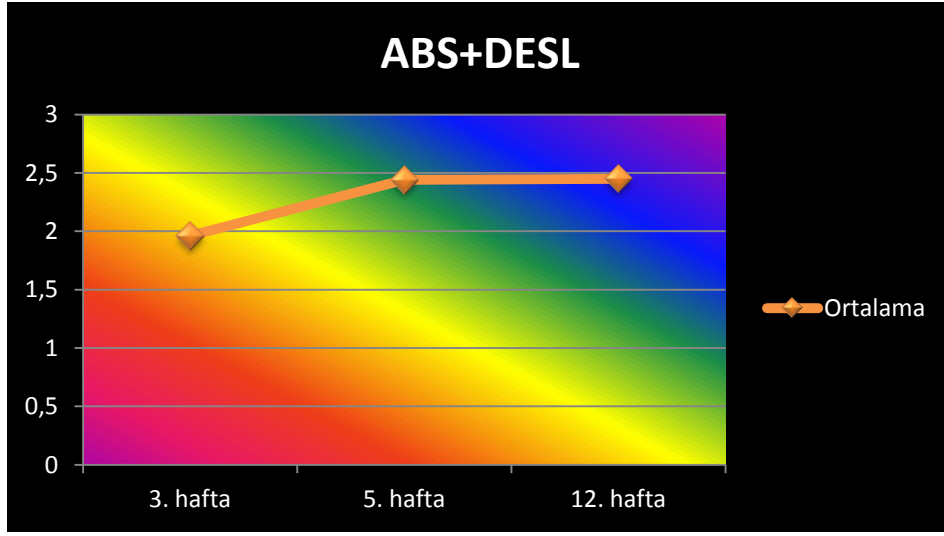
- 5 haftalık grupta GAP-43 protein ifadenmesi 3. hafta grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p=,000<0,05$)
- 12 haftalık grupta GAP-43 protein ifadenmesi 3. hafta grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p=,000<0,05$)
- 5 ve 12 haftalık gruplar arasında GAP-43 protein ifadenmesi açısından farklılık yoktur. ($p=,950$) (LSD testi)



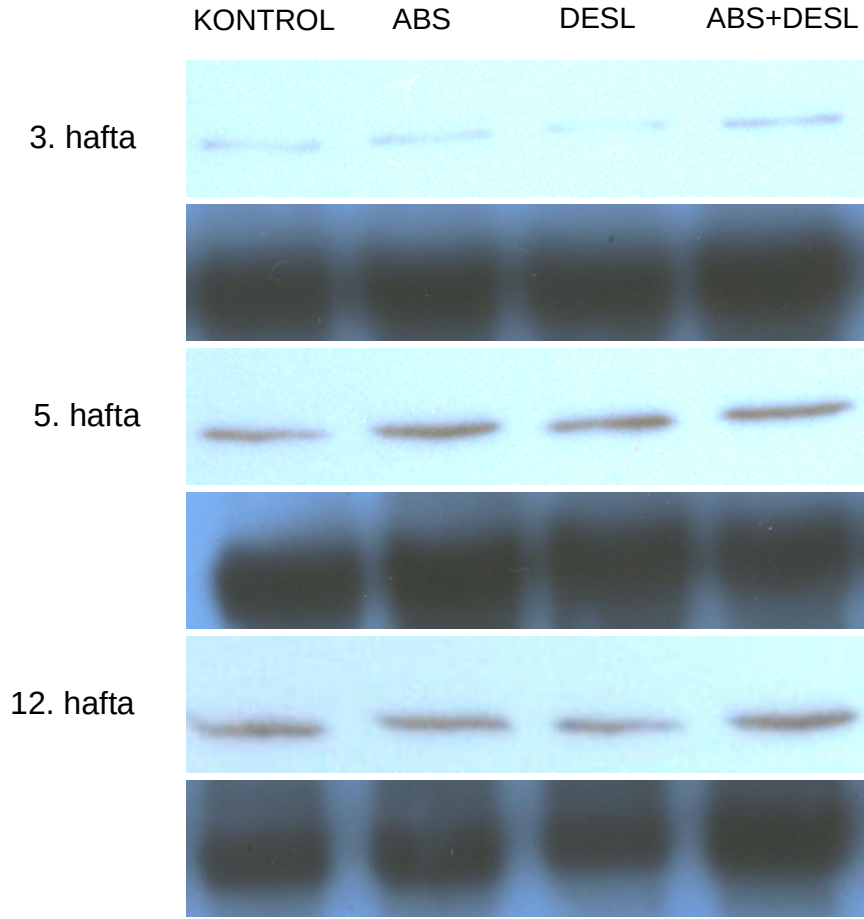
Grafik 7: DESL grubunda GAP-43 proteininin haftalara göre ortalama dağılımı.

ABS+DESL uygulanan grupta sakrifikasyon zamanları kıyaslandığında istatistiksel olarak şu sonuçlar elde edilmiştir:

- 5 haftalık grupta GAP-43 protein ifadenmesi 3. hafta grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p=,003<0,05$)
- 12 haftalık grupta GAP-43 protein ifadenmesi 3. hafta grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. ($p=,002<0,05$)
- 5 ve 12 haftalık gruplar arasında GAP-43 protein ifadenmesi açısından farklılık yoktur. ($p=,882$) (LSD testi)



Grafik 8: ABS+DESL grubunda GAP-43 proteininin haftalara göre ortalama dağılımı.



Şekil 18: Western Blot analiziyle GAP-43 protein bandı X-ray görüntülemesi.

5. TARTIŞMA

Güncel maksillofasiyal cerrahi prosedürler, özellikle inferior alveolar ve lingual sinirler gibi trigeminal sinir duyu dallarında anlamlı ölçüde (%100'e varabilen) artmış sinir hasarı riski taşımaktadırlar.¹⁸¹ Bunun yanı sıra fasiyal ve nadiren hipoglossal sinirleri de ilgilendiren periferik sinir yaralanmaları pek çok sebeple oluşabilmektedir. Özellikle gömülü üçüncü molar diş çekimleri, implant yerleştirilmesi gibi dentoalveolar cerrahi işlemler, lokal anestezi enjeksiyonu, ortognatik cerrahi operasyonlar, maksillofasiyal travma, tümöral büyümeler, kist ve tümör operasyonları duyu ve motor kaybı nedenlerinin başında gelmektedir.^{93,215}

Meydana gelen sinir hasarı sonrası, his ve duyu fonksiyonu çoğunlukla bozulmakta ancak nadiren tamamiyle kaybolmaktadır ve hastaların ufak bir yüzdesinde posttravmatik kronik ağrı gelişebilmektedir.^{216,217}

Gömülü üçüncü molar diş cerrahisi alanımızda en yaygın yapılan işlemdir. Gömülü diş çekimleri en sık inferior alveolar sinir ve lingual sinir yaralanmasına neden olmakta ve bu nedenle dudak, yanak, çene ucunda veya dilin üçte ikisinde hissizliğe ve tat duyusunda bozukluğa sebep olmaktadır.^{218,219}

Çalışmalar çekime bağlı parestezilerin genellikle geçici olduğunu, altı ay içinde iyileşme gösterebildiğini rapor etmektedir. Ancak iki yıl içinde sinirde iyileşme gözlenmezse, bu kalıcı his kaybının göstergesidir ve tamamen sinirin fonksiyonunu kaybettiğini gösterir.²¹⁸

Üçüncü molar cerrahisi sonrası inferior alveolar sinirde ve lingual sinirde görülen geçici duyu kaybı prevalansının %0,25-13 arasında,^{218,220,221} gömülü üçüncü molar diş çekimine bağlı kalıcı lingual sinir hasarının %0,04-0,6 arasında ve inferior alveolar sinir hasarının ise %0-2,2 arasında değiştiğini rapor eden çalışmalar mevcuttur.^{3,136,222} Bilateral sagittal split osteotomi sonrası kalıcı sinir hasarının rapor edildiği sistematik bir derlemede ise bu oran %12,8 olarak belirtilmiştir.³

Lokal anestezik enjeksiyonlarına bağlı kalıcı sinir harabiyetinin çok daha az sıklıkla; %0,0001-0,01 arasında meydana geldiği rapor edilmektedir.²²⁰

Temporomandibuler ekleme cerrahi yaklaşım sırasında, cerrahların en çok dikkat ettikleri anatomik oluşum fasial sinirdir. Fasial sinirin fonksiyonel devamlılığı bu tip cerrahi işlemler sırasında kritik noktadır. Cerrahi sırasında çok dikkatli olunmasına ya da cerrahın tecrübeli olmasına rağmen fasial sinir hasar görebilir ve frontal bölge ve gözün orbiküler kaslarında yaralanmayla sonuçlanabilir. Sinir yaralanması bu tip cerrahinin majör komplikasyonudur.²²³

Literatürde farklı yazarlar tarafından fasial sinir yaralanma oranının %1 ila %55 arasında olduğu bildirilirken, üç ay sonunda kısmi veya tam iyileşme saptanan çalışmalar mevcuttur.²²³⁻²²⁵

Orofasiyal bölgedeki duyu değişiklikleri ve ağrı, konuşma, yeme, içme, traş olma, diş fırçalama gibi tüm sosyal ve temel aktiviteleri

olumsuz yönde etkileyerek, hastaların yaşam kalitesinde azalma ve psikolojik problemlere yol açmaktadır.^{220,226,227}

Günümüzde orofasiyal bölgede meydana gelen sinir yaralanmalarının tedavisi şu an için yetersiz kalabilmektedir. Bu bölgede oluşan travmatik yaralanmalarla başa çıkmak oldukça zordur ve tedavi sırasında yaralanmanın şekli her yönden değerlendirilmelidir. Hastanın kalıcı şikayetleri varsa ve optimal fizyolojik ve fonksiyonel iyileşme sağlanacaksa reparatif cerrahi düşünülebilir: Fakat pratikte, cerrahi yöntemlerin kanıta dayalı desteği anlamlı derecede azdır.^{220,228}

Trigeminal sinirde meydana gelen yaralanma merkezi sinir sisteminde subkortikal ve kortikal seviyelerde nöral substratlarda plastisite değişikliğine yol açmaktadır. Bu nedenle yaralanma sonrası yüz ve dudakların stimülasyonu yalnızca sinir impulslarında farklılığa neden olmaz, hastada semptomlara neden olacak şekilde farklı ilerler.¹⁸²

Biz de oral ve maksillofasial bölgede duyu ve motor bozukluklara yol açabilen sinir hasarlarının tedavisinde etkili olacağını düşündüğümüz, invaziv olmayan yöntemlerle deney hayvanları üzerinde bir çalışma planladık. Bu çalışma intraoperatif sinir yaralanmasının farkedildiği durumlarda uygulanabilecek bir tedavi yöntemi geliştirebilmek, sinir iyileşmesini hızlandırabilmek ve gelecekte klinik uygulamalara ışık tutabilmek amacıyla gerçekleştirildi.

BSSRO'nun genellikle operasyondan 6 ay sonrasına kadar hastaların %20²²⁹ ve 1 yıl sonrasına kadar hastaların %5 'inde²¹⁷ nöropatik ağrıya sebep olabildiği bildirilmektedir.

Posttravmatik nöropatik ağrının ve idiopatik trigeminal nevrалjinin tedavisinde şimdiye kadar çeşitli medikasyonlar denenmiş, cerrahi tedavi veya enjeksiyon terapileri uygulanmıştır.^{230,231} Trigeminal nevrалji tedavisinde patolojik sinirde destrüktif değişiklikler yaratarak ağrının giderilmesine çalışılmıştır. Karaca ve arkadaşlarının²³² rat infraorbital sinirine gliserol enjeksiyonu yaptığı çalışmada, gliserol enjeksiyonunun trigeminal nevrалji tedavisinde önemli derecede duyu kaybı olmadan ağrıyı gidermesi, açık cerrahi prosedürlere göre daha az komplikasyona sebep olması nedeniyle ve sinir liflerinde meydana getirdiği nonspesifik değişiklikler sayesinde geçerli bir seçenek olabileceği rapor edilmiştir.

Literatürde geçen, ağrı kontrolü için transelektriksel sinir stimölasyonu (TENS) ile fizik terapi, medikal tedavi ve hipnozla davranış terapisi gibi cerrahi olmayan tedavi yöntemi mevcuttur.²²²

Elektriksel stimölasyonun baş-boyun ve yüz bölgesinde ağrıyı azaltma ve spinal kord yaralanması geçiren bireylerde hareket ve fonksiyonu yeniden kazandırma gibi nörobiyolojik etkileri olduğu rapor edilmiştir.^{233,234} Düşük frekanslı elektrik stimölasyonunun da yaralanma sonrası sinir rejenerasyonunu hızlandırabileceği beklenmektedir.^{235,236} Ancak yüksek frekanslı elektrik stimölasyonunun rejenerasyonda başarısızlığı arttırabileceği belirtilmektedir.²³⁷ Bu nedenle elektriksel

stimölasyonun periferel sinir rejenerasyonuna etkisinin negatif veya pozitif olması uyarının dozuna bağımlıdır.²³⁸

Sinir hasarlarına yönelik semptomatik rahatlama sağılayan bir takım ilaçlar bulunmuştur. Antikonvölzanlar, antidepresanlar, opiadlar, antiaritmikler, kalsiyum kanal blokörleri veya topikal anestezipler ile birlikte temelde B vitamini kompleksi içeren preparasyonlar kullanılmaktadır.¹²³ Hayvan deneylerinde B vitamini kompleksi ile periferel sinir rejenerasyonunda gelişme kaydedilmesine rağmen, insanlarda faydalı etkileri olduğuna dair bir kanıt bulunmamaktadır.

Benzer şekilde sinir yaralanmasından sonra aksonal yoğunluğu arttırarak sinir rejenerasyonunu geliştirdiğı düşünölen düşük enerji seviyeli lazer tedavisi de bir başka tedavi modeli olarak önerilmiştir.²³⁹

Zarar görmüş sinire direk sütur atma ya da greftleme gibi cerrahi tamire izin veren mikrocerrahi tekniklerin başarı oranının yaklaşık %80 olduğü belirtilmektedir.¹³⁵

Tanımlanmış mikrocerrahi tamir prensipleriyle birlikte interpozisyonel sinir grefti devamlılığı olan defektlerde kullanılabilen bir tedavi seçeneğidir. Sinir greftinin başarısı sinir ve greft çapları birbirine yakın olduğunda ve fasiküller maksimum düzeyde karşılıklı geldiğinde (sayı ve boyut olarak benzer olduğunda) optimal düzeyde olabilmektedir.²⁴⁰ Sural sinirin fasiküler düzenlenmesi ve çapı inferior alveolar sinire uygundur.^{241,242} Bu yüzden defekt tamirinde köprü

oluşturken sural sinirin kullanıldığı çalışmalar mevcuttur.²⁴³ Bu tekniğin dezavantajları olarak ikinci bir insizyon ve donör saha morbiditesi rapor edilmiştir.^{244,245} Ayrıca donör saha tolere edilse bile greft transplantasyonu geniş bir submandibular insizyon gerektirmektedir ve sinir çapı küçük olabilmekte ve erken bifurkasyon görülebilmektedir.^{246,247}

Inferior alveolar sinir ve lingual sinir yaralanması sonrası eksternal nöroliz, direk sutur tekniğiyle veya Gore-tex tüplerle mikrocerrahi yapılan vakalarda iyileşmenin sınırlı olduğu, %25-30 oranını geçmediği görülmüştür.^{101,248-252}

Günümüzde geniş sinir defektlerini birleştirmek için yapılan *in vitro* araştırmalar, genetik olarak modifiye olmuş hücre kaynaklarına, nörotropik faktörlere odaklanmıştır. Ayrıca bu çalışmalar aksonal rejenerasyonu geliştirmek için kullanılan hücre kaynaklarını ve çeşitli molekülleri daha ulaşılabilir hale getirmek için sinirin yaralanmaya karşı verdiği endojen cevap ve hücre değişikliği mekanizmalarını değerlendirmek üzere gerçekleştirilmektedir. *In vitro* çalışmalar sinir hasarı sonrası mekanizmaları daha iyi anlamak için oldukça yardımcıdır. Ancak elde edilen kanıtlar hala zayıftır, sonuçları güvenilir değildir ve klinik uygulamaları sınırlıdır.²⁵³

Yara iyileşmesi, romatoid artrit tedavisi, iskelet–kas ağrıları, dental hastalıklar ve karpal tünel sendromu gibi hastalıklarda hasar görmüş dokulara düşük enerji seviyeli lazerin terapötik etkinliği iyi bilinmektedir. Periferik sinir yaralanmalarının gecikmiş tamirinin neden olduğu semptomları azaltmak ve eşlik eden sensorimotor bozuklukları tedavi etmek amacıyla, birçok terapötik ajan denenmesine rağmen

şimdiye kadar etkili bir tedavi şekli bulunamamıştır. Konservatif veya cerrahi tedaviler sonrası adjuvan tedavi olarak da DESL kullanılmıştır.²⁵⁴

Leung ve arkadaşlarının²⁵⁵ yaptığı bir başka çalışmada gömülü üçüncü molar diş çekimi sonrası 8 lingual ve 4 inferior alveolar sinir yaralanması olan bireylerde DESL kullanılmıştır. Bizim çalışmamızda olduğu gibi $\lambda = 833$ nm, 70 mW devamlı güçte, 8 mm çaplı problu Ga-Al-As diyot lazer kullanılmış ve yaralanmış sinir dağılım bölgesine uygulanmıştır. İki yıllık takipte lingual sinir yaralanması olan hastaların %12,5 'unda tamamen iyileşme, %75'inde anlamlı iyileşme ve %12,5'unda kısmi iyileşme gözlenmiştir. Inferior alveolar sinir hasarı olanların %25'inde anlamlı düzeyde iyileşme, %50'sinde kısmi iyileşme görülürken, %25'inde iyileşme izlenmemiştir. Çalışmacılar tedavinin zamanlaması ve sonuçları arasında her hangi bir ilişki belirtmemişlerdir ancak 2 yılı geçen yaralanmalarda DESL tedavisinin sınırlı düzeyde etki gösterebildiği rapor edilmiştir.

Son yıllarda sinir rejenerasyonu üzerine yapılan araştırmalar konservatif tedavilere odaklanmıştır. Bu amaçla insanlar üzerinde gerçekleştirilen çalışmalar da mevcuttur.¹⁵¹ Fiziksel tedavi yaklaşımlarının etkinlikleri henüz kanıtlanmamıştır. Düşük enerji seviyeli lazerle tedavi göreceli olarak daha derinlemesine araştırılmış olsa da az sayıda hastadan oluşan gruplarla, farklı sinir ve farklı etiyolojilerle çalışılmıştır.²⁵⁶ Düşük enerji seviyeli lazer girişimsel olmayan ve minimal yan etkisi olan bir tedavi yöntemi olduğundan dolayı tercih edilebilir.²⁵⁷ Fakat daha kaliteli çalışmalara ihtiyaç olduğu bildirilmektedir.²⁵³

Günümüze kadar pek çok araştırmacı, çeşitli periferik sinir yaralanmalarının tedavisinde, sinir rejenerasyonu hızlandırmak amacıyla düşük enerji seviyeli lazerleri kullanmıştır.²⁵⁸⁻²⁶¹

Biz de çalışmamızda DESL 'nin sinir rejenerasyonuna etkinliğini araştırdık.

