

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

FAREDE SİYATİK SİNİR HASARI SONRASI
AQUAPORİN-1 EKSPRESYON DÜZEYİNİN
ÖLÇÜLMESİ

Deniz AY

Yüksek Lisans Tezi

Antalya, 2014

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

FAREDE SİYATİK SİNİR HASARI SONRASI AQUAPORİN-1 EKSPRESYON DÜZEYİNİN ÖLÇÜLMESİ

Deniz AY

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Lütfiye Bikem SÜZEN

Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi
Taraından Desteklenmiştir. (Proje no:2013.02.0122.003)

“Kaynakça Gösterilerek Tezimden Yararlanılabilir.”

Antalya, 2014

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Anatomi Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 19/06/2014

Tez Danışmanı

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



Üye

: Prof. Dr. Nurettin OĞUZ
Akdeniz Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Anatomi Anabilim Dalı



Üye

: Prof. Dr. Muzaffer SİNDEL
Akdeniz Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Anatomi Anabilim Dalı



Üye

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



Üye

: Prof. Dr. Necdet DEMİR
Akdeniz Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı



ONAY:

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

Prof. Dr. İsmail ÜSTÜNEL

Enstitü Müdürü

ÖZET

Aquaporin 1 (AQP1)'in merkezi sinir sistemindeki yeri ve homeostasteki önemi pekçok çalışmada gösterilmiştir. Buna karşın periferik sinir sistemindeki rolü az sayıda çalışmaya konu olmuştur. Çalışmamızda siyatik sinirin sık görülen hasar çeşitlerinden biri olan kesi hasarında, sinirin proksimal, lezyon alanı ve sinirin distal bölümünde hasarın 2., 24. ve 48. saatlerinde AQP1'in lokalizasyonunun ve yoğunluğunun tespit edilmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızda, *Mus musculus* türü 30 Balb/C fare kullanılmıştır. Denekler, kontrol, sham, kesi olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Kesi grubu 2. postoperatif saat, 24. postoperatif saat, 48. postoperatif saat olmak üzere üç alt gruba ayrılmıştır. Bu gruplarda AQP1 ekspresyon düzeyleri kantitatif olarak analiz edilmiştir. Kesi sonrası sinirin proksimalinde, distalinde ve kesi yerinde AQP1 ekspresyonunda hasarın 2., 24. ve 48. saatlerinde bir artış gözlemlendi. En bariz artış ise lezyon alanında ve 24. postoperatif saatte gözlemlendi. Lezyon sonrasında proksimal gövdede daha az oranda AQP1 immunreaktivitesi gözlemlendi. Buna karşın lezyon alanında çok büyük şiddette, sinirin distal gövdesinde ise sinir travmasını özellikle 24. saatte AQP1 ekspresyonunun artış gösterdiği tespit edildi. Bu bulgular doğrultusunda AQP1 immunreaktivite artışı, artan ağrı ve bunun iletiminde gerçekleşen artmış sinaptik aktiviteyle ilgili olabileceği kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: Siyatik Sinir, Aquaporin 1, Dejenerasyon, Rejenerasyon

ABSTRACT

It has been shown that the importance of AQP1 in homeostasis and the place in the central nervous system. On the contrary that, very few studies has been the subject role in the peripheral nervous system. In our study, the cut injury which is commonly seen of the sciatic nerve as one of injury, proximal, lesion area and in the portion of distal of the nerve, detection has been aimed that the localization and density of AQP1 in 2nd, 24th and 48th hours. In our study, Mus musculus type 30 female Balb/ C mice were used. Subjects, divided into three groups as control, sham and incision. Also incision group were divided into three sub-groups 2nd postoperative hour, 24th postoperative hours, 48th postoperative hours. In the groups AQP1 expression levels were analyzed quantitatively. After incision in the proximal, the incision and distal of the nerve an increase in the expression of AQP1 at 2nd, 24th and 48th hours of the damage was observed. The most obvious increase was observed in the lesion area of nerve and 24 th postoperative hours. After a lesion in the proximal body to a lesser extent AQP1 immunoreactivity was observed. In contrast, increased expression of AQP1 in lesion area by very large intensity and post injury in 24th hour in body distal of nerve have been identified. According to these findings, the increased AQP1 immunoreactivity could be related to increased pain and the increased synaptic activity realized in the transmission.

Key Words: Sciatic Nerve, Aquaporin 1, Degeneration, Regeneration

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleşmesinde bana yol gösteren danışman hocam Sayın **Prof. Dr. Lütfiye Bikem SÜZEN'e**,

Bilgileri ve paylaşımları ile bana katkıda bulunan Anatomi Anabilim Dalı hocalarımdan Sayın **Prof. Dr. Levent SARIKCIOĞLU'na**,

Anatomi Anabilim Dalı hocalarıma ve sevgili mesai arkadaşlarıma,

Deney Hayvanları Ünitesi çalışanlarına ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü personeline,

Tüm öğrenim hayatım boyunca benden maddi, manevi desteklerini ve sevgilerini eksik etmeyen **AİLEME** sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	
2.1. Periferik Sinir	3
2.2. Periferik Sinirin Konnektif Dokusu	3
2.3. Periferik Sinirin Damarsal Beslenmesi	3
2.4. Periferik Sinir Yaralanmaları	4
2.5. Periferik Sinir Yaralanmalarının Sınıflandırılması	5
2.5.1. Seddon sınıflaması	5
2.5.2. Sunderland sınıflaması	5
2.6. Homeostasis	6
2.7. Kan Sinir Bariyeri	6
2.8. Aquaporinler	7
2.8.1. Aquaporin 1(AQP1)	7
GEREÇ VE YÖNTEM	
3.1. Denekler	9
3.2. Deney grupları	9
3.3. Cerrahi İşlemler	9
3.4. Deneklerin Sakrifikasyonu	10
3.5. Doku Eldesi	10
3.6. İmmunfloresan Analiz	10
3.7. Floresan Yoğunluğunun Kantitatif Analizi	11
3.8. Veri Analizi	11

BULGULAR

4.1.	Kontrol ve Sham Gruplarındaki AQP1 Ekspresyonu	12
4.2.	Postoperatif 2. saatteki AQP1 Ekspresyonu	12
4.3.	Postoperatif 24. Saatteki AQP1 Ekspresyonu	12
4.4.	Postoperatif 48. Saatteki AQP1 Ekspresyonu	13
4.5.	Siyatik Sinirin Proksimal Gövdesindeki AQP1 Ekspresyonu	14
4.6.	Siyatik Sinirin Lezyon Alanındaki AQP1 Ekspresyonu	15
4.7.	Siyatik Sinirin Distal Gövdesindeki AQP1 Ekspresyonu	16

TARTIŞMA	19
-----------------	-----------

SONUÇLAR	21
-----------------	-----------

KAYNAKLAR	22
------------------	-----------

ÖZGEÇMİŞ	27
-----------------	-----------

SİMGELER VE KISALTMALAR

AQP1 : Aquaporin 1

CHIP : Channel-forming Integral Protein (Kanal oluşturan integral protein)

kDa : Kilodalton

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
3.3. Siyatik sinir kesisi	10
4.2. Postoperatif 2. saatte AQP1 ekspresyonu	12
4.3. Postoperatif 24. saatte AQP1 ekspresyonu	13
4.4. Postoperatif 48. saatte AQP1 ekspresyonu	14
4.5. Siyatik sinirin proksimal gövdesindeki AQP1 ekspresyonunun zamana bağlı değişimi	15
4.6. Siyatik sinirin lezyon alanındaki AQP1 ekspresyonunun zamana bağlı değişimi	16
4.7.1. Siyatik sinirin proksimal gövdesindeki AQP1 ekspresyonunun zamana bağlı değişimi	17
4.7.2. AQP1 ekspresyonunun zamana ve sinir bölgesine göre değişiminin görünümü	17

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo		Sayfa
2.8.	Aquaporin ailesinin üyeleri	7
3.2.	Deney grupları	9

GİRİŞ VE AMAÇ

Periferik sinir yaralanması sonrası fonksiyonların en kısa sürede ve optimal düzeyde geriye dönmesi temel tedavi stratejisidir. Ancak cerrahi alet ve ekipmanlardaki pek çok yeniliğe ve cerrahi tekniklerdeki ilerlemelere rağmen periferik sinir iyileşmesi suboptimal düzeyde kalmaktadır. Bu da sinir rejenerasyonunun doğasının daha fazla anlaşılması gerektiğini kaçınılmaz kılmaktadır.

Periferik sinir yaralanmaları çoğunlukla sinirde gerilme, ezilme ve kesilme nedeniyle meydana gelmektedir. Yaralanmayla birlikte lezyon alanının proksimalinde, distalinde ve lezyon alanında önemli değişiklikler meydana gelir. Yaralanma sonrası sinirde meydana gelen değişiklikler ilk 6 saat içerisinde meydana gelir. Önce perikaryondaki çekirdek perifere doğru göç eder ve Nissl cisimciklerinin yapıları bozulur ve bütün nöroplazmaya dağılır. Hasarlı bölgenin distalinde, akson ve myelin kılıfın fragmantasyonu, nörotübül ve nöroflamentlerin düzensizleşmesi ve sonuç olarak aksonal yapının tamamen bozulması ile karakterize olan Wallerian dejenerasyonu meydana gelir [1-5]. Makrofajlar ve Schwann hücreleri dejenere olan myelin kılıfı ve akson yıkıntılarını fagosite ederek, yaralı bölgeyi 1 haftadan 1 aya kadar olan zaman içerisinde temizler [1, 6-8]. Dejenerasyonun ilerleyen dönemlerinde Schwann hücreleri Büngner bandları adı verilen tüpleri oluştururlar. Bu tüp içerisine giren rejenere lifler distal hedeflerine ulaşmak üzere yol alırlar [1, 5, 9-11].

Periferik sinirin fonksiyonlarını yerine getirebilmesi için; periferik sinirin merkezi sinir sistemindeki uygun bir hücre gövdesi ile bağlantılı olmasına ve yeterli miktarda oksijen desteğine gereksinimi vardır. Yaralanmadan sonra ilk 48-96 saatlik dilimde akson devamlılığı kaybolur ve impuls iletimi bozulur. Sinirin tam iskemisinde ise sinir fonksiyonu 30-90 dakika içinde hızla bozulur [12-15]. İskemide ortaya çıkan nöral doku hasarının derecesi bu süreçteki kan akımı ve iskeminin süresi ile doğrudan bağlantılıdır [14].

AQP1'in merkezi sinir sistemindeki yeri ve homeostasteki önemi pekçok çalışmada gösterilmiştir. Buna karşın periferik sinir sistemindeki rolü az sayıda çalışmaya konu olmuştur. Matsuzaki ve arkadaşları [16] AQP1'in kan sinir bariyeri hücrelerinde ve perikondriumda yerleşimini rapor etmişlerdir. Bu çalışmada AQP1'in epinöral kılıfın sadece dış tabakalarında lokalize olduğu, bunun yanı sıra sinir içerisinde yer alan damarlarda da yer aldığı gösterilmiştir. Fare periferik sinirinde ise AQP1'in lokalizasyonunu konusunda literatür taramalarımız sadece bir çalışmayı işaret etmiştir. Oshio ve arkadaşları [17] dorsal kök ganglionları, trigeminal sinirin kaudal nükleusunda ve medulla spinalis'te AQP1 ekspresyonunu göstermişlerdir.

