

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**RAT PERİFERİK SİNİR HASARI MODELİNDE
DULOKSETİN'İN ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. MEHMET TÖNGE**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. AYDIN PAŞAOĞLU**

**ANKARA
MAYIS 2010**

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**RAT PERİFERİK SİNİR HASARI MODELİNDE
DULOKSETİN'İN ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. MEHMET TÖNGE**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. AYDIN PAŞAOĞLU**

**ANKARA
MAYIS 2011**

Teşekkür...

Bu uzun soluklu ve zevkli uzmanlık eğitimi sürecimde, engin bilgi ve deneyimlerini her fırsatta benimle paylaşan, bana sanatımın inceliklerini öğreten, “Nöroşirürjiyen” kimliğimin gelişmesini sağlayan ve öğrencileri olmaktan her daim gurur duyacağım saygıdeğer tez hocam Sn. Prof. Dr. Aydın Paşaoğlu’na, anabilim dalı başkanım Sn. Şükrü Aykol’a ve Sn. Prof. Dr. Necdet Çeviker, Sn. Prof. Dr. M. Kemal Baykaner ve Sn. Prof. Dr. Fikret Doğulu’ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Nöroşirürji bilgimin yanı sıra, özellikle “bilim adamı” kimliğimin gelişmesine çok önemli katkıları olan ve her yönleri ile örnek almaya gayret ettiğim kıymetli ağabeylerim, hocalarım Sn. Doç. Dr. A. Memduh Kaymaz, Sn. Doç. Dr. Gökhan Kurt, Sn. Yrd. Doç. Dr. Ö. Hakan Emmez ve Sn. Uzm. Dr. Alp Özgün Börcek’e sonsuz teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince her konuda yanımda olan, birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum sevgili eş kıdemlim ve dostum Dr. Emre Durdağ’a teşekkürü borç bilirim. Başta, tez çalışmamda bana yardımcı olan Dr. Emrah Çeltikçi ve Dr. Erkut Baha Bulduk olmak üzere tüm çalışma arkadaşlarıma, bir gün tekrar bir yerlerde birlikte çalışabilmek temennimle şükranlarımı sunarım. Sizlerle aynı takımda olmak benim için büyük bir zevkti.

Tezimin elektrofizyolojik incelemelerini yapan Sn. Prof. Dr. Mehmet Beyazova ve Sn. Yrd. Doç. Dr. Murat Zinnuroğlu’na, histopatolojik değerlendirmesini yapan Sn. Yrd. Doç. Dr. Özgür Ekinci’ye ve istatistiksel analizini gerçekleştiren Sn. Uzm. Dr. Asiye Uğraş Dikmen’e büyük bir hassasiyet ve özveri ile yürüttükleri çalışmalarından dolayı çok teşekkür ederim.

“Gazili olmak ayrıcalıktır” deyişinin hakkını sonuna kadar veren anabilim dalımın tüm ayrıcalıklı çalışanlarına sonsuz teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim öncesinde içimdeki nöroşirürji filizini yeşerten ve bu yolu seçmemde büyük katkısı olan eski üniversitem Süleyman Demirel Üniversitesi’nin Nöroşirürji Anabilim Dalı’na çok teşekkür ederim. Uzmanlık eğitimim süresince bana büyük bir motivasyon sağlayan ve her fırsatta desteğini esirgemeyen Sn. Prof. Dr. René Ludwig Bernays’a çok teşekkür ederim.

Yetişmemde en büyük payın sahibi olarak, yaşamım boyunca sonsuz desteklerini ve uçsuz bucaksız ufuklarını benden hiçbir zaman esirgemeyen, güçlü ellerini her zaman arkamda hissettiğim sevgili anne ve babama, sevgili kardeşlerim ve meslektaşlarım Dr. H. Sina Tönge ile Dr. Çağhan Tönge’ye en içten minnettarlığımı sunarım.

Ve son olarak, uzmanlık eğitimim süresince sevgisi, metaneti ve her türlü desteği ile her daim yanımda olan sevgili eşim Dr. Şule Tönge’ye sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Mehmet TÖNGE

ÖZET

Giriş: Periferik sinir hasarı, oldukça karmaşık mekanizmaları içeren, dejenerasyon ve rejenerasyon süreçlerinin işlediği bir patofizyolojiye sahiptir. Rejenerasyonu artırmaya yönelik pek çok çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmada, santral sinir sisteminde nöroprotektif ve restoratif etkinlikleri bilinen duloksetin'in periferik sinir hasarı sürecindeki etkisi incelenmiştir.

Gereç ve Yöntem: Toplam 36 rattan oluşan denekler yalancı operasyon, kontrol ve deney gruplarına ayrılarak siyatik sinirlerinde periferik sinir ezilme yaralanması modeli oluşturulmuştur. Bu modelde 3 gün ardışık olarak intraperitoneal yolla verilen duloksetin'in etkileri araştırılmıştır. İncelemeler 1 ve 6. haftalarda histomorfometrik olarak akson sayımı ve myelin kalınlığı ölçümünü, elektrofizyolojik olarak yüzeyel ve iğne CMAP amplitüt ölçümlerini ve yaş kas ağırlık ölçümlerini içerecek şekilde yapılmıştır.

Sonuç: Duloksetin, periferik sinir rejenerasyonuna olumlu katkı sağlamamıştır. Hatta geç dönemde akson sayısını artırmasına rağmen myelin kalınlığında azalma ve kas kütle kaybında artışa yol açmıştır. Elektrofizyolojik testlere anlamlı bir etkide bulunmamıştır.

ABSTRACT

Introduction: The pathophysiology of peripheral nerve injury includes extremely complicated processes of degeneration and regeneration. Several studies were conducted to augment the regeneration. The effects of duloxetine for peripheral nerve damage, whose neuroprotective and restorative effects are well established for central nervous system were observed within this study.

Materials and Method: Subjects consisting of 36 rats were divided into sham operation, control and experiment groups and peripheral nerve injury model was performed on sciatic nerves. Effects of three-day consecutive duloxetine delivered intraperitoneally were investigated in this model. Assessments were done at 1st and 6th weeks via axon count and measurement of myelin thickness histomorphologically, surface and needle electrode CMAP amplitude records electrophysiologically and measurement of wet muscle weights.

Results: Duloxetine has not posed a positive contribution on peripheral nerve regeneration. Furthermore, it led to a decrease in myelin thickness and increase of muscle mass shrinkage, despite an increase in axon count in long term follow-up. It didn't show up a remarkable effect on electrophysiological assessments.

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. PERİFERİK SİNİR ANATOMİSİ	4
2.1.1. Gros Anatomi	4
2.1.2. Mikrostrüktürel anatomi	8
2.2. PERİFERİK SİNİR HASARINDA KLİNİK SINIFLAMALAR	9
2.3. PERİFERİK SİNİR HASARININ PATOFİZYOLOJİSİ	11
2.3.1. Aksonal dejenerasyon ve rejenerasyon	12
2.3.2. Periferik sinir onarımının mediatörleri	17
2.3.2.1. <i>Sitokin ve kemokinler</i>	17
2.3.2.2. <i>Nörotropik faktörler</i>	18
2.3.2.3. <i>Kompleman sistemi</i>	19
2.3.2.4. <i>Proinflamatuvar transkripsiyon faktörleri</i>	20
2.3.2.5. <i>Araşidonik asit metabolitleri</i>	20
2.4. DULOKSETİN	21
2.5. SEROTONİN VE NORADRENALİN	23
2.5.1. Serotonin	23
2.5.2. Noradrenalin	25
2.6. PERİFERİK SİNİR REJENERASYONUNUN DENEYSEL YOLLA DEĞERLENDİRİLMESİ	27
2.6.1. Deney modelleri	27
2.6.1.1. <i>Rat siyatik sinir anatomisi</i>	28
2.6.2. Histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirme	28

2.6.3. Fonksiyonel değerlendirme.....	29
2.6.4. Elektrofizyolojik değerlendirme.....	30
2.6.5. Kas atrofisinin değerlendirilmesi.....	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	33
3.1. DENEY DİZAYNI.....	33
3.2. KULLANILAN İLAÇLAR.....	34
3.3. CERRAHİ PROSEDÜR.....	35
3.4. ELEKTROFİZYOLOJİK DEĞERLENDİRME.....	37
3.5. HİSTOMORFOMETRİK DEĞERLENDİRME.....	40
3.6. YAŞ KAS KÜTLE İNDEKSİ ÖLÇÜMÜ.....	42
3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	42
4. BULGULAR.....	44
4.1. ELEKTROFİZYOLOJİK İNCELEME BULGULARI.....	44
4.2. HİSTOMORFOMETRİK İNCELEME BULGULARI.....	51
4.3. YAŞ KAS AĞIRLIK İNDEKSİ ÖLÇÜMLERİ.....	62
5. TARTIŞMA.....	68
6. SONUÇ.....	75
7. KAYNAKLAR.....	76

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Sunderland PSY sınıflaması.....	16
Tablo 2. Rat siyatik sinirinin farklı anatomik düzeylerdeki akson içeriği....	28
Tablo 3. Ratlarda siyatik sinir rejenerasyonunu değerlendirmeye yönelik uygulanmış çalışma yöntemlerinin özeti.....	31
Tablo 4. Erken dönem yüzeyel ve iğne CMAP ölçüm değerleri (mV).....	44
Tablo 5. Geç dönem yüzeyel ve iğne CMAP ölçüm değerleri (mV).....	45
Tablo 6. Sham grubunun yüzeyel CMAP amplitüdü erken dönem-geç dönem ölçümleri.....	46
Tablo 7. Kontrol grubunun yüzeyel CMAP amplitüdü erken dönem-geç dönem ölçümleri.....	46
Tablo 8. Deney grubunun yüzeyel CMAP amplitüdü erken dönem-geç dönem ölçümleri.....	47
Tablo 9. Grupların yüzeyel CMAP amplitüdü ortalamaları ve ortancaları..	47
Tablo 10. Sham grubunun iğne CMAP amplitüdü erken dönem-geç dönem ölçümleri.	49
Tablo 11. Kontrol grubunun iğne CMAP amplitüdü erken dönem-geç dönem ölçümleri.....	49
Tablo 12. Deney grubunun iğne CMAP amplitüdü erken dönem-geç dönem ölçümleri.....	50
Tablo 13. Grupların iğne CMAP amplitüdü ortalamaları ve ortancaları.....	50
Tablo 14. Erken dönem akson sayısı ve ortalama myelin kalınlıklarının histomorfometrik ölçüm sonuçları.....	52
Tablo 15. Geç dönem akson sayısı ve ortalama myelin kalınlıklarının histomorfometrik ölçüm sonuçları.....	53
Tablo 16. Sham grubunun akson sayısı erken dönem-geç dönem ölçümleri.....	54
Tablo 17. Kontrol grubunun akson sayısı erken dönem-geç dönem ölçümleri.....	54

Tablo 18. Deney grubunun akson sayısı erken dönem-geç dönem ölçümleri.....	55
Tablo 19. Grupların akson sayısı ortalamaları ve ortancaları.....	55
Tablo 20. Sham grubunun myelin kalınlığı erken dönem-geç dönem ölçümleri.....	56
Tablo 21. Kontrol grubunun myelin kalınlığı erken dönem-geç dönem ölçümleri.....	57
Tablo 22. Deney grubunun myelin kalınlığı erken dönem-geç dönem ölçümleri.....	57
Tablo 23. Grupların myelin kalınlığı ortalamaları ve ortancaları.....	58
Tablo 24. Erken dönemde deneklerin vücut ağırlığı ve kas ağırlığı ölçümleri ile hesaplanan K_i değerleri.....	62
Tablo 25. Geç dönemde deneklerin vücut ağırlığı ve kas ağırlığı ölçümleri ile hesaplanan K_i değerleri.....	63
Tablo 26. Sham grubunun kas-kütle indeksi erken dönem-geç dönem ölçümleri.....	64
Tablo 27. Kontrol grubunun kas-kütle indeksi erken dönem-geç dönem ölçümleri.....	64
Tablo 28. Deney grubunun kas-kütle indeksi erken dönem-geç dönem ölçümleri.....	65
Tablo 29. Grupların K_i ortalamaları ve ortancaları.....	65
Tablo 30. Korelasyon testi sonuçları.....	67

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Beyin sapı ve kraniyal sinir anatomisi (önden görünüm).....	4
Resim 2. Spinal sinirlerin şematik gösterimi.....	5
Resim 3. Spinal sinir köklerinin anatomisi.....	6
Resim 4. Otonom sinir sisteminin şematik özeti. Sempatik sistem kırmızı, parasempatik sistem mavi renk ile gösterilmiştir.....	8
Resim 5. Periferik sinirin yapısı	9
Resim 6. Aksonal hasarın aşamaları. A, B) Dejenerasyon, C, D) Rejenerasyon safhaları.....	16
Resim 7. Kompleman sistemi.....	19
Resim 8. Duloksetin'in kimyasal yapısı.....	21
Resim 9. Triptofandan serotonin sentezinin şematik gösterimi.....	24
Resim 10. Serotonerjik reseptörler.....	24
Resim 11. Noradrenalin (norepinefrin) sentez basamakları.....	26
Resim 12. Adrenerjik reseptörler.....	26
Resim 13. Siyatik sinir klibasyonu. *: İliak krest, x: Yüzeyel gluteal kas grubu, Siyah ok: Siyatik sinir, Beyaz ok: Siyatik sinir bifurkasyonu.....	36
Resim 14. En-blok siyatik sinir ve gastrokinemius-soleus kas grubu eksizyonu.....	37
Resim 15. Rat siyatik sinirinde EMG kayıt sistemi.....	40
Resim 16. Hematoksilen & Eozin boyamada 1000x büyütmede akson morfolojisi ve myelin kalınlık ölçümü. SC'ler koyu bazofilik gözükmemektedir.	41
Resim 17. Yüzeyel CMAP amplitüdü ölçümlerinin gruplar arasındaki dağılım grafiği.....	48
Resim 18. İğne CMAP amplitüdü ölçümlerinin gruplar arasındaki dağılım grafiği.....	51
Resim 19. Grupların akson sayısı ölçümlerinin dağılım grafiği.....	56
Resim 20. Grupların myelin kalınlığı ölçümlerinin dağılımı.....	58

Resim 21. Epinöral bütünlüğün korunduğu, fasiküler düzenin bozulmadığı, epinöral bağ doku içinde yer yer peteşiyal kanama alanlarının (*) olduğu transvers siyatik sinir kesiti. (H&E,x100).....	59
Resim 22. Olasılıkla cerrahi müdahaleye bağlı sinir çevresi bağ dokuda odaksal mikst inflamasyon gözlenmekte. (H&E, x200).....	60
Resim 23. Erken dönem histomorfometrik inceleme preperatları. A) Sham B) Kontrol, C) Deney grupları. (H&E x1000)	60
Resim 24. Geç dönem histomorfometrik inceleme preperatları. A) Sham B) Kontrol, C) Deney grupları. Sham grubunda aksonlar fasikül içinde oldukça düzenli görünürken, diğer gruplarda daha seyrekleşmiş olarak izlenmektedir. (H&E, x1000).....	61
Resim 25. Fasiküller içinde akson adacıkları. (TB, x400).....	61
Resim 26. Grupların K_i ölçümlerinin grafiksel dağılımı.....	66

KISALTMALAR

5-HT: 5-hidroksitriptamin

Arc: Aktivite düzenleyici sitoskeleton bağıntılı protein

BDNF: Beyin kaynaklı nörotropik faktör

cAMP: Siklik adenzin monofosfat

CIF: Kompleman inhibe edici faktör

CMAP: Bileşik motor aksiyon potansiyeli

COX: Siklooksijenaz

CPG: Santral kalıp jeneratörü

CTNF: Siliyer nörotropik faktör

CYP: Sitokrom P

EF: Elektrofizyolojik

EMG: Elektromiyografi

ErbB: Epidermal büyüme faktörü reseptörü - B

FDA: Food and drug administration

GABA: Gamma amino butirik asit

GDNF: Glia kökenli büyüme faktörü

GM-CSF: Granulosit-monosit koloni stimule edici faktör

GÜDAM: Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi

H&E: Hematoksilen - eozin

HGF: Hepatosit büyüme faktörü

Hz: Hertz

IFN: İnterferon

IGF: İnsulin benzeri büyüme faktörü

IL: İnterlökin

IP₃: İnozitol trifosfat

K_i: Kas-kütle indeksi

LIF: Lösemi inhibe edici faktör

LOX: Lipoksijenaz

MAC: Membran atak kompleksi

MAO: Monoaminooksidaz
MR: Manyetik rezonans
mV: milivolt
NA: Noradrenalin
NF-κB: Nöral faktör κB
NGF: Nöral büyüme faktörü
NRG-1: Nörogulin-1
NT: Nörotropin
NTF: Nörotropik faktör
NTM: Nörotransmitter
OSS: Otonom sinir sistemi
PS: Periferik sinir
PSS: Periferik sinir sistemi
PSY: Periferik sinir yaralanması
SC: Schwann hücresi
SEP: Somatosensoryal uyarılmış potansiyel
SNRI: Selektif serotonin-noradrenalin gerilim inhibitörü
SSRI: Selektif serotonin gerilim inhibitörü
SSS: Santral sinir sistemi
SVZ: Sub-ventriküler bölge
TB: Toluidin mavisi
TLRs: Toll-like reseptör
TNF: Tümör nekrotizan faktör
Trk: Tirozin kinaz
USG: Ultrasonografi
WD: Wallerian dejenerasyon

GİRİŞ

Periferik sinir sistemine (PSS) dair ilk bilgiler Hipokratik tıp dönemine dek uzanmaktadır. Pergamonlu Galen, milattan sonra ikinci yüzyılda periferik sinir (PS) kesisinin duyu ve güç kaybı ile sonuçlandığını fark etmiş, ancak bu lezyonların iyileştirilemez olduğunu bildirmiştir. İbn-i Sina'nın kayıtlarında PS'lerin dikilebilir yapılar olduğundan bahsedilmektedir. Galen'den sonra yaklaşık 1500 yıl boyunca sinir onarımına yönelik çalışmalar çoğunlukla başarısızlıkla sonuçlanmıştır. 1776'da Cruikshank, hayvan çalışmalarında PS'lerin kısmen rejenere olabildiğinden bahsetmiştir. İnsanda cerrahi sonrası ilk fonksiyonel iyileşme ise 1847'de Sir James Paget tarafından elde edilmiştir. 1839'da Schwann kendi adıyla anılan sinir kılıfını; 1850'de ise Waller yine kendi adı ile anılan dejenerasyon sürecini tanımlamıştır. Son birkaç dekadda ise özellikle elektron mikroskopi ve nörofizyoloji gibi alanlarda kaydedilen gelişmelere paralel olarak PS hasarı sonrasındaki rejeneratif mekanizmalar ve tedavi yaklaşımları oldukça popüler bir araştırma alanı haline gelmiştir (1, 2).