Düşük enerji seviyeli lazerlerin sinir hücre aktivitesini değiştirdiği ve bazı nörotropik büyüme faktörlerinin hücre yüzey reseptörlerini ve hücre dışı matriks proteinlerini arttırdığı ve böylece sinir gövde büyümesini desteklediği birçok kez rapor edilmiştir.^{253,262}

Synder ve arkadaşları²⁶³ rat fasial sinir motor çekirdeğinde aksotomi sonrası kalsitonin gen-ilişkili peptid (CGRP) mRNA sentezinin düşük enerji seviyeli lazerle arttığını göstermişlerdir. Lazer fototerapi, yaralanmaya bağlı CGRP yoğunluğunda sağladığı değişiklik, aksotomize nöronlarda sağkalım, rejenerasyon ve hedef dokunun reinnervasyon oranını ideal hale getirebilmektedir.

Periferal sinir iyileşmesi üzerine yapılan pekçok sayıda *in vitro* çalışmada çeşitli terapötik maddeler ve biyomateryaller kullanılmıştır.²⁵³

Hayvanlar üzerinde yapılan birçok çalışmada fizik tedaviler, büyüme faktörleri, hücre kaynakları ve bazı proteinler, sinir tamiri sırasında lezyon bölgesine lokalizasyon uygun olduğunda uygulanabilmektedir.

Hayvan deneylerinin bir avantajı da kontrollü deney yapılabilme şansı sunmasıdır. Hayvanlar üzerinde ortaya atılan hipotezler kanıtlanmış olsa bile bunu klinik pratiğe yansıtan çalışmalar yoktur.²⁵³

Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar denerve olmuş kas fonksiyonunun geçici biyokimyasal değişikliklerle kısmi olarak korunabileceğini göstermiştir. Denerve kas fonksiyonu yaralanma sonrası mümkün olan en kısa zamanda lazer yardımıyla tatmin edici düzeyde iyileşebilmektedir.^{264,265}

Literatürde sinir iyileşmesini konu alan birçok çalışmada deneysel olarak sinir ezilme modeli oluşturmak amacıyla rat siyatik siniri kullanılmıştır.²⁶⁶⁻²⁷⁰ Siyatik sinir ezilme modeli ilk olarak De Koning²⁷¹ tarafından 1986'da tanımlanmış ve ratlarda periferik sinir sistemi aksonal rejenerasyonun monitörizasyonuna uygun olduğundan dolayı çalışmalarda kullanılmıştır.

Morani ve arkadaşları¹⁰ siyatik ezilme yaralanması oluşturulan ratlarda sonrası erken dönemde vitamin E asetat (VTE) ve metilkobalamin (MTE), Yin ve arkadaşları²⁷² ve Elfar ve arkadaşları²⁷³ eritropoetin, Apel ve arkadaşları²⁷⁴ IGF-1 (insülin benzeri büyüme faktörü-1), C  marra-Lemarro   ve arkadaşları²⁷⁵ selekoksib (COX-2 inhibitörü), Amado ve arkadaşları²⁷⁶ hibrid kitosan membran, Chen ve arkadaşları²⁷⁷ NGF, Kalmar ve arkadaşları²⁷⁸ periferik nöropati semptomlarına yönelik BRX-220 [Bimoclo  mol (Biorex R&D)], Cui ve arkadaşları²⁷⁹ valproik asit, Zou ve arkadaşları²⁸⁰ eksojen t-PA, Padilla-Martin ve arkadaşları²⁸¹ glisin, Sharma ve arkadaşları²⁸² rat fasial sinirinde elektrik stim  lasyonu (ES) ve testosteron uygulamışlar ve başarılı sonuçlar almışlardır.

Young ve arkadaşları²⁸³ NGF ve nörotropin-3 uyguladıkları bir çalışmada, hem NTP-3'ün hem de NGF'nin motor fonksiyonda anlamlı bir ilerleme sağladığı görülmemiştir.

Biz de sinir iyileşmesini değerlendirdiğimiz bu çalışmamızda bakımının kolay olması, rahatlıkla elde edilebilmesi, benzer çalışmaların ratlar üzerinde yapılmış olması ve bize sonuçları tartışabilme imkanı sunması nedeniyle, yukarıda bahsedilen çalışmalara paralel olacak şekilde deney hayvanı olarak rat tercih ettik.

Yazarlar rat siyatik sinirinin geniş çapa sahip olması, kolay ulaşılabilir olması, histolojik boyama ve biyokimyasal protein tayini için yeterli doku ve kapasiteye sahip olması nedeniyle uygun bir model olduğunu bildirmektedir.^{270,284}

Biz de çalışmamızda deneysel olarak ezilme modeli oluşturmak amacıyla rat siyatik sinirini kullandık.

Hayvanlarda sinirin mekanik ezilmesi, insanlarda keskin ağrı ortaya çıkaran semptomlara benzeyen hiperaljeziye (uyarılar artmış cevap) ve allodiniye (düşük eşik düzeyde uyarılara ağrılı cevap) neden olmaktadır. Sinir kompresyonu, endotelyal ödem, agranülosit plakları ve mikrovasküler tromboza neden olan demiyelinizasyonla, aksonal dejenerasyonla ve sinirin kanlanmasıyla sonuçlanır. Biriken reaktif oksidanlar nöropatik ağrının nedenidir.²⁸⁵⁻²⁸⁷

Ezilme yaralanması modeli hücresel ve moleküler mekanizmaları araştırmaya, iyileşme sürecindeki farklı mekanizmaları anlamaya uygun ve rejenerasyona daha elverişlidir.²⁸⁸ Bu nedenle biz de çalışmamızda, sinirde kesi ve mikrocerrahi işlem yapmak yerine ezilme modeli oluşturarak sinirin iyileşmesi için yapısal bir destek bırakmayı amaçladık.^{289,290}

Literatürde sinirde ezilme yaralanma modeli kullanılan birçok çalışma mevcuttur. Bu amaçla forseps veya ligatür kullanılabileceği ve böylece sinirde birçok fizyolojik değişikliğin tetiklenebileceği bildirilmiştir.⁶⁸ 1990 'lı yıllarda ezilme yaralanmalarının 30 sn. süreyle sinir sıkıştırılarak gerçekleştirilebildiği bildirilmiştir.²⁷ Bu Sunderland II tipinde yaralanmaya neden olmaktadır. Luis ve arkadaşları²⁸⁸, Bozkurt ve arkadaşları²⁹¹ siyatik siniri 30 saniye süreyle 54 N (yaklaşık p=6-9 MPa basınç) kuvvetinde dişsiz forseps ile, Raso ve arkadaşları²⁹² 15 kg'lık kuvvet uygulayan klemple 10 dakika (Sunderland IV), Ma ve arkadaşları²⁹³ bir çift forsepsle 3 kez 10'ar sn, Bae ve arkadaşları²⁹⁴ sıradan bir hemostatla 30 sn siyatik siniri trifurkasyon noktasının önünden, Van der Zee⁴² ve arkadaşları ise dorsal kök gangliyonunda siyatığı 2 kez 30'ar sn boyunca sıkıştırmışlardır.

Özellikle BSSRO veya sinirle direk ilişkili gömülü 20 yaş operasyonlarından sonra ortaya çıkan kalıcı veya uzun süreli sinir yaralanmaları, genellikle Sunderland II tipi yaralanmalardan daha şiddetli olabilirler. Bu nedenle Sunderland III-IV tip yaralanma oluşturabilmek ve sinirin kendiliğinden iyileşme ihtimalinin önüne geçerek ABS ve DESL'nin etkilerini değerlendirebilmek için, yaralanmanın şiddetini arttırmayı amaçladık. Bu nedenle çalışmamızda açığa çıkan sinire 2 kez 30'ar saniye boyunca toplamda 1 dakika sıkıştırma kuvveti uyguladık.

Bazı yazarlar bir takım bitkisel ürünlerin sinir iyileşmesi üzerine etkinliğini araştırmışlardır. Ratlarda Radix Hedysari adlı bitkisel sıvının sinir iyileşmesinde yararlı olduğu gösterilmiş ve Hedysari polisakkaritlerinin insan klinik deneylerinde kullanılması önerilmiştir.²⁹⁵

Japon natto (soya fasulyesi) adlı geleneksel yiyeceğin, ortamdan fibrin artıklarını uzaklaştırıp, TNF- α üretimini azaltan doku plazminojen aktivatörüne (t-PA) benzer bir biyolojik etki göstererek periferik sinir rejenerasyonunu arttırdığı bildirilmiştir.²⁹⁶

Biz de çalışmamızda bitkisel bir ajan olan ABS ile hem çeşitli hayvan deneylerinde hem de klinik uygulamalarda etkisi kanıtlanan Ga-Al-As diyot lazerin sinir iyileşmesi üzerine etkinliğini karşılaştırmayı amaçladık.

ABS ile ilgili yapılan çalışmalarda, içerdği Thymus vulgaris (kekik), Glycyrrhiza glabra (meyan), Vitis vinifera (koruk), Alpinia officinarum (havlıcan), and Urtica dioica (ısırgan) adlı bitkilere bağlı olarak antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antiaterosklerotik, antitümöral etkilerinin olduğu bildirilmiştir.²⁹⁷

Literatürde ABS 'nin lokal hemostatik ajan olarak etkinliği birçok çalışmada gösterilmiştir.^{200,202,298-304}

Ayrıca yeni kemik oluşumu ve kemik iyileşmesine, epitel proliferasyonuna ve yara iyileşmesine etkinliğinin değerlendirildiği çalışmalarda da olumlu yönde etkileri saptanmıştır.

İşler ve arkadaşlarının³⁰⁵ rat tibiasında kemik defekti oluşturdukları çalışmada, ABS ile yeni kemik oluşumunda anlamlı derecede artış görülürken inflamasyon, fibrozis ve nekroz gelişiminin kontrol grubuna göre anlamlı derecede az olduğu gözlenmiştir.

Travmaya bağlı yumuşak doku laserasyonu gelişen 80 yaşındaki kadın hastada yara üzerine ABS uygulanmıştır. 24 saat sonra yapılan kontrolde yara ağzının kapanmaya başladığı tespit edilmiş ve ABS' nin yara iyileşmesini hızlandırdığı sonucuna varılmıştır.³⁰⁶

ABS' nin primer veya sekonder hemoraji riski yüksek hastalarda diş çekimi veya diğer oral cerrahi işlemler sonrası etkinliği değerlendirilmiş, eritrosit kümeleri ve protein ağı oluşumuyla kanama kontrolünün yanı sıra, yara iyileşmesinin de hızlandığı gözlenmiştir.³⁰⁷

Ünlü' nün doktora çalışmasında³⁰⁸ ABS' nin gingival fibroblastlarla etkileşimini ve yara iyileşmesine yapacağı katkıyı değerlendirmek üzere ratlarda diş çekimi sonrası çekim soketlerine ABS uygulanmış ve 7 gün boyunca takip edilmiştir. Bu çalışmada ABS' nin gingival fibroblastların proliferasyonunu anlamlı derecede arttırdığı ve hücrelere toksik bir etki yaratmadığı bulunmuştur.

ABS'nin içeriğindeki bitkilerin endotel ve kan hücreleri, vaskülerizasyon, sitokinler ve mediatörler üzerine proliferatif etkileri göz önüne alınarak, sinir iyileşmesi üzerine olumlu yönde etkileri olabileceği düşünülmüştür. Literatürde ABS 'nin periferik sinir rejenerasyonu üzerine etkinliğinin araştırıldığı çalışma mevcut değildir ancak bir adet fonksiyonel çalışma³⁰⁹ ve bir uzmanlık tezi³¹⁰ vardır. Ayrıca medulla spinalis ve serebral doku üzerindeki etkisinin araştırıldığı iki adet uzmanlık tezi bulunmaktadır.^{311,312}

Pampu ve arkadaşları³⁰⁹ rat siyatığında gerçekleştirdikleri ve oksidize selülöz, sığır kollajeni, serum fizyolojik ve maxicaine fort gibi farklı hemostatik ajanlarla ABS'nin sinir üzerindeki etkisini elektrofizyolojik ölçümlerle araştırmışlardır. Yazarlar 2 mL ABS kullanmışlar ve ilk dakikada ile 30. ve 120. dakikalarda ve 3. haftada herhangi bir yan etki görülmeden etkili bir hemostaz sağlandığını belirtmişlerdir.

Güler'in doktora çalışmasında³¹⁰ ABS' nin nörotoksik etkinliği değerlendirilmiş ve bu amaçla bizim çalışmamızda olduğu gibi rat siyatik siniri açığa çıkarılarak, ezilme yaralanması oluşturulduktan sonra 0.2 ml ABS sinir üzerine damlatılmıştır.

Biz de çalışmamızda popliteal fossayı tam olarak doldurduğu, sinirin etrafını eksiksiz biçimde sarmaya yeterli olduğu için, 0.2 cc hacminde ABS kullanmayı uygun bulduk.

Aktaş ve arkadaşları²⁰³ ABS 'nin sinir iletkenliği üzerine etkinliğini inceledikleri bir çalışmada, izole edilen ratların siyatik sinirlerini

içerisinde solüsyon bulunan banyo içinde iki elektrot arasına yerleştirmişler ve konsantrasyon bağımlı potansiyel farkı (cAP) 120 dakika boyunca kaydetmişlerdir. ABS'nin voltaj değerini düşürdüğünü, fakat sinir iletkenliği üzerine etkisinin dozdan bağımsız ve geri dönüşümlü olduğunu bildirmişlerdir.

Bizim de çalışmamızda, ABS' nin sinir rejenerasyonu üzerine olan etkinliği, DESL ile karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır.

Câmara ve arkadaşları²⁵⁸ rat siyatiğinde, Rochkind ve arkadaşları^{264,313,314} rat siyatiği ve insanlarda brakial sinir tedavisinde düşük enerji seviyeli lazer kullanmışlardır. Düşük enerji seviyeli lazerlerin yaralanmış periferik sinirin iyileşmesini hızlandırdığı ve ilişkili olan kaslarda atrofiyi önlediği bildirilmiştir.²⁶⁵

Rochkind ve arkadaşları³¹⁴ lazer fototerapinin ezilme yaralanması sonrası etkinliğini araştırdıkları çalışmada, denerve rat kasında ve rekonstrüksiyon uygulanan sinirlerde, hücre ve doku seviyesinde gelişen biyokimyasal uyarıyı değerlendirmişlerdir. Aynı araştırmacılar yaptıkları bir başka çalışmada ise 780 nm lazer fototerapinin embriyonik rat beyin kültürlerinde, aksonal filizlenme ve nöron büyümesi üzerine olumlu etkilerini saptamışlardır.³¹³

Düşük enerji seviyeli lazerle sinir iyileşmesini konu alan bir çok çalışmada çeşitli dozlar denenmiştir. Miloro ve arkadaşları⁹¹ rat siyatiğine 70mW, 820-830 nm devamlı dalga Ga-Al-As diyot lazer, her noktaya 90 sn $6J/cm^2$ enerji veren yoğunlukta uygulamışlardır. Miloro ve

Repasky'nin¹⁸⁰ yaptıkları klinik çalışmada, 70 mW çıkışlı, 820-830 nm devamlı dalga Ga-Al-As diyot lazer, 550 mW/cm², 6,0 J uygulanmış ve iyi sonuçlar alınmıştır. Literatürde 833 nm dalga boyu lazerin hasar görmüş aksonlara ve Schwann hücrelerine özgün dalga boyuna sahip olduğundan, önerildiği bildirilmektedir.¹⁸⁰

Silva-Couto ve arkadaşları³¹⁵ ve Gigo-Benato ve arkadaşları³¹⁶ rat siyatik sinir iyileşmesini değerlendirdikleri çalışmalarında 660 ve 780 nm, 10, 60 ve 120 J/cm² Ga-Al-As diyot lazeri cilt üzerinden biri insizyonun başında biri sonunda, aralarında 2 cm mesafe olacak şekilde 2 noktadan uygulamışlardır. Biz de 6 J/cm² olan daha düşük yoğunlukta lazer uyguladığımız çalışmamızda cilt üzerinden insizyonun başında, sonunda ve orta noktasında olacak şekilde 3 noktadan uyguladık.

Shin ve arkadaşları²⁵⁴ sinir yaralanması oluşturdukları ratlarda cerrahinin hemen ardından ve takip eden 4 gün boyunca sinir trasesine toplam 5 seans transkütanöz DESL uygulamışlardır. Biz de çalışmamızda 833 nm dalga boyuna sahip 70 mW, 6 J/cm² enerji çıkışlı lazeri cildin kapatılmasından hemen sonra 5,68 dk. ve takip eden 4 gün boyunca 4,26 dk. boyunca cilt üzerinden uyguladık.

İyileşen ve gelişen bir aksonda substrat şekillenmesi, yönlendirilmiş uzama, filopodial hareket gibi bir takım hareketler görülür. Bu şekilde büyümeye özgü fonksiyonların bazı nöronal proteinlerin (büyümeyle ilişkili polipeptidler) alt grupları tarafından sürdürüldüğü bildirilmiştir.³¹⁷ GAP-43 proteininin diğer adlarıyla nöron spesifik fosfoprotein nöromodülin, F1, pp46, pp57, B-50'nin, onarılmaya çalışılan

ve büyümekte olan sinir gövdesinde primer olarak bulunduğunu, aksonal büyümede rolü olduğunu belirten çok sayıda çalışma mevcuttur.^{42,51,318-322}

Araştırmacılar GAP-43'ün büyüme konisinin başlıca komponenti olduğunu, nöron gelişimi ve rejenerasyonu sırasında yüksek düzeyde eksprese edildiğini, sinir büyümesine uzun süreli katkı sağladığını, sinyal iletimi ve nörotransmitter salınımına yardımcı olduğunu bildirmişlerdir.^{42,65,323}

GAP-43 proteininin rat siyatik sinirine mekanik hasar sonrası rejenere olan aksonlarda ve dorsal kök ganglionunda (L4-L5) eksprese olduğu ve yeni oluşan sinir-kas kavşağında presinaptik aralıkta bulunduğu saptanmıştır.³²³⁻³²⁶

Joung ve arkadaşlarının³²⁷ rat siyatik sinirinde nörogulin kullandıkları, akson ve Schwann hücrelerinin histolojik olarak incelendiği bir çalışmada, sinir rejenerasyonunda ilerleme, distal gövdede nörofilament ve GAP-43 protein ekspresyonunda artış saptanmıştır. Davranış testlerinde tedavi görmüş hayvanlarda duyu ve motor fonksiyonda anlamlı derecede artış görülmüştür.

Rat hipoglossal sinirinde Kobayashi ve arkadaşlarının³²⁸ yaptığı bir başka çalışmada GAP-43 mRNA ekspresyonu değerlendirilmiştir. Hipoglossal sinirde ezilme yaralanması oluşturulan ve rezeksiyon yapılan deneklerde rezeksiyon grubunda daha fazla GAP-43 mRNA tespit edilmiş ve vinblastin tedavisinin GAP-43 mRNA indükleyici olduğu saptanmıştır.