Santral sinir sistemi dokularında çeşitli patolojik durumlarda AQP ekspresyonu literatürde rapor edilmiş olmasına karşın; periferik sinir sisteminde AQP ekspresyonu az

sayıda çalışmada gösterilmiştir. Bunun yanı sıra periferik sinir hasarı sonrası AQP ekspresyonu üzerine az çalışma bulunmaktadır.

AQP1'in merkezi sinir sistemindeki yeri ve homeostasis'teki önemi yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir [18-19]. Ayrıca insan siyatik sinir biyopsi örneklerinde AQP1'in varlığı gösterilmesine rağmen periferik sinir sistemindeki ekspresyonu yeteri kadar çalışılmamıştır [20]. Matsuzaki ve arkadaşlarının kan sinir bariyerinden su geçişini aydınlatmak için sıçan siyatik sinirinde yaptıkları çalışmalarında AQP1'in kan sinir bariyeri hücrelerinde ve perikondriumda varlığını belirlemişlerdir [16]. Aquaporinlerin tümör gelişimi ve anjiogenez ile ilişkili olduğu da rapor edilmiştir. AQP1'den yoksun farelerde yapılan bir çalışmada tümör gelişimi, anjiogenezin bozulmuş olmasından dolayı zayıf kaldığı gösterilmiştir [20].

Sinirin en sık görülen hasarlarından biri travmatik yaralanmalardır. Sinir kesisi sonrası sinir içerisinde bulunan aksonların kesintiye uğraması yanında siniri besleyen damarlar da kesintiye uğrar. Pek çok vücut hücresinde olduğu gibi sinir hücresi de fonksiyonlarını yerine getirirken su molekülüne ihtiyaç duyar. Suyun vücut bölümleri arasında dağılımı sıkı bir şekilde denetlenir. Aquaporinler de bu noktada önem kazanmaktadır. Bu bağlamda siyatik sinirin damarlarının (epinöral plexus ve intranöral plexus) sinir kesisi ile kesintiye uğraması sonrasında lezyon alanında ve distalinde yoğun anjiogenik aktivitenin oluşabileceği dikkatten kaçmamalıdır. Çalışmamızda, sinir kesisi sonrası siyatik sinirin beslenmesinde ve su transportunda rol alan aquaporinlerin ekspresyonunda artış olabileceği hipotezi test edilecektir. Bu bağlamda, çalışmamızda siyatik sinirin sık görülen hasar çeşitlerinden biri olan kesi hasarında sinirin proksimalinde, lezyon alanında ve sinirin distalinde hasarın 2., 24. ve 48. saatlerinde AQP1'in lokalizasyonunun ve yoğunluğunun tespit edilmesi amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİ

2.1. Periferik Sinir

Embriyolojik olarak periferik sinirler ektoderm tabakasından gelişir [21]. Periferik sinir sistemi, santral sinir sistemi ile periferik organlar arasında çift yönlü uyarımı sağlayan, böylece motor, duyu ve otonomik fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli rol oynayan bir sistemdir.

Schwann hücreleri periferik sinir sisteminin nöroglia hücreleridir [2, 22, 23]. Schwann hücreleri hem miyelinli hem de miyelinsiz sinir liflerini destekler. Miyelin kılıf, sinir impulslarının hızlı iletilmesini sağlar. Akson tepciği ile akson terminallerinde miyelin kılıf yoktur. Schwann hücreleri aynı zamanda, periferik sinir sistemindeki yıkıntıları temizler ve yaralanma sonrası aksonların rejenere olmasına yardımcı olur [1-2, 6, 9, 22].

2.2. Periferik Sinirin Konnektif Dokusu

Periferik sinir sistemini saran kılıflar içten dışa doğru endoneurium, perineurium ve epineurium'dur.

a- Endoneurium: Aksonları saran ve perineurium içinde tutan fibroblastlar, kollajen ve retiküler lifler, mast hücreleri, makrofajlar ve kapiller sistemden oluşan bağ dokusudur [24-26].

b- Perineurium: Birkaç sinir lifini saran ve fasciculus adı verilen yapının oluşmasını sağlar [27]. Fassikül sayısına göre sinirler monofassiküler, oligofassiküler ve polifassiküler sinirler olarak sınıflandırılırlar. Seyirleri sırasında diğer fassiküller ile bağlantı kurarlar. Sunderland'e göre fassiküller arası bağlantılar periferik sinirin proksimalinde daha fazla, fakat distale doğru gidildikçe fassiküller arası bağlantılar azalır [28].

c- Epineurium: Siniri saran gevşek kollajen bağ dokusudur. Siniri hareket sırasında travmalardan korumakla görevlidir. Epineurium'un kalınlığı bireylere göre, sinirin tipine ve seviyesine göre farklılık gösterir. Kalınlık sinirin distaline doğru gittikçe azalır [27].

2.3. Periferik Sinirin Damarsal Beslenmesi

Periferik sinirler damarsal beslenme bakımından zengindir [29]. Periferik sinirlerde uyarı iletimi ve aksonal transport için gerekli olan enerji, endoneurium, perineurium ve epineurium tabakalarında bulunan ve birbirleriyle bağlantılı olan vasküler sistem sayesinde sağlanmaktadır [30]. Periferik sinirin farklı segmentleri ve tabakaları arasında iyi gelişmiş kollateral dallar tarafından oluşturulan geniş damar pleksusları vardır [31-33]. Bu damar pleksusları, ekstrasik ve intrasik sistem olan iki fonksiyonel bölümden oluşur [32]. Ekstrasik sistem, değişen çapta ve genellikle komşu

büyük arter ve venlerden köken alan segmental damarlardan oluşur. Buna ek olarak, önemli derecede kan desteği, kas perforatorları ve periosteal damarlardan sağlanır. Bu segmental damarlar sinirin epineurium tabakasına girerler. Burada bir pleksus oluşturduktan sonra perinöral pleksus oluşturmak için, perinöral damarlar endonöral tabakaya oblik olarak uzanırlar. Bu uzanma sırasında endonöral basınç artışına hassastırlar [27, 34]. Endonöral ağ ise arterioller, kapiller, ve venüllerden oluşur. Bu uzanma sinirin trasesi boyunca devam eder [25].

Ekstrinsik sistemden köken alan venler genellikle arterlere eşlik ederler. Doku içinde bulunan bu arter ve venler kıvrımlı bir yol izlerler. Bu özellik, damarlara sinirin gerilmesi esnasında hareket kolaylığı sağlar [35]. Epineurium'daki intranöral damarlar sempatik sinir sistemi tarafından innerve edilir ve buradaki sinir lifleri besleyici damarlara yakın seyrederek [15, 36].

İntrinsik intranöral damar sistemi, ekstrinsik besleyici damarların sinir içerisine girdiği noktadan başlar. Bu dallar, epineurium içinde longitudinal olarak uzanarak; geniş damar ağlarını oluştururlar. Bu damarlarda, kan akımı predominant paterne sahip değildir (ters yönde kan akımlarının aynı damarın farklı noktalarında aynı anda oluşabileceği bildirilmiştir) [37]. Anastomozlar, çoğunlukla arteriol-arteriol, venül-venül, ve arteriol- venül arasında bulunur. Epineurium'daki damarsal ağın, kan ihtiyacına göre geniş hacimdeki kanı yeniden yönlendirebileceği ve böylece yüksek adaptasyon kapasitesine sahip bir sistem olduğu bildirilmiştir [37]. Benzer organizasyon, perinöral damarlarda da vardır. Endoneurium'un primer kapiller pleksusu ve birbirleri ile çeşitli anastomozlar yapan pekçok longitudinal damar vardır. Bu birleştirici damarlar, sinir içerisinde oblik seyir izlerler ve perinöral bağ dokusunun bir kısmını da üzerlerinde taşırlar [27].

2.4. Periferik Sinir Yaralanmaları

Periferik sinirler mekanik, termal, iskemik, ışınal, elektriksel, kimyasal etkenler ve birçok nedenden dolayı hasara uğrayabilirler [27, 32]. Ancak sinir yaralanmalarının en yaygın sebebi travmatik yaralanmalardır [38]. Periferik sinir yaralanmaları sonucu ilgili vücut segmentinde motor, duyu ve otonomik fonksiyonlarda kısmi veya tam kayıp gerçekleşir [39]. Periferik sinir yaralanmaları ile ilgili olan çalışmalarda en çok tercih edilen sinir, siyatik sinirdir [40-41].

Periferik sinirler, konnektif doku elemanları tarafından sarıldıkları için elastiktir, fakat sinire uygulanan gerilme kuvveti, sinirin gerilme kapasitesinin üstüne çıkarsa, yaralanma gerçekleşir. Bu durum kısmi yaralanma olabildiği gibi ve sinirin devamlılığının tamamen kaybolması şeklinde de olabilir. Genellikle gerilme tipi yaralanmalar, sinirle kemiğin yakın olduğu yerlerde görülür. Travmatik yaralanmaların diğer bir yaygın tipi de sinirde kesilme ile ortaya çıkan yaralanmalardır [4, 38]. Bu tip yaralanmalar, kolay oluşturulabildiğinden, araştırmalarda yaygın olarak kullanılan bir modeldir. Travmatik yaralanmalar içerisinde değerlendirilen diğer bir yaralanma türü ise ezilme tipi yaralanmalardır. Bu tip yaralanmalarda motor ve duyu fonksiyonlarının total kaybı oluşabilmektedir. Ezilme tipi yaralanmalarda, iskeminin ve mekanik ezilmenin birincil etken olabileceği kabul edilmektedir. Yapılan çalışmalar, kısa süreli ezilme tipi yaralanmalarda, iskeminin fizyolojik iletim bloğuna neden olduğunu göstermiştir. Bunun yanında, büyük çaplı myelinli liflerin, küçük çaplı myelinli liflere

oranla daha fazla iskemik etkiye uğradığı gösterilmiştir. Kısa süreli iskemide, histolojik değişiklikler genellikle geri dönüşümlüdür. Şiddetli iskemide, genellikle fonksiyonun kaybolabileceği ve tam bir iyileşmenin olmayabileceği kabul edilmektedir [4, 11, 38].

2.5. Periferik Sinir Yaralanmalarının Sınıflandırılması

Periferik sinir yaralanması ile ilgili günümüzde iki farklı sınıflama yaygın kullanılmaktadır.

2.5.1. Seddon Sınıflaması

Sir Herbert Seddon, periferik sinir yaralanmalarını şiddetine göre neurapraxia, axonotmesis ve neurotmesis olmak üzere 3 sınıfa ayırmıştır [27].