Çoklu travma olgularının % 2-5'inde PS yaralanması (PSY) meydana gelmektedir. Günümüzde etyolojiden en çok motorlu taşıt kazaları sorumludur. Bunu penetran yaralanmalar, iyatrojenik yaralanmalar, düşmeler ve ateşli silah yaralanmaları izlemektedir. Yine spor yaralanmalarında da PS hasarı gelişebilmektedir. En sık 4.dekadda izlenen PSY'lerde farklı serilerde 2,4-5 / 1 oranında erkek predominansı mevcuttur. Pediatrik yaş grubunda nadir görülmekle birlikte, en sık 8 yaş civarında izlenmektedir (3).

Periferik sinir yaralanmalarının tedavisinde pek çok konservatif, medikal ve cerrahi yaklaşımlar tarif edilmiştir. PSY fizyopatolojisinin giderek daha iyi anlaşılmasıyla birlikte, iyileşme sürecinin belirli aşamalarında etki göstererek rejenerasyonu artırabileceği düşünülen pek çok ajan ve modalite denenmiş ve denenmektedir. Hâlihazırda farklı yaralanma tiplerinde konservatif ve cerrahi yaklaşım dışında altın standart olabilecek bir ajan mevcut olmamakla birlikte, pek çok ajanın sinir iyileşmesine olumlu ve ümit vaat eden katkıları tespit edilmiştir. Periferik sinir iyileşmesine katkıları araştırılan modalite ve ajanlar arasında elektrik stimülasyonu, magnetik alan indüksiyonu, sentetik ve doğal polimerler, antioksidanlar, nörotropik faktörler, immun-mediatörler, kök hücreler ve daha pek çoğu sayılabilir.

Özellikle son 30 yılda, depresyon tedavisinde kullanılan ilaçların santral sinir sisteminin (SSS) belirli bölgelerinde nöroprotektif ve restoratif etkileri tespit edilmiştir. Trisiklik antidepresanlar ve selektif serotonin geri alım inhibitörlerinin (SSRI) limbik sistem, hipokampal formasyon ve frontal kortekste nöron kaybını azalttığı; subventriküler bölgede nöral progenitor hücre proliferasyonunu artırdığı görülmüştür (4). Daha yeni bir nesil olan selektif serotonin – noradrenalin geri alım inhibitörü (SNRI) grubu antidepresanların ise ek olarak beyinde BDNF (beyin kaynaklı nörotropik faktör) ve Arc (aktivite düzenleyici sitoskeleton bağımlı protein) ekspresyonunu artırdığı, nöroproteksiyon sağladığı ve ayrıca periferik nöropatik ağrılarda etkin olduğu saptanmıştır (5, 6). Ayrıca, yalnızca stresör faktörler ve depresyonun dahi PS rejenerasyonunu olumsuz etkilediği bilinmektedir (7).

Bu alışmada, PS rejenerasyonu üzerine etkileri henüz araştırılmamış olan SNRI grubu antidepresanların en potent yesi ***duloksetin***'in muhtemel etkileri olabileceği hipotezinden yola çıkılarak, bu etkileri deneysel olarak araştırmak amaçlanmıştır.

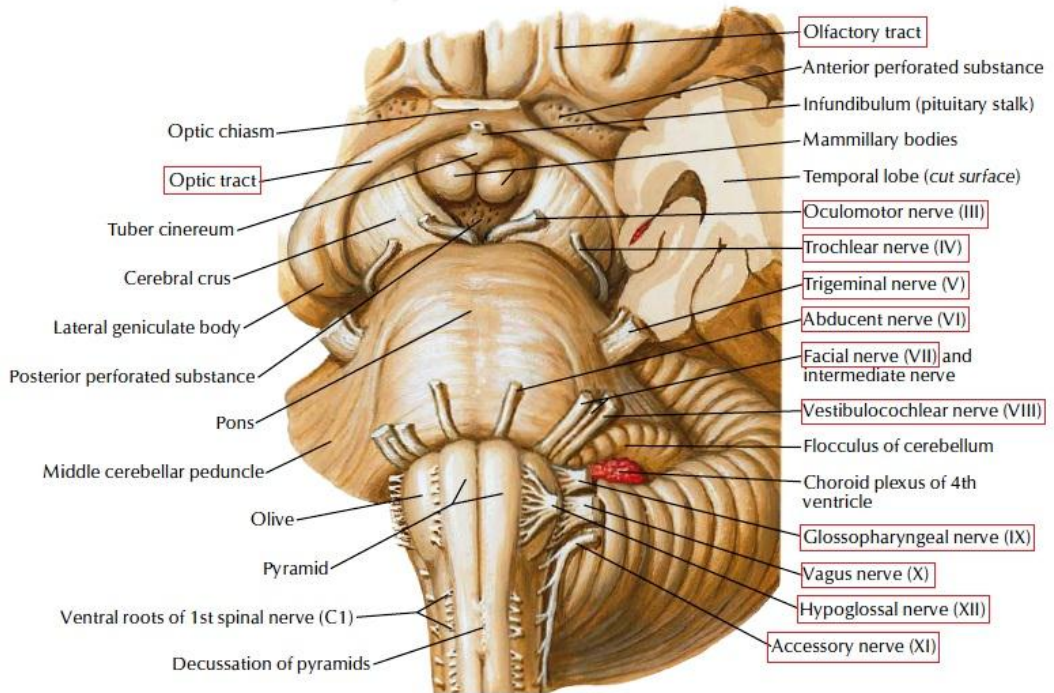
2. GENEL BİLGİLER

2.1. PERİFERİK SİNİR ANATOMİSİ

2.1.1. GROS ANATOMİ

Periferik sinir sistemi, beyin ve spinal kordu; yani SSS'ni periferik dokularla ilişkilendiren sistemdir. Kranial sinirler, spinal sinirler ve otonom sinir sistemi olmak üzere 3 ana bölüme ayrılır.

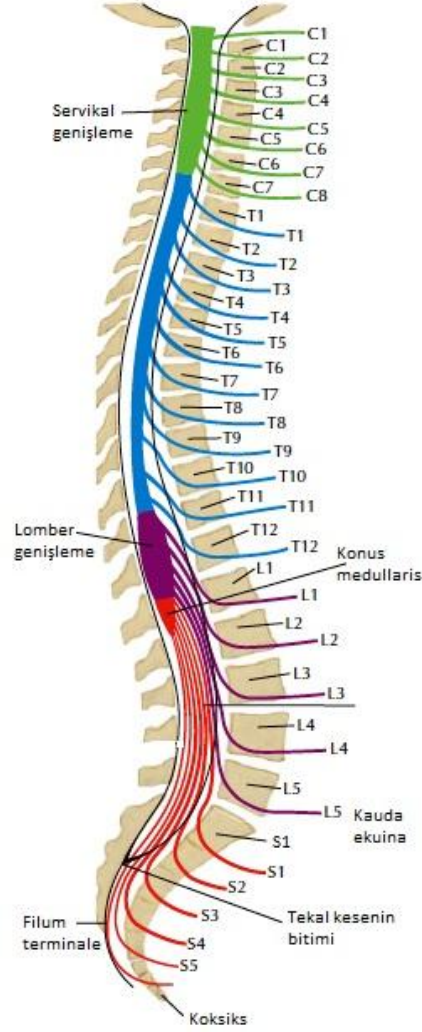
Kranial sinirler 12 çift olup ilk ikisi beynin uzantısı şeklindedir. 3 ve 4. sinirler mezensefalondan; 5 – 8. sinirler ponstan ve 9 – 12. sinirler ise medulla oblongatadan orijin alır (Resim 1).



Resim 1. Beyin sapı ve kranial sinir anatomisi (önden görünüm) (122).

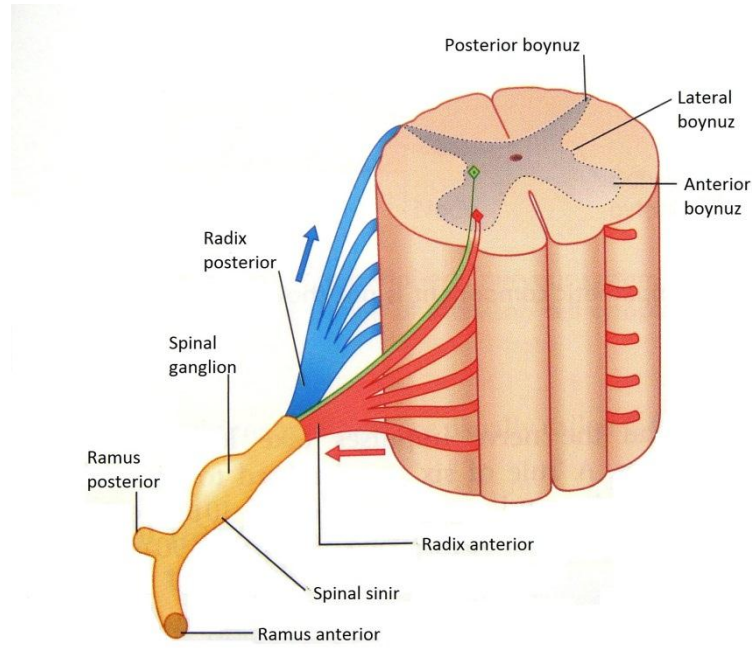
Spinal sinirler ise C₁ ile S₁ arası segmentlerden çıkar. Son iki koksigeal sinir segmenti rudimenter olduğu için toplam 33 medulla spinalis segmentinden

31 çift spinal sinir çıkmaktadır (8 servikal, 12 torakal, 5 lomber, 5 sakral ve 1 koksigeal) (Resim 2).



Resim 2. Spinal sinirlerin şematik gösterimi (8).

Spinal kordun arka boynuzundan radix posterior (arka kök), ön boynuzundan ise radix anterior (ön kök) çıkar. Bu iki kök, foramen intervertebrale'ye girmeden önce birleşerek spinal siniri oluşturur. Yaklaşık 1 cm sonra ise for. intervertebrale çıkışında spinal sinir ramus anterior ve posterior'a ayrılır (Resim 3).

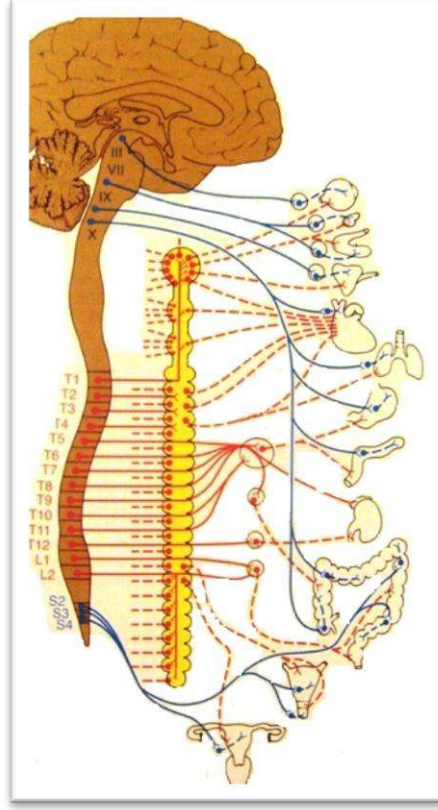


Resim 3. Spinal sinir köklerinin anatomisi (9).

Ramus posteriorlar gövdenin arka kısmının cildi ile erektör spina kaslarını innerve ederken ramus anterior gövdenin ön ve yan kısımlarının kasları ve cildini innerve eder, ayrıca servikal, brakiyal ve lumbosakral pleksusları oluşturur. Arka kök nöronlarının gövdeleri çoğunlukla arka kök üzerinde yerleşik olan spinal ganglion içinde bulunan psödo-unipolar nöronlardır. Afferent sensoryal iletimden sorumludur. Ayrıca arka kök içinde %3 oranında vazodilatör efferent lifler de bulunmaktadır. Sensoryal vasfından dolayı bu köke “*radix sensoria*” da denmektedir. Ön kökün sinir gövdeleri ise çoğunlukla ön boynuzda ve beyindedir. Ön kök, somatomotor lifler ile sempatik ve parasempatik (otonom) efferent lifleri içermektedir. Motor lif içeriğinden dolayı “*radix motoria*” olarak da bilinmektedir. Bu iki kök birleşip spinal sinir oluşturduktan sonra ramus anterior

ve posterior olarak ayrıldığında her iki ramus tüm lif çeşitlerinden içermektedir (9, 10, 11).

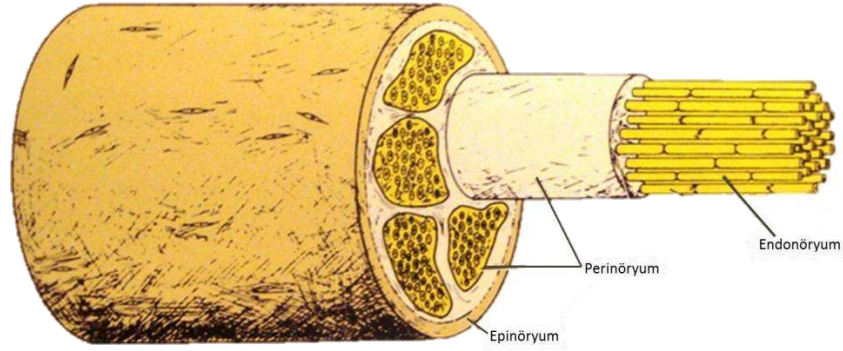
Otonom sinir sistemi (OSS), sempatik ve parasempatik olarak ikiye ayrılmaktadır. Bunların da affarent ve efferent lifleri bulunmaktadır. Otonom sinir sistemine, yaşamsal fonksiyonlarla olan ilişkisinden dolayı “*vegetatif*”; iç organlarla olan ilişkisinden dolayı da “*visseral*” sinir sistemi de denmektedir. Sempatik sinir sisteminin lifleri birinci torakal ile ikinci veya üçüncü spinal segmentlerdeki kolumna intermediolateralis’ten çıkar. Parasempatik sistem ise kraniyal ve spinal kısımlara ayrılmıştır. Kraniyal lifler III, VII, IX ve onuncu kraniyal sinirlerde; spinal lifler ise S_{2,3,4} segmentlerinden çıkan sinirlerde taşınır. Otonom sinirlerin gövdeleri beyindeki yüksek otonomik merkezlerdedir, ancak somatomotor liflerin aksine perifere dağılmadan önce ganglionlarda nöron değiştirirler. Sempatik sinir sisteminin ganglionları, omuriliğin her iki yanında yerleşen ve kafa tabanından koksikse dek uzanan 22-23 çift gangliondan müteşekkil “trunkus sempatikus” zincirinde yerleşmiştir. Parasempatik sistemin ganglionları ise hedef organların yakınında veya duvarında bulunmaktadır (Resim 4). Her iki sistemin preganglionik liflerinin esas nörotransmitteri (NTM) asetilkolin iken, sempatik postganglionik liflerde noradrenalin (NA); parasempatik postganglionik liflerde ise asetilkolin bulunmaktadır (11, 12, 13).