Cho ve arkadaşları³²⁹ kobaylarda fasial sinir aksotomi yaralanması sonrası PRP ve sinir doku kaynaklı mezenşimal kök hücrenin (nMSCs) aksonal rejenerasyona etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, fonksiyonel ölçüm, elektrofizyolojik, histolojik değerlendirme ve Western blot analizi yapmışlardır. 4 ve 6 hafta sonunda, nörotropik proteinlerin ekspresyonunun görüldüğü en iyi Western Blot sonuçları PRP uygulanan grupta alınmış, en fazla miyelinli aksonun görüldüğü histolojik değerlendirme sonuçları ise PRP ve nMSC'nin birlikte uygulandığı grupta alınmıştır. Fonksiyonel ve elektrofizyolojik değerlendirmeler ise kontrol grubuna göre her ikisinde de anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Yazarlar PRP ve nMSC'nin kombine kullanımının daha yararlı olacağını rapor etmişlerdir.

Biz, çalışmamızda ABS 'nin etkinliğini DESL ile karşılaştırırken histopatolojik incelemenin yanısıra, ezilme yaralanması oluşturduğumuz rat siyatik sinirinin iyileşmesini Western Blot yöntemiyle GAP-43 protein ifadenme düzeyini ölçerek biyokimyasal olarak değerlendirdik. Az miktarda reaktif gerektiren, kolay, hızlı ve nispeten ekonomik olan bu yöntemin en büyük üstünlüğü, çok sayıda protein içinde sadece hedeflenen proteinleri, özgün ve duyarlı bir şekilde saptamaya olanak vermesidir.³³⁰

Shin ve arkadaşlarının²⁵⁴ sinir yaralanması sonrası DESL uygulamasına verilen cevabı araştırdıkları bir çalışmada GAP-43 protein ifadenmesiyle sinir iyileşmesini monitörize etmişlerdir. Araştırmacılar immünohistokimyasal analizde GAP-43' ün yaralanan sinir lifinde akson boyunca lazer uygulanan ve uygulanmayan grupların her ikisinde de 1. haftada artış gösterdiğini fakat daha sonra lazer grubunda anlamlı derecede arttığını ve 3. haftada pik yaptığını saptamışlardır. 5. haftada her

iki grubun GAP-43 yoğunluğu ve iki grup arasındaki farkın azaldığı saptanmıştır.

Kato ve arkadaşlarının⁸⁹ 54 ratla gerçekleştirdikleri çalışmada dorsal kök ganglionunda eksprese olan GAP-43 proteinini değerlendirmişler ve ratları 1. ve 4. hafta sakrifiye etmişlerdir. Yazarlar 4. haftada anlamlı derecede protein artışı olduğunu elektrofizyolojik bulgularla da desteklendiğini bildirmişlerdir.

Aksonotmezis sonrası siyatik sinir iyileşmesinin değerlendirildiğı çoğu çalışmada yürüme analizleri sonucu fonksiyonel iyileşmenin tamamlandığı varsayılarak 4-8 hafta sonrası değerlendirme yapılmıştır. Fakat 8 hafta sonunda hala iyileşme görülmeyen çalışmalar olduğunu öne süren Luis ve arkadaşları²⁸⁸ 12 hafta sonra iyileşmeyi değerlendirmişlerdir. Andersen ve arkadaşları⁴¹ 2,4 ve 8 hafta sonra immünohistokimyasal değerlendirme yapmışlardır.

Bazı çalışmalarda ezilme yaralanması sonrası 3. haftada çoğu Schwann hücresinin ölümü gerçekleşirken, bunu takiben rejenerasyonun da 3. haftada görüldüğü bildirilmiştir.³³¹ GAP-43 protein ifadenmesinin değerlendirildiğı çalışmalar incelendiğinde ise 3. ve 5. haftalarda protein düzeyinde görülen değişimin anlamlı olduğu görülmüştür. 12. haftada ise ABS ve DESL 'nin sinir rejenerasyonu üzerine olan etkinliğinin uzun dönem sonuçlarının değerlendirebileceğı düşünülmüştür. Bu nedenlerle, çalışmamızda sakrifikasyon zamanları 3., 5. ve 12. hafta olarak belirlenmiştir.

Hoffmann⁸² ratlarda yaptığı bir çalışmada siyatik sinirleri L4-L5 hizasında 2 kez 30'ar saniye forseps yardımıyla sıkıştırmıştır. GAP-43 mRNA seviyeleri 4. ve 14. günler artmaya devam etmiş, 28. gün kontrol seviyelerine geri dönmüştür. Ayrıca araştırmacı, GAP-43'ün rejenerasyondaki rolünün yalnızca aksonal uzamayla sınırlı olmadığını, erişkin nöronlardaki proteinin devamlılığının yeniden yapılanma (remodeling) ve DRG matür duyu sinirlerinin terminal sonlanmaların yeniden oluşturulması ile de ilişkili olduğunu rapor etmiştir.

Shin ve arkadaşlarının²⁵⁴ sinir iyileşmesinde düşük enerji seviyeli lazerin kullanıldığı ve GAP-43 proteininin değerlendirildiği 20 haftalık ratlarda yaptıkları çalışmada siyatik siniri hemostatik forseps yardımıyla ezerek aksonotmezis oluşturmuşlar ve ratların yarısına 650 nm, 5 mW devamlı dalga, kontaktlı, 5 mm çaplı prob aracılığıyla, 5 dakika boyunca cilt üzerinden DESL uygulamışlardır. Ratlara cildin kapatılmasını takiben ve sonraki 4 gün ard arda olmak üzere 5 seans DESL uygulanmıştır. Araştırmacılar, sinir iyileşmesini siyatik fonksiyonel indeks (SFI) kullanarak yürüme hareketleri ve immünohistokimyasal olarak GAP-43 protein ekspresyonu ile değerlendirmişlerdir. 1., 3. ve 5. haftalar arasında yapılan karşılaştırmada 1. haftada her iki grupta aynı artış saptanırken, 3. haftada proteinin lazer grubunda anlamı derecede arttığını, 5. hafta ise her iki grupta proteinin normal seviyeye döndüğünü ve aradaki farkın azaldığını saptamışlardır. Yürütme testinde ise 1. ve 2. haftalarda her iki grupta ayak kaslarında paralizi gözlenirken, kontrol grubunda 5. haftada neredeyse normal fonksiyona dönmeye başladığını, ancak lazer grubunda 3. ve 4. haftalarda SFI'nin anlamlı derecede yüksek olduğunu bulmuşlardır. Yazarlar sinir rejenerasyonunun erken safhalarında DESL uygulamasının iyileşmede rol oynayabileceğini ve GAP-43 düzeyinde görülen artışın hızlı iyileşme süreciyle paralellik gösterdiğini rapor etmişlerdir.

ABS'nin sinir rejenerasyonu üzerine etkilerinin DESL ile karşılaştırıldığı çalışmamızda GAP-43 protein ifadenmesi değerlendirilmiştir. Ayrıca yaptığımız çalışma DESL'yi sinir iyileşmesinde başka bir materyalle karşılaştıran ilk çalışmadır.

Lin ve arkadaşları³³² hasar görmüş optik sinirde 810 nm dalga boyu olan Ga-Al-As lazerin etkinliğini GAP-43 protein ekspresyonu ve potansiyel ölçümüyle değerlendirmişlerdir. Ratlar üzerinde yapılan çalışmada 3 gün boyunca 60 mW, 5 mm çaplı lazer transkutanöz uygulanmıştır. GAP-43 proteininin yaralanmadan sonra 1. haftada en üst seviyeye ulaştığı ve daha sonra azaldığı, 1., 3. ve 6. haftalarda kontrol grubuna göre DESL grubunda protein düzeyinin anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. GAP-43 mRNA düzeyi ölçümleri de proteinle aynı düzeydedir. Araştırmacılar Ga-Al-As lazerin optik sinir yaralanması sonrası sinir tamiri ve aksonal rejenerasyonu geliştirebileceği sonucuna varmışlardır.

Bizim çalışmamızın sonuçları da diğer çalışmaları destekler niteliktedir. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda tüm gruplardaki GAP-43 protein ifadenmesi kontrol grubuna göre sakrifikasyon zamanlarına bakılmaksızın daha yüksek bulunmuştur. ABS grubunda erken dönemde GAP-43 ifadenmesi DESL grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. ABS+DESL grubunda ise diğer gruplara göre daha fazla GAP-43 proteini saptanmıştır.

5. haftaya bakıldığında ABS ve DESL grupları arasında anlamlı bir fark saptanmazken, ABS+DESL grubunda diğer 3 gruba göre anlamlı düzeyde daha yüksek protein saptanmıştır.

ABS ve DESL'nin uzun dönemli etkilerine baktığımızda 12. hafta sakrifiye edilen deneklerde ABS, DESL ve ABS+DESL grupları ile kontrol grubu arasında anlamlı fark devam ederken, ABS grubunda GAP-43 proteini DESL grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. ABS ve ABS+DESL grupları arasında 12. hafta istatistiksel olarak fark saptanmamıştır. ABS+DESL uygulanan grupta ise DESL grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek protein tespit edilmiştir.

Sinir iyileşmesini konu alan ve iyileşmenin GAP-43 protein düzeyiyle ilişkilendirildiği pek çok çalışmada DESL dışında melanokortinler, kortikosteroidler, antineoplastikler ve kolşisin gibi farklı ajanlar denenmektedir.^{328,333,333}

Van der Zee ve arkadaşları⁴² ezilme yaralanması oluşturarak ACTH analogu (peptid grubu) uygulanan ve salin (kontrol grubu) uygulanan olmak üzere gruplandıkları ratları yaşlarına göre değerlendirmişler ve genç ratlarda yaşlı olanlara göre 4-5 kat daha fazla Northern Blot analiziyle B-50 mRNA seviyesi saptamışlardır. Araştırmacılar ratları ayak çekme refleksi testine tabi tutmuşlar, refleksin peptid grubunda 15. gün başladığını, 17. gün peptid grubunda 10 denekten 8'inin uyarıya cevap verdiğini, ancak salin grubunda 10 denekten yalnızca birinin refleksi gösterdiğini belirlemişlerdir. Ayrıca ezilmiş siyatik sinirin dorsal kök ganglionunda postoperatif 2. gün normal seviyenin 10 katı kadar yüksek düzeyde saptanan B-50 mRNA'nın azalarak 37. gün normal seviyeye ulaştığı bulunmuştur. 61. güne kadar ezilme yaralanması oluşturulan sinirlerde oluşturulmayanlara göre deneklerin yaşlarından bağımsız olarak anlamlı derecede yüksek B-50 protein seviyesi gözlenmiştir.

Yapılan bir çalışmada yukarıda bahsedilen çalışmaların aksine kolşisinin büyüme konisi içinde toplam protein miktarını azalttığı bulunmuştur.³¹⁸

Câmara ve arkadaşları²⁵⁸ 20 adet ratta 30 sn boyunca 2 diş sıkılığında forsepsle ezilme modeli oluşturdukları siyatik sinirlere 904 nm, 26,3 mW güçte, 0,63 cm² alanda, 1.5 cm penetrasyon derinliği olan, atımlı modda postoperatif ilk gün ve sonraki 14 ve 21 gün boyunca Ga-As lazer uygulamışlardır. Histolojik olarak ışık mikroskopunda nöron sayısı, Schwann hücrelerinin varlığı ve miyelinli akson çapları ölçülerek DESL' nin iyileşmeye olan etkisi değerlendirilmiştir. Yaptıkları immünohistokimyasal çalışmada 21 günlük DESL grubunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında toplam akson miktarının arttığını, rejenerasyon prosesinin daha kaliteli olduğunu saptamışlardır. Yazarlar 904 nm DESL'nin aksonotmezis sonrası sinir iyileşmesinde hızlı ve etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Gigo-Benato ve arkadaşlarının³¹⁶ ratlarda iki farklı dozda DESL uygulaması sonrası sinir iyileşmesini değerlendirdikleri histopatolojik çalışmada tüm ezilme yaralanması oluşturulan gruplarda kontrol grubuna (sıkıştırılmamış) göre hafif atrofi gözlenmiştir. 780 nm 60 J ve 120 J uygulanan ratlarda daha fazla atrofi tespit edilmiştir. 780 nm lazerin 10 J ve 660 nm lazerin 10 J, 60 J ve 120 J uygulandığında, 780 nm 60 J ve 120 J'a göre sinir liflerinin daha iyi yapıda ve kalın olduğunu saptamışlardır. Miyelin kılıf yapısı açısından kontrol grubuyla lazer arasında ve lazerlerde birbirine göre anlamlı bir fark bulunmamıştır. Yapılan morfometrik analizde kontrol grubuyla deney grubu arasındaki sinir lifi sayısı farkı anlamlı değildir. Miyelin, akson ve lif kalınlığının en iyi restore edildiği gruplar 660 nm 10J ve 780 nm 10 J, en zayıf remiyelinizasyonun görüldüğü grup ise yalnızca yaralanma oluşturulup tedavi almayan gruptur. Araştırmacılar 660

nm düşük doz (10 J/cm^2) ya da ortalama dozun (60 J/cm^2) ezilme yaralanması sonrası nöromüsküler iyileşmeyi hızlandırabileceğini rapor etmişlerdir.

Takthfooladi ve arkadaşlarının³³⁵ tavşan siyatik sinirinde yaptıkları çalışmada, sinirlerde uç uca anastomoz yapıldıktan sonra 780 nm Ga-Al-As 10 mW güçte, atımlı modda, $1,0 \text{ J/cm}^2$, 10 sn 10 gün uyguladıkları lazerle 90 gün sonunda histolojik değerlendirme yapmışlardır. Deney grubunun yaralanma bölgesinde daha fazla sayıda ve kalınlıkta damarlanma mevcutken, her iki grupta da kalın lifler ve çok ince miyelin kılıf tespit edilmiştir. Deney grubunda Schwann hücre çekirdekleri bizim çalışmamızda olduğu gibi aktiftir, aksonal filizlenme daha baskındır, kontrol grubunda ise dejenerasyon daha fazla görülmüştür. Kontrol grubunda hem geniş çaplı lifler hem de kalın miyelin örtüye komşu çok sayıda reaktif çekirdekli Schwann hücresi ve akson filizlenme görüntüsü tespit edilmiştir. Yazarlar anastomoz yapılan sinirlerde postoperatif uygulanan Ga-Al-As lazerin periferik sinir iyileşmesini 15 gün içerisinde hızlandırabildiği sonucuna varmışlardır.

Cantin ve arkadaşlarının³³⁶ rat inferior alveolar sinirinde yaptıkları çalışmada, DESL uyguladıkları deney grubunun ve kontrol grubunun perinöryum kalınlıkları ölçülmüş ve deney grubu lehine anlamlı derecede fark saptanmıştır. Yazarlar DESL'nin sinir morfolojisini etkilediğini ve siniri oluşturan komponentlerin yoğunluğunu arttırabildiğini bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamız da diğer çalışmaları destekler niteliktedir. Kontrol ve DESL gupleri histopatolojik olarak karşılaştırıldığında, erken

dönemde DESL grubunda epinöryum ve perinöryumdaki ödemin, kontrol grubuna göre belirgin derecede azaldığı, endonöryumdaki ödemin ise devam ettiği, endonöryumdaki miyelinli sinir liflerindeki ve lif boyunca görülen damar dilatasyonunun azaldığı, dejeneratif aksonların ise daha az olduğu gözlenmiş ve DESL 'nin sinir rejenerasyonuna pozitif etkinliği saptanmıştır. ABS grubunda ise erken dönemde damar gelişimi ve kapillerlerde belirgin artış izlenirken, hemen hemen hiçbir örnekte ödem gözlenmemiştir. Aksonlarda bir miktar dilatasyon görülmesinin dışında, diğer çalışmaların aksine DESL gruplarından farklı olarak Schwann hücrelerinde hipertrofi ve hiperplazi gözlenmiştir. Schwann hücre hipertrofisinin DESL uygulanmayan gruplarda görülmesi, bu gruplarda iyileşmenin daha hızlı olmasına ve bu nedenle aktif Schwann hücrelerinin daha erken dönemde normale dönmesine bağlı olabilir.

ABS'nin erken dönemde görülen olumlu etkisi, dokunun etrafında meydana getirdiği eritrosit ağı ve oksijenizasyonun beslenmede artış sağlamasına bağlı olabilir.

Endo ve arkadaşlarının²⁸⁹ ratlarda yaptığı bir başka çalışmada ezilme yaralanması oluşturdukları siyatik sinirlerde 904 nm, 20 W güçte, 1 MHz frekansta, 4 J/cm² dozda 10 dakika operasyon sonrası cilt üzerinden Ga-As lazer uygulamışlardır. Yürütme testi ile ve histolojik olarak sinirin proksimalindeki, ortasındaki ve distalindeki miyelinli aksonların varlığını, dejenerasyonu ve kanlanmayı değerlendirmişlerdir. DESL uygulanan grupta distal segmentte kontrol grubuna göre 1., 2. ve 3. hafta sürekli artan lifler, aktif Schwann hücreleri görülmüştür. Kontrol grubunda proksimal alanda görülen düşük lif yüzdesinin ise lokalize intersitisyel ödem veya konjesyona bağlı olduğu bildirilmiştir. Çünkü kontrol grubuna göre DESL grubunda daha fazla sayıda kalın kan damarları görülmüştür.

DESL grubunda distal segmentte dejenerasyonun tipik görüntüsü olan düzensiz kalınlıkta miyelinli geniş liflerin yanında ince sinir lifleriyle birlikte, ince miyelin kılıf gözlenmiştir. Yazarlar reaktif çekirdekli Schwann hücrelerinin varlığının çok önemli olduğunu, bunun DESL uygulamasına bağlı güçlü rejenerasyon aktivitesini gösterdiğini belirtmişlerdir.

Son yıllarda DESL dışında, IGF-1 ve trombositten zengin plazmanın sinir rejenerasyonuna etkinliğinin araştırıldığı çalışmalar yapılmaktadır.^{329,337,338} Emel ve arkadaşlarının³³⁹ 24 adet rat siyatik sinirinde yaptığı, histopatolojik ve fonksiyonel olarak iyileşmeyi değerlendirdikleri çalışmada IGF-1 ve PRP 'yi kontrol grubuyla karşılaştırmışlardır. IGF-1'in fonksiyonel olarak iyileşmeyi anlamlı derecede hızlandığı, hem IGF-1 hem de PRP'nin kontrol grubuna göre miyelin kılıf kalınlığının akson çapına oranının kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır.