Neurapraxia: Sinir devamlılığının kaybolmadığı (aksonal devamlılık ile birlikte) ancak geçici bir ileti bloğunun olduğu en hafif dereceli sinir yaralanmasıdır. Neurapraxia’da, myelin yapısında bazı değişiklikler olmasına rağmen, oluşan geçici ileti bloğunun yaralanma bölgesindeki lokal bir iyon-aracılı iletim bloğundan dolayı olduğu düşünülmektedir. Bu yaralanmalar genellikle geri dönüşümlüdür. Tam bir iyileşme günler ve haftalar içerisinde olmaktadır.

Axonotmesis: Çevre bağ dokunun korunduğu fakat akson ve myelin kılıfın tamamen kesilmesiyle aksonal devamlılık kaybı durumudur. Wallerian dejenerasyonun olduğu, nöropraksiye göre daha şiddetli derecede periferik sinir hasarıdır. Rejenerasyon sağlam proksimal sinir ucundan başlar ve yaklaşık olarak 1mm/gün hızında distale doğru ilerler. Aksonotmetik yaralanmalarda iyileşme, genellikle ay ve/veya aylar içerisinde olmaktadır. Aksonotmesiste, epineurium ve perineurium genellikle korunmuştur.

Neurotmesis: Sinirin akson, myelin ve konnektif dokusunun parçalanması ile karakterize en şiddetli periferik sinir yaralanmasıdır. Bu nedenle rejenerasyon aracılığıyla iyileşme gerçekleşmez. Çevre bağ dokunun kılıfının da tamamen zarar gördüğü akson devamlılık kaybı olan durumudur. Bu tip yaralanmalarda aksonda yeniden büyümeyi yönlendirecek yapılar kaybolur ve skar oluşur. Aksonal rejenerasyonda sinirin devamlılığını yeniden sağlamak için skar dokusunun cerrahi olarak kaldırılması gereklidir [42].

2.5.2. Sunderland Sınıflaması

Sir Sidney Sunderland tarafından bu sınıflamada periferik sinir yaralanmaları sinirin anatomik katmanlarını içeren 5 derecede değerlendirilmiştir.

1. Derece Yaralanma: Seddon’un sınıflamasındaki neurapraxia’ya eşdeğerdir. Sinir dokusunun bütünlüğü devam etmekle birlikte lokalize ileti bloğu vardır. Segmental demyelizasyon oluşmuştur. Motor fonksiyonlarda daha fazla olmak üzere duyu ve motor kayıp gözlenir. 6-8 hafta içinde aksonal iletim tam olarak düzelir.

2. Derece Yaralanma: Bu yaralanma derecesinde sinir kılıf yapıları sağlam; ancak aksonal yaralanma olmuştur. Yaralanmanın distal bölümünde Wallerian dejenerasyon görülür. İyileşme süresi 1.derece yaralanmaya oranla daha uzun süre alır.

3. Derece Yaralanma: Endonöral tabakada aksonal yaralanma vardır. Yaralanmanın distal bölümünde yine Wallerian dejenerasyonu görülür. Endoneurium'da fibrozis gözlenir bu nedenle yeni sinir liflerinin ilerlemesi engellenebilir. Bu nedenle bu yaralanma tipinde tam iyileşme olmayabilir.

4. Derece Yaralanma: Epineurium haricinde endonöral tabaka ve perinöral tabakada aksonal yaralanma vardır. Skar dokusu oluşumu giderek artan düzeylerde dir. Sunderland tarafından tanımlanan bu sınıflandırmada 2., 3. ve 4. derece yaralanma Seddon'un sınıflamasındaki axonotmesis'e eşdeğerdir.

5. Derece Yaralanma: Epinöral kılıfta dahil sinir tam kesisi vardır. Epinöral devamlılık bozulmuştur ve cerrahi olarak onarılmalıdır. Seddon'un sınıflamasındaki neurotmesis'e eşdeğerdir.

2.6. Homeostasis

Su, besinlerin oksidatif metabolizması sırasında oluşan son üründür. Pek çok metabolik tepkimede hem reaktan hem de ürün olarak görev yapar. Enzimlerin aktif bölgesi suyun reaktan ve ya ürün olmasına bağlı olarak suyu yapısına kabul eder veya dışlar. Homeostazın devam ettirilmesi için suyun vücut bölümleri arasında dağılımı, pH dengesi, elektrolit konsantrasyonları sıkı bir şekilde denetlenmektedir. Su, plazma membranını basit difüzyon ile geçebilir. Ancak suyun hızlı ve yoğun geçişi, bu iş için özelleşmiş kanallar yardımıyla olmaktadır [43].

2.7. Kan Sinir Bariyeri

Kan-sinir bariyeri, kan içerisinde bulunan bazı maddelerin geçişine izin verir. Epinöral kan damarlarında proteinler damar duvarından kolayca geçerler. Endonöral damarlarda ise endotel boyunca protein geçişi ya çok azdır ya da hiç yoktur [27, 44].

Kan-sinir bariyerinin kan içeriğine karşı seçici geçirgenliği endonöriyal mikroçevreyi potansiyel zararlı plazma içeriğinden ve Schwann hücresi ve akson fonksiyonlarını olumsuz yönde etkileyecek plazma eriyik konsantrasyonun hızlı dalgalanmalarından korur. Endonöriyal boşluğun lenfatik drenajının olmaması da kan-sinir bariyerinin önemini daha da artırmaktadır [28].

Endonöriyal sıvı kompozisyonu ve bu sıvının fiziksel özellikleri kan-sinir bariyerinin ve endonöronal hücresel elementlerin içerisinde bulunan homeostatik mekanizmalar tarafından ayarlanır [45-46]. Kan-sinir bariyerinin bu önemine rağmen gelişimi, yapısının korunması ve bozulması hakkında çok az şey bilinmektedir. Dolayısıyla, araştırmacıların kan-sinir bariyeri ile ilgili bozukluklara çözüm bulmaları kritik öneme sahiptir [47].

Sinir kesisi, ezisi veya farklı tür yaralanmalar sonrası myelinli veya myelinsiz sinir lifleri lezyon bölgesinin distalinde Wallerian dejenerasyonu adı verilen bir sürece girerler [48-51]. Hasar sonrası ilk önce akson ve myelin kılıflar kollabe olur, myelin degrade ve Schwann hücreleri de diferansiye ve polifere olurlar [52-54]. Ardından eğer koşullar müsaade ederse akson rejenerasyonu ve Schwann hücrelerine temasla da remyelinizasyon gerçekleşir [55-57]. Kan-sinir bariyerinin Wallerian dejenerasyonu sırasında yıkıldığı görüşüne karşı, yıkılmak yerine sadece geçirgenliğinin iki kat arttığı iddia edilmektedir [46, 58]. Dejenere olan sinirlerin perineurium'unda lipid damlacıkları

v.b. rezidü materyallerin bulunmasına rağmen, perinöronal hücrelerin parçalandığına dair delil yoktur [59-60]. Dolayısıyla alternatif ve daha akla yatkın yorum dinamik endonöral hemostatik cevabın bir parçası olan perinöronal geçirgenlikte bimodal artıştır [61].

2.8. Aquaporinler

Aquaporinler, membran su kanal proteinlerinin bir ailesidir [62]. Membran proteinleri, bitki, hayvan ve daha alt mikro-organizmaların yapısında bulunurlar [63]. Çeşitli memeli organlarının belirli hücre tiplerinde ekspre oldukları bildirilmiştir [64].

Aquaporinler, altı transmembran bölgesi ve intraselüler NH₂- ve COOH- uçları olan ortak bir yapıya sahiptirler [62]. Memeli aquaporin ailesi sıfırdan 12'ye kadar her biri ayrı dokuda bulunan 13 üyeden oluşur [65]. Aquaporin ailesi, üç tipe ayrılarak incelenirler: Aquaporinler (suya geçirgen), aquagliseroporinler (hem suya hem gliserole geçirgenler), süperaquaporinler [65] (**Tablo 2.8**).

Tablo 2.8. Aquaporin ailesinin üyeleri

Aquaporinler	Aquagliseroporinler	Süperaquaporinler
AQP0	AQP3	AQP11
AQP1	AQP6	AQP12
AQP2	AQP7	
AQP4	AQP9	
AQP5	AQP10	
AQP8		

2.8.1. Aquaporin 1 (AQP1)

AQP 1 ilk olarak insan eritrosit hücrelerinde 28-kDa'lık integral membran proteini olarak saptanmış [66] ve CHIP28 olarak adlandırılmıştır [67]. *Xenopus* oocytesde CHIP28'in ekspresyonuyla Preston ve arkadaşları [68] CHIP28'in bir su kanal proteini olduğunu göstermişlerdir. CHIP28 daha sonra Agre ve arkadaşları tarafından AQP1 olarak adlandırılmıştır. AQP1 birçok organda eksprese olan bir moleküldür [69]. Böbrekte proksimal tübül ve inen Henle kulpunda ve vasa rectada [70] bulunur ve su reabsorbsiyonunda görev alır. Kapiler endotelinde de eksprese olur ve basiler ve bazolateral memranda lokalizedir. Kapiler membranından transselüler su geçişini kontrol eder [71].

AQP1'in merkezi sinir sistemindeki yeri ve homeostasis'teki önemi yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir [18-19]. Ayrıca insan siyatik sinir biyopsi örneklerinde AQP1'in varlığı gösterilmesine rağmen periferik sinir sistemindeki ekspresyonu yeteri kadar çalışılmamıştır [20]. Matsuzaki ve arkadaşlarının rat siyatik sinirinde kan sinir bariyerinden su geçişini aydınlatmak için yaptıkları çalışmalarında AQP1'in kan sinir bariyeri hücrelerinde ve perikondriumda yer aldığı da belirlenmiştir [16]. Bu çalışmada AQP1'in epinöral kılıfın sadece dış tabakalarında lokalize olduğu, bunun yanı sıra sinir içerisinde yer alan damarlarda da yer aldığı gösterilmiştir. Fare periferik sinirinde ise AQP1'in lokalizasyonunu konusunda literatür taramalarımız sadece bir çalışmayı işaret etmiştir. Oshio ve arkadaşları [17] dorsal kök ganglionları, trigeminal sinirin kaudal nükleusunda ve medulla spinalis'te AQP1 ekspresyonunu göstermişlerdir.

Santral sinir sistemi dokularında çeşitli patolojik durumlarda AQP ekspresyonu literatürde rapor edilmiş olmasına [19, 47, 62, 72] karşın; periferik sinir sisteminde AQP1 ekspresyonu az sayıda çalışmada bildirilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Denekler

Çalışmamızda 30 adet erişkin (20-40 gr) *Mus musculus* türü Balb/C fare kullanıldı (Tablo 3.2). Tüm denekler 12 saat gece, 12 saat gündüz siklusunda ve her kafeste 5 denek olacak şekilde sınırsız yem ve su ile beslendi. Tüm prosedürler Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Bakım ve Kullanım Kuruluna sunulurken gerekli izinler alındı (24.07.2012 tarih B.30.2AKD.0.05.07.00/200 sayılı yazı).