Resim 4. Otonom sinir sisteminin şematik özeti. Sempatik sistem kırmızı, parasempatik sistem mavi renk ile gösterilmiştir (12).

2.1.2. MİKROSTRÜKTÜREL ANATOMİ

Bir PS, boyutuna bağlı olarak bir veya binlerce sinir lifi içerebilmektedir. Periferik sinirin lifleri (akson) endonöryum denilen, Schwann hücresi (SC) ve retiküler kollajen ağlardan oluşan yapı ile sarılıdır. Sinir liflerinin bir araya gelmesi ile fasikül oluşur ve perinöryum ile sarılıdır. Fasiküllerin bir araya gelmesi ile ise PS oluşur, ve epinöryum tarafından kuşatılır (9) (Resim 5).



Resim 5. Periferik sinirin yapısı (10).

Periferik sinirlerde myelinli ve myelinsiz aksonlar bulunmaktadır. Myelin, PSS'de SC'ler tarafından oluşturulmaktadır. Schwann hücrelerinin akson etrafında sirküler tarzda defalarca dolanması ile meydana gelir. Myelinli liflerde 1-2 mm aralıklarla Ranvier düğümleri bulunmaktadır. Bu sayede myelinli lifler çıplak liflere göre yaklaşık 8 kat daha hızlı saltatuvar (sıçrayıcı) iletim yapabilmektedir (10, 14). Otonom sinirlerin gövdeleri otonomik ganglionlarda, sensoryal sinirlerin gövdeleri dorsal root ganglionlarında ve somatomotor sinirlerin gövdeleri SSS'dedir. Ganglionlardaki sinir gövdeleri ve dendritleri satellit (kapsüler) hücrelerce çevrelenmiştir. Bu hücreler, periferdeki SC'lerin analogudur.

2.2. PERİFERİK SİNİR HASARINDA KLİNİK SINIFLAMALAR

Periferik sinir hasarı farklı şiddetlerde gerçekleşebilmektedir. Seddon 1943'te PS hasarını üç alt başlığa ayırmıştır (15, 16):

- *Nöropraksi*: Aksonal bütünlük bozulmaksızın sinir segmentindeki iletimin azalması veya tam olarak kesilmesidir. Fokal demyelinizasyon görülebilir.

Direkt mekanik bası, iskemik hasar, metabolik yetmezlik veya demyelinizan hastalıklar nedeniyle gelişebilir. Etkenin ortadan kaldırılmasını takiben birkaç saat veya hafta içinde hemen her zaman iyileşme görülmektedir. Sekiz saatten kısa süreli kompresyonlarda nöral fonksiyon tamamen geri dönüşlüdür. Nöroprakside sırasıyla motor işlev, propriyosepsiyon, temas, sıcaklık, ağrı duyuları ve sempatik fonksiyon bozulur. Düzelme ise tam ters sıra ile olur. Düzelme sinir rejenerasyonu ile değil, iletimin yeniden sağlanmasıyla meydana gelmektedir (17).

- *Aksonotmezis:* Sinirin epinöral çatısının korunduğu, ancak içindeki liflerin koptuğu hasarlanmadır. Kopan aksonların distal güdüğü Wallerian dejenerasyon (WD) ile uzaklaştırılır ve rejenerasyon süreci başlar. Sinirin anatomik bütünlüğü korunmuştur ve hasarın lokalizasyonuna göre haftalar veya aylar içinde fonksiyon tekrar kazanılabilir.
- *Nörotmezis:* Periferik sinirin epinöral çatısı ile birlikte tamamen kopup, anatomik bütünlüğünün kaybolduğu en ağır yaralanma biçimidir. Genellikle rejenerasyon hattında yoğun fibrozis bulunur ve cerrahi onarım gerektirir. 1951'de Sunderland bu sınıflamayı genişletmiş ve aksonotmezisi 3 alt kategoriye ayırmıştır. (17, 19) (Tablo 1).

Tablo 1. Sunderland PSY sınıflaması.

Derece	Açıklama
1	Nöropraksi. Anatomik olarak normal, yalnızca iletim bloğu mevcut.
2	Akson ve myelin hasarı mevcut, endonöryum da dahil olmak üzere tüm destek yapılar korunmuş.
3	Endonöryum hasarlı, perinöryum ve epinöryum intakt.
4	Epinöryum intakt, fasiküller hasarlanmış.
5	Tam sinir kesisi.

Daha sonraları McKinnon ve Dellon bu sınıflamaya 6.derece yaralanmayı eklemiştir. Bu yaralanma tipi, Sunderland 1 – 4.dereceler arası yaralanmaların aynı sinirde birkaçının bir arada olduğu mikst tip yaralanmayı ifade eder (1).

2.3. PERİFERİK SİNİR HASARININ PATOFİZYOLOJİSİ

Periferik sinirin travmatik yaralanmaları gerilme, kompresyon veya laserasyona bağlı gelişebilmektedir. Bu yaralanma ve sonrasındaki rejenerasyon sürecinde oldukça karmaşık mekanizmalar ve mediatörler rol almaktadır. Santral sinir sistemindeki nöronlarda aksonal rejenerasyon yeteneği yok denecek kadar az iken PSS nöronlarında aktif bir rejenerasyon süreci mevcuttur. Bunun nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte, hasarlı aksonun içinde bulunduğu mikro çevrenin önemli bir faktör olduğu görülmüştür (20). Hasarlı bir PSS nöronu SSS'ye yerleştirildiğinde rejenerasyon yeteneğini yitirdiği; tam tersine hasarlı bir SSS nöronunun da PSS'ye entegre edildiğinde rejenerasyon olabildiği gözlenmiştir.

Periferik sinir aksonu hasarlandığında, birbirini takip eden bir dejenerasyon ve rejenerasyon süreci başlamaktadır.

2.3.1. AKSONAL DEJENERASYON VE REJENERASYON

Hafif şiddetli sinir hasarlanmalarında genellikle birkaç gün süren bir dejenerasyon sürecinin bitiminde, daha uzun süren bir rejenerasyon süreci başlamaktadır. Ancak şiddetli hasarlarda dejeneratif sürecin uzamasına bağlı olarak sıklıkla bu iki süreç beraber işler. Vücudun diğer bölgelerindeki hücresel onarımın aksine PSS'deki rejenerasyon mitoz ve hücresel proliferasyonla değil, hücresel restorasyonla meydana gelmektedir. Periferik sinir rejenerasyonunda makrofajlar, fibroblastlar, inflamatuvar hücreler, nörotropik faktörler gibi pek çok etmen rol oynamakla birlikte, en önemli görevin SC'lerde olduğunu söylemek yerinde olur.

Aksonotmetik yaralanmalarda saatler içinde WD süreci başlar (21). Hasarlı bölgenin distalinde kalan akson kısmı dejenere olur, myelin parçalanır ve endonöral tüp içinde elipsoidler oluşturacak şekilde aksonal artıklar görülür. Bu parçalanmadan, SC'lerden Ca^{++} aktivasyonu ile salınan proteazlar sorumludur (9). WD genellikle 24 – 48 saat sürer. Bu esnada yoğun SC ve endonöral mast hücre proliferasyonu görülür. Mast hücrelerinden histamin ve serotonin deşarjı sonrasında vasküler permeabilite artışı ile bölgeye makrofaj göçü gerçekleşir, bu makrofajlar SC'lerce sensitize edilerek dejenere akson ve myelin debrislerini fagositoza girerler. Farklı makrofaj tiplerinin farklı myelin komponentlerini fagositte ettiği görülmüştür (22). Bu fagositoz süreci bir hafta ile birkaç ay arasında sürebilmektedir (20, 23). Hasar sonrası ilk 24 saat içinde aktive olan SC'ler önce dediferansiye olarak proliferer olur, ardından da rediferansiasyona uğrar (24). Bir yandan onarım sürecinde gerekli olacak moleküllerin gen

ekspresyonunu yaparken, diğ er yandan WD hattı boyunca proksimal sinir g d ğ u ile son organ arasında birbiri ardına dizilerek “*Büngner bandı*” denilen lineer bir yapı oluştururlar. SC’lerin bu dizilimi sayesinde rejenere olan proksimal akson g d ğ unun tutunup ilerleyebileceğ i bir bazal membran oluşturulmuş olur.

Distalde tüm bunlar olurken, proksimalde de önemli değişiklikler meydana gelir. Nöron gövdesinde hücresel şişme olur ve hasar sonrası 6 saat içinde santraldeki nükleus hücre gövdesinin periferine g   eder. Nükleustaki Nissl cisimcikleri ve kaba endoplazmik retikulum parçalanır (kromatolizis). Nöron gövdesinin dendritlerinin kurduğu sinaptik bağlantılar ayrılır ve dendritlerin etrafı glial veya satellit hücrelerce sarılarak çevreden izole edilir. Nörotransmitter  retimi azalır, elektrik iletim faaliyeti durma noktasına gelir ve hücre bu aşamadan sonra enerjisini sinir iletimi yerine, akson rejenerasyonunda gerekecek temel yapıtaşlarının sentezine odaklar. Hasar bölgesinde proksimal g d ğ un etrafında yer alan SC’ler degrade olur, akson çapı belirgin düşer. Başlangıçta WD’ye benzer retrograd bir dejenerasyon olur, ancak bu genellikle 1 cm kadar ilerleyip Ranvier boğumlarından birinde durur. Hücre gövdesine yakın ve şiddetli hasarlanmalarda retrograd dejenerasyon ile hücre gövdesi de dejenere olup nöronal ölüm gerçekleşebilmektedir. Hasarlı sinirlerde %20 – 50 oranında apoptotik hücre ölümü bildirilmektedir. Bu apoptozis kraniyal ve sensoryal sinirlerde daha sık gözlenmektedir (20, 25).

Ağır zedelenmelerde (Sunderland 3, 4 ve 5. derece), sinirde intrafasik ler kanama ve  dem gelişmektedir. Endonöral t p ve SC’lerin bütünlüğü bozular. Sinirin bu segmentinde fibroblast proliferasyonu ile skar dokusu gelişimi olur ve

bu skar dokusu sıklıkla perinöral skar ile devamlılık gösterir. Bu, ileride gelişecek rejenerasyon sürecini önemli oranda sekteye uğratan bir durumdur.

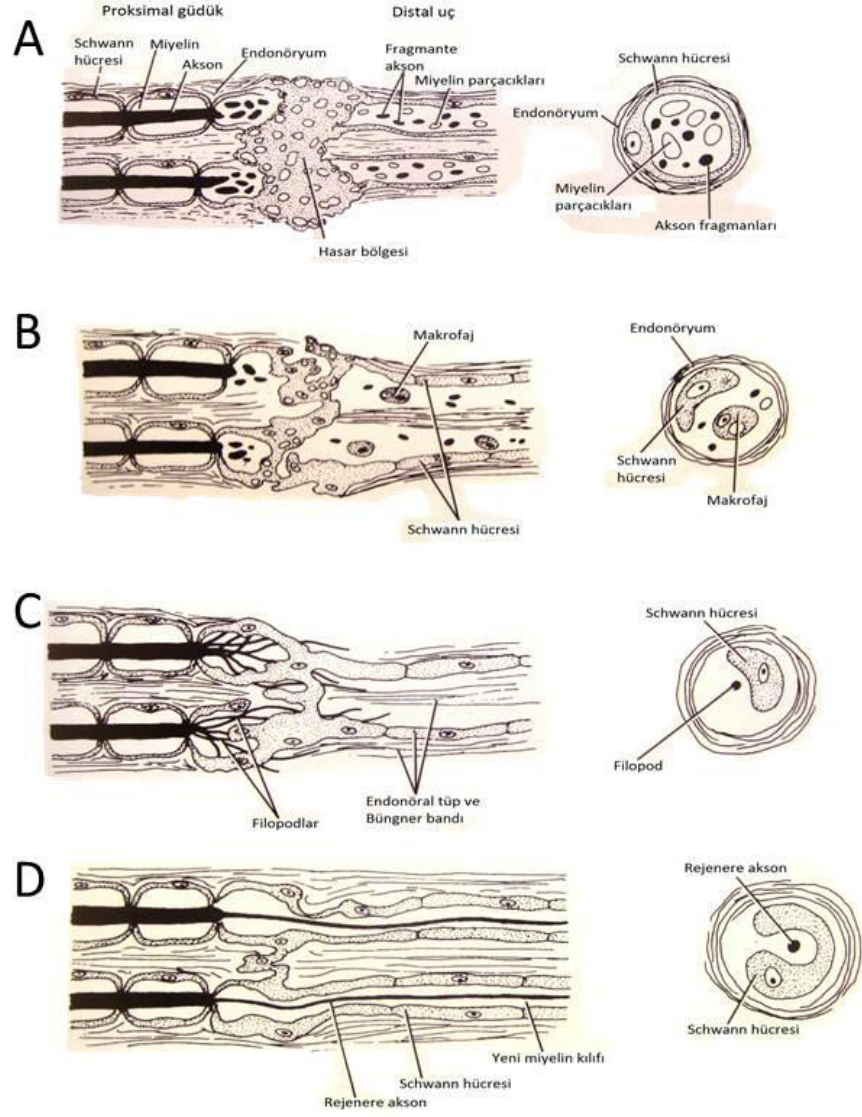
Wallerian dejenerasyon sonrası hasarın şiddetine bağlı olarak birkaç saat ile birkaç hafta arasında proksimal aksonda rejeneratif süreç başlar. Rejeneratif sürecin başladığının ilk belirtisi kromatolizisin geri dönmesidir. Nükleus tekrar santralize olur ve nükleoproteinler Nissl cisimciklerini oluşturacak şekilde organize olur. Aksonun ucundan tomurcuklanmalar başlar ve “filopod” denilen anten benzeri uzantılar gelişir. Eş zamanlı olarak Büngner bandındaki SC’lerde nöral büyüme faktörü (NGF) reseptörleri eksprese edilir. Filopodlar hedef organlar, SC’ler ve fibroblastlardan salınan NGF moleküllerini tutarak Büngner bandındaki NGF reseptörlerine tutunur. Bu reseptörlere bağlanmış NGF moleküllerini retrograd aksonal transportla devamlı olarak nükleusa iletir ve böylelikle hücre gövdesine, “rejenerasyonun başarıyla ilerlemekte olduğu” mesajını verir. Bu sayede de, akson membranının sentezi devam ettirilir. Büngner bandıyla temas sağlandıkça, rejenere akson filopodların yapısındaki “aktin” molekülleri sayesinde ameboid bir hareketle distale doğru ilerler. Rejenere olan aksonun ucundan salgılanan proteazların, yol üzerindeki remnant partikülleri erittiği varsayılmaktadır. Aksonal rejenerasyon hızı, değişmekle birlikte 1 mm/gün olarak kabul edilir (9, 20, 25).

Rejenerasyonun süresi ve başarısı travmanın şiddeti ve aksonun hedef organa uzaklığı ile ters orantılıdır. Şiddetli hasarda gelişen fibrozis, iyileşmeyi olumsuz etkiler. Rejenere olan aksonlar bu fibrotik skar dokusuna çarparak yön değiştirebilir veya penetre ederek yolunda ilerleyebilir. Fibrozis varlığında

Büngner köprüleri de sağlıklı bir şekilde kurulamamaktadır. Bazen bu doku içinde hapsolup yumak şeklinde rejenerasyonu sürdürebilirler, bu da “*nöroma*” gelişimi ile sonuçlanır. Hedef organa olan uzaklık arttıkça, rejenerasyon için gereken süre de artmaktadır. Sinir hücresinin aksonunun kalibrasyon ve uzunluğunu artırma kabiliyeti, temel yapıtaşlarını sentezleme ve distale transport hızı ile ilişkilidir. Rejenerasyona başlayan nöronların, bunu 12 ay boyunca devam ettirebildiği görülmüştür. Ancak hasardan 3-4 ay sonra endonöral tüplerde progresif daralma olmakta ve aksonal tomurcuğun ilerlemesi güçleşmektedir.

Rejenere olan aksonu kendi endonöral tüpüne yönlendiren bir tropizm henüz bulunamamış olmakla birlikte, ilginç bir şekilde motor ve duysal aksonlar genellikle kendi hedef organlarına yönelme eğilimindedir. Farklı nöron tiplerinin rejenerasyon kapasitesi de farklıdır. Sensoryal nöronlar motor nöronlara göre daha zayıf rejenere olur. Siyatik sinir hasarı sonrasında motor nöronların ancak %71’inin tekrar uygun bağlantı kurabildiği görülmüştür (26). Gamma-motor nöronlar ise alfa-motor nöronlara göre daha zayıf rejenere olmaktadır. Kraniyal ve spinal sinirlerin iyileşme süreçleri açısından bir farklılık görülmemiştir (27). Denerve kas dokusu geç dönemde atofiyeye uğrar, ancak sinaptik katlantıların 12 ay boyunca korunduğu görülmüştür. Şayet rejenere olan sinir hedef organa ulaştığında organ fonksiyonunu yitirmiş ise rejenerasyon iptal olur ve sinir hücresi apoptozise uğrar. Rejenerasyon uygun şekilde tamamlandığında sinir hücresinin fonksiyonu tama yakın geri döner, ancak akson çapı orijinal boyutuna ulaşamaz. Büngner bandındaki SC’lerce tekrar myelinize edilir. Rejenere sinirler, tekrar

rejenere olabilme yeteneğine sahiptir (20, 28). Dejeneratif ve rejeneratif süreçler Resim 6’da şematize edilmiştir.