Yaptığımız bu çalışmada 12. haftada kontrol grubunda perinöryum ve epinöryumdaki ödem azalırken endonöryumda devam etmesine karşın, DESL grubunda endonöryumdaki ödemin tamamen ortadan kalkması ve damar dilatasyonunun gerilemesine bağlı olarak sinir lifleri ve aksonlar normal boyut ve yapısına kavuşmuş, aksonlar merkezde yerleşmiştir. Kontrol grubunda sinir tellerinin etrafının bağ dokuyla çevrelenmesi, Schwann hücrelerinin hipertrofik olması, kapiller dilatasyonun devam etmesi ve iyileşmenin yavaş gerçekleşmesi dışında fibrotik değişiklikler olduğu saptanmıştır. 5. hafta ABS grubunda perinöryumda yer yer ödem başlarken, 3. hafta ABS grubuyla benzer olarak epinöryumda damar sayısında artış gözlenmiştir. 3. hafta grubundan farklı olarak ise epinöryumda daha belirgin olmak üzere tüm bağ doku katmanlarında inflamasyon belirgindir. Hem epinöryum hem de

endonöryumda mast hücreleri belirgindir. Sinir lifleri normal yapıdadır, ayrıca diğer tüm gruplardan farklı olarak merkezde yerleşik aksonlarda göreceli olarak kalınlaşma gözlenmiştir. Geç dönemde ise ABS grubunda endonöryum ve epinöryumda belirgin ödem, damar sayısında artış ve inflamasyon izlenmiştir. Epinöryumda izlenen damarlanmanın endonöryumda da varolduğu belirlenmiştir. ABS 5. haftadan farklı olarak sinir lifinde dejenerasyon izlenirken endonöryumda fibrozis izlenmiştir. Kontrol 12. hafta ile benzer olarak endonöryumda farklı sinir lif gruplarının oluştuğu gözlenmiştir. Amaçladığımız şekilde kontrol grubunda kendiliğinden iyileşme gerçekleşmemiştir.

DESL' nin küçük miyelinli A delta ve miyelinsiz C liflerine etkinliği yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir.¹⁸⁰ Ayrıca lazerin rejenerasyona olan lokal etkinliği, ortamdaki büyüme faktörlerinin, kimyasal mediatörlerin ve kemotaktik ajanların artışı sağlaması ve bu etkilerin aksoplazma üretimini hızlandırmasına bağlanabilir. Bu görüş, rat siyatik sinir rejenerasyonunun erken safhalarında lazer terapisi sonrası GAP-43 immünreaktivite artışı ile moleküler düzeyde açıklanabilmektedir.^{254,262} Ayrıca histopatolojik bulgularımız DESL'nin nöron metabolizmasında ve miyelin üretim kapasitesinde artış sağladığını desteklemektedir.

Bizim çalışmamızda damarlanmada progresif artış görülmesi ve GAP-43 proteininin DESL grubuna göre yüksek olması, ABS'nin iyileşmeye olumlu etkisi olduğunu düşündürmüştür. Ancak geç dönemde inflamasyonun baskın hale gelmesi endonöryumda fibrozisle sonuçlanmıştır.

Bağış ve arkadaşları¹⁴² rat siyatiğinde yaptıkları elektrofizyolojik ve histolojik çalışmada Ga-As lazerin rejenerasyona etkisinin olmadığını bulmuşlardır. Yazarlar DESL grubunda 3 hafta sonra kontrol grubuna göre rejenere olan sinir liflerinde kalitatif ve morfolojik fark saptamamışlardır. Histolojik kesitler tüm siyatik sinirlerde akson boyutlarında düzensizlik ve dejenerasyon, endonöryum çapında artış, ekstraselüler matrikste artış ve lökositik infiltrasyon saptamışlardır. Rejenere olan bölgelerde damarlanmadaki artışın benzer olduğunu bildirmişlerdir.

Rat siyatiğinde yapılan Ga-Al-As diyot lazerin sinir iyileşmesine etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada, Zhang ve arkadaşları³⁴⁰ sinir grefti yapılan grup ve lazer grubu arasında yaptıkları histopatolojik karşılaştırmada rejenere olan miyelin kılıfı kalınlığı otogreft grubunda anlamlı derecede yüksek bulunmuş, dejenerasyonun azalmasına yardımcı olduğu saptanmıştır.

DESL'nin iyileşmeye olumlu etkisi, daha önceki çalışmalarla^{139,341,342} da desteklenen şekilde mikrosirkülasyonun artması veya hücrel immün cevabın hızlandırılmasına bağlı olabilir.

Çalışmamızda ABS ve DESL' nin birlikte uygulandığı grupta, yalnızca endonöryumda hafif düzeyde yer yer ödem gözlenmiştir. Endonöryum ve perinöryumda ABS'nin etkisiyle damarlanmada belirgin artışla birlikte yoğun inflamasyon, sinir liflerinde yer yer dejeneratif değişiklikler izlenirken, bazı örneklerde liflerin normal yapıda olduğu saptanmıştır. Bu grupta gözlenen eozinofillerin varlığı ise alerjik reaksiyon göstergesidir.

Literatürde ABS'nin sinir dokusuna etkilerinin değerlendirildiği çalışma sayısı sınırlıdır. Rat siyatik sinirinde ABS'nin nörotoksik etkisinin araştırıldığı Güler'in³¹⁰ tez çalışmasında bizim çalışmamızdan farklı olarak 8. haftaya kadar histopatolojik yönden bütün kesitlerde normal yapıda sinir dokusu görülmüş, herhangi bir dejenerasyon ve inflamasyon bulgusu, granülasyon ve yabancı cisim reaksiyonu gözlenmemiştir.

Bizim çalışmamızda ise 12. haftada ABS grubunda dejenerasyon ve fibrozis izlenirken, ABS+DESL grubunda 3. haftada yabancı cisim reaksiyonu gözlenmiştir.

Pampu ve arkadaşları³⁰⁹ da yaptıkları elektrofizyolojik çalışmada herhangi bir yan etki görülmeden, ABS kullanılarak etkili bir hemostaz sağlandığını rapor etmişlerdir. Ancak bizim çalışmamız, siniri hem histopatolojik hem de biyokimyasal olarak geç dönemde inceleme fırsatı verdiğinden farklı sonuçlara ulaştık ve yan etkilerinin olduğunu saptadık.

Song ve arkadaşları³⁴³ kobay havayolu afferent sinirlerinde yaptığı çalışmada, alerjik inflamasyonun GAP-43 protein ekspresyonunu indükleyebileceğini Western blot analiz yöntemiyle saptamışlardır.

ABS 'nin tek başına veya DESL ile birlikte uygulandığı gruplarda GAP-43 protein artışının, yalnızca iyileşmeye değil aynı zamanda alerjik reaksiyona da bağlı olduğu düşünülmüştür.

6. SONUÇ

Ankaferd Blood Stopper ile düşük enerji seviyeli lazerlerin sinir iyileşmesi üzerine olan etkilerinin histopatolojik ve biyokimyasal olarak karşılaştırıldığı bu çalışmamızda;

- ABS'nin erken dönemde GAP-43 protein ifadenmesinde artışla birlikte, histolojik olarak iyileşmeye olumlu etkisi olduğu,
- ABS, tek başına ve DESL ile birlikte kullanıldığında GAP-43 protein ifadenmesinde geç dönemde anlamlı derecede artış sağladığı,
- ABS'nin erken dönemde ödemi baskıladığı, kapillerlerde artışa neden olduğu ve Schwann hücrelerinde hipertrofiye neden olduğu,
- ABS'nin geç dönemde, ödemde artış, sinirde dejenerasyon ve fibrotik değişikliklere yol açan etkilerinin olduğunu,
- ABS'nin DESL birlikte uygulandığında erken dönemde ödemde belirgin artışa, yabancı cisim reaksiyonuna ve inflamasyona yol açtığı,
- ABS'nin tek başına veya DESL ile birlikte uygulandığında ileri dönemde damarlanmada artışla birlikte, inflamasyonda kademeli artış ve fibrotik değişikliklere sebep olduğu,
- DESL'nin GAP-43 protein ifadenmesinde kademeli olarak anlamlı düzeyde artış sağladığı,
- DESL'nin erken dönemden itibaren ödemde azalma sağladığı,

- DESL'nin geç dönemde ödemi ortadan kaldırdığı ve aksonlarda rejenerasyon sağlayarak normal histolojik yapısına kavuşturduğu,
- DESL'nin sinir rejenerasyonunda histopatolojik olarak herhangi bir olumsuz etki göstermeden yarar sağladığı sonuçlarına ulaşılmıştır.

Sonuç olarak; histopatolojik sinir rejenerasyonunda en olumlu etkiyi, artan süreye paralel olarak lazer uygulamasının sağladığı görüşüne varılmıştır. Bu bulgu biyokimyasal olarak da desteklenmiştir. ABS uygulamasının yoğun inflamasyona, yabancı cisim reaksiyonuna ve bunun sonucu olarak da uzun dönemde sinirde fibrotik değişikliklere neden olduğu gözlenmiştir. Her iki uygulamanın birlikte yapıldığı grupta ise ABS' nin baskın olduğu bir etkinin ortaya çıktığı belirlenmiştir.

Bu çalışma, ABS'nin sinir iyileşmesine etkilerinin DESL ile karşılaştırıldığı ilk çalışmadır. Lokal hemostatik ajan olarak başarıyla kullanılan ABS' nin, uzun dönemde sinir dokuya biyouyumlu bir ajan olmadığı ve sinir doku tarafından iyi tolere edilmediği görülmüştür. ABS'nin, sinir rejenerasyonunun bir göstergesi olan GAP-43 protein ifadenmesine olumlu etkileri olduğu görülmüştür. Ancak, ABS'nin sinirde alerjik reaksiyona sebep olması nedeniyle inflamasyonda yarattığı artışla birlikte, kronik uyarıcı bir etki ortaya çıkardığı ve bu nedenle GAP-43'ün sürekli yükselmesine neden olduğu düşünülmüştür. DESL'nin ise herhangi bir yan etki göstermeden rejenerasyona katkı sağladığı saptanmıştır.

Sinir üzerine direk olarak ABS uygulamanın, uzun dönemde alerjik reaksiyon, aksonal dejenerasyon ve fibrotik değişikliklere bağlı skar

formasyonuna yol açabileceği ve dolayısıyla fonksiyon ve his kaybına neden olabileceği, bu sebeple DESL uygulamasının sinir hasarına neden olabilecek klinik uygulamalarda veya postoperatif rejenerasyon sağlamaya yönelik uygulamalarda fayda sağlayacağı kanısındayız.

Ayrıca şiddetli intraoperatif kanama gibi ABS uygulanması gereken durumlarda bölgedeki sinir dokunun korunması ve ABS ile direkt temasından kaçınılması gerektiği düşüncesindeyiz.

500 mW'a kadar uygulanabilen DESL dozları sinirde farklı etkiler yaratabilir. Bu nedenle planlanacak ileri çalışmalarda veya klinik uygulamalarda doz hesaplaması yapılırken kullanılan aletin penetrasyon gücü, doku kalınlığı gibi faktörlerin yanısıra farklı dozların farklı doku cevabı oluşturabileceğinin göz önüne alınması gerektiği kanısındayız.

ABS' nin sinir iyileşmesi açısından klinik etkinliğinin tam olarak aydınlatılabilmesi amacıyla, fonksiyonel testleri de içeren uzun dönem sonuçlarının değerlendirildiği çalışmalar yapılmasının faydalı olacağı kanısındayız.

7. ÖZET

Ankaferd Blood Stopper ile Düşük Enerji Seviyeli Lazer'in sinir dokusu iyileşmesi üzerine etkilerinin histopatolojik ve biyokimyasal olarak karşılaştırılması.

Oral ve maksillofasiyal bölgede meydana gelen sinir yaralanmaları, geçici olabildiği gibi, müdahale edilmediği takdirde kalıcı hale gelebilmektedir. Sinir iyileşmesini sağlamak amacıyla bugüne kadar çeşitli ajanlar kullanılmış veya mikrocerrahi işlemler yapılmıştır. Son zamanlarda ise daha konservatif yöntemler aranmış ve düşük enerji seviyeli lazer terapisiyle (DESL) başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

Ankaferd Blood Stopper'ın sinir rejenerasyonu üzerine etkinliğini, düşük enerji seviyeli lazer terapisiyle karşılaştırmak amacıyla gerçekleştirilen bu çalışmada 72 adet rat kullanılmış ve sağ siyatik sinirde ezilme yaralanması oluşturulmuştur. Deney hayvanları 1. grup kontrol, 2. grup ABS, 3. grup DESL ve 4. grup ABS+DESL olmak üzere 4 ana grup ve 3., 5. ve 12. hafta olmak üzere sakrifikasyon zamanlarına göre 3 alt gruba ayrılmışlardır. Alınan örneklerde histopatolojik değerlendirme yapılmış ve GAP-43 protein ifadenmesi istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Yapılan biyokimyasal analiz sonucu kontrol grubuna göre diğer tüm gruplarda GAP-43 proteininde anlamlı artış saptanmıştır. ABS grubunda DESL'ye göre anlamlı derecede yüksek, her iki işlemin yapıldığı ABS+DESL grubunda ise ABS grubuna benzer düzeyde GAP-43 proteini saptanmıştır.

Histolojik olarak ABS'nin kontrol grubuna göre erken dönemde ödemi baskılayıp, kapillerleri arttırdığı, ilerleyen dönemde ise inflamasyonu şiddetlendirdiği, aksonal dejenerasyonu arttırdığı ve alerjik reaksiyon, fibrotik değişikliklere sebep olduğu görülmüştür. DESL grubunda ise kontrol grubuna göre ödem azalırken, aksonların rejenere olduğu görülmüş ve yan etki saptanmamıştır. ABS+DESL grubunda, ABS grubuna benzer etkiler görülmüştür.

Bu çalışma, ABS'nin sinir dokuyla biyouyumlu olmadığını, buna karşılık DESL'nin sinir rejenerasyonunda etkili olduğunu göstermiştir. Sinir hasarı tamirinde DESL güvenle kullanılabilir, ancak sinirin ABS ile direkt temasından korunması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Ankaferd Blood Stopper, Düşük Enerji Seviyeli Lazer (DESL), sinir iyileşmesi, GAP-43, Western Blot.

8. SUMMARY

Histopathological and biochemical comparison of effects of Ankaferd Blood Stopper and Low Level Laser Therapy on nerve healing.

Nerve injuries in oral and maxillofacial region lead to loss of sensation, temporary or persistent unless interfere for regeneration. It's been used various medical agents or microsurgery techniques, but recently more conservative treatment modalities were investigated and received successful outcomes with Low Level Laser Therapy (LLLT).

The aim of this study is compare the effects of Ankaferd Blood Stopper with Low Level Laser Therapy on nerve healing. 72 Wistar divided 4 main groups; Control, ABS, LLLT, ABS+LLLT and 3., 5, and 12 weeks of sacrifice times. The right sciatic nerves are crushed with forceps for 60 seconds and evaluated histopathologically and GAP-43 protein expression by Western blotting biochemically.

Regarding the biochemical analyses, GAP-43 expression in all the other groups was significantly higher than control group. For ABS group, GAP-43 was observed significantly higher to be than LLLT group and similar to ABS+LLLT group.

The histopathologic examination revealed that ABS caused to temporary depression on edema but increased the capillaries. But later, severe inflammation, axonal degeneration, allergic reaction and fibrotic changes was found in ABS and ABS+LLLT groups. However in LLLT

progressively decreasing edema, regeneration and back to normal axonal histological structure.

The present study showed that ABS is not a biocompatible material for nervous tissue, lead to fibrotic changes and degenerations. LLLT is effective in nerve regeneration. LLLT can be used safely for nerve injury repair, but not ABS. In cases where the use of ABS is necessary, the nerve should be protected from direct contact with ABS as well.

Keywords: Ankaferd Blood Stopper, Low Level Laser Therapy (LLLT), nerve healing, GAP-43, Western Blot.

9. KAYNAKLAR

1. Akal UK, Sayan NB, Aydogan S, Yaman Z. Evaluation of the neurosensory deficiencies of oral and maxillofacial region following surgery. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2000; 29(5): 331-6.
2. Apaydın A. Maksillofasiyal bölgede periferik sinir yaralanmaları ve tedavisi. *İÜ Diş Hek Fak Derg* 2008; 42(1-2): 11-7.
3. Bagheri SC, Bell RB, HA K. Current Therapy in Oral and Maxillofacial Surgery. Philadelphia: Elsevier/Mosby; 2011.
4. Navarro X, Vivó M, Valero-Cabré A. Neural plasticity after peripheral nerve injury and regeneration. *Progress in Neurobiology* 2007; 82(4): 163-201.
5. Gibson G. Peripheral Nerve Injury. In: Cameron MH, Monroe L, eds. *Physical Rehabilitation - Evidence-Based Examination, Evaluation, and Intervention*. Philadelphia: WB Saunders Company; 2007.p.473-513.
6. Sencar L. Deneysel siyatik sinir yaralanmasında betametazon ve sinir büyüme faktörünün sinir rejenerasyonuna ultrastrüktürel etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Adana: Çukurova Üniversitesi; 2007.
7. Lu R, Kallenborn-Gerhardt W, Geisslinger G, Schmidtko A. Additive antinociceptive effects of a combination of vitamin C and vitamin E after peripheral nerve injury. *Plos One* 2011; 6(12): 14.
8. Fukui K, Ushiki K, Takatsu H, Koike T, Urano S. Tocotrienols prevent hydrogen peroxide-induced axon and dendrite degeneration in cerebellar granule cells. *Free Radic Res* 2012; 46(2): 184-93.

9. Taskale P, Topaloglu I. The healing effects of vitamin E with corticosteroid and vitamin E alone on nerve healing in rats with traumatic facial palsy. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg* 2010; 20(5): 255-9.
10. Morani AS, Bodhankar SL. Early co-administration of vitamin E acetate and methylcobalamin improves thermal hyperalgesia and motor nerve conduction velocity following sciatic nerve crush injury in rats. *Pharmacol Rep* 2010; 62(2): 405-9.
11. Bagheri SC, Meyer RA, Khan HA, Steed MB. Microsurgical repair of peripheral trigeminal nerve injuries from maxillofacial trauma. *Journal of oral and maxillofacial surgery: official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons* 2009; 67(9): 1791-9.
12. Öber A, İzzetoğlu GT. *Histoloji*. Ankara: Nobel Yayın Dağıtım; 2006.
13. Akay MT. *Genel Histoloji*. Ankara: Palme Yayıncılık; 2001.
14. Krause WJ. Nervous Tissue. In: Krause WJ, ed. *Krause's Essential Human Histology for Medical Students*. Boca Raton, Florida USA: Universal Publishers, 2005.p.105-19.
15. Johnson EO, Zoubos AB, Soucacos PN. Regeneration and repair of peripheral nerves. *Injury* 2005; 36(4): 24-9.
16. Ramon YCS. Structure and connections of neurons. *Bull Los Angel Neuro Soc* 1952; 17: 5-46.
17. Lundborg G. *Nerve Injury and Repair*. Edinburg, London, Melbourne, New York: Churchill Livingstone; 1988.

18. Dahlin LB. Nerve injuries. *Current Orthopaedics* 2008; 22(1): 9-16.
19. Aminoff MJ, Daroff RB. *Encyclopedia of the Neurological Sciences*. Amsterdam, Boston: Academic Press; 2003.
20. Raffe MR. Principles of Peripheral Nerve Repair. In: Newton CD, Nunamaker DM, editors. *Textbook of Small Animal Orthopaedics*. Ithaca, New York, USA: International Veterinary Information Service; 1985.
21. Barrett JP, Downey MS, Hillstrom HJ. Retrospective analysis of neurapraxia and axonotmesis injuries of select peripheral nerves of the foot and ankle and their conservative and surgical treatment (external neurolysis and neurectomy). *J Foot Ankle Surg* 1999; 38(3): 185-93.
22. Frostick SP, Yin Q, Kemp GJ. Schwann cells, neurotrophic factors, and peripheral nerve regeneration. *Microsurgery* 1998; 18(7): 397-405.
23. Thompson WJ. Role of Schwann cells in peripheral nerve regeneration. In: Selzer ME, Clarke S, Cohen LG, Duncan PW, Gage FH, eds. *Textbook of Neural Repair and Rehabilitation, Neural Repair and Plasticity*. Cambridge: Cambridge University Press; 2006.p.487-512.
24. Macklin WB, Rasband MN. Formation and Maintenance of Myelin. In: Brady ST, Siegel GJ, Albers RW, Price DL, editors. *Basic Neurochemistry: Principles of Molecular, Cellular, and Medical Neurobiology*. New York: Academic Press; 2012.p.569-81.