3.2. Deney Grupları

Çalışmamızda kullanılacak olan denekler aşağıdaki tabloda belirtildiği şekilde sınıflandı.

Tablo 3.2. Deney grupları

Grup Adı	Denek sayısı	Alt grup
Grup 1 (Kontrol)	6	
Grup 2 (Sham)	6	
Grup 3 (Kesi)	18	Postop 2. saat (n:6) Postop 24. saat (n:6) Postop 48. saat (n:6)

3.3. Cerrahi İşlemler

Cerrahi işlem öncesinde denegin, 15 mg/kg Xylazin HCl (Rompun®) ve 100 mg/kg Ketamin'in (Ketalar®) intraperitoneal enjeksiyonu sonrası yeterli anestezisi sağlandı. Daha sonra sol uyluk bölgesi yeterli oranda traşlanarak, flaster yardımıyla sol arka ekstremit ve kuyruk sabitlenerek uyluğun arka-yan kısmında longitudinal bir kesi uygulandı. Mikromakas ve penset yardımıyla gluteal kaslar ve biceps femoris kası arasından girilerek sol siyatik sinire ulaşıldı. Daha sonra uyluk ortasındaki bir seviyede cerrahi mikroskop altında siyatik sinir kesisi (Grup 3) gerçekleştirildi. Siyatik sinir kesisi yapılmış olan denekler, sinir kesisinin uygulanmasından hemen sonra sinir uçları 10.0 dikiş materyali ile koapte edildi (Şekil 3.3).

Cerrahi işlem sonrasında cilt derisi 4.0 dikiş materyali ile kapatıldı ve antiseptik solüsyon ile kesi bölgesi silindi. Cerrahi operasyon sonrası ağrının dindirilmesi amacıyla Tramadol HCl (Contramal®) uygulandı. Denekler her kafeste 5 adet olacak şekilde postoperatif bakım odasında sınırsız yem ve su verilerek iyileşmeye bırakıldı. Cerrahi işlemin uygulandığı an postoperatif dönemin başlangıcı olarak değerlendirildi.



Şekil 3.3 Siyatik sinir kesisi. **A:** Operasyon öncesi sinir görünümü, **B:** Sinir kesisi, **C:** Sinirin ucu-ucu tamiri

3.4. Deneklerin Sakrifikasyonu

Tablo 3.2’de tarif edilen postoperatif bakım süresi sonunda denekler transkardiyal perfüzyon ve fiksasyon yöntemiyle sakrifiye edildi. Bu amaçla perfüzyon solüsyonu olarak 0.1 M fosfat tamponu (pH: 7.4), fiksasyon solüsyonu olarak da 0.1 M fosfat tamponu içerisinde hazırlanan %4’lük paraformaldehit solüsyonu kullanıldı.

Transkardiyal perfüzyon ve fiksasyon işlemi için torakotomi sonrası kalbin apeksinden bir bronül ile girilerek perfüzyonu sağlandı. Daha sonra aynı yolla fiksatif solüsyonu verilerek fiksasyon işlemi yapıldı.

3.5. Doku Eldesi

Fiksasyon işlemi sonrasında siyatik sinirin proksimal, lezyon alanı ve distal bölümü cerrahi mikroskop altında çıkarıldı ve 0.1 M fosfat tamponu (pH:7.4) içerisinde hazırlanan %4’lük paraformaldehit solüsyonunda ve +4C° olacak şekilde bir gece saklandı. Daha sonra %30’luk sukroz solüsyonu içerisine alınan örnekler bu solüsyonda üç gün bekletildi. Bu sürenin sonunda sakaroza doyan sinir örneklerinin, bulundukları doku takip kaplarının dibine indikleri gözlemlendi. Daha sonra sinir örnekleri kriyomatriks içerisine gömülerek 7 µm kalınlığında olacak şekilde kriyostatta (Leica 1005, Oberkochen, Almanya) kesildi. Tüm doku kesitleri ortam ısısına maruz kalmayacak şekilde -80C° derin dondurucuda immünfloresan analiz gününe kadar saklandı.

3.6. İmmünfloresan Analiz

Kriyostatta kesilen 7 µm kalınlığındaki proksimal, distal ve lezyon alanından elde edilen siyatik sinir kesitleri immünfloresan boyama için -80 C°’den çıkartılarak 2 saat oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Bu süre sonunda dokular pappen ile işaretlenerek boyanacak alanlar sınırlandırıldı. Bunu takiben dokular 3 kez 5’er dakika PBS’te (Phosphate Buffer Saline, 0.1M Ph 7,4) yıkandı. Yıkama işlemi sonrası dokular %5’lik hazırlanan normal keçi serumu (NGS, Normal Goat Serum Blocking solution, S-1000, Vector Laboratories, Inc. United Kingdom) ile 45 dakika süresince blokladı. Bloklama işlemi sonunda dokular yıkama işlemi yapılmadan 1:100 oranında hazırlanan primer antikora (AQP1 Rabbit Polyclonal antibody, H-55, Santa Cruz Biotechnology, Inc. Heidelberg, Germany) alındı ve +4 C°’de gece boyu bekletildi. Gece boyu bekleyen dokular oda ısısına alınarak 3 kez 5’er dakika PBS’te (Phosphate Buffer Saline, 0.1M Ph 7,4) yıkandı ve sekonder antikor ile inkübasyon aşamasına geçildi. Bu işlem için 1:500 oranında sekonder antikor (Goat Polyclonal Secondary Antibody to Rabbit IgG H&L Texas Red, Ab6719, Istanbul, TURKEY) hazırlandı. Bu antikor floresan ışıklı olduğu için bu işlem karanlıkta ve oda ısısında 45 dakika süresince bekletildi. Sekonder antikor ile inkübasyon aşamasından sonra dokular tekrar yıkamaya

alındı. 3 kez 5'er dakika PBS ile yıkama işlemi karanlıkta gerçekleştirildi. Yıkama sonrası immünfloresan uygulamasını sonlandırmak için dokuların üzerine birer damla kapatma solusyonu (Vectashield Mounting Medium For Fluorescence, H-1000, Vector Laboratories, Inc. United Kingdom) damlatılarak üzerleri lamel ile kapatıldı. Boyama sonrası slaytlar floresan mikroskobunda incelendi.

3.7. Floresan Yoğunluğunun Kantitatif Analizi

İmmünfloresan analiz sonrası sinir örnekleri floresan mikroskop altında ve uygun filtreler yardımıyla incelendi. Sinirin proksimalinde, lezyon alanında ve distalindeki floresan yoğunluğu floresan mikroskoba (Leica DM4000, Oberkochen, Almanya) bağlı bulunan bir dijital kamera (Leica DFC 345FX, Oberkochen, Almanya) yardımıyla TIFF formatında bilgisayar ortamına kaydedildi. Bu resimler daha sonra ImagePro Plus adlı yazılım yardımıyla 0-256 renklilik gri skaladaki renk histogram analizleri elde edildi. Bu renk skalasında ışımanın olduğu 100 birimlik alan analize dahil edildi.

3.8. Veri Analizi

Floresan yoğunluğa ait veriler her grup için ortalama ve standart sapma olarak hesaplandı. Gruplar arasındaki istatistiksel analiz Kruskal Wallis testi ile analiz edildi. Gruplar arasındaki fark ise posthoc test Dunnet testi ile analiz edildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi 0.05 olarak belirlendi.

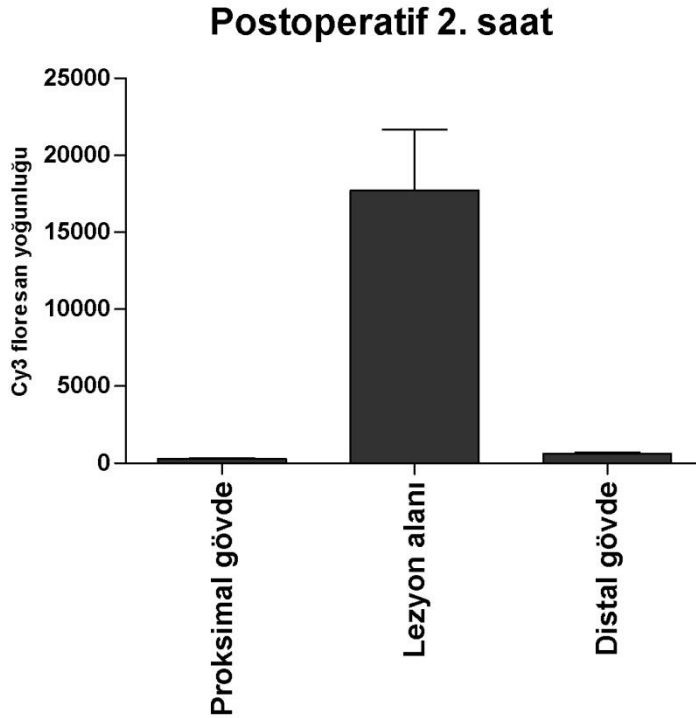
BULGULAR

4.1. Kontrol ve Sham Gruplarındaki AQP1 Ekspresyonu

AQP1 ekspresyonu bu gruplarda siyatik sinir kesisi ve tamiri gerçekleştirilen gruplara oranla çok daha fazla oranda bir ekspresyon gözlemlendi. Kontrol grubunda 139.7 ± 15.1 Cy3 floresans yoğunluğu gözlenirken Sham grubunda ise 147.8 ± 17.7 Cy3 floresans yoğunluğu tespit edildi. Sinir kesisi uygulanan grup ve alt gruplar ile kontrol ve sham grupları karşılaştırıldığında sinir kesisi uygulanan alt grupların her biri kontrol ve sham grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bir fark olduğu tespit edildi.