Resim 6. Aksonal hasarın aşamaları. A, B) Dejenerasyon, C, D) Rejenerasyon safhaları.

2.3.2. PERİFERİK SİNİR ONARIMININ MEDIATÖRLERİ

Pek çok sisteme ait hücre ve molekül PS onarımını etkilemektedir. Başlıcaları mediatörler arasında sitokin ve kemokinler, nörotropik faktörler, kompleman sistemi, araşidonik asit metabolitleri ve proinflamatuvar transkripsiyon faktörleri sayılabilir.

2.3.2.1. SİTOKİN VE KEMOKİNLER

Sitokin ve kemokinler; kemotaksis, lenfoproliferasyon, pro- ve anti-inflamatuvar etkinlik gibi immuno-modülatör etkileri olan mediatörlerdir. Sitokinler, nöroinflamasyonun ana mediatörleridir ve özellikle nörodejeneratif süreçlerde rol oynarlar. İnterlökin-1 (IL-1) ve tümör nekroz faktörü- α (TNF- α)'nın, diğer mediatörlerle birlikte makrofajlar için kemoatraktan rolü bulunmaktadır. Travma sonrasında PS'de IL-1 ve TNF- α ekspresyonunun oldukça arttığı ve makrofaj adezyonuna katkı sağladığı görülmüştür. TNF- α 'nın WD'na; IL-1'in ise NGF ve lösemi inhibe edici faktör (LIF) üzerinden rejenerasyona katkısı olduğu görülmüştür. TNF- α aynı zamanda makrofajlar için güçlü bir kemoatraktan olan matriks metalloproteinaz-IX üretimini stimule etmektedir. Başlıca SC'lerden, daha az oranda da fibroblast ve makrofajlardan salınan IL-6'nın NGF ailesinden nörotrofinleri aktive ederek aksonal büyümede etkisi olduğu düşünülmektedir. IL-10, granulosit-monosit koloni stimule edici faktörü (GM-CSF) inhibe ederek makrofaj aktivasyonunu kısıtlamaktadır. Schwann hücreleri de dejeneratif sürecin sonlandırılmasında IL-10 salgılayarak katkıda bulunmaktadır. IL-1 ailesinden olan IL-18 de dejeneratif süreçte önemli rol

oynamaktadır. IL-15 T-hücre kemoatraktanıdır ve süpresör T-hücre migrasyonu yoluyla dejeneratif süreci sınırlar. Periferik sinir hasarında IL-2, 8, 12 ve interferon- γ (IFN- γ)’nın da arttığı gözlenmiş, ancak kesin etkinlikleri saptanamamıştır (23).

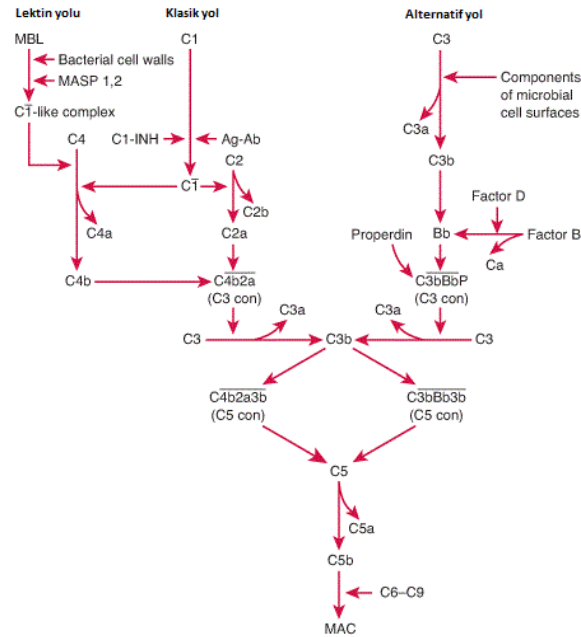
2.3.2.2. NÖROTROPİK FAKTÖRLER

“Nörotropi” rejenere sinirin tropizmasını ifade ederken, “nörotrofi” aksonal büyümeyi ifade etmektedir. Ancak genel pratikte her iki anlam için “nörotropi” terimi kullanılmaktadır. Periferik sinir hasarında etkili olan nörotropik faktörler (NTF) arasında nörotrofin ailesinden NGF, BDNF (beyin kaynaklı büyüme faktörü), NT-3, NT-4 ve NT-5 bulunur. Bunlar transmembran tirozin kinaz (Trk) reseptörleri üzerinden etki ederek nöronal sağ kalım ve aksonal büyümeyi indüklemektedir. GDNF (glia kaynaklı nörotropik faktör) ise TNF- β varlığında motor nöronlar dışındaki aksonlarda nörotropik etki gösterir. CTNF (siliyer nörotropik faktör) ise IL-6 ailesinin üyesi olan bir NTF’dir ve hücre içi Jak/Tyk tirozin kinazlar üzerinden etki ederek nörotropik etkinlik gösterir (29, 30). Nörotropik faktörler, hedef doku ve inflamatuvar hücrelerden salınarak sinir rejenerasyonunu uyarır. Periferik sinir hasarında yine nörotropik etkinliği olan insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), apolipoprotein-E ve hepatik büyüme faktörü (HGF)’nin de lokal ekspresyonunun arttığı görülmüştür (31). Periferik sinir hasarında NTF ligandı olan c-SRC ve c-Fyn gibi tirozin kinazların da aksonal ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir (32). Ayrıca SC’lerin rejenerasyon

sırasındaki fonksiyonlarını regüle eden nörogulin-1 (NRG-1) ve epidermal büyüme faktörü reseptörü-B (ErbB) aktivitesi artmıştır (33).

2.3.2.3. KOMPLEMAN SİSTEMİ

Periferik sinir hasarında kompleman sistemi klasik, alternatif ve lektin yolları ile aktive olmaktadır (Resim 7). Bu yollar sonuçta C3, C5, opsoninler, kemoatraktanlar, C5b6789 (membran atak kompleksi; MAC) oluşumu ile sonuçlanmaktadır. Hasarlı PS etrafında C4 ve kompleman inhibe edici faktör (CIF) ekspresyonu belirgin derecede artar. Kompleman sistemi bölgeye makrofaj göçünü artırır, makrofajların yüzeyindeki tip-III kompleman reseptörleri degrade myelinlere tutunmuş C3'ü tanır ve fagositozunu sağlar. Kompleman sistemi özellikle dejeneratif süreçte aktif rol oynamaktadır. Ancak, MAC çevredeki sağlıklı aksonlara da saldırarak akson kaybını artırır (23, 34).



Resim 7. Kompleman sistemi

2.3.2.4. PROİNFLAMATUVAR TRANSKRİPSİYON FAKTÖRLERİ

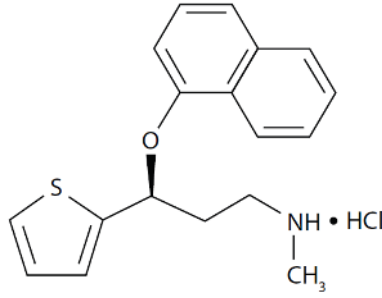
Transkripsiyon faktörleri, hücre nükleusuna girerek gen ekspresyonu ve çeşitli moleküllerin sentezini yaptırabilme yeteneğine sahip bir dizi moleküldür. Bunlardan özellikle NF- κ B (nükleer faktör- κ B), c-Jun ve Toll-like reseptörlerin (TLRs) PS hasarında arttığı gözlenmiştir. NF- κ B, WD'nin başlatılması, rejenere olan nöronun yaşam süresinin artırılması ve SC'lerden myelin sentezinin artırılmasından sorumludur. C-Jun ise SC'lerden salınmakta ve aksonal büyümeyi artırırken myelin sentezini azaltmaktadır. TLRs ise NF- κ B ve c-Jun'un ortak aktivatörüdür. İnflamasyon, sitokin üretimi ve antijen tanınmasına aracılık eder. Subtiplerinden TLR4'ün dejeneratif süreci, TLR2 ve 3'ün ise sitokin yapımını indüklediği görülmüştür (23, 30).

2.3.2.5. ARAŞİDONİK ASİT METABOLİTLERİ

Araşidonik asitler, hücre membran fosfolipidlerinden üretilmektedir ve siklooksijenazlar (COX) ile prostaglandinlere; lipoksijenazlar (LOX) ile de lökotrienlere dönüşmektedir. Periferik sinir hasarı sonrası makrofaj ve SC'lerde COX1 ve COX2 ekspresyonu; dolayısıyla da prostaglandin sentezi artar. Prostaglandinler, nöronal remodelling'e (şekillendirme) katkı yaparak rejenerasyonu hızlandırır. COX2 inhibitörlerinin de olumlu rejeneratif etkilerinin olması, prostaglandinlerle indüklenen rejenerasyonun daha çok COX1 üzerinden olduğunu düşündürmektedir (35).

2.4. DULOKSETİN

Duloksetin, SNRI grubu bir antidepresandır. SSRI grubu antidepresanlardan farklı olarak, serotoninle birlikte noradrenalin (NA) geri alımını da inhibe etmektedir (Resim 8). Bu inhibisyon etkisi özellikle frontal korteks, hipotalamik sinaptofiziner ve hipokampüste görülmüştür. Ayrıca belirli oranlarda dopaminerjik, histaminerjik (H1), adrenerjik, muskarinik, opiat, GABA (gamma-amino bütirik asit) ve substans-P reseptörlerine de daha zayıf olmak üzere etkinliği bulunmaktadır (36, 37, 38).



Resim 8. Duloksetin'in kimyasal yapısı.

Diğer SNRI grubu antidepresanlar venlafaksin ve milnasipran'dır. Duloksetin, SNRI grubu içinde en potent olandır ve diğerlerinden farklı olarak serotonin ve NA'ya karşı rölatif olarak daha dengeli afinite gösterir (39, 40, 41, 42). Duloksetin'in SSS'de dikkat çekici nöroprotektif etkileri gösterilmiştir. Stres ve depresyon altında adrenal glukokortikoidlerin etkisiyle özellikle frontal kortikal ve hipokampal noradrenerjik ve serotonerjik nöron kaybı gelişmektedir. Duloksetin'in bu kaybı azalttığı görülmüştür. Erişkin memeli beyinde nöral kök hücreler olfaktor bulbus ve hipokampüsün dentat gyrusunda bulunmaktadır. Olfaktor bulbusa ise bu kök hücreler subventriküler zon'dan (SVZ)

sağlanmaktadır. Serotonini artıran antidepresan ilaçların bu progenitör kök hücrelerin miktarını ve yaşam süresini artırdığı görülmüştür (4). Ayrıca duloksetin'in frontal kortekste sinaptosomal BDNF miktarını artırdığı saptanmıştır (5). Bu etkilerinden ötürü duloksetin, majör depresif bozukluk tedavisi için 2004 yılında FDA onayı almıştır (37).

SNRI grubu antidepresanların bu etkilerinin yanında kronik nöropatik ağrı formlarında analjezik etkinliği saptanmıştır (43, 44, 45). Duloksetin'in nöropatik ağrı gelişimini önleyici bir etkisi bilinmemekle birlikte, özellikle diabetik periferik nöropatide analjezik etkinliği bulunmuştur (40). Bu analjezik etkinlik, ağrı inhibitörü olan inen yollarda sinaptik serotonin ve NA miktarını artırmasından kaynaklanmaktadır. 2004 yılından beri diabetik periferik nöropatik ağrı için de FDA onayı bulunan ajan, ilk tercih olarak kullanılabilir (37, 46). 2007'de yaygın anksiyete bozukluğunda da FDA onayı alan ajanın diğer çalışmalarda fibromiyalji sendromu ve stres üriner inkontinansta da olumlu etkileri gösterilmiştir (37, 47).

Duloksetinin ticarî preparatı duloksetin hidroklorür şeklindedir. 30 ve 60 mg'lık kapsüller halinde hazırlanmıştır.

Duloksetin, büyük oranda karaciğerde metabolize edilmektedir. Eliminasyon yarı ömrü ortalama 12 saattir. Kararlı serum plazma düzeyine genellikle üç günlük dozdan sonra ulaşılır. Metabolizasyonundan sitokrom P-450 izoenzimleri olan CYP2D6 ve CYP1A2 sorumludur. Albumin ve α -1 asit glikoprotein başta olmak üzere plazma proteinlerine yüksek oranda (%90<)

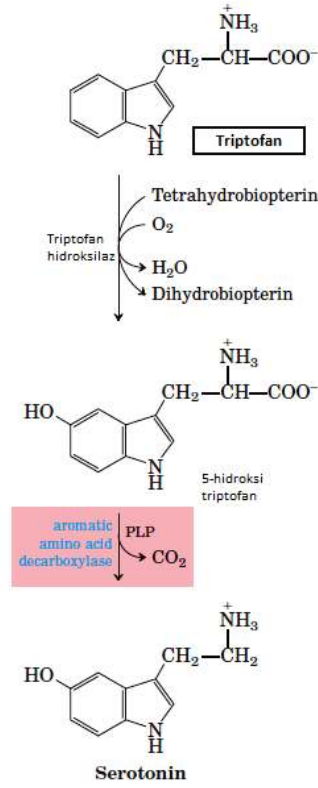
bağlanır. Ekskresyonu büyük oranda idrarla, daha az oranda da gaita ile olur (40, 48, 49).

Duloksetin, ilaca karşı hipersensitivitesi olanlarda, kontrol altına alınamayan dar açılı glokomda, kontrolsüz hipertansiyonda, ciddi renal fonksiyon bozukluğunda ve karaciğer yetmezliğinde kontrendikedir. Mono-amino oksidaz (MAO) inhibitörleri ile eş zamanlı kullanılmaz. Pediatrik yaş grubunda mümkünse kullanılmamalı, 24 yaşına kadar olan hastalarda suicidal eğilime dikkat edilmelidir. Ayrıca mani-hipomani aktivasyonu, epileptik nöbetler ve kontrollü dar açılı glokomda dikkatli kullanılmalıdır. İlacın kesilmesi sonrasında sersemlik, bulantı, baş ağrısı, parestezi, kusma, irritabilite ve kabuslar gibi yan etkiler görülebilir. Yaşlılarda ek yan etkiler görülmemiştir, bağımlılık potansiyeli yoktur. Gebelik kategorisi C'dir, araç ve makine kullananlarda dikkatli kullanılmalıdır. Majör depresyonda önerilen günlük dozu 60 mg'dır. Daha yüksek dozların ek faydası görülmemiştir (48, 49).

2.5. SEROTONİN VE NORADRENALİN

2.5.1. SEROTONİN

5-Hidroksi triptamin (5-HT) olarak da bilinen serotonin bir indolamin NTM'dir ve SSS'deki yolları yaklaşık olarak NA'ya benzer. Serotonin, beyin hücreleri dışında kan trombositleri, barsaktaki enterokromafin hücreler, mast hücreleri ve pineal glandda da bulunmaktadır. Esansiyel bir amino asit olan triptofandan sentezlenir ve sinir terminallerindeki veziküller veya granüller içinde depolanır (Resim 9).



Resim 9. Triptofandan serotonin sentezinin şematik gösterimi (50).

Serotonerjik nöronlar beyinde esasen raphe nükleusunda bulunmaktadır. Ancak tüm SSS ve PSS boyunca serotonerjik nöronlara rastlanabilmektedir. Omurilikte santral kalıp jeneratöründe (CPG) bulunurlar ve motor nöronların membran potansiyelini ritmik olarak düşürerek eksitabiliteyi modüle ederler (51). Serotoninin 7 çeşit reseptörü tanımlanmıştır (Resim 10).

	5-HT ₁	5-HT ₂	5-HT ₃	5-HT ₄	5-HT ₅	5-HT ₆	5-HT ₇
Subtipleri	5-HT _{1A} , 5-HT _{1B} , 5-HT _{1D} , 5-HT _{1E} , 5-HT _{1F}	5-HT _{2A} , 5-HT _{2B} , 5-HT _{2C}	5-HT _{3A} , 5-HT _{3B}		5-HT _{5A} , 5-HT _{5B}		
Majör sinyal yolu	cAMP↓	IP ₃ ↑	iyon kanalı	cAMP↑	cAMP?	cAMP↑	cAMP↑

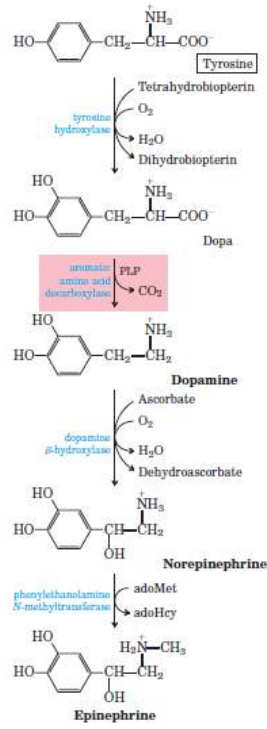
Resim 10. Serotonerjik reseptörler (52).