25. Caskey Speidel C. *In Vivo* Studies of Myelinated Nerve Fibers. In: Bourne GH, Danielli JF, editors. *International Review of Cytology*: Academic Press; 1964.p.173-231.
26. Woldeyesus MT, Britsch S, Riethmacher Det al. Peripheral nervous system defects in erbB2 mutants following genetic rescue of heart development. *Genes Dev* 1999; 13(19): 2538-48.
27. Wood MD, Kemp SW, Weber C, Borschel GH, Gordon T. Outcome measures of peripheral nerve regeneration. *Ann Anat* 2011; 193(4): 321-33.
28. Keilhoff G, Goihl A, Langnase K, Fansa H, Wolf G. Transdifferentiation of mesenchymal stem cells into Schwann cell-like myelinating cells. *Eur J Cell Biol* 2006; 85(1): 11-24.
29. Stang F, Fansa H, Wolf G, Reppin M, Keilhoff G. Structural parameters of collagen nerve grafts influence peripheral nerve regeneration. *Biomaterials* 2005; 26(16): 3083-91.
30. Thompson SN, Gibson TR, Thompson BM, Deng Y, Hall ED. Relationship of calpain-mediated proteolysis to the expression of axonal and synaptic plasticity markers following traumatic brain injury in mice. *Exp Neurol* 2006; 201(1): 253-65.
31. Berthold CH, Fraher JP, King RHM, Rydmark M. Microscopic Anatomy of the Peripheral Nervous System. In: Dyck PJ, Thomas PK, editors. *Peripheral Neuropathy*. Philadelphia: W.B. Saunders; 2005.p.35-91.

32. Love FM, Thompson WJ. Glial cells promote muscle reinnervation by responding to activity-dependent postsynaptic signals. *J Neurosci* 1999; 19(23): 10390-6.
33. Steward O. Anatomical and biochemical plasticity of neurons: regenerative growth of axons, sprouting, pruning, and denervation supersensitivity. In: Selzer ME, Clarke S, Cohen LG, Duncan PW, Gage FH, editors. *Textbook of Neural Repair and Rehabilitation, Neural Repair and Plasticity*. New York: Cambridge University Press; 2006.p.5-25.
34. Zuo Y, Bishop D. Glial imaging during synapse remodeling at the neuromuscular junction. *Neuron Glia Biol* 2008; 4(4): 319-26.
35. Miller KE, Hoffman EM, Sutharshan M, Schechter R. Glutamate pharmacology and metabolism in peripheral primary afferents: Physiological and pathophysiological mechanisms. *Pharmacol Ther* 2011; 130(3): 283-309.
36. Ikeda M, Oka Y. The relationship between nerve conduction velocity and fiber morphology during peripheral nerve regeneration. *Brain Behav* 2012; 2(4): 382-90.
37. Barry DM, Stevenson W, Bober BG, Wiese PJ, Dale JM, Barry GS, et al. Expansion of neurofilament medium C terminus increases axonal diameter independent of increases in conduction velocity or myelin thickness. *J Neurosci* 2012; 32(18): 6209-19.
38. Slomianka L. *Blue Histology - Nervous Tissue* [online]. 2009 [cited 2013 Jan 31] School of Anatomy and Human Biology – The University of Western Australia. Available from: URL : <http://www.lab.anhb.uwa.edu.au> .

39. Hart AM, Terenghi G, Kellerth JO, Wiberg M. Sensory neuroprotection, mitochondrial preservation, and therapeutic potential of n-acetyl-cysteine after nerve injury. *Neuroscience* 2004; 125(1): 91-101.
40. Raivich G, Behrens A. Role of the AP-1 transcription factor c-Jun in developing, adult and injured brain. *Progress in Neurobiology* 2006; 78(6): 347-63.
41. Andersen LB, Schreyer DJ. Constitutive expression of GAP-43 correlates with rapid, but not slow regrowth of injured dorsal root axons in the adult rat. *Exp Neurol* 1999; 155(2): 157-64.
42. Van der Zee CE, Nielander HB, Vos JP, Lopes da Silva S, Verhaagen J, Oestreicher AB, et al. Expression of growth-associated protein B-50 (GAP43) in dorsal root ganglia and sciatic nerve during regenerative sprouting. *J Neurosci* 1989; 9(10): 3505-12.
43. Belkas JS, Shoichet MS, Midha R. Axonal guidance channels in peripheral nerve regeneration. *Operative Techniques in Orthopaedics* 2004; 14(3): 190-8.
44. Periut PI, Salanga VD. Trigeminal Nerve (Cranial Nerve V). In: Editors-in-Chief: Michael JA, Robert BD, editors. *Encyclopedia of the Neurological Sciences*. New York: Academic Press; 2003.p.558-64.
45. Ngeow WC. Scar less: a review of methods of scar reduction at sites of peripheral nerve repair. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010; 109(3): 357-66.

46. Griffin JW, Höke A, Nguyen TT. Axon degeneration and rescue. In: Selzer ME, Cohen LG, Clarke S, Duncan PW, FH G, editors. Textbook of Neural Repair and Rehabilitation, Neural Repair and Plasticity. Cambridge: Cambridge University Press; 2006.p.293-302.
47. Ziccardi VB, Steinberg MJ. Timing of trigeminal nerve microsurgery: a review of the literature. J Oral Maxillofac Surg 2007; 65(7): 1341-5.
48. Campbell WW. Evaluation and management of peripheral nerve injury. Clinical Neurophysiology 2008; 119(9): 1951-65.
49. Quan D, Bird SJ. Nerve Conduction Studies and Electromyography in the Evaluation of Peripheral Nerve Injuries. The University of Pennsylvania Orthopaedic Journal 1999; 12: 45-51.
50. Robinson LR. Traumatic Injury to Peripheral Nerves. Suppl Clin Neurophysiol 2004; 57: 173-86.
51. Kartje GL, Farrer RG, Schwab ME. Axonal Growth in the Adult Mammalian Nervous System: Regeneration and Compensatory Plasticity. In: Brady ST, Siegel GJ, Albers RW, Price DL, editors. Basic Neurochemistry: Principles of Molecular, Cellular, and Medical Neurobiology. New York: Academic Press; 2012.p.582-94.
52. Jerjes W, Upile T, Shah P, Nhembe F, Gudka D, Kafas P, et al. Risk factors associated with injury to the inferior alveolar and lingual nerves following third molar surgery-revisited. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2010; 109(3): 335-45.

53. Araki T, Nagarajan R, Milbrandt J. Identification of genes induced in peripheral nerve after injury. Expression profiling and novel gene discovery. *J Biol Chem* 2001; 276(36): 34131-41.
54. Arthur-Farraj PJ, Latouche M, Wilton DK, Quies S, Chabrol E, Banerjee A, et al. c-Jun Reprograms Schwann Cells of Injured Nerves to Generate a Repair Cell Essential for Regeneration. *Neuron* 2012; 75(4): 633-47.
55. Jessen KR, Mirsky R. Schwann Cell Development. In: Lazzarini RA, Griffin JW, Lassman H, Nave KA, Miller R, Trapp BD, editors. *Miyelin Biology and Disorders*. San Diego: Academic Press; 2004.p.329-70.
56. Mirsky R, Jessen KR. Molecular Signaling in Schwann Cell Development. In: Dyck PJ, Thomas PK, editors. *Peripheral Neuropathy*. Philadelphia: W.B. Saunders; 2005.p.341-76.
57. Mirsky R, Jessen KR, Brennan A, Parkinson D, Dong Z, Meier C, et al. Schwann cells as regulators of nerve development. *Journal of Physiology-Paris* 2002; 96:17-24.
58. Sunico CR, Moreno-Lopez B. Evidence for endothelial nitric oxide as a negative regulator of Schwann cell dedifferentiation after peripheral nerve injury. *Neurosci Lett* 2010; 471(2): 119-24.
59. Uygun S, Apaydın A. Maksillofasiyal Bölgede Periferik Sinir Yaralanmaları ve Tedavisi. *İÜ Diş Hek Fak Derg* 2008; 42(1-2): 11-7.
60. Shen CC, Yang YC, Liu BS. Large-area irradiated low-level laser effect in a biodegradable nerve guide conduit on neural

regeneration of peripheral nerve injury in rats. *Injury* 2011; 42(8): 803-13.

61. Waller A. Experiments on the Section of the Glossopharyngeal and Hypoglossal Nerves of the Frog, and Observations of the Alterations Produced Thereby in the Structure of Their Primitive Fibres. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 1850; 140: 423-9.
62. Pearce JMS. Wallerian degeneration. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 2000(6); 69: 791.
63. Richardson PM. Peripheral Nerve Regeneration: An Overview. In: Editor-in-Chief: Larry RS, editors. *Encyclopedia of Neuroscience*. Oxford: Academic Press; 2009.p.557-560.
64. Raivich G. Axonal Injury: Neuronal Responses. In: Editor-in-Chief: Larry RS, editors. *Encyclopedia of Neuroscience*. Oxford: Academic Press; 2009.p.1117-22.
65. Allodi I, Udina E, Navarro X. Specificity of peripheral nerve regeneration: Interactions at the axon level. *Progress in Neurobiology* 2012; 98(1): 16-37.
66. Jurewicz R. Wallerian Degeneration. In: Mackinnon SE, Dellon AL, eds. *Anatomy and Physiology of the Peripheral Nerve. Surgery of the Peripheral Nerve*. New York: Thieme Medical Publishers; 1988.
67. Soyuer F. Travmatik Periferik Nöropati Rehabilitasyonu. *Van Tıp Derg* 2002; 9(4): 119-25.

68. Hall S. Mechanisms of Repair after Traumatic Injury. In: Dyck PJ, Thomas PK, editors. *Peripheral Neuropathy*. Philadelphia: W.B. Saunders; 2005.p.1403-33.
69. Jääskeläinen SK, Teerijoki-Oksa T, Forssell H. Neurophysiologic and quantitative sensory testing in the diagnosis of trigeminal neuropathy and neuropathic pain. *Pain* 2005; 117(3): 349-57.
70. Lee SK, Wolfe SW. Peripheral nerve injury and repair. *J Am Acad Orthop Surg* 2000; 8(4): 243-52.
71. Kaas JH. Plasticity of sensory and motor maps in adult mammals. *Annu Rev Neurosci* 1991; 14: 137-67.
72. Kaas JH, Collins CE. Anatomic and functional reorganization of somatosensory cortex in mature primates after peripheral nerve and spinal cord injury. *Adv Neurol* 2003; 93: 87-95.
73. Wall JT, Xu J, Wang X. Human brain plasticity: an emerging view of the multiple substrates and mechanisms that cause cortical changes and related sensory dysfunctions after injuries of sensory inputs from the body. *Brain Res Brain Res Rev* 2002; 39(2-3): 181-215.
74. Moore SW, Kennedy TE. Axon guidance during development and regeneration. In: Selzer ME, Cohen LG, Clarke S, Duncan PW, Gage FH, editors. *Textbook of Neural Repair and Rehabilitation, Neural Repair and Plasticity*. Cambridge: Cambridge University Press; 2006: 324-45.

75. Kuspert M, Weider M, Muller J, Hermans-Borgmeyer I, Meijer D, Wegner M. Desert hedgehog links transcription factor Sox10 to perineurial development. *J Neurosci* 2012; 32(16): 5472-80.
76. Sharghi-Namini S, Turmaine M, Meier C, Vishal S, Umehara F, Jessen KR, et al. The structural and functional integrity of peripheral nerves depends on the glial-derived signal desert hedgehog. *J Neurosci* 2006; 26(23): 6364-76.
77. Parmantier E, Lynn B, Lawson D, Turmaine M, Namini SS, Chakrabarti L, et al. Schwann Cell-Derived Desert Hedgehog Controls the Development of Peripheral Nerve Sheaths. *Neuron* 1999; 23(4): 713-24.
78. Sendtner M, Stockli KA, Thoenen H. Synthesis and localization of ciliary neurotrophic factor in the sciatic nerve of the adult rat after lesion and during regeneration. *J Cell Biol* 1992; 118(1): 139-48.
79. Kloss CU, Werner A, Klein MA, Shen J, Menuz K, Probst JC, et al. Integrin family of cell adhesion molecules in the injured brain: regulation and cellular localization in the normal and regenerating mouse facial motor nucleus. *J Comp Neurol* 1999; 411(1): 162-78.
80. Bähr M, Lingor P. Axonal Regeneration: Role of Growth and Guidance Cues. In: Editor-in-Chief: Larry RS, editors. *Encyclopedia of Neuroscience*. Oxford: Academic Press; 2009.p.1163-72.
81. Brenner HR, Falls DL. Neuromuscular Junction: Neuronal Regulation of Gene Transcription at the Vertebrate. In: Lemke G, editors. *Developmental Neurobiology*. Italy: Academic Press; 2009.p.544-52.

82. Hoffman PN. Expression of GAP-43, a rapidly transported growth-associated protein, and class II beta tubulin, a slowly transported cytoskeletal protein, are coordinated in regenerating neurons. *J Neurosci* 1989; 9(3): 893-7.
83. Bosse F, Kury P, Muller HW. Gene expression profiling and molecular aspects in peripheral nerve regeneration. *Restor Neurol Neurosci* 2001; 19(1-2): 5-18.
84. Goldberg JL. How does an axon grow? *Genes&Development* 2003; 17: 941-58.
85. Hökfelt T, Zhang X, Xu XJ, Wiesenfeld-Hallin ZS. Central consequences of peripheral nerve damage In Wall PD, Melzack R, editors. *Textbook of Pain*. 5th ed. Churchill Livingstone, 2005:947-959.
86. Makwana M, Raivich G. Molecular mechanisms in successful peripheral regeneration. *FEBS Journal* 2005; 272(11): 2628-38.
87. Zhou FQ, Snider WD. Intracellular control of developmental and regenerative axon growth. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2006; 361(1473): 1575-92.
88. Patodia S, Raivich G. Downstream effector molecules in successful peripheral nerve regeneration. *Cell Tissue Res* 2012; 349(1): 15-26.
89. Kato N, Nemoto K, Arino H, Fujikawa K. Influence of peripheral inflammation on growth-associated phosphoprotein (GAP-43) expression in dorsal root ganglia and on nerve recovery after crush injury. *Neuroscience Research* 2003; 45(3): 297-303.

90. Friedman W. Growth Factors. In: Brady ST, Siegel GJ, Albers RW, Price DL, editors. Basic Neurochemistry: Principles of Molecular, Cellular, and Medical Neurobiology. New York: Academic Press; 2012.p.546-57.
91. Miloro M, Halkias LE, Mallery S, Travers S, Rashid RG. Low-level laser effect on neural regeneration in Gore-Tex tubes. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2002; 93(1): 27-34.
92. Ozen T, Orhan K, Gorur I, Ozturk A. Efficacy of low level laser therapy on neurosensory recovery after injury to the inferior alveolar nerve. Head Face Med 2006; 2: 3.
93. Elgazzar RF, Abdulmajeed I, Mutabbakani M. Cyanoacrylate glue versus suture in peripheral nerve reanastomosis. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology 2007; 104(4): 465-72.
94. Tay AB, Zuniga JR. Clinical characteristics of trigeminal nerve injury referrals to a university centre. Int J Oral Maxillofac Surg 2007; 36(10): 922-7.
95. Genu PR, Vasconcelos BC. Influence of the tooth section technique in alveolar nerve damage after surgery of impacted lower third molars. Int J Oral Maxillofac Surg 2008; 37(10): 923-8.
96. Renton T, Yilmaz Z, Gaballah K. Evaluation of trigeminal nerve injuries in relation to third molar surgery in a prospective patient cohort. Recommendations for prevention. Int J Oral Maxillofac Surg 2012; 41(12): 1509-18.

97. Poort LJ, van Neck JW, van der Wal KGH. Sensory testing of inferior alveolar nerve injuries: a review of methods used in prospective studies. *J Oral Maxil Surg* 2009; 67(2): 292-300.
98. Pogrel MA. Removal of Third Molars. In: Dolan J, ed. *Current Therapy In Oral and Maxillofacial Surgery*. Saint Louis: W.B. Saunders; 2012.p.129-34.
99. Zhang QB, Zhang ZQ. Early extraction: a silver bullet to avoid nerve injury in lower third molar removal? *Int J Oral Maxillofac Surg* 2012; 41(10): 1280-3.
100. Hillerup S, Stoltze K. Lingual nerve injury in third molar surgery I. Observations on recovery of sensation with spontaneous healing. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2007; 36(10): 884-9.
101. Hillerup S, Stoltze K. Lingual nerve injury II. Observations on sensory recovery after micro-neurosurgical reconstruction. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2007; 36(10): 1139-45.
102. Queral-Godoy E, Figueiredo R, Valmaseda-Castellon E, Berini-Aytes L, Gay-Escoda C. Frequency and evolution of lingual nerve lesions following lower third molar extraction. *J Oral Maxillofac Surg* 2006; 64(3): 402-7.
103. Valmaseda-Castellon E, Berini-Aytes L, Gay-Escoda C. Lingual nerve damage after third lower molar surgical extraction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2000; 90(5): 567-73.
104. Kraut RA, Chahal O. Management of patients with trigeminal nerve injuries after mandibular implant placement. *J Am Dent Assoc* 2002; 133(10): 1351-4.

105. Pogrel MA. Damage to the inferior alveolar nerve as the result of root canal therapy. *J Am Dent Assoc* 2007; 138(1): 65-9.
106. Ichimura K, Nibu K, Tanaka T. Nerve paralysis after surgery in the submandibular triangle: review of University of Tokyo Hospital experience. *Head Neck* 1997; 19(1): 48-53.
107. Weinberg S, Kryshtalskyj B. Analysis of facial and trigeminal nerve function after arthroscopic surgery of the temporomandibular joint. *J Oral Maxillofac Surg* 1996; 54(1): 40-3.
108. Hu J, Zou S, Tang Z, Wang D, Li J, Gao Z. Response of Schwann cells in the inferior alveolar nerve to distraction osteogenesis: an ultrastructural and immunohistochemical study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2003; 32(3): 318-24.
109. Tang ZL, Hu J, Li JH, Zou SJ. Effect of nerve growth factor and Schwann cells on axon regeneration of distracted inferior alveolar nerve following mandibular lengthening. *Chin J Traumatol* 2004; 7(2): 81-6.
110. Gratt BM, Shetty V, Saiar M, Sickles EA. Electronic thermography for the assessment of inferior alveolar nerve deficit. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995; 80(2): 153-60.
111. Lydiatt DD. Litigation and the lingual nerve. *J Oral Maxillofac Surg* 2003; 61(2): 197-200.
112. Colella G, Cannavale R, Vicidomini A, Lanza A. Neurosensory disturbance of the inferior alveolar nerve after bilateral sagittal split osteotomy: a systematic review. *J Oral Maxil Surg* 2007; 65(9): 1707-15.