4.2. Postoperatif 2. Saatteki AQP1 Ekspresyonu

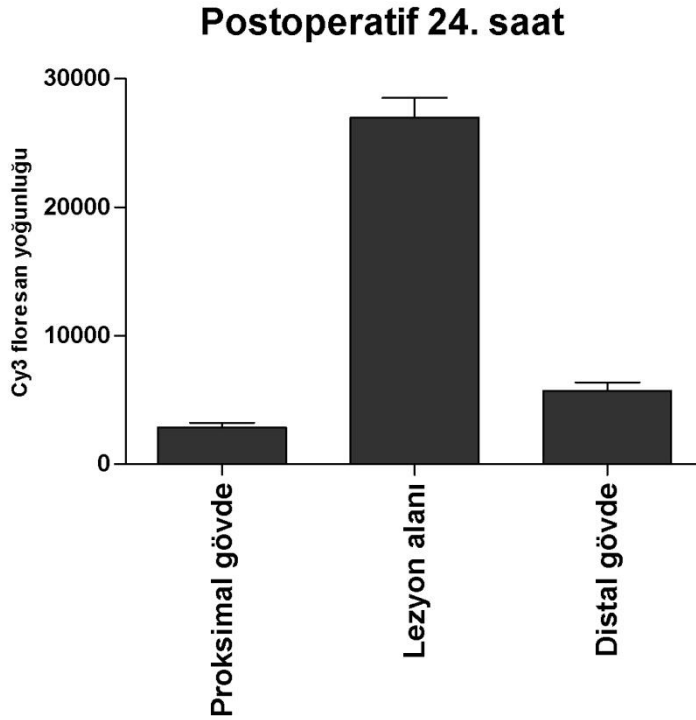
Postoperatif 2. saatteki AQP1 ekspresyonu, proksimal gövdede 273.6 ± 177.3 , lezyon alanında 17720 ± 8862 , distal gövdede ise 636.8 ± 198.4 Cy3 floresans yoğunluğuna sahip olduğu tespit edildi (Şekil 4.2). Sham grubu ile karşılaştırıldığında sinir alanlarının hepsinde görülen AQP1 ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bir fark tespit edildi. Sinir alanlarının her biri kendi aralarında karşılaştırıldığında ise her bir sinir alanı çifti (proksimal-distal, proksimal-lezyon alanı, distal-lezyon alanı) arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) düzeyde fark olduğu olduğu tespit edildi.



Şekil 4.2. Postoperatif 2. saatte AQP1 ekspresyonu.

4.3. Postoperatif 24. Saatteki AQP1 Ekspresyonu

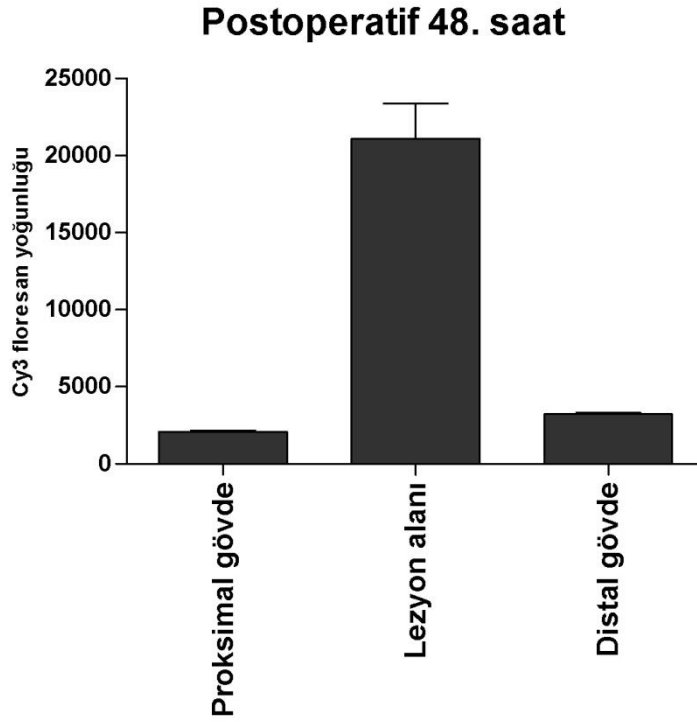
Postoperatif 24. saatteki AQP1 ekspresyonu, proksimal gövdede 2851 ± 883.6 , lezyon alanında 26957 ± 3726 , distal gövdede ise 5723 ± 1574 Cy3 floresans yoğunluğuna sahip olduğu tespit edildi (Şekil 4.3). Sham grubu ile karşılaştırıldığında sinir alanlarının hepsinde görülen AQP1 ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bir fark tespit edildi. Sinir alanlarının her biri kendi aralarında karşılaştırıldığında ise her bir sinir alanı çifti (proksimal-distal, proksimal-lezyon alanı, distal-lezyon alanı) arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) düzeyde fark olduğu olduğu tespit edildi.



Şekil 4.3. Postoperatif 24. saatte AQP1 ekspresyonu

4.4. Postoperatif 48. Saatteki AQP1 Ekspresyonu

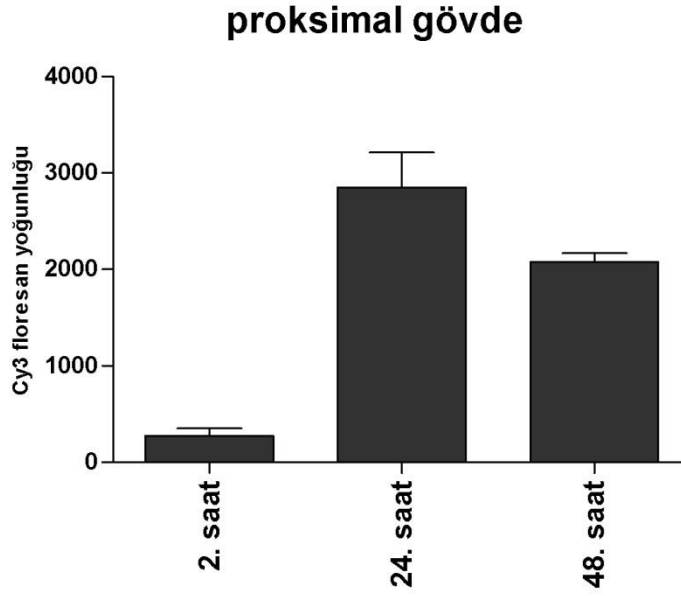
Postoperatif 48. saatteki AQP1 ekspresyonu, proksimal gövdede 2079 ± 216.2 , lezyon alanında 21088 ± 5644 , distal gövdede ise 3217 ± 259.2 Cy3 floresans yoğunluğuna sahip olduğu tespit edildi (Şekil 4.4). Sham grubu ile karşılaştırıldığında sinir alanlarının hepsinde görülen AQP1 ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bir fark tespit edildi. Sinir alanlarının her biri kendi aralarında karşılaştırıldığında ise her bir sinir alanı çifti (proksimal-distal, proksimal-lezyon alanı, distal-lezyon alanı) arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) düzeyde fark olduğu tespit edildi.



Şekil 4.4. Postoperatif 48. saatte AQP1 ekspresyonu

4.5. Siyatik Sinirin Proksimal Gövdesindeki AQP1 Ekspresyonu

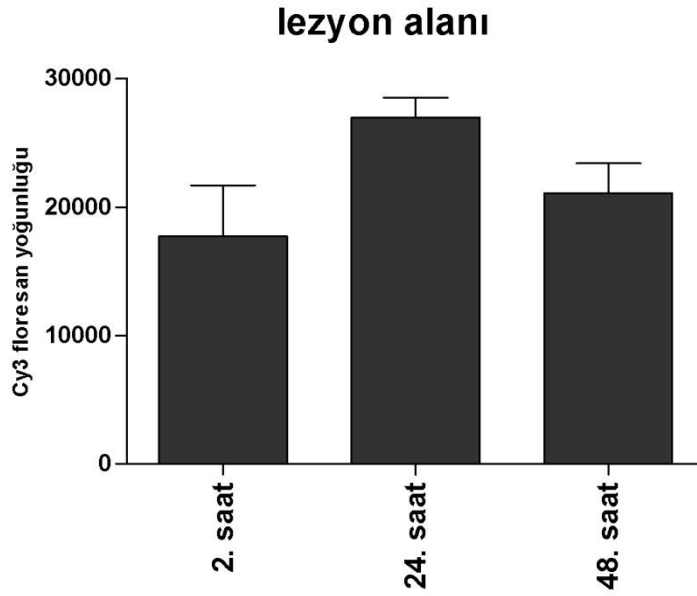
Siyatik sinir dokularında lezyon alanının proksimalindeki AQP1 ekspresyonu sinir hasarının gerçekleştiği andan 2. saat sonra sakrifiye edilen deneklerde 273.6 ± 177.3 , 24. saatte 26957 ± 3726 , 48. saatte ise 2079 ± 216.2 Cy3 floresans yoğunluğu tespit edildi. 2. Saat ile 24. saat arasında 10.4 katlık bir AQP1 ekspresyon miktarında artışı gözlemlendi. 48. saate gelindiğinde ise 2. saatte gözlenen AQP1 ekspresyon miktarından 7.5 katlık bir yoğunluk olduğu gözlemlendi (**Şekil 4.5, 4.7.2**). Sham grubu ile karşılaştırıldığında postoperatif saatlerdeki AQP1 ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bir fark tespit edildi. 24. ve 48. postoperatif saatlerdeki AQP1 ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı fark olmadığı ($p > 0.05$) tespit edildi. Buna karşın 2.-24. ve 2.-48. postoperatif saatlerdeki AQP1 ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) düzeyde fark olduğu tespit edildi.



Şekil 4.5. Siyatik sinirin proksimal gövdesindeki AQP1 ekspresyonunun zamana bağlı değişimi

4.6. Siyatik Sinirin Lezyon Alanındaki AQP1 Ekspresyonu

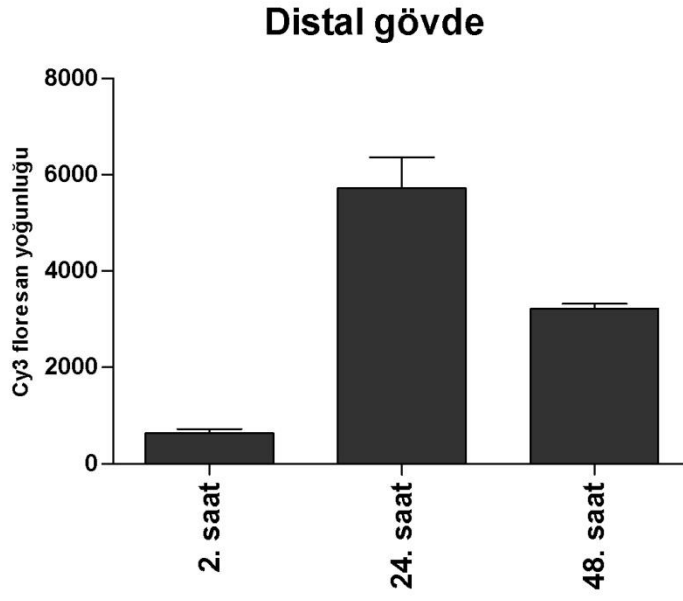
Siyatik sinir dokularında lezyon alanındaki AQP1 ekspresyonu sinir hasarının gerçekleştiği andan 2. saat sonra sakrifiye edilen deneklerde 17720 ± 8862 , 24. saatte 26957 ± 3726 , 48. saatte ise 21088 ± 5644 Cy3 floresans yoğunluğu tespit edildi. 2. saat ile 24. saat arasında yaklaşık 1.5 katlık bir AQP1 ekspresyon miktarında artışı gözlemlendi. 48. saate gelindiğinde ise 2. saatte gözlenen AQP1 ekspresyon miktarından yaklaşık 1.2 katlık bir yoğunluk olduğu gözlemlendi (Şekil 4.6,4.7.2). Sham grubu ile karşılaştırıldığında postoperatif saatlerdeki AQP1 ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bir fark tespit edildi. Postoperatif saatlerdeki AQP1 ekspresyon düzeyleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı ($p > 0.05$) tespit edildi.