5-HT reseptörleri SSS, PSS ve bazı iç organlarda yaygın olarak bulunmaktadır. 5-HT₃ reseptörü hariç diğer tüm subtipler G proteini aracılı sekonder mesajcı sistemler (cAMP: siklik adenosin monofosfat ve IP₃: inozitol trifosfat) üzerinden işlev görür. 5-HT₃ reseptörü ise PSS'de bulunan bir reseptördür ve ligand kapılı iyon kanalıdır. Aktive olduğunda nöron membranından Na⁺ ve Ca⁺⁺ alımı ile K⁺ atılımını sağlar. Bu da eksitabilitede artış ve aksiyon potansiyelinin modülasyonu ile sonuçlanmaktadır. Ayrıca spinal dorsal kök ganglionlarında da 5-HT reseptörleri gözlenmiştir (52, 53, 54).

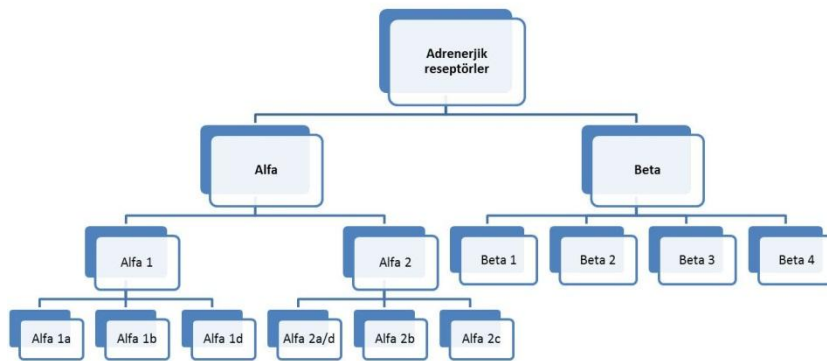
2.5.2. NORADRENALİN

Noradrenalin SSS'de locus coeruleus başta olmak üzere pek çok yerdeki noradrenerjik nöronlarda bulunmaktadır. Periferik sinir sisteminde ise sempatik otonomik sistemin ana NTM'sidir ve post-ganglionik liflerden salınmaktadır. Esansiyel bir amino asit olan fenilalaninin tirozine hidroksilasyonu sonrasındaki basamaklarda sentezlenen bir katekolamindir. Sentezi, dopamin ve epinefrin sentezi ile iç içedir. Sinir terminalinde sentezlenen NA, ATP, Ca⁺⁺, nöropeptid-Y ve kromogranin ile işbirliği halinde sinaptik veziküllerde depolanır (51, 55) (Resim 11).

Noradrenalin, vücutta çok yaygın olan α ve β adrenerjik, G proteini bağımlı reseptörler üzerinden etki eder (55, 56) (Resim 12). Periferik sinir sistemi rejenerasyonu sırasında rejenere olan aksonların ucundan NA salınmakta ve makrofajlardan IL, prostaglandin ve TNF salınımı regule edilmektedir (25).



Resim 11. Noradrenalin (norepinefrin) sentez basamakları (50).



Resim 12. Adrenergik reseptörler (55).

2.6. PERİFERİK SİNİR REJENERASYONUNUN DENEYSEL YOLLA DEĞERLENDİRİLMESİ

2.6.1. DENEY MODELLERİ

Periferik sinir rejenerasyonunun değerlendirileceği çalışmalarda kullanılan modeller kabaca aksonotmezis ve nörotmezis modelleri olarak ayrılabilir. Genellikle rejenerasyona bir ajanın etkilerinin araştırıldığı deneylerde sinir ezilmesi ve dondurulması şeklindeki aksonotmezis modelleri; cerrahi onarım tekniklerinin araştırıldığı deneylerde ise transseksiyon (sinir kesisi) ile oluşturulan nörotmezis modelleri kullanılır. Denek olarak genellikle fare veya rat gibi rodentler kullanılmaktadır. Periferik sinirin kalibrasyonu ve uzunluğu, cerrahi alanın genişliği, fonksiyonel ve elektrofizyolojik değerlendirmelerin daha kolay yapılabilmesi, ratlar lehine tercih sebepleridir. Pluri-fasiküler mikst sinirler ile farklı boyutlarda aksonlar içermesi ve rejeneratif yeteneğinin yüksek oluşu nedeniyle sıklıkla siyatik sinir kullanılmaktadır (57, 58).

Aksonotmetik yaralanma modellerinde 4-6 haftalık izlem değerlendirmeler için yeterli olurken, nörotmetik modellerde 8-12 hafta civarında izlem gerekir. Literatürde bir yıla varan uzun dönem izlemlerin yapıldığı deneyler de mevcuttur (57, 59, 60, 61, 62). Sinir ezilme modellerinde başta forceps ile sıkıştırma gibi teknikler uygulanırken, anevrizma kliplerinin gelişmesi ile daha standardize modeller oluşturmak mümkün olmuştur. Lazer koagulasyon, elektroporasyon gibi yöntemler de denenmektedir (62, 63).

2.6.1.1. RAT SİYATİK SİNİR ANATOMİSİ

Rat omurgası 7 servikal, 13 torakal, 6 lomber, 4 sakral ve ortalama 27 adet kaudal vertebradan oluşur. Siyatik sinir, L4-6 segmentlerinden kaynaklanmaktadır. Uyluk posteriorundan ilerleyerek popliteal fossadaki yağ dokusunun yakınında tibial ve peroneal dallara ayrılır. N. Tibialis distalde sural dalı verirken, peroneal sinir kutanöz dalı verir. Bazen de tibial, peroneal ve kutanöz peroneal sinirleri içeren bir trifukasyon görülür. Rat siyatik siniri yaklaşık 27000 akson içermektedir. Bunların %6'sı myelinli motor, %48'i myelinsiz sensoryal, %23'ü myelinli sensoryal ve %23'ü myelinsiz sempatik liflerdir (64, 65, 66, 67) (Tablo 2). Gastrokinemius ve soleus kasları siyatik sinir ile innerve olmaktadır.

Tablo 2. Rat siyatik sinirinin farklı anatomik düzeylerdeki akson içeriği (64).

Düzye	Myelinli motor	Myelinli duysal	Myelinsiz duysal	Myelinsiz sempatik
N. Tibialis	1000	3500	5400	3700
N. Peronealis	600	1300	3000	1100
N. Suralis	-	1100	2800	1500
Kutanöz dal	-	400	1800	-

2.6.2. HİSTOPATOLOJİK VE BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

Histopatolojik incelemede akson sayısı ve myelin kalınlığı ölçümü (histomorfometri) PS rejenerasyonu için sık kullanılan bir metottur. Hematoksilen eozin veya toluidin blue ile boyalı preperatlar yüksek magnifikasyonda özel bilgisayar yazılımları ile değerlendirilerek ölçümler yapılır. Bazı antijen ve

moleküllerin değerlendirilmesinde immunohistokimyasal yöntemler kullanılmaktadır (57, 62). Elektron mikroskopik inceleme de daha hassas incelemelerde kullanılmaktadır. Yine bazı doku metabolitlerinin ölçümünde moleküler ve biyokimyasal testlerden faydalanılmaktadır.

2.6.3. FONKSİYONEL DEĞERLENDİRME

Siyatik sinir rejenerasyonun fonksiyonel iyileşme ile değerlendirildiği, gözleme veya elektronik cihazlara dayalı testler mevcuttur. Sık kullanılanlar; (57, 68, 69, 70, 71)

- Pençe kaçırma refleksi latansı
- Otomutilasyon
- Tetanik as kuvveti
- Motor defisit değerlendirmesi
- Sensoryal testler
- Siyatik fonksiyonel indeks ve siyatik statik indeks
- Kinematik testler
 - Karşı ayağın yük taşıma oranı
 - Lezyonlu taraf ayağın yük taşıma oranı
 - Topuk kaldırma testi
 - Catwalk analizi

2.6.4. ELEKTROFİZYOLOJİK DEĞERLENDİRME

Periferik sinir hasarını takiben 6-8 hafta sonra yapılan elektrofizyolojik (EF) ölçümler, deneklerde uygun sonuç vermektedir (59, 60). Daha uzun dönem takiplerde de EF kayıtlarından faydalanılmaktadır. Genellikle bipolar sinir stimülasyonunu takiben gastrokinemius-soleus kas kompleksinden yüzeyel veya iğne elektrotlarla CMAP (bileşik motor aksiyon potansiyeli) ölçümü kullanılır. Ortalama iletim hızı, SEP (somatosensoryal uyarılmış potansiyeller) veya elektrik impedans miyografi de tercih edilebilmektedir (72, 73). Elektrofizyolojik ölçümler her zaman gerçek rejenerasyonu göstermeyebilmektedir. Bunda tekniğin ve uygulayıcının önemi büyüktür. Rodentlerde ölçüm yapılan sinir segmenti ile kas dokusu arasındaki mesafe kısa olduğu için, stimülasyon sinir dışı dokularla da distale yansıyarak yanlış yüksek sonuçlar verebilmektedir. Ayrıca yüzeyel elektrotlarla kayıta çevredeki normal kas dokularının potansiyelleri algılanabilmekte ve yine yanlış ölçümle sonuçlanabilmektedir (74). Rodentlerde daha az invaziv EF kayıt teknikleri geliştirilmeye çalışılmaktadır (75).

2.6.5. KAS ATROFİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Denerve olmuş hedef organdaki değişiklikleri tespit etmeye yönelik değerlendirmelerdir. Histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmelerden faydalanılabilmektedir. Deneylerde sıklıkla kasın yaş ağırlık ölçümü veya kas çapı ölçümü kullanılır. Ancak deneklerin kilo ve yaşları ile kas ağırlıkları değişebileceği için bu ölçümü standardize etmek gerekmektedir. Bunun için de

yaş kas ağırlık ölçümleri genellikle karşı sağlam kas ağırlığı veya deneğin vücut ağırlığına oranlanarak bir indeks elde edilir (76, 77, 78).

Şimdiye dek PS rejenerasyon deneylerinin pek çoğunda kullanılmış değerlendirme yöntemlerinin özeti Tablo-3'te derlenmiştir.

Tablo 3. Ratlarda siyatik sinir rejenerasyonunu değerlendirmeye yönelik uygulanmış çalışma yöntemlerinin özeti (76).

Metot	Değerlendirilen parametre	Çalışma sayısı
Sinir morfolojisi	Akson sayımı	31
	Akson çapı ölçümü	26
	Yoğunluk ölçümü	16
	G-oranı	10
	N-oranı	9
	Başarı oranı	10
Elektrofizyoloji	CMAP	15
	Ortalama iletim hızı	11
	EMG	2
	SEP	1
Kas atrofisi	Kas ağırlık ölçümü	11
	Kas çapı ölçümü	1
Fonksiyonel testler	Otomutilasyon	2
	Tetanik kas kuvveti	7
	Yürüme analizi	17
	Duysal testler	10
Retrograd işaretleme		5

Bunların dışında, çeşitli işaretleyici moleküller kullanarak MR görüntüleme veya yüksek rezolüsyonlu USG gibi görüntüleme faktörleri de değerlendirme sürecinde etkili olabilmektedir (79, 80).

Deneysel sinir rejenerasyonu modellerinde anlamlı sonuç elde etmek için yukarıda bahsedilen değerlendirme yöntemlerinden en az ikisinin kullanılması gerekmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Yerel Etik Kurul Başkanlığı onayını takiben Gazi Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nde (GÜDAM) gerçekleştirilmiştir.

3.1. DENEY DİZAYNI

Toplam 36 adet, ortalama ağırlığı 200-250 gr arasında olan, sağlıklı, dişi Wistar cinsi ratlar kullanılmıştır. Denekler, her bir grup 12 hayvan içerecek şekilde yalancı operasyon (Sham; S), kontrol (C) ve deney (E) gruplarına ayrılmıştır. Her bir grup da kendi içinde 6'şar hayvan içerecek şekilde erken ve geç dönem takip gruplarına ayrıldı. Denekler, 12 saatlik gündüz-gece siklusunda, oda sıcaklığında ve sabit nem aralığında su ve yiyeceğe serbest erişim sağlanarak üçerli hayvanlar şeklinde kafeslere yerleştirildi. Mevcut literatür ışığında erken dönem takip süresi 1 hafta ve geç dönem takip süresi 6 hafta olarak belirlendi (81, 82, 83, 84). Sham grubundaki deneklere yalnızca cerrahi siyatik sinir eksplorasyonu ve üzerine lokal salin solüsyonu (% 0,9 NaCl) uygulandı. Kontrol grubundaki deneklere siyatik sinir ezilme hasarını takiben lokal salin uygulaması yapıldı. Deney grubunda ise siyatik sinir ezilme hasarını takiben lokal salin ve ilki per-operatif olmak üzere 24'er saatlik intervallerle toplam 3 kez intraperitoneal duloksetin enjeksiyonu yapıldı. Erken dönem takip grubundaki deneklere post-operatif 7.günde, geç dönem takip grubundaki deneklere ise post-operatif 42.günde genel anestezi altında elektrofizyolojik değerlendirmeyi takiben

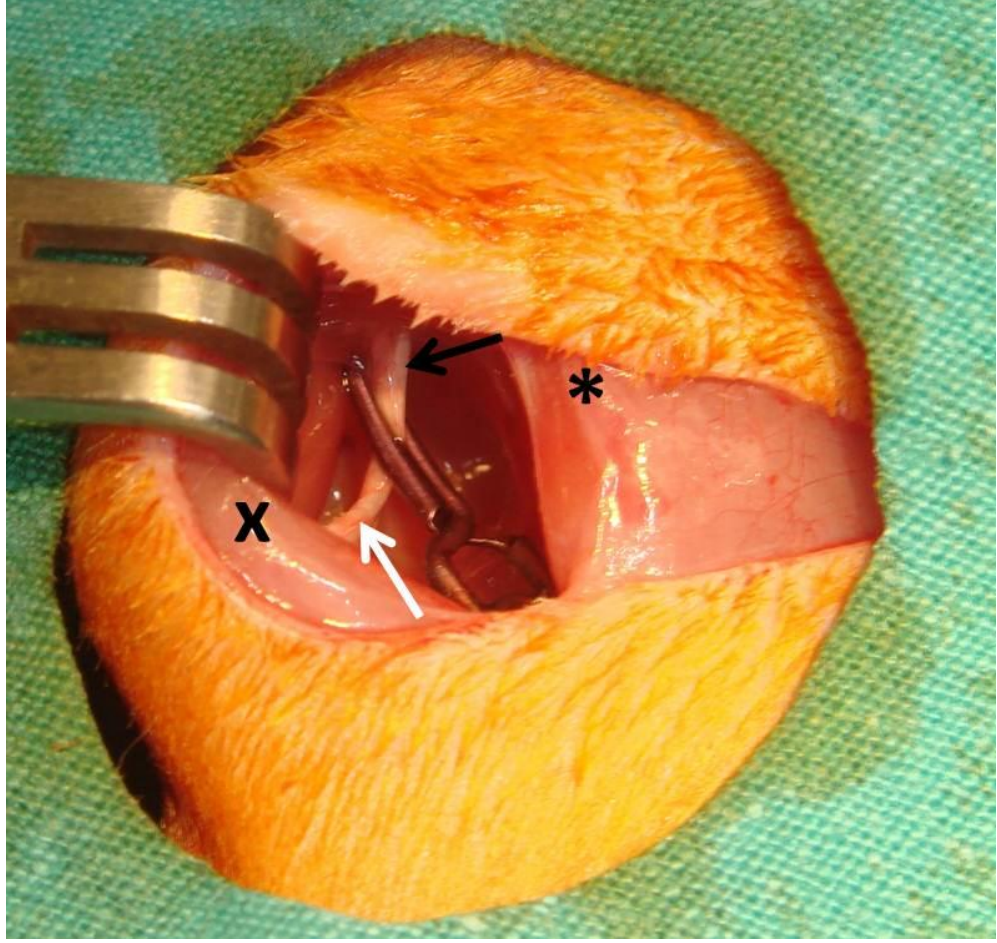
sakrifikasyon uygulandı. Sakrifikasyon sırasında histomorfometrik ölçüm ve yaş kas ölçümü için örnekler toplandı.