113. Teerijoki-Oksa T, Jääskeläinen S, Forssell K, Virtanen A, Forssell H. An evaluation of clinical and electrophysiologic tests in nerve injury diagnosis after mandibular sagittal split osteotomy. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2003; 32(1): 15-23.
114. Teerijoki-Oksa T, Jääskeläinen SK, Forssell K, Forssell H. Recovery of nerve injury after mandibular sagittal split osteotomy. Diagnostic value of clinical and electrophysiologic tests in the follow-up. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2004; 33(2): 134-40.
115. Teerijoki-Oksa T, Jääskeläinen SK, Forssell K, Forssell H, Vahatalo K, Tammissalo T, et al. Risk factors of nerve injury during mandibular sagittal split osteotomy. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2002; 31(1): 33-9.
116. Teerijoki-Oksa T, Jääskeläinen SK, Soukka T, Virtanen A, Forssell H. Subjective Sensory Symptoms Associated With Axonal and Demyelinating Nerve Injuries After Mandibular Sagittal Split Osteotomy. *J Oral Maxil Surg* 2011; 69(6): 208-13.
117. Seo K, Tanaka Y, Terumitsu M, Someya G. Efficacy of steroid treatment for sensory impairment after orthognathic surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 2004; 62(10): 1193-7.
118. Hall ED, Springer JE. Neuroprotection and acute spinal cord injury: a reappraisal. *NeuroRx* 2004; 1(1): 80-100.
119. Mocchetti I. Exogenous gangliosides, neuronal plasticity and repair, and the neurotrophins. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62(19-20): 2283-94.
120. Werner PC. New drugs for improving injury outcome in spinal cord injuries. *West J Med* 1997; 166(2): 271-2.

121. Li M, Ona VO, Chen M, Kaul M, Tenneti L, Zhang X, et al. Functional role and therapeutic implications of neuronal caspase-1 and -3 in a mouse model of traumatic spinal cord injury. *Neuroscience* 2000; 99: 333-42.
122. Verhaagen J, Edwards PM, Jennekens FGI, Gispen WH. Pharmacological aspects of the influence of melanocortins on the formation of regenerative peripheral nerve sprouts. *Peptides* 1987; 8(4): 581-4.
123. Scheller K, Scheller C. Nimodipine promotes regeneration of peripheral facial nerve function after traumatic injury following maxillofacial surgery: an off label pilot-study. *J Craniomaxillofac Surg* 2012; 40(5): 427-34.
124. Strauss C, Romstock J, Fahlbusch R, Rampp S, Scheller C. Preservation of facial nerve function after postoperative vasoactive treatment in vestibular schwannoma surgery. *Neurosurgery* 2006; 59(3): 577-84.
125. Senel S, McClure SJ. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. *Advanced drug delivery reviews* 2004; 56(10): 1467-80.
126. Pighinelli L, Kucharska M. Chitosan–hydroxyapatite composites. *Carbohydrate Polymers* 2012; (Article in Press) <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.06.004>.
127. Shirosaki Y, Tsuru K, Hayakawa S, Osaka A, Lopes MA, Santos JD, et al. *In vitro* cytocompatibility of MG63 cells on chitosan-organosiloxane hybrid membranes. *Biomaterials* 2005; 26(5): 485-93.

128. Smith KG, Robinson PP. The re-innervation of the tongue and salivary glands after lingual nerve repair by stretch, sural nerve graft or frozen muscle graft. *J Dent Res* 1995; 74(12): 1850-60.
129. Rath EM. Skeletal muscle autograft for repair of the human inferior alveolar nerve: a case report. *J Oral Maxillofac Surg* 2002; 60(3): 330-4.
130. Choi BH, Kim BY, Huh JY, Lee SH, Zhu SJ, Jung JH, et al. Microneural anastomosis using cyanoacrylate adhesives. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2004; 33(8): 777-80.
131. Madduri S, di Summa P, Papaloïzos M, Kalbermatten D, Gander B. Effect of controlled co-delivery of synergistic neurotrophic factors on early nerve regeneration in rats. *Biomaterials* 2010; 31(32): 8402-9.
132. Madduri S, Feldman K, Tervoort T, Papaloïzos M, Gander B. Collagen nerve conduits releasing the neurotrophic factors GDNF and NGF. *Journal of Controlled Release* 2010; 143(2): 168-74.
133. Wood MD, MacEwan MR, French AR, Moore AM, Hunter DA, Mackinnon SE, et al. Fibrin matrices with affinity-based delivery systems and neurotrophic factors promote functional nerve regeneration. *Biotechnol Bioeng* 2010; 106(6): 970-9.
134. Daly W, Yao L, Zeugolis D, Windebank A, Pandit A. A biomaterials approach to peripheral nerve regeneration: bridging the peripheral nerve gap and enhancing functional recovery. *Journal of the Royal Society, Interface / the Royal Society* 2012; 9(67): 202-21.
135. Robinson PP, Loescher AR, Yates JM, Smith KG. Current management of damage to the inferior alveolar and lingual nerves

as a result of removal of third molars. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2004; 42(4): 285-92.

136. Loecher AR, Smith KG, Robinson PP. Nerve Damage and Third Molar Removal. *Dent Update* 2003; 30: 375-82.
137. Seddon HJ. Three types of nerve injury. *Brain* 1943; 66: 237-88.
138. Coluzzi DJ, Convissar RA. Laser Fundamentals. In: Convissar RA, editors. *Principles and Practice of Laser Dentistry*. Saint Louis: Mosby; 2011.p.12-26.
139. Karasu HA. A Study of the Vascular Response to Low Intensity Laser Therapy (LILT) Department of Oral and Maxillofacial Surgery St. Bartholomew's and the Royal London School of Medicine and Dentistry. London: University of London; 1998.
140. Roshkind DM, Convissar RA. Introducing Lasers into the Dental Practice. In: Convissar RA, ed. *Principles and Practice of Laser Dentistry*. Saint Louis: Mosby; 2011.p.287-302.
141. Sun G, Tuner J. Low-level laser therapy in dentistry. *Dent Clin North Am* 2004; 48(4): 1061-76.
142. Bagis S, Comelekoglu U, Coskun B, Milcan A, Buyukakilli B, Sahin G, et al. No effect of GA-AS (904 nm) laser irradiation on the intact skin of the injured rat sciatic nerve. *Lasers Med Sci* 2003; 18(2): 83-8.
143. Pogrel MA, Chen JW, Zhang K. Effects of low-energy gallium-aluminum-arsenide laser irradiation on cultured fibroblasts and keratinocytes. *Lasers Surg Med* 1997; 20(4): 426-32.

144. Julian J. Lasers in Implant Dentistry Principles and Practice of Laser Dentistry. Saint Louis: Mosby; 2011.p.114-38.
145. Horch HH, Deppe H. New aspects of lasers in oral and craniomaxillofacial surgery. Medical Laser Application 2005; 20(1): 7-11.
146. Kalyon TA. Lazer. İçinde: Tuna N, editör. Ultrason. Elektroterapi. İstanbul: Nobel; 2001.p.155-61.
147. Tuncer İ. Ağız İçi yumşak doku patolojilerinde karbon dioksit lazer ve konvansiyonel cerrahi yöntemlerin karşılaştırılması ve kollateral termal hasarın histopatolojik değerlendirilmesi. Doktora. İstanbul: Yeditepe Üniversitesi; 2007.
148. Hashmi JT, Huang YY, Osmani BZ, Sharma SK, Naeser MA, Hamblin MR. Role of low-level laser therapy in neurorehabilitation. PM R 2010; 2: 292-305.
149. Kulekcioglu S, Sivrioglu K, Ozcan O, Parlak M. Effectiveness of low-level laser therapy in temporomandibular disorder. Scand J Rheumatol 2003; 32(2): 114-8.
150. Kahraman SA. Low-level laser therapy in oral and maxillofacial surgery. Oral Maxillofac Surg Clin North Am 2004; 16(2): 277-88.
151. Midamba ED, Haanes HR. Low reactive-level 830 nm Ga-Al-As diode laser therapy (LLLT) succesfully accelerates regeneration of peripheral nerves in human. Laser Therapy 1993; 5: 125-9.

152. Miloro M, Miller JJ, Stoner JA. Low-level laser effect on mandibular distraction osteogenesis. J Oral Maxillofac Surg 2007; 65(2): 168-76.
153. Honmura A, Yanase M, Obata J, Haruki E. Therapeutic effect of Ga-Al-As diode laser irradiation on experimentally induced inflammation in rats. Lasers Surg Med 1992; 12(4): 441-9.
154. Saygun I, Karacay S, Serdar M, Ural AU, Sencimen M, Kurtis B. Effects of laser irradiation on the release of basic fibroblast growth factor (bFGF), insulin like growth factor-1 (IGF-1), and receptor of IGF-1 (IGFBP3) from gingival fibroblasts. Lasers Med Sci 2008; 23(2): 211-5.
155. Guzzardella GA, Torricelli P, Nicoli-Aldini N, Giardino R. Osseointegration of endosseous ceramic implants after postoperative low-power laser stimulation: an *in vivo* comparative study. Clin Oral Implants Res 2003; 14(2): 226-32.
156. Freitas IGF, Baranauskas V, Cruz-Höfling MA. Laser effects on osteogenesis. Applied Surface Science 2000; 154–155: 548-54.
157. Karaman K, Celep B, Bostanci EB, Teke Z, Ulas M, Dincer N, et al. Effects of Ankaferd Blood Stopper on pancreatic fluid: An *in vitro* study. ANZ journal of surgery 2010; 80(12): 946-7.
158. Keleş M. Düşük enerji seviyeli lazerin ratlarda yara iyileşmesi üzerine etkisinin histolojik ve deneysel incelemesi. Doktora. Ankara: Gülhane Askeri Tıp Akademisi; 2006.
159. Khadra M, Ronold HJ, Lyngstadaas SP, Ellingsen JE, Haanaes HR. Low-level laser therapy stimulates bone-implant interaction: an

experimental study in rabbits. Clin Oral Implants Res 2004; 15(3): 325-32.

160. Vescovi P, Merigo E, Meleti M, Fornaini C, Nammour S, Manfredi M. Nd:YAG laser biostimulation of bisphosphonate-associated necrosis of the jawbone with and without surgical treatment. The Br J Oral Maxillofac Surg 2007; 45(8): 628-32.
161. Enwemeka CS. Quantum Biology of Laser Biostimulation. Laser Ther 1999; 11: 52-3.
162. Patthoff D. Introduction to Photobiomodulation. In: Anders JJ, editor. American Dental Education Association; 2011.
163. Herascu N, Velciu B, Calin M, Savastru D, Talianu C. Low-Level Laser Therapy (LLLT) Efficacy in Post-operative Wounds. Photomed Laser Surg 2005; 23(1): 70-3.
164. Hopkins TY, McLoda TA, Seegmiller JG, Baxter GD. Low-Level Laser Therapy Facilitates Superficial Wound Healing in Humans: A Triple-Blind, Sham-Controlled Study. J Athl Train 2004; 39(3): 223-9.
165. Alipanah Y, Asnaashari M, Anbari F. The effect of low level laser (Ga-Al-As) therapy on the post-surgical healing of full thickness wounds in rabbits. Medical Laser Application 2011; 26(3): 133-8.
166. Dortbudak O, Haas R, Mailath-Pokorny G. Effect of low-power laser irradiation on bony implant sites. Clin Oral Implants Res 2002; 13(3): 288-92.

167. Khadra M, Kasem N, Haanaes HR, Ellingsen JE, Lyngstadaas SP. Enhancement of bone formation in rat calvarial bone defects using low-level laser therapy. *Oral surg, oral med, oral pathol, oral radiol, and endod* 2004; 97(6): 693-700.
168. Bach G, Neckel C, Mall C, Krekeler G. Conventional versus laser-assisted therapy of periimplantitis: a five-year comparative study. *Implant Dent* 2000; 9(3): 247-51.
169. Chow RT, Heller GZ, Barnsley L. The effect of 300 mW, 830 nm laser on chronic neck pain: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Pain* 2006; 124(1-2): 201-10.
170. Chow RT, Johnson MI, Lopes-Martins RAB, Bjordal JM. Efficacy of low-level laser therapy in the management of neck pain: a systematic review and meta-analysis of randomised placebo or active-treatment controlled trials. *The Lancet* 2009; 374(9705): 1897-1908.
171. Rosenshein JS. Laser biostimulation: photobioactivation, a modulation of biologic processes by low-intensity laser radiation. In: Clayman L, Kuo P, editors. *Lasers in maxillofacial surgery and dentistry*. New York: Thieme; 1997.p.165-74.
172. Marei MK, Abdel-Meguid SH, Mokhtar SA, Rizk SA. Effect of low-energy laser application in the treatment of denture-induced mucosal lesions. *The Journal of prosthetic dentistry* 1997; 77(3): 256-64.
173. Schindl A, Neumann R. Low-intensity laser therapy is an effective treatment for recurrent herpes simplex infection. Results from a

randomized double-blind placebo-controlled study. *J Invest Dermatol* 1999; 113(2): 221-3.

174. Perrin D, Jolivald JR, Triki H, Garbarg-Chenon A, Lamotte D'Incamps B, Lefevre B, et al. Effect of laser irradiation on latency of herpes simplex virus in a mouse model. *Pathol Biol* 1997; 45(1): 24-7.
175. Revazova E, Sorokina Y, Bryzgalov I, Sebastian G, Keller A, Ivanov J, et al. The use of low-power laser irradiation for faster vascularization of tissue transplants. *Bull Exp Biol Med* 2001; 132(3): 873-6.
176. Arora H, Pai KM, Maiya A, Vidyasagar MS, Rajeev A. Efficacy of He-Ne Laser in the prevention and treatment of radiotherapy-induced oral mucositis in oral cancer patients. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol, and Endodontol* 2008; 105(2): 180-6.
177. Arun Maiya G, Sagar MS, Fernandes D. Effect of low level helium-neon (He-Ne) laser therapy in the prevention & treatment of radiation induced mucositis in head & neck cancer patients. *The Indian journal of medical research* 2006; 124(4): 399-402.
178. Gautam AP, Fernandes DJ, Vidyasagar MS, Maiya AG, Vadhiraja BM. Low level laser therapy for concurrent chemoradiotherapy induced oral mucositis in head and neck cancer patients – A triple blinded randomized controlled trial. *Radiotherapy and Oncology* 2012; 104(3): 349-54.
179. Gautam AP, Fernandes DJ, Vidyasagar MS, Maiya GA. Low Level Helium Neon Laser therapy for chemoradiotherapy induced oral

mucositis in oral cancer patients – A randomized controlled trial. Oral Oncology 2012; 48(9): 893-7.

180. Miloro M, Repasky M. Low-level laser effect on neurosensory recovery after sagittal ramus osteotomy. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics 2000; 89(1): 12-8.
181. Essick GK, Phillips C, Turvey TA, Tucker M. Facial altered sensation and sensory impairment after orthognathic surgery. Int J Oral Maxillofac Surg 2007; 36(7): 577-82.
182. Phillips C, Essick G. Inferior alveolar nerve injury following orthognathic surgery: a review of assessment issues. J Oral Rehabil 2011; 38(7): 547-54.
183. Walsh LJ. The current status of low level laser therapy in dentistry. Part 1. Soft tissue applications. Australian Dental Journal 1997; 42(4): 247-54.
184. Khullar SM, Brodin P, Barkvoll P, Haanæs HR. Preliminary study of low-level laser for treatment of long-standing sensory aberrations in the inferior alveolar nerve. J Oral Maxil Surg 1996; 54(1): 2-7.
185. Khullar SM, Emami B, Westermarck A, Haanaes HR. Effect of low-level laser treatment on neurosensory deficits subsequent to sagittal split ramus osteotomy. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics 1996; 82(2): 132-8.
186. Markovic A, Todorovic L. Effectiveness of dexamethasone and low-power laser in minimizing oedema after third molar surgery: a

clinical trial. International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery 2007; 36(3): 226-9.

187. Cetiner S, Kahraman SA, Yucetas S. Evaluation of low-level laser therapy in the treatment of temporomandibular disorders. Photomed Laser Surg 2006; 24(5): 637-41.
188. de Paula Eduardo C, Aranha ACC, Ramalho MK, Bello-Silva MS, de Freitas PM. Laser Dentistry Research. In: Convissar RA, editor. Principles and Practice of Laser Dentistry. Saint Louis: Mosby; 2011.p.303-14.
189. Fronza B, Somacal T, Mayer L, de Moraes JF, de Oliveira MG, Weber JB. Assessment of the systemic effects of low-level laser therapy (LLLT) on thyroid hormone function in a rabbit model. Int J Oral Maxillofac Surg 2013; 42(1): 26-30.
190. FDA. Surveillance of Imported Low Level Laser Therapy (LLLT) Devices. [online] 2011; [cited 2013 Jan 10] FDA, US Food and Drug Administration. <http://www.accessdata.fda.gov10903>.
191. Pinheiro ALB, Nascimento SC, Vieira ALDB, Brugnera A, Zanin FA, Rolim AB, et al. Effects of low-level laser therapy on malignant cells: *In vitro* study. J Clin Laser Med Surg 2002; 20(1): 23-6.
192. Werneck CE, Pinheiro ALB, Pacheco MTT, Soares CP, De Castro JLF. Laser light is capable of inducing proliferation of carcinoma cells in culture: A spectroscopic *in vitro* study. Photomed Laser Surg 2005; 23(3): 300-3.

193. De Castro JLF, Pinheiro ALB, Werneck CE, Soares CP. The effect of laser therapy on the proliferation of oral KB carcinoma cells: An *in vitro* study. Photomed Laser Surg 2005; 23(6): 586-9.
194. Powell K, Low P, McDonnell PA, Laakso EL, Ralph SJ. The Effect of Laser Irradiation on Proliferation of Human Breast Carcinoma, Melanoma, and Immortalized Mammary Epithelial Cells. Photomed Laser Surg 2010; 28(1): 115-23.
195. Renno ACM, McDonnell PA, Parizotto NA, Laakso EL. The effects of laser irradiation on osteoblast and osteosarcoma cell proliferation and differentiation *in vitro*. Photomed Laser Surg 2007; 25(4): 275-80.
196. Frigo L, Luppi JSS, Favero GM, Maria DA, Penna SC, Bjordal JM, et al. The effect of low-level laser irradiation (In-Ga-Al-AsP - 660 nm) on melanoma *in vitro* and *in vivo*. BMC Cancer 2009; 9(404): 1-8.
197. Mills-Hutton L. Low Level Laser Therapy (LLLT): A 2008 Review. In: Shay B, editor. University of Manitoba; 2008.
198. Gorur DI, Orhan K, Ozturk A, Sahin S. The investigation of low level laser therapy efficacy on temporomandibular joint disorders with magnetic resonance imaging. Int J Oral Maxillofac Surg 2009; 38(5): 495.
199. Ankaferd BloodStopper Arastırma Etkinlikleri Raporu. 2007-0-114485. Ankaferd İlaç Kozmetik Üretim Pazarlama A.Ş. İstanbul, Türkiye, 2008.