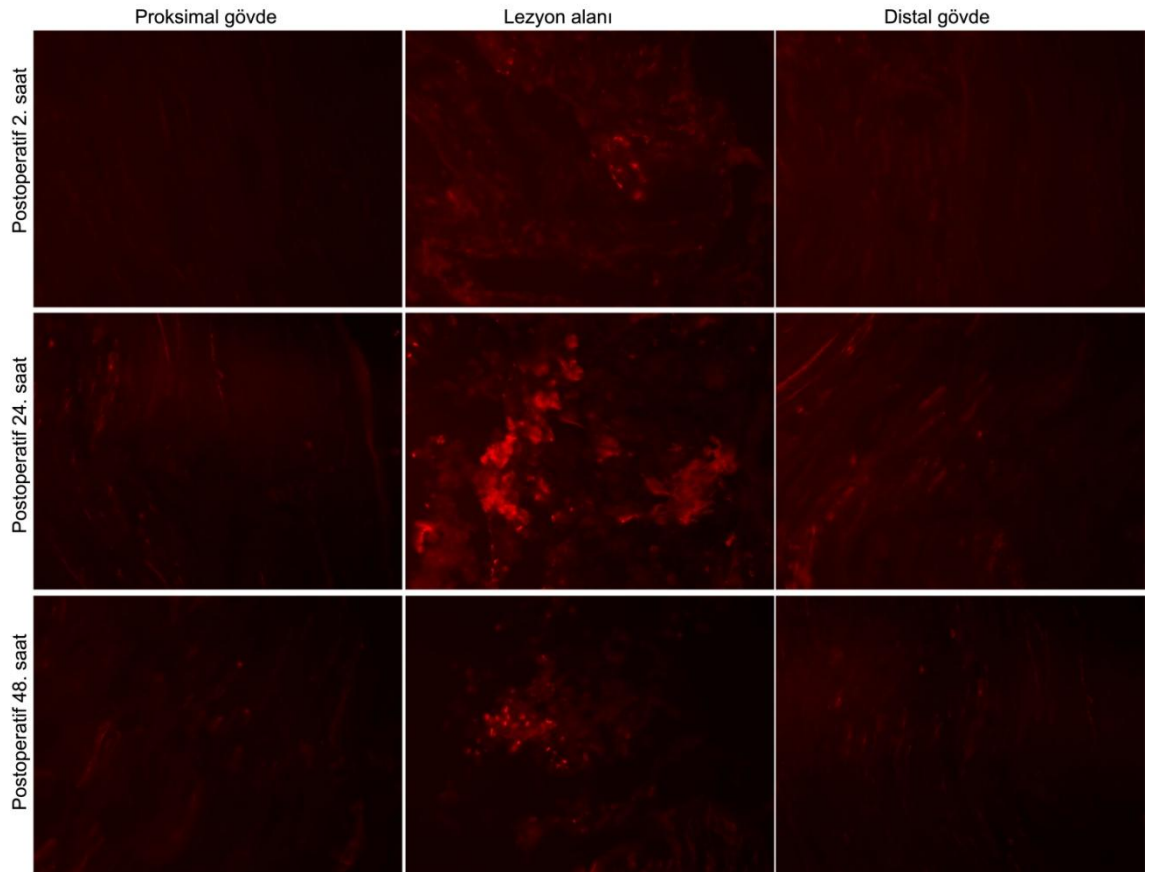
Şekil 4.6. Siyatik sinirin lezyon alanındaki AQP1 ekspresyonunun zamana bağlı değişimi

4.7. Siyatik Sinirin Distal Gövdesindeki AQP1 Ekspresyonu

Siyatik sinir dokularında lezyon alanının distalindeki AQP1 ekspresyonu sinir hasarının gerçekleştiği andan 2. saat sonra sakrifiye edilen deneklerde 636.8 ± 198.4 , 24. saatte 5723 ± 1574 , 48. saatte ise 3217 ± 259 Cy3 floresans yoğunluğu tespit edildi. 2. Saat ile 24. saat arasında yaklaşık 9 katlık bir AQP1 ekspresyon miktarında artışı gözlemlendi. 48. saate gelindiğinde ise 2. saatte gözlenen AQP1 ekspresyon miktarından yaklaşık 5 katlık bir yoğunluk olduğu gözlemlendi (**Şekil 4.7,4.7.2**). Sham grubu ile karşılaştırıldığında postoperatif saatlerdeki AQP1 ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bir fark tespit edildi. Postoperatif saatlerdeki AQP1 ekspresyon düzeyleri arasında ise her bir postoperatif saat çiftinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu ($p < 0.05$) tespit edildi.



Şekil 4.7.1. Siyatik sinirin proksimal gövdesindeki AQP1 ekspresyonunun zamana bağlı değişimi



Şekil 4.7.2. AQP1 ekspresyonunun zamana ve sinir bölgesine göre değişiminin görünümü

TARTIŞMA

Su kanal proteinleri olan aquaporinler ilk kez Agre ve arkadaşları tarafından eritrositler üzerinde yapılan çalışmalar sırasında tanımlanmıştır. İlk tanımlanan aquaporin 28 kDA ağırlığında olup Channel-forming Integral Protein (CHIP28) olarak adlandırılmıştır. Daha sonra bu aquaporin üyesi Aquaporin1 (AQP1) olarak isimlendirilmiştir. Aquaporin 1'in keşfinden sonra bu aileye ait aquaporinlerin yalnız suya geçirgen olmadığı; bunun yanı sıra hem su hem de gliserole seçici geçirgen olan memeli aquaporinlerin varlığı da tanımlanmıştır [62, 64, 72-73].

Bugüne kadar 13 memeli aquaporin tespit edilmiştir [74]. AQP1, eritrositlerde, renal proksimal tübüllerinde, kapiller endotel gibi dokularda eksprese edilen bir su kanal proteindir [68, 71-73]. AQP1'in merkezi sinir sistemindeki yeri ve homeostasis'teki önemi yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir [18-19].

Aquaporinlerin fonksiyonu ve ekspresyonu üzerine yapılan çalışmalarda pek çok dokunun çalışılmış olmasına karşın sinir sistemindeki aquaporin lokalizasyonu ve ekspresyon düzeyleri pek çok çalışmaya konu olmuştur. Aquaporinlerin (AQP1, AQP3, AQP4, AQP5, AQP8, AQP9) beyin ve omurilikte lokalizasyonunu bildirilmiştir [75]. Buna karşın, periferik sinir sisteminde aquaporinlerin fonksiyonu ve ekspresyonu az sayıda çalışmaya konu olmuştur [16, 17, 76-78]. Matsumoto ve ark. [79] trigeminal gangliondaki ganglion hücrelerinde AQP1 mRNA ekspresyonunu göstererek bu ganglion hücrelerinde AQP1 varlığını göstermiştir. Bunun yanı sıra dorsal kök ganglionundaki ganglion hücrelerinde, enterik sinir hücrelerinde [76], periodontal dokudaki Ruffini reseptörlerinde [80], vomeronazal organdaki duyu nöronlarında AQP1 ekspresyonu gösterilmiştir.

AQP1'in beyin omurilik sıvısının oluşumunda da önemli bir rol oynadığı rapor edilmiştir [71]. AQP1'in çeşitli süreçlerdeki rolünün anlaşılması amacıyla AQP1'den yoksun (AQP1^{-/-}) fareler üzerinde yapılan çalışmalarda AQP1'den yoksun olunan durumda beyin omurilik sıvısının üretiminin ve plexus choroideus'taki osmotik su geçirgenliğinin azaldığı [81], kafa içi basıncının azaldığı da gösterilmiştir [82]. AQP1'den yoksun (AQP1^{-/-}) fareler üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise Oshio ve ark. [17] fare dorsal kök ve trigeminal ganglionların nosiseptörlerinde lokalizasyonlarını göstermişler ve bu kanal proteinlerinin ağrı iletiminde rol aldığı bildirmişlerdir.

Santral sinir sistemi dokularında çeşitli patolojik durumlarda AQP1 ekspresyonu literatürde rapor edilmiş olmasına [19, 47, 62, 72] karşın; periferik sinir sisteminde AQP1 ekspresyonu az sayıda çalışmada gösterilmiştir. Gao ve ark. [76] ise 2006'da enterik sinir sisteminde AQP1 ekspresyonunu rapor etmiştir. Nandasena ve ark. [80] ise trigeminal ganglion ve sıçan ön dişlerinin periodontium'undaki Ruffini reseptörlerinde AQP1'in immüno-lokalizasyonunu bildirmiştir. AQP1'in fare retinasındaki amakrin

hücrelerinde [83] ve enterik sisteminin Dogiel tip 1 nöronlarında eksprese edildiği bildirilmiştir [84].

Bunun yanında periferik sinir hasarı sonrası AQP1 ekspresyonu üzerine de çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda siyatik sinir kesisine uğratılmış fare modeli kullanılmıştır. Kesi sonrası sinirin proksimalinde , kesi yerinde ve distalinde siyatik sinirin beslenmesinde ve su transportunda rol alan AQP1'in, hasarın 2., 24. ve 48. saatlerinde lokalizasyonu ve yoğunluğu araştırılmıştır. Shields ve arkadaşları ganglion nodosum'da bir dizi ganglion hücrelerinde AQP1 immunreaktivitesinin varlığını göstermiştir. Ayrıca nucleus tractus solitarius'ta da immunreaktiviteyi bildirmişlerdir. Bunun yanı sıra, ganglion cervicale superior'da kapiller endotelyum'unda immunreaktivite varlığını göstermelerine karşın ganglion hücrelerinde AQP1 immunreaktivitesi tespit etmemişlerdir [78]. Ayrıca Shields ve ark. [78] AQP1'in myelinsiz aksonlarda yüksek oranda konsantre olduğunu ve myelinli aksonların bir belirteci olan nörofilament 200 ile az oranda örtüştüğünü tespit etmişlerdir. Shield ve ark. siyatik sinir yaralanmalarında medulla spinalis'in arka boynuzunda primer afferent terminallerde AQP1 immunreaktivitesinin değiştiğini ve bu kanal proteininin ağrı süreci için gerekli olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise sinir hasarı sonrası sinirin proksimalinde, lezyon alanında ve distalinde önemli değişiklikler meydana geldiği tespit edildi. Siyatik sinir hasarı sonrası sinirin proksimalindeki, lezyon alanındaki ve distalindeki AQP1 ekspresyonu ile ilgili olan çalışmamızda ilgili bölgelerde AQP1'in lezyon sonrası zamana bağlı değişimleri çalışıldı. Sinir hasarı sonrası en belirgin değişikliğin lezyondan sonraki 24. saatte gerçekleştiği gözlemlendi. Siyatik sinir dokularında lezyon alanındaki AQP1 ekspresyonu sinir hasarının gerçekleştiği andan 2. saat sonra sakrifiye edilen deneklerde 17720 ± 8862 , 24. saatte 26957 ± 3726 , 48. saatte ise 21088 ± 5644 Cy3 floresans yoğunluğu tespit edildi. 2. saat ile 24. saat arasında yaklaşık 1.5 katlık bir AQP1 ekspresyon miktarında artışı gözlemlendi. 48. saate gelindiğinde ise 2. saatte gözlenen AQP1 ekspresyon miktarından yaklaşık 1.2 katlık bir yoğunluk olduğu gözlemlendi. Kontrol grubunda ve Sham gruplarında ise sırasıyla 139.7 ± 15.1 , 147.8 ± 17.7 Cy3 floresans yoğunluğu tespit edildi. Kontrol veya Sham grubuyla karşılaştırıldığında AQP1 ekspresyonunun ne kadar çarpıcı şekilde artmış olduğu dikkat çekicidir.