3.2. KULLANILAN İLAÇLAR

Deney gruplarının oluşturulması aşamasında uygulanan ilk cerrahi prosedürde anestezi için 60 mg/kg dozunda ketamin hidroklorür (Ketalar®, Eczacıbaşı, Türkiye) ve ksilazin (Rompun®, Bayer, Almanya) 30 mg/kg dozunda intramuskuler (im) olarak uygulandı. Cerrahi süresince gerektiği durumlarda 25 mg/kg im ketamin ile ek doz enjeksiyonu yapıldı. Tüm im enjeksiyonlar için deneklerin sol taraftaki uyluk kasları kullanıldı. Anestezi süresince ve sonraki reanimasyon aşamasında denekler veteriner hekim nezaretinde vital fonksiyonlar ve analjezik ihtiyacı açısından izlendi. İlk cerrahi prosedürün bitiminde 1 mg/kg dozunda duloksetin HCl (Cymbalta®, Lilly, ABD), steril salin solüsyonu ile homojenize edilerek intraperitoneal (ip) yolla uygulandı. Bu ilk dozu takiben 24 ve 48.saatlerde aynı dozda tekrarlayan ip enjeksiyonlar yapıldı. Deneklerin erken ve geç dönem takiplerinde uygulanan cerrahi prosedürlerde ise ksilazin kullanılmadan sadece 60-100 mg/kg im ketamin enjeksiyonu ile anestezi sağlandı ve 25 mg/kg ek dozlarla idame ettirildi. Sakrifikasyon için ise 100 mg/kg dozunda ip sodyum tiyopental (pentobarbital; Pental Sodyum®, İE Ulagay, Türkiye) uygulandı.

3.3. CERRAHİ PROSEDÜR

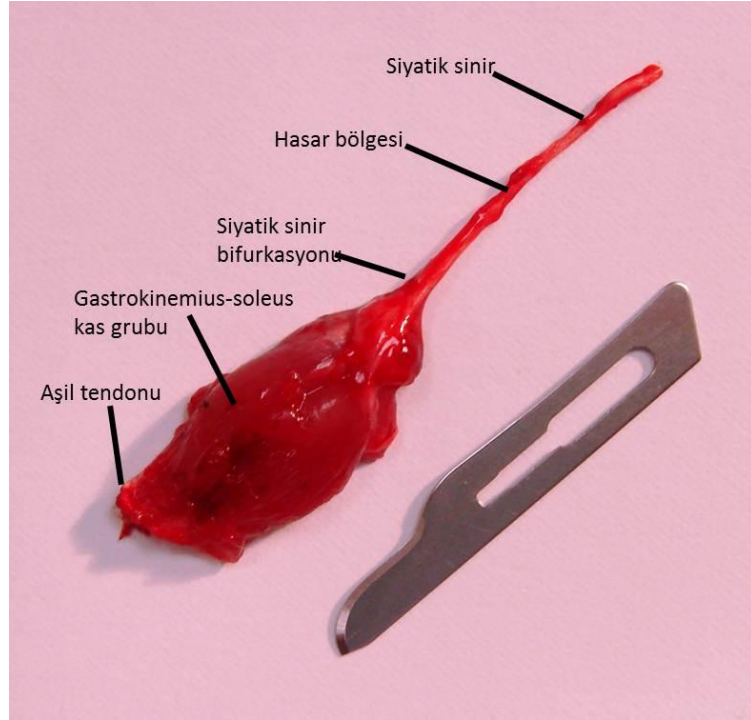
Denekler genel anestezi altında prone pozisyonda, ekstremiteleri abduksiyon postüründe olacak şekilde sabitlendi. Sağ gluteal bölge ve uyluk posterioru traşlandı, povidon iyot ile boyandı, steril olarak örtüldü. İliak krestin hemen altından, orta hattın 1 cm lateralinden başlayıp kurvilineer şekilde popliteal fossaya uzanan, yaklaşık 3 cm'lik cilt insizyonu yapıldı. Cilt altı doku diseke edilerek cilt flepleri laterallere sabitlendi. Yüzeyel gluteal kas grubu iliak krestten serbestleştirilerek vertikal olarak insize edildi ve mediale devrildi. Siyatik sinir ve bifurkasyonu ekspozite edildi. Bu aşamadan sonra yalancı operasyon grubundaki deneklerin siyatik sinirleri üzerine sadece 1 ml. steril salin solüsyonu tatbik edildi ve cilt primer suture edildi. Kontrol ve deney grubunda ise bifurkasyonun 15 mm proksimaline 5 dakika süre ile 50 gr kapanma basıncı olan anevrizma klipi (Yaşargil FE-693) tatbik edildi. Bu 5 dakika boyunca aralıklarla siyatik sinir steril salin solüsyonu ile irrigate edildi. Klip uygulamasının ardından cilt 3/0 monofilaman sütür ile primer suture edildi (Resim 13) (85).



Resim 13. Siyatik sinir klibasyonu. *: İliak krest, x: Yüzeyel gluteal kas grubu, Siyah ok: Siyatik sinir, Beyaz ok: Siyatik sinir bifurkasyonu.

Takip süresince ise erken dönem grubu denekler 1.haftada, geç dönem grubu denekler ise 6.haftada tekrar opere edildi. Bu operasyonlarda denekler kas gevşetici ajan (ksilazin) kullanılmaksızın, yalnızca 60-100 mg ketaminin, sinir lezyonun aksi tarafındaki gluteal kasa enjeksiyonu suretiyle anestetize edildikten sonra aynı pozisyonda sabitlendi. Eski insizyon hattı açılarak ayak bileğine dek uzatıldı. Yüzeyel gluteal kas grubu serbestleştirilerek insize edildi ve mediale devrildi. Siyatik sinir ve bifurkasyonu, dalları ve gastrokinemius-soleus kas grubu

ekspoze edildi. Elektrofizyolojik incelemelerin ardından deneğin siyatik siniri proksimalde pleksusa yakın yerden, distalde ise kas grubuna yapışık şekilde çevre dokulardan ve popliteal yağ dokusundan serbestleştirildi. Sinirin laterale giden peroneal kutanöz dalı distalinden kesilerek serbestleştirildi. Ardından gastrokinemius-soleus kas grubu aşıl tendonundan kesilerek ve tibia'daki origo'sundan serbestleştirilerek en-blok çıkarıldı (Resim 14).



Resim 14. En-blok siyatik sinir ve gastrokinemius-soleus kas grubu eksizyonu.

3.4. ELEKTROFİZYOLOJİK DEĞERLENDİRME

Elektrofizyolojik değerlendirmeler siyatik sinir hasarı sonrası deneklerin yarısında birinci (erken dönem), diğer yarısında 6. haftalarda (geç dönem) yapıldı. Elektrofizyolojik incelemeler Medelec Synergy model elektronöromiyografi

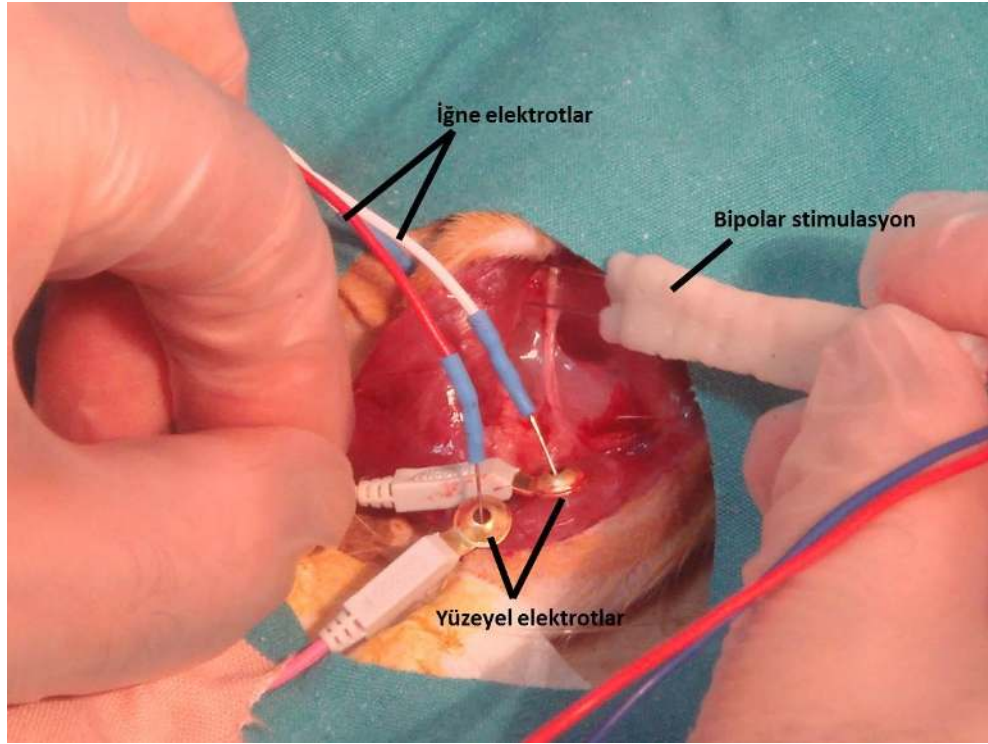
cihazı (Viasys Health Care Systems, Old Woking, UK) ile gerçekleştirildi. Hayvan deneyleri için ayrılan ekipman ile incelemeler sürdürüldü. Deney için kayıtlama elektrotları ve stimülatör elektrotlar kullanıldı. Kayıtlama elektrotu olarak yüzeyel ve iğne elektrotlar aynı anda kullanıldı. Elektrofizyolojik değerlendirme farklı bir hekim tarafından kör olarak gerçekleştirildi. Sonuçlar yine aynı hekim tarafından işlem sırasına göre numaralandırılarak kayıtlandı.

Elektrofizyolojik inceleme motor sinir iletim çalışması şeklinde gerçekleştirildi. Siyatik sinir proksimalinden (bifurkasyonun 20 mm proksimalinden) uyarı elektrotu ile doğrudan sinir uyarımı gerçekleştirildi. Uyarı düşük şiddette başlatılarak supramaksimal uyarımdan emin olunacak şekilde arttırıldı. Uyarı süresi 0.1 msn olarak ayarlandı. Uyarım için kullanılacak iğne elektrotların (Disposable 12mm 0.4mm diameter, 27 gauge subdermal EEG Needles, Viasys Health Care Systems, Old Woking, UK) metal olmayan bölümleri polietilen materyal kullanılarak uçlarında 3 mm aralık olacak şekilde yan yana sabitlendi. Böylelikle stabil bipolar uyarım uygulanması sağlandı. Uyarımda elektrot uçlarının diğer dokulara dokunmamasına ve böylece kas uyarımı ya da diğer sinir yapıların uyarılmamasına özen gösterildi (60, 86).

Kayıtlamada önce yüzeyel elektrotlar yerleştirildi (Reusable “Tangle Free” 6mm gold cup electrodes, 019-772500, Viasys Health Care Systems, Old Woking, UK). Aktif yüzeyel kayıt elektrotu gastroknemius kası göbeğine, referans yüzeyel elektrot ise tendon üzerine yerleştirildi (Resim 15). Ortasında delik olan elektrotlar tercih edildiğinden eş zamanlı iğne elektrot kullanım olanağı elde edildi. Ortadaki delikten iğne elektrot (Disposable 12mm 0.4mm diameter, 27

gauge subdermal EEG Needles, Viasys Health Care Systems, Old Woking, UK) geçirilerek eş zamanlı iğne elektrot kaydının elde edilmesinin yanı sıra elektrotların stabil bir biçimde konumlanması sağlandı. Elektrot yerleştirme için göbek-tendon prensibi dikkate alındı. Bu yöntemle göre aktif kayıt elektrotu kasın en belirgin bölgesine (göbek) ve referans elektrot sessiz olan bölgeye yerleştirilmesi önerilmektedir (87). Böylece iki nokta arasındaki fark en yüksek olacağından aktif elektrotun kayıt edebileceği sinyal oranı artmaktadır. Ayrıca çevresel elektriksel gürültüyü azaltmak için kuyruk bölgesine cilt altı toprak elektrot (iğne elektrot) yerleştirildi. Kayıtlama için ekran hassasiyeti 0,2-10 mV arasında olacak şekilde, süpürme hızı 2ms/div ve filtre aralığı 20-3000 Hz olarak ayarlandı. Supramaksimal uyarımla birleşik kas aksiyon potansiyelleri (CMAP) elde edildi. Elde edilen yüzeysel ve iğne elektrot kaynaklı CMAP'lar üzerinde amplitüt ölçümü gerçekleştirildi. Amplitüt ölçümünde tepeden tepeye ölçüm prensibi kullanıldı. Yani en yüksek ilk negatif ya da pozitif pik ile ters yöndeki en yüksek pik arası ölçüldü ve kaydedildi (87, 88). Veriler bilgisayar hafızasında saklandı. Yanıt elde edilemeyen durumlarda kayıt elektrot yerleri değiştirilerek farklı noktalardan kayıtlama gerçekleştirildi.

Benzer kayıtlamalar araştırmanın 6. haftasında tekrarlandı. Elektrofizyolojik değerlendirme anestezi altında ve diseksiyon tahtası üzerinde gerçekleştirildi. İnceleme ortalama her hayvan için 2-3 dakika sürdü. Bu süre içerisinde sıcaklığın 32°C'nin üzerinde olmasını sağlamak için hayvan sıcak steril örtü ile izlendi.

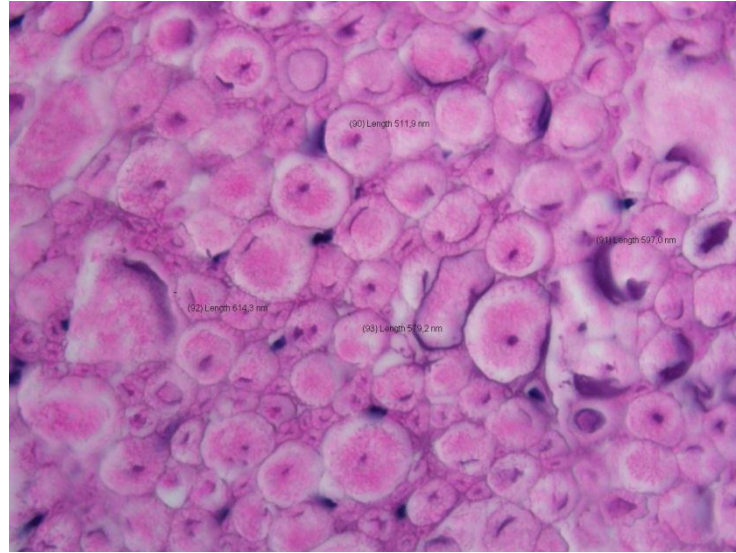


Resim 15. Rat siyatik sinirinde EMG kayıt sistemi.

3.5. HİSTOMORFOMETRİK DEĞERLENDİRME

Sakrifikasyon sırasında eksize edilen en-blok siyatik sinir – kas kompleksi, yaş ağırlık ölçümelerini takiben histomorfometrik inceleme için ayrıldı. İncelemeler, siyatik sinirin bifurkasyonunun 5 mm ile 10 mm proksimali arasında kalan kısmından yapıldı. Tüm dokular tamponlu %10'luk formaldehit içinde 24-48 saat süre tespit edildi. Tespit olmuş dokular makroskopik olarak örneklendi. Örneklemede kas dokusuna girdiği gözlenen periferik sinir transvers kesilerek 4-6 adet örnek alınarak kasetlendi ve rutin olarak takip edildi. Dokular parafin bloklara transvers kesitler halinde gömüldü. Alınan kesitler 3-4 mikrometre kalınlıkta olup bir lam toluidin mavisi, bir lam da hematoksilin & eozin ile boyandı.

Mikroskopik inceleme ışık mikroskopisi ile yapıldı. İncelemede öncelikle bir büyük büyütme alanında kesiti tümüyle izlenen akson sayısı saptandı. Sinir kesitleri uygun alanları seçilerek immersiyon yağı ile 1000’lik büyütme ile incelendi. Bu aşamada akson çevrelerindeki myelin kılıf kalınlığı morfometrik analiz ile mikroskopik olarak ölçüldü. Her bir 1000’lik büyütmede rastgele seçilen, tüm kalınlığı kesitte değerlendirilebilen 4-8 arası aksonda myelin kılıf kalınlığı bu yöntem ile nanometre cinsinden ölçüldü (Resim 16). Rastgele seçilen aksonların kesitteki en kalın myelin tabakasını içerenler arasından seçilmesine çalışıldı. Morfometrik analiz Olympus BX51 mikroskopu, Olympus DP72 kamera sistemi ve DP2-BSW yazılımı kullanılarak yapıldı (Copyright Olympus Corporation). Elde edilen değerler her bir denek için ortalaması alınarak tabloya kaydedildi (60, 61) .



Resim 16. Hematoksilen & Eozin boyamada 1000x büyütmede akson morfolojisi ve myelin kalınlık ölçümü. SC’ler koyu bazofilik gözükmemektedir.