200. Germiyanoglu C, Huri E, Akgul T, Ayyildiz A, Ustun H. *In vivo* Hemostatic Effect of Ankaferd Blood Stopper in Rat Major Renal Trauma Model: Controlled Trial of Novel Hemostatic Agent. *Uhod-Uluslar Hematol* 2010; 20(4): 206-11.
201. Aktas A, Er N, Onur MA. Effects of Ankaferd Blood Stopper on Vascular response in rat carotid artery. *International Journal of Hematology and Oncology* 2010; 20(3): 156-62.
202. Ercetin S, Haznedaroglu IC, Kurt M, Onal IK, Aktas A, Kurt OK, et al. Safety and efficacy of Ankaferd Blood Stopper in Dental Surgery. *International Journal of Hematology and Oncology* 2010; 20(1):1-5.
203. Aktas A, Er N, Onur MA, Tan G, Hayran M. Effects of Ankaferd Blood Stopper on nerve conductance: an experimental study on the rat sciatic nerve . *International Journal of Hematology and Oncology* 2011; 21: 1-6.
204. Goker H, Haznedaroglu IC, Ercetin S, Kirazli S, Akman U, Ozturk Y, et al. Haemostatic actions of the folkloric medicinal plant extract Ankaferd Blood Stopper. *J Int Med Res* 2008; 36(1): 163-70.
205. Testai L, Chericoni S, Calderone V, Nencioni G, Nieri P, Morelli I, et al. Cardiovascular effects of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) roots extracts: *in vitro* and *in vivo* pharmacological studies. *Journal of ethnopharmacology* 2002; 81(1): 105-9.
206. Vergara-Salinas JR, Perez-Jimenez J, Torres JL, Agosin E, Perez-Correa JR. Effects of Temperature and Time on Polyphenolic Content and Antioxidant Activity in the Pressurized Hot Water Extraction of Deodorized Thyme (*Thymus vulgaris*). *J Agric Food Chem* 2012. [dx.doi.org/10.1021/jf3027759](https://doi.org/10.1021/jf3027759) (Article in Press)

207. Rana P, Soni G. Antioxidant potential of thyme extract: alleviation of N-nitrosodiethylamine-induced oxidative stress. *Hum Exp Toxicol* 2008; 27(3): 215-21.
208. Barka EA, Belarbi A, Hachet C, Nowak J, Audran JC. Enhancement of *in vitro* growth and resistance to gray mould of *Vitis vinifera* co-cultured with plant growth-promoting rhizobacteria. *FEMS microbiology letters* 2000; 186(1): 91-5.
209. Zhou K, Raffoul JJ. Potential Anticancer Properties of Grape Antioxidants. *Journal of Oncology* 2012; 2012: 8.
210. Matsuda H, Ando S, Kato T, Morikawa T, Yoshikawa M. Inhibitors from the rhizomes of *Alpinia officinarum* on production of nitric oxide in lipopolysaccharide-activated macrophages and the structural requirements of diarylheptanoids for the activity. *Bioorganic & medicinal chemistry* 2006; 14(1): 138-42.
211. Sheela ML, Ramakrishna MK, Salimath BP. Angiogenic and proliferative effects of the cytokine VEGF in Ehrlich ascites tumor cells is inhibited by *Glycyrrhiza glabra*. *Int Immunopharmacol* 2006; 6(3): 494-8.
212. Asato F, Butler M, Blomberg H, Gordh T. Variation in rat sciatic nerve anatomy: implications for a rat model of neuropathic pain. *J Peripher Nerv Syst* 2000; 5(1): 19-21.
213. Rigaud M, Gemes G, Barabas ME, Chernoff DI, Abram SE, Stucky CL, et al. Species and strain differences in rodent sciatic nerve anatomy: Implications for studies of neuropathic pain. *Pain* 2008; 136(1-2): 188-201.

214. Sarıgüney Y. Periferik Sinir Yaralanmalarının Onarımında Trombositten Zengin Plazma'nın Sinir Rejenerasyonu Üzerine Etkisi. Uzmanlık Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2006.
215. Robinson PP, Loescher AR, Smith KG. A prospective, quantitative study on the clinical outcome of lingual nerve repair. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2000; 38(4): 255-63.
216. Essick GK. Psychophysical assessment of patients with posttraumatic neuropathic trigeminal pain. *J Orofac Pain* 2004; 18(4): 345-54.
217. Jaaskelainen SK, Teerijoki-Oksa T, Virtanen A, Tenovuo O, Forssell H. Sensory regeneration following intraoperatively verified trigeminal nerve injury. *Neurology* 2004; 62(11): 1951-7.
218. Sharma R, Srivastava A, Chandramala R. Nerve Injuries Related To Mandibular Third Molar Extractions. *e-Journal of Dentistry* 2012; 2(2):146-52.
219. Cheung LK, Leung YY, Chow LK, Wong MC, Chan EK, Fok YH. Incidence of neurosensory deficits and recovery after lower third molar surgery: a prospective clinical study of 4338 cases. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2010; 39(4): 320-6.
220. Renton T, Yilmaz Z. Managing iatrogenic trigeminal nerve injury: a case series and review of the literature. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2012; 41(5): 629-37.
221. Gargallo-Albiol J, Buenechea-Imaz R, Gay-Escoda C. Lingual nerve protection during surgical removal of lower third molars: A

prospective randomised study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2000; 29(4): 268-71.

222. Zuniga JR. Management of third molar-related nerve injuries: observe or treat? *Alpha Omegan* 2009; 102(2): 79-84.
223. Weinberg S, Kryshchalskyj B. Facial nerve function following temporomandibular joint surgery using the preauricular approach. *J Oral Maxillofac Surg* 1992; 50(10): 1048-51.
224. Nogueira RVB, Vasconcelos BCE. Facial nerve injury following surgery for the treatment of ankylosis of the temporomandibular joint. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2007; 12: 160-5.
225. Hall MB, Brown RW, Lebowitz MS. Facial nerve injury during surgery of the temporomandibular joint: a comparison of two dissection techniques. *J Oral Maxillofac Surg* 1985; 43(1): 20-3.
226. Ziccardi VB, Zuniga JR. Nerve injuries after third molar removal. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 2007; 19(1): 105-15.
227. Lam NP, Donoff RB, Kaban LB, Dodson TB. Patient satisfaction after trigeminal nerve repair. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol, Endodontol* 2003; 95(5): 538-43.
228. Robinson MD, Shannon S. Rehabilitation of peripheral nerve injuries. *Phys Med Rehabil Clin N Am* 2002; 13(1): 109-35.
229. Phillips C, Essick G, Zuniga J, Tucker M, Blakey G. Qualitative descriptors used by patients following orthognathic surgery to portray altered sensation. *J Oral Maxillofac Surg* 2006; 64(12): 1751-60.

230. Cruccu G, Truini A. Refractory Trigeminal Neuralgia : Non-Surgical Treatment Options. *CNS drugs* 2012; 27(2):91-6.
231. Vorenkamp KE. Interventional procedures for facial pain. *Curr pain headache rep* 2013; 17(1): 308.
232. Karaca İ, Aral L, Yücetaş Ş, Erdoğan D, Alan G. Gliserolün İnfraorbital Sinir Üzerine Etkilerinin Deneyisel Olarak İncelenmesi. *Gazi Üni Diş Hek Fak Derg* 1993; 10(2): 31-41.
233. Shields RK, Dudley-Javoroski S. Musculoskeletal adaptations in chronic spinal cord injury: effects of long-term soleus electrical stimulation training. *Neurorehabil and neural repair* 2007; 21(2): 169-79.
234. Slavin KV. Peripheral nerve stimulation for the treatment of neuropathic craniofacial pain. *Acta Neurochir Suppl* 2007; 97: 115-20.
235. Gordon T, Sulaiman O, Boyd JG. Experimental strategies to promote functional recovery after peripheral nerve injuries. *J Peripher Nerv Syst* 2003; 8(4): 236-50.
236. Haastert-Talini K, Schmitte R, Korte N, Klode D, Ratzka A, Grothe C. Electrical stimulation accelerates axonal and functional peripheral nerve regeneration across long gaps. *J Neurotrauma* 2011; 28(4): 661-74.
237. O'Gara T, Urban W, Polishchuk D, Pierre-Louis A, Stewart M. Continuous stimulation of transected distal nerves fails to prolong action potential propagation. *Clin Orthop Relat Res* 2006; 447: 209-13.

238. Lu MC, Tsai CC, Chen SC, Tsai FJ, Yao CH, Chen YS. Use of electrical stimulation at different current levels to promote recovery after peripheral nerve injury in rats. *J Trauma* 2009; 67(5): 1066-72.
239. Szalma J, Lempel E, Jeges S, Szabo G, Olasz L. The prognostic value of panoramic radiography of inferior alveolar nerve damage after mandibular third molar removal: retrospective study of 400 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010; 109(2): 294-302.
240. Sunderland S. Nerves and nerve injuries. 2nd ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1978.
241. Svane TJ, Wolford LM, Milam SB, Bass RK. Fascicular characteristics of the human inferior alveolar nerve. *J Oral Maxillofac Surg* 1986; 44(6): 431-4.
242. Chang YM, Rodriguez ED, Chu YM, Tsai CY, Wei FC. Inferior alveolar nerve reconstruction with interpositional sural nerve graft: a sensible addition to one-stage mandibular reconstruction. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2012; 65(6): 757-62.
243. Strauss ER, Ziccardi VB, Janal MN. Outcome Assessment of Inferior Alveolar Nerve Microsurgery: A Retrospective Review. *J Oral Maxil Surg* 2006; 64(12): 1767-70.
244. Chow HT, Teh LY. Sensory impairment after resection of the mandible: A case report of 10 cases. *J Oral Maxil Surg* 2000; 58(6): 629-35.

245. Dodson TB, Kaban LB. Recommendations for management of trigeminal nerve defects based on a critical appraisal of the literature. *J Oral Maxil Surg* 1997; 55(12): 1380-6.
246. Ryan WR, Fee FW Jr. Great auricular nerve morbidity after nerve sacrifice during parotidectomy. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2006; 132(6): 642-9.
247. Wessberg GA, Wolford LM. Bilateral microneurosurgical reconstruction of inferior alveolar nerves via autogenous sural nerve transplantation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1981; 52(5): 465-70.
248. Chen N, Zuniga JR. Evaluating methods and effects of repairing injured lingual nerves on human. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi* 1997; 32(5): 288-90.
249. Farole A, Jamal BT. A Bioabsorbable Collagen Nerve Cuff (NeuraGen) for Repair of Lingual and Inferior Alveolar Nerve Injuries: A Case Series. *J Oral Maxil Surg* 2008; 66(10): 2058-62.
250. Greenwood M, Corbett IP. Observations on the exploration and external neurolysis of injured inferior alveolar nerves. *Int J Oral Maxil Surg* 2005; 34(3): 252-6.
251. Joshi A, Rood JP. External neurolysis of the lingual nerve. *Int J Oral Maxil Surg* 2002; 31(1): 40-3.
252. Pogrel MA, McDonald AR, Kaban LB. Gore-Tex tubing as a conduit for repair of lingual and inferior alveolar nerve continuity defects: a preliminary report. *J Oral Maxil Surg* 1998; 56(3): 319-21.

253. Martinez de Albornoz P, Delgado PJ, Forriol F, Maffulli N. Non-surgical therapies for peripheral nerve injury. *Br Med Bull* 2011; 100: 73-100.
254. Shin DH, Lee E, Hyun JK, Lee SJ, Chang YP, Kim JW, et al. Growth-associated protein-43 is elevated in the injured rat sciatic nerve after low power laser irradiation. *Neuroscience letters* 2003; 344(2): 71-4.
255. Leung YY, Fung PP, Cheung LK. Treatment modalities of neurosensory deficit after lower third molar surgery: a systematic review. *J Oral Maxil Surg* 2012; 70(4): 768-78.
256. Gigo-Benato D, Geuna S, Rochkind S. Phototherapy for enhancing peripheral nerve repair: a review of the literature. *Muscle Nerve* 2005; 31(6): 694-701.
257. Hodson DS. Current and future trends in home laser devices. *Semin cutan med surg* 2008; 27(4): 292-300.
258. Silva Câmara CN, Brito MV, Silveira EL, Silva DS, Simoes VR, Pontes RW. Histological analysis of low-intensity laser therapy effects in peripheral nerve regeneration in Wistar rats. *Acta cirurgica brasileira* 2011; 26(1): 12-8.
259. Khullar SM, Brodin P, Messelt EB, Haanaes HR. The effects of low level laser treatment on recovery of nerve conduction and motor function after compression injury in the rat sciatic nerve. *Eur J Oral Sci* 1995; 103(5): 299-305.

260. Rochkind S, Nissan M, Alon M, Shamir M, Salame K. Effects of laser irradiation on the spinal cord for the regeneration of crushed peripheral nerve in rats. *Lasers Surg Med* 2001; 28(3): 216-9.
261. Sousa FFA, Andraus RAC, Barbieri CH, Mazzer N. Influence of laser radiation in nerve regeneration in different places of treatment. *Acta Ortop Bras* 2009; 17(6): 331-5.
262. Byrnes KR, Wu X, Waynant RW, Ilev IK, Anders JJ. Low power laser irradiation alters gene expression of olfactory ensheathing cells *in vitro*. *Lasers Surg Med* 2005; 37(2): 161-71.
263. Snyder SK, Byrnes KR, Borke RC, Sanchez A, Anders JJ. Quantitation of calcitonin gene-related peptide mRNA and neuronal cell death in facial motor nuclei following axotomy and 633 nm low power laser treatment. *Lasers Surg Med* 2002; 31(3): 216-22.
264. Rochkind S. Phototherapy in peripheral nerve regeneration: From basic science to clinical study. *Neurosurg Focus* 2009; 26(2): 8.
265. Rochkind S, Geuna S, Shainberg A. Chapter 25: Phototherapy in peripheral nerve injury: effects on muscle preservation and nerve regeneration. *Int review neurobiol* 2009; 87: 445-64.
266. Alrashdan MS, Park JC, Sung MA, Yoo SB, Jahing JW, Lee TH, et al. Thirty minutes of low intensity electrical stimulation promotes nerve regeneration after sciatic nerve crush injury in a rat model. *Acta neurologica Belgica* 2010; 110(2): 168-79.
267. Cobianchi S, Casals-Diaz L, Jaramillo J, Navarro X. Differential effects of activity dependent treatments on axonal regeneration and

neuropathic pain after peripheral nerve injury. *Exp Neurol* 2012; 240: 157-67.

268. Jiang M, Zhuge X, Yang Y, Gu X, Ding F. The promotion of peripheral nerve regeneration by chitooligosaccharides in the rat nerve crush injury model. *Neuroscience Letters* 2009; 454(3): 239-43.
269. Kalender AM, Dogan A, Bakan V, Yildiz H, Gokalp MA, Kalender M. Effect of Zofenopril on regeneration of sciatic nerve crush injury in a rat model. *J Brachial Plex Peripher Nerve Inj* 2009; 4(6): 1-7.
270. Ribeiro CMB, Vasconcelos BCE, da Silva Neto JC, da Silva Júnior VA, Figueiredo NG. Histopathological analysis of gangliosides use in peripheral nerve regeneration after axonotmesis in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira* 2008; 23(4): 364-71.
271. De Koning P, Brakkee JH, Gispen WH. Methods for producing a reproducible crush in the sciatic and tibial nerve of the rat and rapid and precise testing of return of sensory function. Beneficial effects of melanocortins. *J Neurol Sci* 1986; 74(2-3): 237-246.
272. Yin ZS, Zhang H, Bo W, Gao W. Erythropoietin promotes functional recovery and enhances nerve regeneration after peripheral nerve injury in rats. *Am J Neuroradiol* 2010; 31(3): 509-15.
273. Elfar JC, Jacobson JA, Puzas JE, Rosier RN, Zuscik MJ. Erythropoietin Accelerates Functional Recovery After Peripheral Nerve Injury. *J Bone Joint Surg Am* 2008; 90(8): 1644-53.
274. Apel PJ, Ma J, Callahan M, Northam CN, Alton TB, Sonntag WE, et al. Effect of locally delivered IGF-1 on nerve regeneration during

aging: an experimental study in rats. *Muscle Nerve* 2010; 41(3): 335-41.

275. Cámara-Lemarroy CR, Guzmán-de la Garza FJ, Barrera-Oranday EA, Cabello-García AJ, García-Tamez A, Fernández-Garza NE. Celecoxib accelerates functional recovery after sciatic nerve crush in the rat. *Journal of Brachial Plexus and Peripheral Nerve Injury* 2008; 3: 25.
276. Amado S, Simoes MJ, da Silva PASA, Luis AL, Shirosaki Y, Lopes MA, et al. Use of hybrid chitosan membranes and N1E-115 cells for promoting nerve regeneration in an axonotmesis rat model. *Biomaterials* 2008; 29(33): 4409-19.
277. Chen Z-W, Wang M-S. Effects of nerve growth factor on crushed sciatic nerve regeneration in rats. *Microsurgery* 1995; 16(8): 547-51.
278. Kalmar B, Greensmith L, Malcangio M, McMahon SB, Csermely P, Burnstock G. The effect of treatment with BRX-220, a co-inducer of heat shock proteins, on sensory fibers of the rat following peripheral nerve injury. *Exp Neurol* 2003; 184(2): 636-47.
279. Cui S-S, Yang CP, Bowen RC, Bai O, Li XM, Jiang W, et al. Valproic acid enhances axonal regeneration and recovery of motor function after sciatic nerve axotomy in adult rats. *Brain Research* 2003; 975(1-2): 229-36.
280. Zou T, Ling C, Xiao Y, Tao X, Ma D, Chen ZL, et al. Exogenous tissue plasminogen activator enhances peripheral nerve regeneration and functional recovery after injury in mice. *J Neuropathol Exp Neurol* 2006; 65(1): 78-86.

281. Padilla-Martin K, Baltazar-Rendon B, Gonzalez-Maciel A, Nunulicon A, Uribe-Escamilla B, Hernandez-Romero A, et al. Effects of glycine on electrical and histological properties of a rat peripheral nerve injury model. *Turkish journal of trauma & emergency surgery* 2009; 15(2):103-108.
282. Sharma N, Marzo SJ, Jones KJ, Foecking EM. Electrical stimulation and testosterone differentially enhance expression of regeneration-associated genes. *Experimental Neurology* 2010(1); 223:183-191.
283. Young C, Miller E, Nicklous DM, Hoffman JR. Nerve growth factor and neurotrophin-3 affect functional recovery following peripheral nerve injury differently. *Restor Neurol Neurosci* 2001; 18(4):167-175.
284. Castro J, Negredo P, Avendaño C. Fiber composition of the rat sciatic nerve and its modification during regeneration through a sieve electrode. *Brain Research* 2008; 1190:65-77.
285. Bagdatoglu C, Saray A, Surucu HS, Ozturk H, Tamer L. Effect of trapidil in ischemia/reperfusion injury of peripheral nerves. *Neurosurgery* 2002; 51(1):212-219.
286. Bridges D, Thompson SW, Rice AS. Mechanisms of neuropathic pain. *Br J Anaesth* 2001; 87(1):12-26.
287. Kurtoglu Z, Ozturk AH, Bagdatoglu C, Turac A, Camdeviren H, Uzmanuel D, et al. Effect of trapidil on the sciatic nerve with crush injury: a light microscopic study. *Neuroanatomy* 2004; 3:54-58.
288. Luis AL, Amado S, Geuna S, Rodriques JM, Simoes MJ, Santos JD, et al. Long-term functional and morphological assessment of a

standardized rat sciatic nerve crush injury with a non-serrated clamp. J Neurosci Methods 2007; 163(1):92-104.