Sinirin proksimal ve distal gövdelerindeki AQP1 ekspresyonu da zaman içerisinde artma ve azalma göstermiştir. Siyatik sinir dokularında lezyon alanının proksimalindeki AQP1 ekspresyonu sinir hasarının gerçekleştiği andan 2. saat sonra sakrifiye edilen deneklerde 273.6 ± 177.3 , 24. saatte 26957 ± 3726 , 48. saatte ise 2079 ± 216.2 Cy3 floresans yoğunluğu tespit edildi. 2. Saat ile 24. saat arasında 10.4 katlık bir AQP1 ekspresyon miktarında artış gözlemlendi. 48. saate gelindiğinde ise 2. saatte gözlenen AQP1 ekspresyon miktarından 7.5 katlık bir yoğunluk olduğu gözlemlendi. Lezyon alanının distalindeki AQP1 ekspresyonu ise sinir hasarının gerçekleştiği andan 2. saat sonra sakrifiye edilen deneklerde 636.8 ± 198.4 , 24. saatte 5723 ± 1574 , 48. saatte ise 3217 ± 259 Cy3 floresans yoğunluğu tespit edildi. 2. Saat ile 24. saat arasında yaklaşık 9 katlık bir AQP1 ekspresyon miktarında artışı gözlemlendi. 48. saate gelindiğinde ise 2. saatte gözlenen AQP1 ekspresyon miktarından yaklaşık 5 katlık bir yoğunluk olduğu gözlemlendi. Bu değişimler de sinirin proksimalinde ve distalinde su transportunda belirgin bir artışın olduğunu göstermektedir.

Wang ve arkadaşları [85] fasiyal sinir yaralanmasından sonra AQP1 düzeylerinin büyük ölçüde arttığını, fasiyal kanaldaki sinir ödeminin derecesi ile AQP1 ekspresyonunun değişimlerinin büyük ölçüde uyum gösterdiğini bildirmişlerdir. Sinir travması sonrası dokuda konjesyon olduğu ve bu konjesyon ile birlikte sinirin nervi nervorum'unda inflamasyon sonucunda nöropatik ağrı oluşumuna sebebiyet verdiği bildirilmiştir [86-88]. Bu açıdan bakıldığında AQP1'in Oshio ve ark. [17] işaret ettiği bu kanal proteinlerinin ağrı iletiminde rol aldığını hipotezi tarafımızdan dolaylı olarak desteklenmektedir. Postoperatif 48. saatten sonraki süreçte AQP1 ekspresyon düzeyinin araştırılabileceğini düşünmekteyiz. Bu şekilde nöropatik ağrının oluşabilmesi ve ağrı iletimi ile ilgili kantitatif bir analizin gerçekleştirilebilmesi olanaklı olabilecektir.

Siyatik sinir de meydana gelen hasara moleküler düzeyde sitoplazmik yanıtın, sinirin proksimal, distal gövdesinde ve lezyon alanında 24. saatte en üst düzeye çıktığı görülmektedir. Proksimal gövde daha az oranda AQP1 immunreaktivitesi gösterirken, lezyon alanı çok büyük şiddette olmak üzere sinirin distal gövdesinde de sinir travmasını takiben 24. saate kadar AQP1 ekspresyonu artmaktadır. İmmunreaktivite artışı artan ağrı ve bunun iletiminde gerçekleşen artmış sinaptik aktiviteyle ilgili olabileceği kanısındayız.

Siyatik sinirin travmasının erken dönemlerindeki (2-48 saat) AQP1 ekspresyonuna odaklanmış olduğumuz bu çalışmadan elde edilen bulgular doğrultusunda sinirin travmasının geç dönemlerinde de AQP1 ekspresyonun çalışılması gerektiği kanısındayız.

SONUÇLAR

Bu çalışmanın, AQP1'in periferik sinir sisteminde gösterilmesi ve özellikle sinir hasarı sonrası sinirin proksimal gövdesinde, lezyon alanında ve sinirin distal gövdesindeki AQP1 immünoreaktivitesindeki değişikliklerin gösterilmesi açısından önemli bir çalışma olduğu kanısındayız.

Siyatik sinir de meydana gelen hasara moleküler düzeyde sitoplazmik yanıtın, sinirin proksimal gövdesinde, lezyon alanında ve sinirin distal gövdesinde 24. saatte en üst düzeye çıktığı görülmektedir. Proksimal gövde daha az oranda AQP1 immunreaktivitesi gösterirken, lezyon alanı çok büyük şiddette olmak üzere sinirin distal gövdesinde de sinir travmasını takiben 24. saate kadar AQP1 ekspresyonu artmaktadır. İmmunreaktivite artışının, artan ağrı ve bunun iletiminde gerçekleşen artmış sinaptik aktiviteyle ilgili olabileceği kanısındayız.

Nöropatik ağrının anlaşılması açısından bu çalışmanın literatüre katkı sağlayacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Burnett AL, Ricker DD, Chamness SL, et al. (1995) Localization of nitric oxide synthase in the reproductive organs of the male rat. *Biol Reprod.* 52:1-7.
2. Frostick SP, Yin Q, Kemp GJ (1998) Schwann cells, neurotrophic factors, and peripheral nerve regeneration. *Microsurgery.* 18:397-405.
3. Quan D, Bird S (1999) Nerve conduction studies and electromyography in the evaluation of peripheral nerve injuries. *Orthopaedic Journal.* 12:45-51.
4. Robinson LR (2000) Traumatic injury to peripheral nerves. *Muscle Nerve.* 23:863-73.
5. Stoll G, Muller HW (1999) Nerve injury, axonal degeneration and neural regeneration: basic insights. *Brain Pathol.* 9:313-25.
6. Hirata K, Kawabuchi M (2002) Myelin phagocytosis by macrophages and nonmacrophages during Wallerian degeneration. *Microsc Res Tech.* 57:541-7.
7. Jones LL, Oudega M, Bunge MB, Tuszynski MH (2001) Neurotrophic factors, cellular bridges and gene therapy for spinal cord injury. *J Physiol.* 533:83-9.
8. Pagnotta A, Tos P, Fornaro M, Gigante A, Geuna S, Battiston B (2002) Neurotrophins and their receptors in early axonal regeneration along muscle-vein-combined grafts. *Microsurgery.* 22:300-3.
9. Ansselin A, Fink T, Davey D, (1998) An alternative to nerve grafts in peripheral nerve repair: Nerve guides seeded with adult Schwann cells. *Acta Chir Austr.* 147:19-24.
10. Weerasuriya A, Rapoport SI, Taylor RE (1980) Perineurial permeability increases during Wallerian degeneration. *Brain Res.* 192:581-5.
11. Zochodne DW (2000) The microenvironment of injured and regenerating peripheral nerves. *Muscle Nerve Suppl.* 9:S33-8.
12. Erlanger J, Schoepfle GM (1946) A study of nerve degeneration and regeneration. *Am J Physiol.* 147:550-81.
13. Gilliat RW, Hjorth RJ (1972) Nerve conduction during Wallerian degeneration in the baloon. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 35:335-41.

14. Heiss WD, Rosner G (1983) Functional recovery of cortical neurons as related to degree and duration of ischemia. *Ann Neurol.* 14:294-301.
15. Lundborg G (1970) Ischemic nerve injury. Experimental studies on intraneural microvascular pathophysiology and nerve function in a limb subjected to temporary circulatory arrest. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl.* 6:3-113.
16. Matsuzaki T, Ablimit A, Tajika Y, Suzuki T, Aoki T, Hagiwara Hea (2005) Water channel aquaporin 1 (AQP1) is present in the perineurium and perichondrium. *Acta Histochem Cytochem.* 38 (1):37-42.
17. Oshio K, Watanabe H, Yan D, Verkman AS, Manley GT (2006) Impaired pain sensation in mice lacking Aquaporin-1 water channels. *Biochem Biophys Res Commun.* 341:1022-8.
18. Frigeri A, Gropper MA, Turck CW, Verkman AS (1995) Immunolocalization of the mercurial-insensitive water channel and glycerol intrinsic protein in epithelial cell plasma membranes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 92:4328-31.
19. Oshio K, Binder DK, Yang B, Schechter S, Verkman AS, Manley GT (2004) Expression of aquaporin water channels in mouse spinal cord. *Neuroscience.* 127:685-93.
20. Nico B, Ribatti D (2010) Aquaporins in tumor growth and angiogenesis. *Cancer Lett.* 294:135-8.
21. Sadler T (1990) Embryonic period: Third to eight week. In Langman J (ed.): *Langman's medical embryology.* Baltimore, Williams and Wilkins, pp. 61-6;356-62.
22. Mirajullah M, Shen X (2002) Schwann cells: leader of Nervenkit. *J Ayub Med Coll Abbottabad.* 14:30-3.
23. Ross M, Pawlina W (2006) *Histology: A text and atlas.* Baltimore, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
24. Allt G, Lawrenson J (2000) The blood-nerve barrier: enzymes, transporters and receptors - a comparison with the blood-brain barrier (review). *Brain Res Bull.* 52:1-12.
25. Lundborg G, (1988) *The nerve trunk: Nerve injury and repair.* New York: Churchill Livingstone, 32-63.
26. Özmen S Uç-yan sinir anastomozunda alıcı sinir distal ucunda epinörüm rezeksiyonunun rejenerasyona etkisi. *Ankara, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi,, 2002, p. 34.*

27. Terzis J, Smith K (1990) *The Peripheral Nerve Structure: Function and Reconstruction*. New York: Raven Pres.
28. Sunderland S (1978) *Nerves and nerve injury*. New York: Churchill Livingstone.
29. Lundborg G (1975) Structure and function of the intraneural microvessels as related to trauma, edema formation, and nerve function. *J Bone Joint Surg Am.* 57:938-48.
30. Hansson HA (1993) Insulin-like growth factors and nerve regeneration. *Ann N Y Acad Sci.* 692:161-71.
31. Adams WE (1942) The blood supply of nerves: I. Historical review. *J Anat.* 76:323-41.
32. Lundborg G, Dahlin LB (1992) The pathophysiology of nerve compression. *Hand Clin.* 8:215-27.
33. Lundborg G, Dahlin LB (1996) Anatomy, function, and pathophysiology of peripheral nerves and nerve compression. *Hand Clin.* 12:185-93.
34. Lundborg G, Myers R, Powell H (1983) Nerve compression injury and increased endoneurial fluid pressure: A "miniature compartment syndrome". *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 46:1119-24.
35. Lundborg G (1979) The intrinsic vascularization of human peripheral nerves: structural and functional aspects. *J Hand Surg Am.* 4:34-41.
36. Nordin M, Frankel V (2001) *Basic Biomechanics of the Musculoskeletal System*.
37. Bell MA, Weddell AG (1984) A morphometric study of intrafascicular vessels of mammalian sciatic nerve. *Muscle Nerve.* 7:524-34.
38. Burnett M, Zager E (2004) Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. *Neurosurg Focus.* 16:1-7.
39. Dellon AL, Mackinnon SE (1989) Selection of the appropriate parameter to measure neural regeneration. *Ann Plast Surg.* 23:197-202.
40. Mackinnon SE, Hudson AR, Hunter DA (1985) Histologic assessment of nerve regeneration in the rat. *Plast Reconstr Surg.* 75:384-8.
41. Munro CA, Szalai JP, Mackinnon SE, Midha R (1998) Lack of association between outcome measures of nerve regeneration. *Muscle Nerve.* 21:1095-7.
42. Bozkurt G, Benli K (2004) Periferik Sinir Yaralanmaları. In Benli K (ed.): *Temel Nörosirurji*. Ankara, Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri Basımevi, pp. 319-27.