3.6. YAŞ KAS KÜTLE İNDEKSİ ÖLÇÜMÜ

Deneklerden sakrifikasyon sırasında alınan en-blok gastrokinemius-soleus kas kompleksi, histomorfometrik analize ayrılmadan önce yaş olarak hassas tartı ile tartıldı. Ancak, denekler arasındaki yapısal farklılıklar göz önüne alınarak standart bir kas kütle indeksi elde etmek amacıyla deneklerin kilo ölçümlerini de içeren bir formül kullanıldı. Denek, kas kütlesi eksize edilmeden önce tartıldı ve eksize edilen kas dokusu da hassas laboratuvar tartısı ile tartılarak ölçüldü. Formüle göre;

$$\text{Kas kütle indeksi (K}_i\text{)} = \text{Yaş kas ağırlığı} / \text{Hayvanın ağırlığı}$$

şeklinde hesaplandı.

Literatürde, buna alternatif olarak karşı taraf kas kütlesi ile mukayese yapılan çalışmalar da görüldü (76). Ancak çalışmamızda karşı taraf gluteal kas içine ve dolayısıyla siyatik sinir etrafına anestezi madde enjeksiyonu yapıldığı için bu yöntem benimsenmedi.

3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Tüm istatistiksel analizler SPSS for Windows 15.0 ile gerçekleştirildi. Parametrelerin ortalama ve ortanca değerlerinin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Parametrelerin erken ve geç dönem arasındaki farklılıklarını karşılaştırmak için ise Mann Whitney-U testi kullanıldı. Deneyde kullanılan inceleme yöntemlerinin birbiri ile olan korelasyonunu saptamak için ise

Pearson korelasyon testinden faydalanıldı. P değerinin 0.05'in altında olduğu sonuçlar istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. ELEKTROFİZYOLOJİK İNCELEME BULGULARI

Elektrofizyolojik incelemede elde edilen CMAP değerleri milivolt cinsinden amplitüdler olarak yüzeyel ve iğne elektrot ölçüm sonuçları olarak sınıflandırıldı. Erken dönemde yapılan ölçüm sonuçları Tablo 4'te; geç dönemde yapılan ölçüm sonuçları ise Tablo 5'te görülmektedir.

Tablo 4. Erken dönem yüzeyel ve iğne CMAP ölçüm değerleri (mV).

	Rat	Yüzeyel amplitüt	İğne amplitüdü
Sham grubu	s1l	37,5	34,7
	s1r	23,8	46,6
	s1o	31,1	37,6
	s2l	37,8	47,8
	s2r	34	36,7
	s2o	41,1	58
Kontrol grubu	c1l	0,54	0,5
	c1r	2,6	3,3
	c1o	4,7	6,5
	c2l	3,1	3,6
	c2r	1,7	2,2
	c2o	2,5	3,4
Deney grubu	e1l	0,7	2,1
	e1r	2,8	3,2
	e1o	2,8	4,5
	e2l	3,6	4,3
	e2r	4,9	6,7
	e2o	1,2	1,6

Tablo 5. Geç dönem yüzeyel ve iğne CMAP ölçüm değerleri (mV).

	Rat	Yüzeyel amplitüt	İğne amplitüdü
Sham grubu	s3l	25	26,8
	s3r	23,6	31
	s3o	27,9	36,1
	s4l	30,7	22,4
	s4r	25,7	23,4
	s4o	34,4	29
Kontrol grubu	c3l	17,2	18,7
	c3r	26,2	20,4
	c3o	30,9	24,5
	c4l	41,5	31,6
	c4r	19,8	14,8
	c4o	28,9	23,6
Deney grubu	e3l	41,4	25,2
	e3r	29,8	21,1
	e3o	28,3	25,8
	e4l	23,1	15,2
	e4r	21,7	19,1
	e4o	29,5	35,1

Sonuçlara bakıldığında erken dönemde hem yüzeyel, hem de iğne elektrot ile CMAP ölçümlerinde, deney ve kontrol grubunda sham grubuna göre belirgin bir düşme göze çarpmaktadır. Geç dönemde ise ölçüm değerlerinin tekrar yükseldiği görülmektedir. Yüzeyel elektrot CMAP ölçümleri açısından her grubun erken ve geç dönem sonuçları grup içinde karşılaştırıldığında şu sonuçlar görülmektedir; (Tablo 6, 7, 8).

Tablo 6. Sham grubunun yüzeyel CMAP amplitüdü erken dönem-geç dönem ölçümleri. *Mann Whitney-U testi.

Sham Grubu	Erken Dönem	Geç Dönem	*U=7.0 p=0.07
Ortalama±SD	34.2±6.11	27.8±4.04	
Ortanca (min-max)	35.75 (23.80-41.10)	26.80 (23.60-34.40)	

İki grup arasında yüzeyel CMAP amplitüdü ölçümleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 7. Kontrol grubunun yüzeyel CMAP amplitüdü erken dönem-geç dönem ölçümleri. *Mann Whitney-U testi.

Kontrol Grubu	Erken Dönem	Geç Dönem	*U=0 p=0.004
Ortalama±SD	2.52±1.39	27.4±8.6	
Ortanca (min-max)	2.55 (0.54-4.70)	27.50 (17.2-41.5)	

İki grup arasında yüzeyel CMAP amplitüdü ölçümleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p<0.05$). Geç dönem ölçümleri daha yüksektir.

Tablo 8. Deney grubunun yüzeyel CMAP amplitüdü erken dönem-geç dönem ölçümleri. *Mann Whitney-U testi.

Deney Grubu	Erken Dönem	Geç Dönem	*U=0 p=0.004
Ortalama±SD	2.66±1.54	28.9±6.9	
Ortanca (min-max)	2.80 (0.70-4.90)	28.90 (21.7-41.4)	

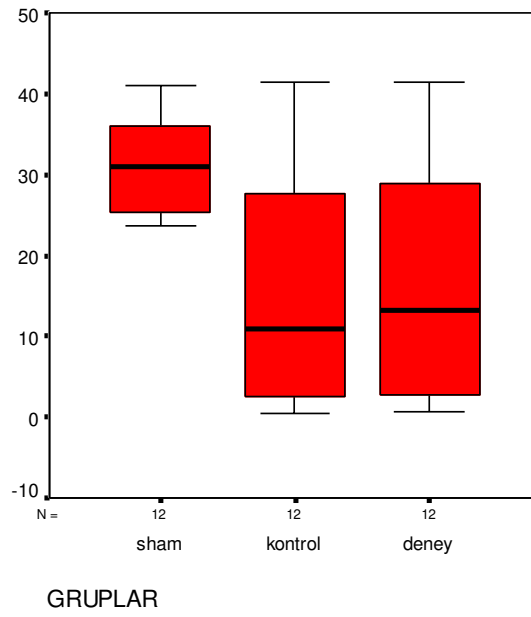
İki grup arasında yüzeyel CMAP amplitüdü ölçümleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.05$). Geç dönem ölçümleri daha yüksektir. Ancak kontrol ve deney grupları karşılaştırıldığında geç dönemdeki yükselmeler açısından iki grup arasında belirgin bir fark bulunamamıştır.

Dönemden bağımsız olarak gruplar arasındaki yüzeyel CMAP amplitüdlerinin karşılaştırmasında aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir (Tablo 9), (Resim 17).

Tablo 9. Grupların yüzeyel CMAP amplitüdü ortalamaları ve ortancaları. *Kruskal-Wallis Testi.

	Sham Grubu	Kontrol Grubu	Deney Grubu	*K=9.16 p=0.01
Ortalama±SD	31.1±5.9	14.9±14.2	15.8±14.5	
Ortanca (min-max)	30.9 (23.6-41.1)	10.9 (0.54-41.5)	13.3 (0.70-41.4)	

Üç grup arasında yüzeyel CMAP ölçümleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.05$). Bu fark sham grubundan kaynaklanmaktadır. Sham grubunun ortalama ve ortancası diğer gruplara göre yüksektir.



Resim 17. Yüzeyel CMAP amplitüdü ölçümlerinin gruplar arasındaki dağılım grafiği.

İğne elektrot CMAP değerlerinin erken ve geç dönemde her grup için yapılan karşılaştırma sonuçları ise Tablo 10, 11 ve 12’de gösterilmiştir.

Tablo 10. Sham grubunun iğne CMAP amplitüdü erken dönem-geç dönem ölçümleri. *Mann Whitney-U testi

Sham Grubu	Erken Dönem	Geç Dönem	*U=1.0 p=0.006
Ortalama±SD	43.5±8.91	28.1±5.08	
Ortanca (min-max)	42.10 (34.70-58.0)	27.90 (22.40-36.10)	

İki grup arasında iğne CMAP amplitüdü ölçümleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p<0.05$). Geç dönem ölçümleri daha düşüktür.

Tablo 11. Kontrol grubunun iğne CMAP amplitüdü erken dönem-geç dönem ölçümleri. *Mann Whitney-U testi.

Kontrol Grubu	Erken Dönem	Geç Dönem	*U=0 p=0.004
Ortalama±SD	3.25±1.96	22.6±5.7	
Ortanca (min-max)	3.35 (0.50-6.50)	22 (14.80-31.60)	

İki grup arasında iğne CMAP amplitüdü ölçümleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p<0.05$). Geç dönem ölçümleri daha yüksektir.

Tablo 12. Deney grubunun iğne CMAP amplitüdü erken dönem-geç dönem ölçümleri. *Mann Whitney-U testi.

Deney Grubu	Erken Dönem	Geç Dönem	*U=0 p=0.004
Ortalama±SD	3.73±1.85	23.8±6.8	
Ortanca (min-max)	3.75 (1.60-6.70)	23.1 (15.20-35.10)	

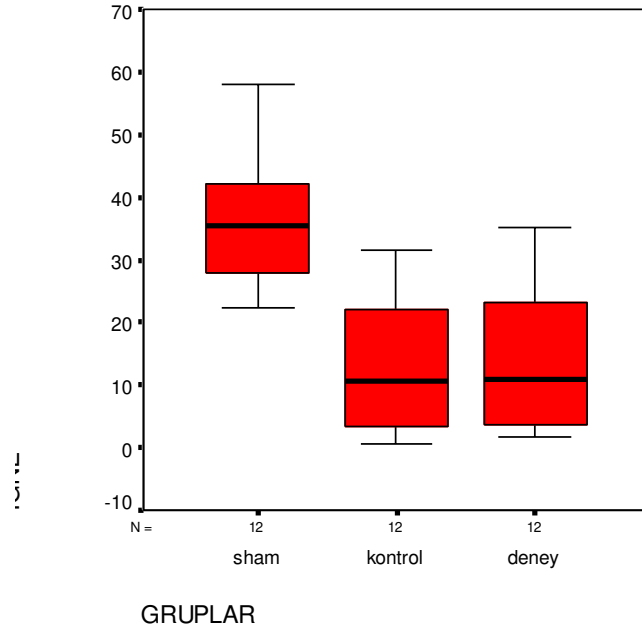
İki grup arasında iğne CMAP amplitüdü ölçümleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p<0.05$). Geç dönem ölçümleri daha yüksektir.

Dönemden bağımsız olarak gruplar arasındaki iğne CMAP amplitüdlerinin karşılaştırmasında aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir (Tablo 13), (Resim 18).

Tablo 13. Grupların iğne CMAP amplitüdü ortalamaları ve ortancaları. *Kruskal-Wallis testi.

	Sham Grubu	Kontrol Grubu	Deney Grubu	*K=17.6 p=0.001
Ortalama±SD	35.8±10.6	12.7±10.7	13.6±11.4	
Ortanca (min-max)	35.4 (22.4-58)	10.6 (0.50-31.6)	10.9 (1.6-35.1)	

Üç grup arasında iğne CMAP ölçümleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.05$). Bu fark sham grubundan kaynaklanmaktadır. Sham grubunun ortalama ve ortancası diğer gruplara göre yüksektir.



Resim 18. İğne CMAP amplitüdü ölçümlerinin gruplar arasındaki dağılım grafiği.

4.2. HİSTOMORFOMETRİK İNCELEME BULGULARI

Diffüz ezilme hasarında PS fasikülleri içinde WD sürecine bağlı inkomplet akson ve myelin kaybı meydana gelmektedir. Rejeneratif süreç ilerledikçe akson sayısı tekrar artmakta ve rejenere aksonlar SC'lerce myelinize edilmektedir. Akson sayısında zaman içindeki artış ve myelin kalınlığının artması, rejenerasyon için iyi birer göstergedir. Nöropatik süreçlerde akson kaybı hemen her zaman myelin kaybı ile korele bir şekilde olmaktadır (89).

Gruplarda 400x büyütmede bir büyütme alanında erken ve geç dönemde morfolojiden bağımsız olarak ölçülen ortalama akson sayısı ve 1000x büyütmede ölçülen ortalama myelin kalınlığı değerleri Tablo 14 ve 15'te görülmektedir.

Myelin kalınlıkları nanometre cinsinden ölçölüp, sonradan mikrometre düzeyine yükseltgenmiştir.

Tablo 14. Erken dönem akson sayısı ve ortalama myelin kalınlıklarının histomorfometrik ölçüm sonuçları.

Grup	Rat	Akson sayısı HEX400 Sayı/1BBA	Ortalama myelin kalınlığı (mikrometre) HEX1000
Sham	S1L	730	1
	S1R	680	1
	S10	390	0,9
	S2L	670	1
	S2R	840	1,2
	S20	784	0,9
Kontrol	C1L	423	2,8
	C1R	568	1,9
	C10	295	2,7
	C2L	675	1,8
	C2R	432	1,2
	C20	1056	1,5
Deney	E1L	450	1,1
	E1R	448	0,8
	E10	450	0,9
	E2L	375	0,7
	E2R	616	0,7
	E20	504	0,5

Tablo 15. Geç dönem akson sayısı ve ortalama myelin kalınlıklarının histomorfometrik ölçüm sonuçları.

Grup	Rat	Akson sayısı HEX400 Sayı/1BBA	Ortalama myelin kalınlığı (mikrometre) HEX1000
Sham	S3L	790	1,2
	S3R	675	1
	S30	780	1,1
	S4L	835	0,9
	S4R	896	1,3
	S40	678	1,3
Kontrol	C3L	286	1,4
	C3R	498	1,2
	C30	618	1,9
	C4L	700	1
	C4R	610	1
	C40	301	1,2
Deney	E3L	728	0,6
	E3R	672	0,5
	E30	420	0,5
	E4L	650	0,5
	E4R	700	0,5
	E40	670	0,5

Her bir grubun erken ve geç dönem akson sayımı sonuçları kendi içinde karşılaştırıldığında şu sonuçlar çıkmaktadır; (Tablo 16, 17, 18)

Tablo 16. Sham grubunun akson sayısı erken dönem-geç dönem ölçümleri.

*Mann Whitney U testi.

Sham Grubu	Erken Dönem	Geç Dönem	*U=12.1 p=0.34
Ortalama±SD	682.3±156.8	775.6±87.1	
Ortanca (min-max)	705 (390-840)	785 (675-896)	

İki grup arasında akson sayısı ölçümleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 17. Kontrol grubunun akson sayısı erken dönem-geç dönem ölçümleri.

*Mann Whitney-U testi

Kontrol Grubu	Erken Dönem	Geç Dönem	*U=17.0 p=0.87
Ortalama±SD	574.8±269.5	502.1±174.0	
Ortanca (min-max)	500 (295-1056)	554 (286-700)	

İki grup arasında akson sayısı ölçümleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 18. Deney grubunun akson sayısı erken dönem-geç dönem ölçümleri.

*Mann Whitney-U testi

Deney Grubu	Erken Dönem	Geç Dönem	*U=5.0 p=0.04
Ortalama±SD	473.8±80.8	640.0±111.1	
Ortanca (min-max)	450 (375-616)	671 (420-728)	

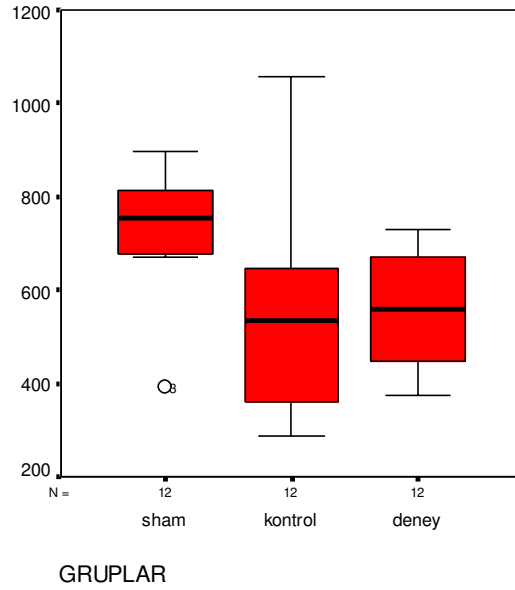
İki grup arasında akson sayısı ölçümleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.05$). Geç dönem ölçümleri daha *yüksektir*.

Dönemden bağımsız olarak sham, kontrol ve deney gruplarının akson sayıları karşılaştırıldığında ise şu sonuçlarla karşılaşılmaktadır; (Tablo 19) (Resim 19).