289. Endo C, Barbieri CH, Mazzer N, Fasan VS. Low-Power Laser Therapy Accelerates Peripheral Nerves' Regeneration. Acta Ortop Bras 2008; 16(5):305-310.
290. Oliveira EF, Mazzer N, Barbieri CH, Selli M. Correlation between functional index and morphometry to evaluate recovery of the rat sciatic nerve following crush injury: experimental study. J Reconstr Microsurg 2001; 17(1):69-75.
291. Bozkurt A, Deumens R, Scheffel J, O'Dey DM, Weis J, Joosten EA, et al. CatWalk gait analysis in assessment of functional recovery after sciatic nerve injury. J Neurosci Methods 2008; 173(1):91-98.
292. Raso VVM, Barbieri CH, Mazzer N, Fasan VS. Can therapeutic ultrasound influence the regeneration of peripheral nerves? J Neurosci Meth 2005; 142(2):185-192.
293. Ma J, Li W, Tian R, Lei W. Ginsenoside Rg1 promotes peripheral nerve regeneration in rat model of nerve crush injury. Neurosci Lett 2010; 478(2):66-71.
294. Bae CS, Lim SC, Kim KY, Song CH, Pak S, Kim SG, et al. Effect of Ga-as laser on the regeneration of injured sciatic nerves in the rat. *In vivo* 2004; 18(4):489-495.
295. Wei SY, Zhang PX, Han N, Dang Y, Zhang HB, Zhang DY, et al. Effects of Hedysari polysaccharides on regeneration and function recovery following peripheral nerve injury in rats. Am J Chin Med 2009; 37(1):57-67.

296. Pan HC, Cheng FC, Chen CJ, Lai SZ, Liu MJ, Chang MH, et al. Dietary supplement with fermented soybeans, natto, improved the neurobehavioral deficits after sciatic nerve injury in rats. *Neurol Res* 2009; 31(5):441-452.
297. Aktop S, Alturfan EE, Özer C, Gönül O, Garip H, Yarat A, et al. Ankaferd Blood Stopper ve Celox'un Varfarin Verilmiş Sıçan Derisinde Glutasyon ve Lipid Peroksidasyon Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. *Müşbed* 2012; 2(1):32-42.
298. Akarsu C, Kalaycı MU, Yavuz E, Özkara S, Gökçek B, Özdenkaya Y, et al. Sıçanlarda karaciğer laserasyon modelinde Ankaferd Blood Stopper ve fibrin yapıştırıcının hemostatik etkinliğinin karşılaştırılması. *Ulus Travma Acil Cerrahi Dergisi* 2011; 17(4):308-312.
299. Huri E, Akgul T, Ayyildiz A, Bağcıoğlu M, Germiyanoglu C. First Clinical Experience of Ankaferd Bloodstopper as a Hemostatic Agent in Partial Nephrectomy. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences* 2010; 26(9):493-495.
300. Karaman A, Baskol M, Gursöy S, et al. Endoscopic Topical Application of Ankaferd Blood Stopper® in Gastrointestinal Bleeding. *J Altern Complem Med* 2012; 18(1): 65-8.
301. Kelles M, Kalcioglu MT, Samdanci E, Selimoglu E, Iraz M, Mıman MC, et al. Ankaferd Blood Stopper Is More Effective Than Adrenaline Plus Lidocaine and Gelatin Foam in the Treatment of Epistaxis in Rabbits. *Curr Ther Res Clin E* 2011; 72(5): 185-94.
302. Kurt M, Akdoğan M, Onal İK, Kekilli M, Arhan M, Şorbagı A, et al. Endoscopic topical application of Ankaferd Blood Stopper for

neoplastic gastrointestinal bleeding: A retrospective analysis. Digest Liver Dis 2010; 42(3): 196-9.

303. Tas A, Koklu S, Beyazit Y, Karaca G, Astarci M, Akbal E, et al. Percutaneous ankaferd injection to *in vivo* liver tissue in comparison to ethanol in an experimental rat model. Clin Res Hepatol Gas 2011; 35(8-9): 549-53.
304. Tuncer I, Doganay L, Ozturk O. Instant control of fundal variceal bleeding with a folkloric medicinal plant extract: Ankaferd Blood Stopper. Gastrointestinal Endoscopy 2010; 71: 873-5.
305. Isler SC, Demircan S, Cakarar S, Cebi Z, Keskin C, Soluk M, et al. Effects of folk medicinal plant extract Ankaferd Blood Stopper (R) on early bone healing. Journal of Applied Oral Science 2010; 18(4): 409-14.
306. Arslan S, Yesil Y, Ulger Z, Cankurtaran M, Goker H, Haznedaroglu IC. Ankaferd for the Wound Healing in a Soft Tissue Injury Wound in an Elderly Patient. Akad Geriatri 2010; 2: 58-60.
307. Haznedaroglu BZ, Haznedaroglu IC, Walker SL, Bilgili H, Goker H, Kosar A, et al. Ultrastructural and Morphological Analyses of the *In Vitro* and *In Vivo* Hemostatic Effects of Ankaferd Blood Stopper. Clin Appl Thromb-Hem 2010; 16(4): 446-53.
308. Ünlü L. Gingival Fibroblastların Ankaferd ile *In Vitro* Koşullarda Etkileşimi. Doktora. Ankara: Hacettepe Üniversitesi; 2010.
309. Pampu AA, Yildirim M, Tüzüner T, Baygin O, Abidin I, Dayisoğlu EH, et al. Comparison of the effects of new folkloric hemostatic agent on peripheral nerve function: an electrophysiologic study in

rats. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology 2012;. doi:10.1016/j.oooo.2011.10.025 (Article in Press).

310. Güler B. Ankaferd Blood Stopper' ın Nörotoksik Etkisi. Uzmanlık Tezi. İstanbul: Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2009.
311. Ulaş AK. Kanama Durdurucu Ajan Ankaferd Blood Stopper'ın Serebral Doku Üzerine Olan Etkilerinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi Ve Santral Sinir Sisteminde Kullanılabilirliğinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi. Samsun: Ondokuz Mayıs Üniversitesi; 2009.
312. Sataloğlu H. Ankaferd Blood Stopper'ın Medulla Spinalis Üzerine olan Etkilerinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi ve Kullanılabilirliğinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi. Samsun: Ondokuz Mayıs Üniversitesi; 2009.
313. Rochkind S, Drory V, Alon M, Nissan M, Ouaknine GE. Laser phototherapy (780 nm), a new modality in treatment of long-term incomplete peripheral nerve injury: a randomized double-blind placebo-controlled study. Photomed Laser Surg 2007; 25(5): 436-42.
314. Rochkind S, Leider-Trejo L, Nissan M, Shamir MH, Kharenko O, Alon M. Efficacy of 780-nm laser phototherapy on peripheral nerve regeneration after neurotube reconstruction procedure (double-blind randomized study). Photomed Laser Surg 2007; 25(3): 137-43.
315. Silva-Couto MA, Gigo-Benato D, Tim CR, Parizotto NA, Salvini TF, Russo TL. Effects of low-level laser therapy after nerve reconstruction in rat denervated soleus muscle adaptation. Rev Bras Fisioter 2012; 16(4): 320-7.

316. Gigo-Benato D, Russo TL, Tanaka EH, Assis L, Salvini TF, Parizotto NA. Effects of 660 and 780 nm low-level laser therapy on neuromuscular recovery after crush injury in rat sciatic nerve. *Lasers Surg Med* 2010; 42(9): 673-82.
317. Skene JH, Willard M. Characteristics of growth-associated polypeptides in regenerating toad retinal ganglion cell axons. *J Neurosci* 1981; 1(4): 419-26.
318. Schmidt-Michels M, Edwards PM, Oestreicher AB, Gispen WH. Colchicine effect on B-50/GAP43 phosphoprotein localization in rat dorsal root ganglion explants. *Neuroscience Letters* 1989; 97(3): 285-90.
319. Benowitz LI, Apostolides PJ, Perrone-Bizzozero N, Finklestein SP, Zwiers H. Anatomical distribution of the growth-associated protein GAP-43/B-50 in the adult rat brain. *J Neurosci* 1988; 8: 339-52.
320. Aarts LHJ, Schrama LH, Hage WJ, Bos JL, Gispen WH, Schotman P. B-50/GAP-43-induced Formation of Filopodia Depends on Rho-GTPase. *Mol Biol Cell* 1998; 9: 1279-92.
321. Verze L, Buffo A, Rossi F, Oestreicher AB, Gispen TWH, Strata P. Increase Of B-50/Gap-43 Immunoreactivity In Uninjured Muscle Nerves Of MDX Mice. *Neuroscience* 1996; 70(3): 807- 15.
322. Benowitz LI, Perrone-Bizzozero NI, Finklestein SP. Molecular properties of the growth-associated protein GAP-43 (B-50). *J Neurochem* 1987; 48(5): 1640-7.

323. Degraan PNE, Hens JJH, Gispen WH. Presynaptic Pkc Substrate B-50 (Gap-43) and Neurotransmitter Release - Studies with Permeated Synaptosomes. *Neurotoxicology* 1994; 15(1): 41-7.
324. Benowitz LI, Perrone-Bizzozero NI, Finklestein SP, Bird ED. Localization of the Growth-Associated Phosphoprotein GAP-43 (B-50, F1) in the Human Cerebral Cortex. *The Journal of Neuroscience* 1989; 9(3): 990-5.
325. Yao GL, Kiyama H, Tohyama M. Distribution of GAP-43 (B50/F1) mRNA in the adult rat brain by in situ hybridization using an alkaline phosphatase labeled probe. *Molecular Brain Research* 1993; 18(1-2): 1-16.
326. Campagne MV, Oestreicher AB, Henegouwen PMPVE, Gispen WH. Ultrastructural Immunocytochemical Localization of B-50/Gap43, a Protein Kinase-C Substrate, in Isolated Presynaptic Nerve-Terminals and Neuronal Growth Cones. *J Neurocytol* 1989; 18(4): 479-89.
327. Joung I, Yoo M, Woo JH, Chang CY, Heo H, Kwon YK. Secretion of EGF-Like Domain of Heregulin β Promotes Axonal Growth and Functional Recovery of Injured Sciatic Nerve. *Molecules and Cells* 2010; 30: 477-84.
328. Kobayashi N, Kiyama H, Tohyama M. GAP-43 (B50/F1) gene regulation by axonal injury of the hypoglossal nerve in the adult rat. *Brain Res Mol Brain Res* 1994; 21(1-2): 9-18.
329. Cho HH, Jang S, Lee SC, Jeong HS, Park JS, Han JS, et al. Effect of neural-induced mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma

on facial nerve regeneration in an acute nerve injury model. Laryngoscope 2010; 120(5): 907-13.

330. Arda N, Ertan H. Proteinlerin İzolasyonu, Analizi ve Saflaştırılması. İçinde: Temizkan G, Arda N, editörler. Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler. İstanbul: Nobel Kitabevleri; 2008.
331. Ferri CC, Bisby MA. Improved survival of injured sciatic nerve Schwann cells in mice lacking the p75 receptor. Neuroscience Letters 1999; 272(3): 191-4.
332. Lin YY, Yuan XH, Zhou FQ, Wang ZL, Liu MM, Lin ZY. The effect of 810 nm low-power Ga-Al-As laser treatment on the regeneration of a damaged optic nerve. Chinese Journal of Physical Medicine and Rehabilitation 2011; 33(9): (Abstract).
333. Van der Neut R, Hol EM, Gispen WH, Bar PR. Stimulation by melanocortins of neurite outgrowth from spinal and sensory neurons *in vitro*. Peptides 1992; 13(6): 1109-15.
334. Yao GL, Kiyama H. Dexamethasone enhances level of GAP-43 mRNA after nerve injury and facilitates re-projection of the hypoglossal nerve. Molecular Brain Research 1995; 32(2): 308-12.
335. Takhtfooladi MA, Sharifi D, Mokmeli S, Abedi G, Haghdost IS, Mortazavi B, et al. Effect of 780 nm low level laser therapy on the regeneration of injured sciatic nerves after end to end anastomosis in the rabbit: Histological analysis. Annals of Biological Research 2012; 3(8):3941-3944.

336. Cantín LM, Suazo GI, Zavando DM. Effect of low level laser on the perineural thickness of the inferior alveolar nerve. *Int J Odontostomat* 2008; 2(2): 123-7.
337. Sariguney Y, Yavuzer R, Elmas C, Yenicesu I, Bolay H, Atabay K. Effect of platelet-rich plasma on peripheral nerve regeneration. *J Reconstr Microsurg* 2008; 24(3): 159-67.
338. Elgazzar RF, Mutabagani MA, Abdelaal SE, Sadakah AA. Platelet rich plasma may enhance peripheral nerve regeneration after cyanoacrylate reanastomosis: a controlled blind study on rats. *International journal of oral and maxillofacial surgery* 2008; 37(8): 748-55.
339. Emel E, Ergun SS, Kotan D, Gursoy EB, Parman Y, Zengin A, et al. Effects of insulin-like growth factor-I and platelet-rich plasma on sciatic nerve crush injury in a rat model. *Journal of Neurosurgery* 2011; 114(2): 522-8.
340. Zhang L-X, Tong X-J, Yuan X-H, Sun X-H, Jia H. Effects of 660-nm gallium–aluminum–arsenide low-energy laser on nerve regeneration after acellular nerve allograft in rats. *Synapse* 2010; 64(2): 152-60.
341. Ihsan FRM. Low-level laser therapy accelerates collateral circulation and enhances microcirculation. *Photomed Laser Surg* 2005; 23(3): 289-94.
342. Maegawa Y, Itoh T, Hosokawa T, Yaegashi K, Nishi M. Effects of near-infrared low-level laser irradiation on microcirculation. *Lasers Surg Med* 2000; 27(5): 427-37.

343. Song JF, Wu SZ, Duan L. Induction of growth-associated protein-43 expression in airway afferent nerves of guinea pigs by allergic airway inflammation. Zhonghua jie he he hu xi za zhi = Zhonghua jiehe he huxi zazhi = Chinese journal of tuberculosis and respiratory diseases 2006; 29(5): 333-7.

10. EKLER

10.1. Etik Kurul Onayı



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

SAYI : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/ 77-6486
KONU :

07.04/2011

Sayın

Prof.Dr.İhsan Levent ARAL
Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

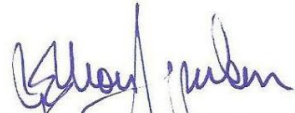
Araştırmacı grubu İhsan Levent ARAL, Başak KURDOĞLU, Gülnur TAKE KAPLANOĞLU, Ahmet CUMAOĞLU ve Aysel ARICIOĞLU'ndan oluşan, G.Ü.ET-11.029 kod numaralı ve "*Ankaferd Blood Stopper'ın sinir dokusu iyileşmesi üzerine etkilerinin Düşük Enerji Seviyeli Lazer'le histopatolojik ve biyokimyasal olarak karşılaştırılması*" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-11.029 and entitled "*Histopathological and biochemical comparement of the effects of Ankaferd Blood Stopper and Low Level Laser Therapy on nerve healing*" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

EK : 1 Liste


Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

10.2. Teşekkür

Öğrencilik dönemim ve doktora eğitimim boyunca her konuda yanımda olan, deneyim ve bilgilerini benden esirgemeyen doktora danışmanım Sayın Prof. Dr. İhsan Levent ARAL'a, bu tezin oluşmasına büyük katkısı olan ve bana yol gösteren Sayın Prof. Dr. Hakan Alpay KARASU'ya, doktora eğitim boyunca bana maddi ve manevi destek sağlayan TÜBİTAK'a, bu çalışmayı oluştururken benden yardımlarını esirgemeyen Dr. Merve ÇAKIR ve Dr. Gülin SEYMEN'e, GÜDAM veteriner hekimlerine ve çalışanlarına, öğrenciliğim ve tüm doktora hayatım boyunca öğrendiklerimi borçlu olduğum, engin bilgi ve becerilerine şahitlik etme fırsatını benden esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Şule YÜCETAŞ, Sayın Doç. Dr. Berrin IŞIK, Öğr. Gör. Dr. Süleyman BOZKAYA ve Doç. Dr. Mustafa Sancar ATAÇ'a, bilgi ve becerilerini benimle esirgmeden paylaşan Dr. Erkan ÇIRAK'a ve beraber çalıştığım tüm bölüm arkadaşlarıma, bölüm hemşirelerine, öğrenciliğim ve doktora eğitimim süresince her durumda danışabildiğim, öğretici ve manevi desteklerini her zaman hissettiğim Sayın Prof. Dr. İnci Rana KARACA, Sayın Prof. Dr. Sedat ÇETİNER, Sayın Prof. Dr. Barış ŞİMŞEK, Sayın Prof. Dr. Nur MOLLAOĞLU, Sayın Prof. Dr. Mustafa ÖZTÜRK, Sayın Prof. Dr. Dilek Aynur UĞAR ÇANKAL, Sayın Prof. Dr. Cansu ALPASLAN ve Sayın Prof. Dr. Gökhan ALPASLAN'a, sonsuz emek ve sevgisiyle beni bugünlere getiren, mesleki gelişimim için her konudaki desteği ile hep yanımda olduğunu bildiğim sevgili annem Fatma KURDOĞLU ve babam Nusret KURDOĞLU'na, beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan ve her konuda destekleyen sevgili dostlarım Dr. Gülin SEYMEN, Dr. Çağrı GAZİOĞLU, Dr. Mustafa ÖZCAN, Dr. Gözde YALÇIN, Dr. Görkem MÜFTÜOĞLU ve Bilge OKTAY'a ve son olarak benden sabrını, sonsuz desteğini ve sevgisini esirgemeyen, bu yolda benimle birlikte yürüyen, değerli meslektaşım Dr. Akın ÖZTEMEL'e, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Başak KURDOĞLU

Doğum Yeri - Tarihi: Ankara - 24.08.1985

Doktora: Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Cerrahisi AD. (2008-2013)

Üniversite: Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi (2003-2008)

Lise: Ankara Atatürk Lisesi (2000-2003)

Ortaokul: Büyük Kolej (1996-2000)

İlkokul: Özel Arı Koleji (1991-1996)

e-posta adresi: basak_kurdoglu@hotmail.com

Yabancı Dil: İngilizce

Üyesi Olduğu Bilimsel Kuruluşlar: Türk Oral ve Maksillofasiyal Cerrahi Derneği (TAOMS)

Aldığı Burslar: Tübitak Bilim İnsanı Destekleme Bursu (Yurtiçi)

Projeler: Ankaferd Blood Stopper ile Düşük Enerji Seviyeli Lazer'in Sinir Dokusu İyileşmesi üzerine etkilerinin histopatolojik ve biyokiyasal olarak karşılaştırılması. BAP Projesi 2011 (03/2011-32 proje kodu).