43. Murray R, Granner D, Mayes P, Rodwell W (2004) Harper Biyokimya. İstanbul Nobel Kitapevi.
44. Rydevik B, Lundborg G, Olmarker K, Myers R (2001) Biomechanics of Peripheral Nerves and Spinal Nerve Roots. In Nordin M, Frankel V (eds.): Basic Biomechanics Of The Musculoskeletal System. New York, Lippincott Williams&Wilkins, pp. 126-31.
45. Weerasuriya A, Rapoport SI, Taylor RE (1979) Modification of permeability of frog perineurium to [14C]-sucrose by stretch and hypertonicity. Brain Res. 173:503-12.
46. Weerasuriya A, Rapoport SI, Taylor RE (1980) Ionic permeabilities of the frog perineurium. Brain Res. 191:405-15.
47. Kim JH, Park JA, Lee SW, Kim WJ, Yu YS, Kim KW (2006) Blood-neural barrier: intercellular communication at glio-vascular interface. J Biochem Mol Biol. 39:339-45.
48. Dyck P, Karnes J, Lais A, Lofgren E, Stevens J (1984) Pathologic alterations of the peripheral nervous system of humans. In Dyck P, Thomas P, Lambert E, Bunge R (eds.): Peripheral neuropathy. Philadelphia, WB Saunders, pp. 760-870.
49. Rossiter R (1961) The chemistry of Wallerian degeneration. In Folch-Pi J (ed.): Chemical pathology of the nervous system. New York, Pergamon Press, pp. 207-27.
50. Stoll G, Jander S, Myers RR (2002) Degeneration and regeneration of the peripheral nervous system: from Augustus Waller's observations to neuroinflammation. J Peripher Nerv Syst. 7:13-27.
51. Tsao JW, George EB, Griffin JW (1999) Temperature modulation reveals three distinct stages of Wallerian degeneration. J Neurosci. 19:4718-26.
52. Bradley WG, Asbury AK (1970) Duration of synthesis phase in neuilemma cells in mouse sciatic nerve during degeneration. Exp Neurol. 26:275-82.
53. Pellegrino RG, Politis MJ, Ritchie JM, Spencer PS (1986) Events in degenerating cat peripheral nerve: induction of Schwann cell S phase and its relation to nerve fibre degeneration. J Neurocytol. 15:17-28.
54. Stoll G, Trapp BD, Griffin JW (1989) Macrophage function during Wallerian degeneration of rat optic nerve: clearance of degenerating myelin and Ia expression. J Neurosci. 9:2327-35.
55. Aguayo AJ, Charron L, Bray GM (1976) Potential of Schwann cells from unmyelinated nerves to produce myelin: a quantitative ultrastructural and radiographic study. J Neurocytol. 5:565-73.

56. Jessen KR, Mirsky R, Morgan L (1987) Axonal signals regulate the differentiation of non-myelin-forming Schwann cells: an immunohistochemical study of galactocerebroside in transected and regenerating nerves. *J Neurosci.* 7:3362-9.
57. Poduslo JF, Curran GL, Dyck PJ (1988) Increase in albumin, IgG, and IgM blood-nerve barrier indices in human diabetic neuropathy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 85:4879-83.
58. Weerasuriya A, Hockman CH (1992) Perineurial permeability to sodium during Wallerian degeneration in rat sciatic nerve. *Brain Res.* 581:327-33.
59. Latker CH, Wadhwani KC, Balbo A, Rapoport SI (1991) Blood-nerve barrier in the frog during wallerian degeneration: are axons necessary for maintenance of barrier function? *J Comp Neurol.* 308:650-64.
60. Williams PL, Hall SM (1971) Chronic Wallerian degeneration--an in vivo and ultrastructural study. *J Anat.* 109:487-503.
61. Mizisin AP, Weerasuriya A (2011) Homeostatic regulation of the endoneurial microenvironment during development, aging and in response to trauma, disease and toxic insult. *Acta Neuropathol.* 121:291-312.
62. Badaut J, Lasbennes F, Magistretti PJ, Regli L (2002) Aquaporins in brain: distribution, physiology, and pathophysiology. *J Cereb Blood Flow Metab.* 22:367-78.
63. Verkman AS (2003) Role of aquaporin water channels in eye function. *Exp Eye Res.* 76:137-43.
64. Verkman AS (2012) Aquaporins in clinical medicine. *Annu Rev Med.* 63:303-16.
65. Gonzalez C, Gonzalez-Buitrago JM, Izquierdo G (2013) Aquaporins, anti-aquaporin-4 autoantibodies and neuromyelitis optica. *Clin Chim Acta.* 415:350-60.
66. Agre P, Saboori AM, Asimos A, Smith BL (1987) Purification and partial characterization of the Mr 30,000 integral membrane protein associated with the erythrocyte Rh(D) antigen. *J Biol Chem.* 262:17497-503.
67. Smith BL, Agre P (1991) Erythrocyte Mr 28,000 transmembrane protein exists as a multisubunit oligomer similar to channel proteins. *J Biol Chem.* 266:6407-15.
68. Preston GM, Carroll TP, Guggino WB, Agre P (1992) Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28 protein. *Science.* 256:385-7.
69. Takata K, Matsuzaki T, Tajika Y (2004) Aquaporins: water channel proteins of the cell membrane. *Prog Histochem Cytochem.* 39:1-83.

70. Sabolic I, Valenti G, Verbavatz JM, et al. (1992) Localization of the CHIP28 water channel in rat kidney. *Am J Physiol.* 263:C1225-33.
71. Nielsen S, Smith BL, Christensen EI, Agre P (1993) Distribution of the aquaporin CHIP in secretory and resorptive epithelia and capillary endothelia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 90:7275-9.
72. Verkman AS, Mitra AK (2000) Structure and function of aquaporin water channels. *Am J Physiol Renal Physiol.* 278:F13-28.
73. Agre P (2004) Aquaporin water channels (Nobel Lecture). *Angew Chem Int Ed Engl.* 43:4278-90.
74. Castle NA (2005) Aquaporins as targets for drug discovery. *Drug Discov Today.* 10:485-93.
75. Tait MJ, Saadoun S, Bell BA, Papadopoulos MC (2008) Water movements in the brain: role of aquaporins. *Trends Neurosci.* 31:37-43.
76. Gao H, He C, Fang X, et al. (2006) Localization of aquaporin-1 water channel in glial cells of the human peripheral nervous system. *Glia.* 53:783-7.
77. Ma TH, Gao HW, Fang XD, Yang H (2011) Expression and function of aquaporins in peripheral nervous system. *Acta Pharmacol Sin.* 32:711-5.
78. Shields SD, Mazario J, Skinner K, Basbaum AI (2007) Anatomical and functional analysis of aquaporin 1, a water channel in primary afferent neurons. *Pain.* 131:8-20.
79. Matsumoto I, Nagamatsu N, Arai S, Emori Y, Abe K (2004) Identification of candidate genes involved in somatosensory functions of cranial sensory ganglia. *Brain Res Mol Brain Res.* 126:98-102.
80. Nandasena BG, Suzuki A, Aita M, Kawano Y, Nozawa-Inoue K, Maeda T (2007) Immunolocalization of aquaporin-1 in the mechanoreceptive Ruffini endings in the periodontal ligament. *Brain Res.* 1157:32-40.
81. Oshio K, Song Y, Verkman AS, Manley GT (2003) Aquaporin-1 deletion reduces osmotic water permeability and cerebrospinal fluid production. *Acta Neurochir Suppl.* 86:525-8.
82. Oshio K, Watanabe H, Song Y, Verkman AS, Manley GT (2005) Reduced cerebrospinal fluid production and intracranial pressure in mice lacking choroid plexus water channel Aquaporin-1. *FASEB J.* 19:76-8.
83. Kim IB, Lee EJ, Oh SJ, Park CB, Pow DV, Chun MH (2002) Light and electron microscopic analysis of aquaporin 1-like-immunoreactive amacrine cells in the rat retina. *J Comp Neurol.* 452:178-91.

- 84.** Nagahama M, Ma N, Semba R, Naruse S (2006) Aquaporin 1 immunoreactive enteric neurons in the rat ileum. *Neurosci Lett.* 395:206-10.
- 85.** Wang H, Fang F, Yi J, Xiang Z, Sun M, Jiang H (2012) Establishment and assessment of the perinatal mouse facial nerve axotomy model via a subauricular incision approach. *Exp Biol Med (Maywood).* 237:1249-55.
- 86.** Bove GM, Light AR (1995) Calcitonin gene-related peptide and peripherin immunoreactivity in nerve sheaths. *Somatosens Mot Res.* 12:49-57.
- 87.** Bove GM, Light AR (1997) The nervi nervorum: Missing link for neuropathic pain? *Pain Forum.* 6:181-90.
- 88.** Sauer SK, Bove GM, Averbeck B, Reeh PW (1999) Rat peripheral nerve components release calcitonin gene-related peptide and prostaglandin E2 in response to noxious stimuli: evidence that nervi nervorum are nociceptors. *Neuroscience.* 92:319-25.

ÖZGEÇMİŞ

25.02.1987 tarihinde Ankara’da doğdu. 2003 yılında Anıttepe Lisesi’nden mezun oldu. Lisans öğrenimini 2009 yılında Akdeniz Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde tamamladı. 2011 yılında Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü’nde Anatomi Yüksek Lisans eğitimine başladı. Yabancı dili İngilizce’dir.