Tablo 19. Grupların akson sayısı ortalamaları ve ortancaları. *Kruskal-Wallis testi

	Sham Grubu	Kontrol Grubu	Deney Grubu	*K=10.9 p=0.004
Ortalama±SD	729±130	538±219	556±127	
Ortanca (min-max)	755 (390-896)	533 (286-1056)	560 (375-728)	

Üç grup arasında akson sayısı ölçümleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p<0.05$). Bu fark sham grubundan kaynaklanmaktadır. Sham grubunun ortalama ve ortancası diğer gruplara göre yüksektir.



Resim 19. Grupların akson sayısı ölçümlerinin dağılım grafiği.

Her bir grubun myelin kalınlıklarının erken ve geç dönemde karşılaştırılmasında ise elde edilen sonuçlar Tablo 20, 21 ve 22’de gösterilmiştir.

Tablo 20. Sham grubunun myelin kalınlığı erken dönem-geç dönem ölçümleri.

*Mann Whitney-U testi

Sham Grubu	Erken Dönem	Geç Dönem	*U=9.0 p=0.13
Ortalama±SD	1.0±0.11	1.13±0.16	
Ortanca (min-max)	1 (0.9-1.2)	1.15 (0.9-1.3)	

İki grup arasında myelin kalınlığı ölçümleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 21. Kontrol grubunun myelin kalınlığı erken dönem-geç dönem ölçümleri.

*Mann Whitney-U testi.

Kontrol Grubu	Erken Dönem	Geç Dönem	*U=5.5 p=0.04
Ortalama±SD	1.9±0.64	1.28±0.33	
Ortanca (min-max)	1.85 (1.2-2.8)	1.20 (1.0-1.9)	

İki grup arasında myelin kalınlığı ölçümleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p<0.05$). Geç dönem ölçümleri daha düşüktür.

Tablo 22. Deney grubunun myelin kalınlığı erken dönem-geç dönem ölçümleri.

*Mann Whitney-U testi.

Deney Grubu	Erken Dönem	Geç Dönem	*U=3.5 p=0.01
Ortalama±SD	0.78±0.20	0.51±0.04	
Ortanca (min-max)	0.75 (0.5-1.1)	0.50 (0.5-0.6)	

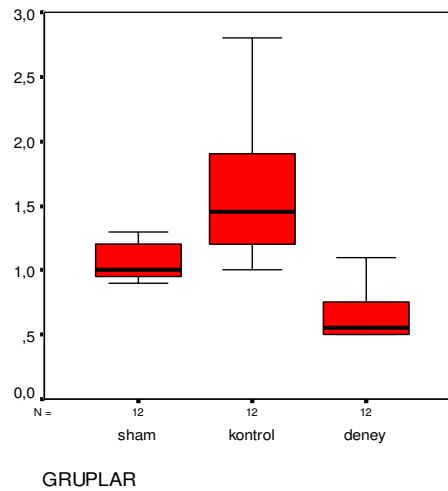
İki grup arasında myelin kalınlığı ölçümleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.05$). Geç dönem ölçümleri daha düşüktür.

Dönemden bağımsız olarak sham, kontrol ve deney gruplarının myelin kalınlıkları karşılaştırıldığında ise şu sonuçlarla karşılaşılmaktadır; (Tablo 23) (Resim 20).

Tablo 23. Grupların myelin kalınlığı ortalamaları ve ortancaları. *Kruskal-Wallis testi.

	Sham Grubu	Kontrol Grubu	Deney Grubu	*K=24.3 p=0.001
Ortalama±SD	1.06±0.14	1.63±0.61	0.65±0.19	
Ortanca (min-max)	1 (0.9-1.3)	1,5 (1-2.8)	0.55 (0.5-1.1)	

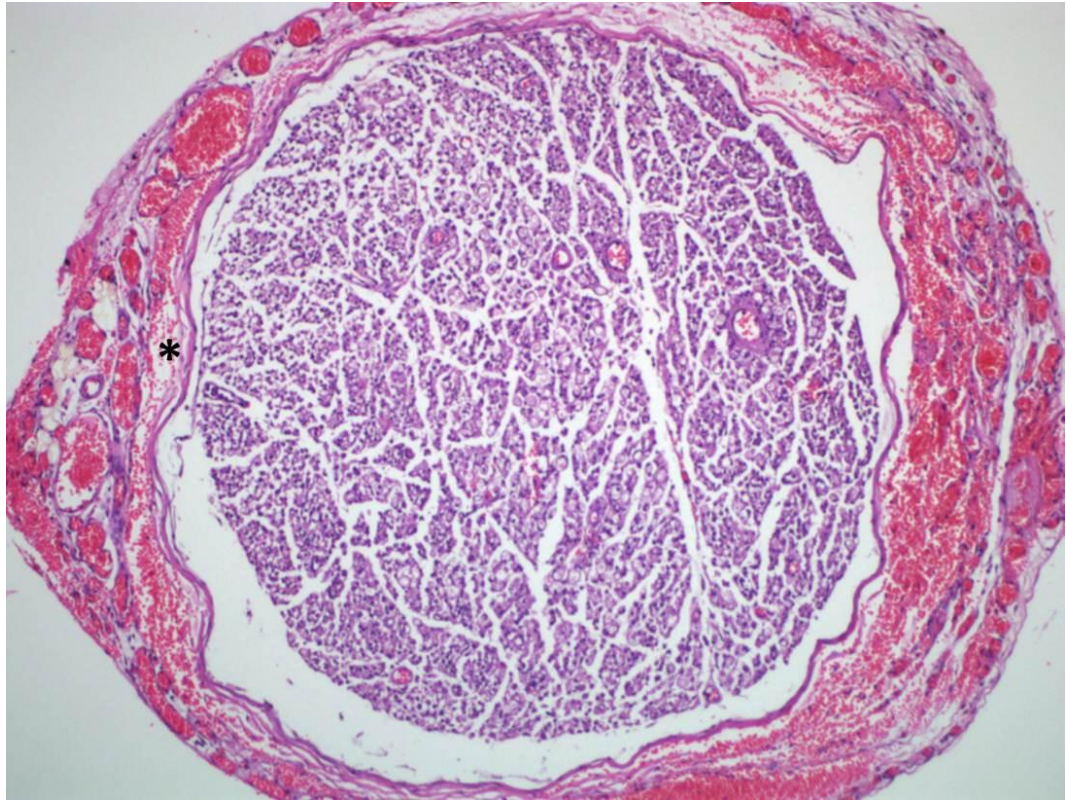
Üç grup arasında myelin kalınlığı ölçümleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p<0.05). Bu fark deney grubundan kaynaklanmaktadır. Deney grubunun ortalama ve ortancası diğer gruplara göre **düşüktür**.



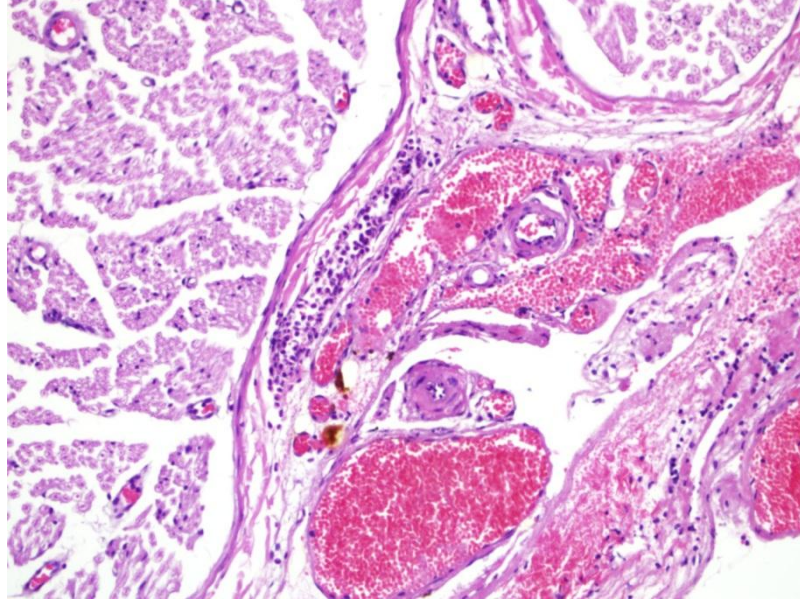
Resim 20. Grupların myelin kalınlığı ölçümlerinin dağılımı.

Mann Whitney-U testinde, geç dönemdeki myelin miktarının kontrol grubuna göre düşük bulunmasının, kullanılan ajana bağlı gerçekleştiği tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Ezilme tipi deney modelimizde siyatik sinirin mikroskopik incelemesinde epinöral bağ doku içinde yer yer peteşiyal kanama alanları izlenmekle birlikte belirgin ödem ve fasiküler düzendeki bozulma izlenmemektedir (Resim 21, 22). Sinirin anatomik bütünlüğü tam olmakla birlikte inkomplet aksonotmezis mevcuttur.

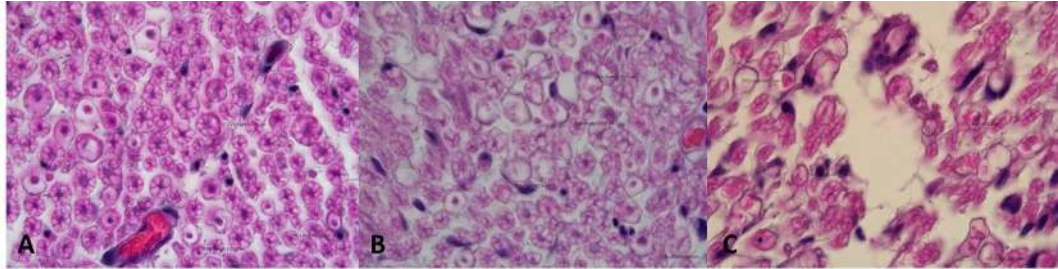


Resim 21. Epinöral bütünlüğün korunduğu, fasiküler düzenin bozulmadığı, epinöral bağ doku içinde yer yer peteşiyal kanama alanlarının (*) olduğu transvers siyatik sinir kesiti. (H&E, x100)

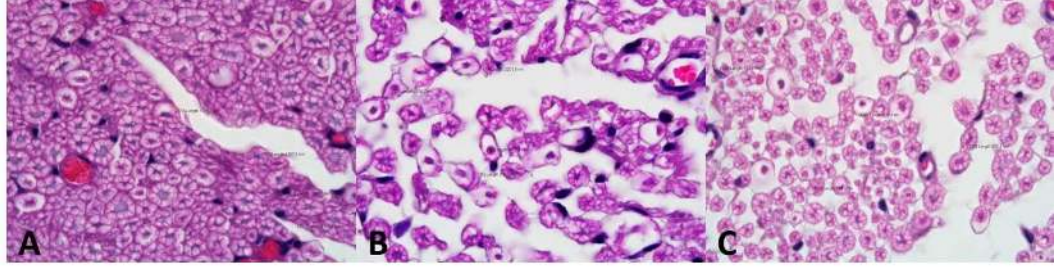


Resim 22. Olasılıkla cerrahi müdahaleye bağlı sinir çevresi bağ dokuda odaksal mikst inflamasyon gözlenmekte. (H&E, x200)

Sonuçlar, geç dönemde deney grubunda akson sayısının kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklı olmadığı halde myelin kalınlığının düştüğünü göstermektedir. Erken ve geç dönemde aksonların mikroskopik görünümü aşağıda izlenmektedir. (Resim 23, 24).

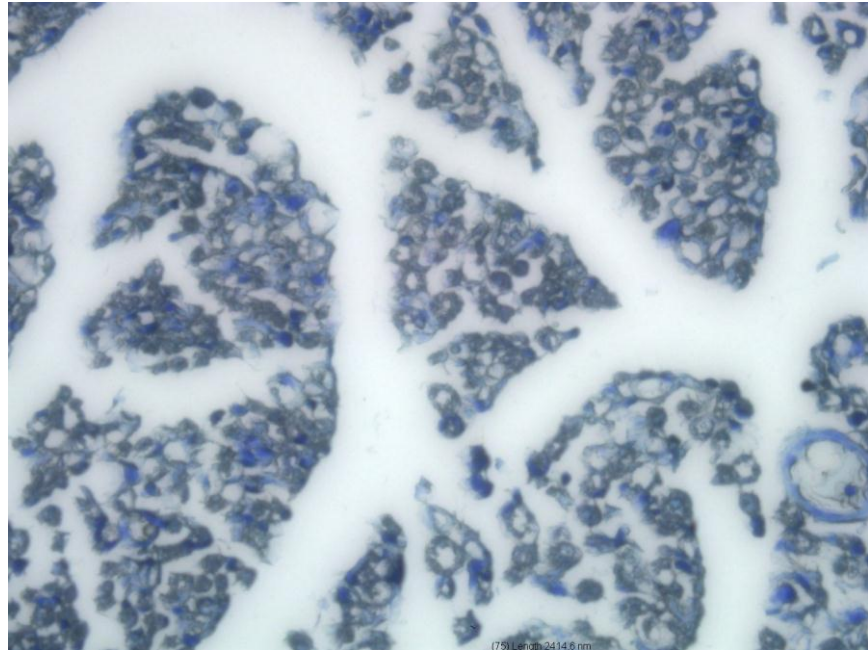


Resim 23. Erken dönem histomorfometrik inceleme preparatları. A) Sham B) Kontrol, C) Deney grupları. (H&E x1000)



Resim 24. Geç dönem histomorfometrik inceleme preparatları. A) Sham B) Kontrol, C) Deney grupları. Sham grubunda aksonlar fasikül içinde oldukça düzenli görünürken, diğer gruplarda daha seyrekleşmiş olarak izlenmektedir. (H&E, x1000).

Hematoksilen-eozine ilaveten toluidin blue (TB) da özellikle myelin kalınlık ölçümü için ideal bir boyama sağlamıştır (Resim 25).



Resim 25. Fasiküller içinde akson adacıkları. (TB, x400).

4.3. YAŞ KAS AĞIRLIK İNDEKSİ ÖLÇÜMLERİ

Yaş kas ölçümleri ve elde edilen indeks değerleri (K_i) Tablo 24 ve 25’te verilmiştir.

Tablo 24. Erken dönemde deneklerin vücut ağırlığı ve kas ağırlığı ölçümleri ile hesaplanan K_i değerleri.

Grup	Rat	Ağırlık (g)	Kas ağırlığı (g)	K_i
Sham	S1L	234,7	1,8786	0,008
	S1R	213,9	1,7076	0,00798
	S10	236,5	1,6255	0,00687
	S2L	230,9	2,0806	0,00901
	S2R	222	2,013	0,00906
	S20	224,4	1,8016	0,00802
Kontrol	C1L	248	1,6909	0,00681
	C1R	233	1,9362	0,0083
	C10	231	1,9789	0,00856
	C2L	221	1,9401	0,00877
	C2R	217	1,9637	0,00904
	C20	245,7	1,9815	0,00806
Deney	E1L	216,2	1,1948	0,00552
	E1R	211,2	2,0772	0,00983
	E10	218,4	1,7447	0,00798
	E2L	214	1,7642	0,00824
	E2R	204,7	1,4801	0,00723
	E20	215	1,6086	0,00747

Tablo 25. Geç dönemde deneklerin vücut ağırlığı ve kas ağırlığı ölçümleri ile hesaplanan K_i değerleri.

Grup	Rat	Ağırlık (g)	Kas ağırlığı (g)	İndeks
Sham	S3L	250	1,9815	0,00792
	S3R	211	1,6739	0,00793
	S30	236	2,0186	0,00855
	S4L	247,9	1,9503	0,00786
	S4R	262,1	1,8141	0,00692
	S40	249,1	2,1665	0,00869
Kontrol	C3L	259,1	1,4845	0,00572
	C3R	236,2	1,322	0,00559
	C30	209,4	1,2114	0,00578
	C4L	229,7	1,372	0,00597
	C4R	222,7	1,2914	0,00579
	C40	242,3	1,3905	0,00573
Deney	E3L	254,3	1,4225	0,00559
	E3R	213,9	1,1315	0,00528
	E30	225,4	1,1709	0,00519
	E4L	214,4	1,1884	0,00554
	E4R	255	1,3718	0,00537
	E40	231,3	1,3245	0,00572

Çalışmaya vücut ağırlığı kategorisinde virgülden sonraki tek değer, kas ağırlığında virgülden sonraki 4 değer ve K_i değerlerinde virgülden sonraki 5 değer dahil edilmiştir. İstatistiksel analiz, kas kütle indeks değerleri üzerinden

yapılmıştır. Grupların kendi içindeki erken-geç dönem K_i analizi Tablo 26, 27 ve 28’de verilmiştir.

Tablo 26. Sham grubunun kas-kütle indeksi erken dönem-geç dönem ölçümleri.

*Mann Whitney-U testi.

Sham Grubu	Erken Dönem	Geç Dönem	*U=12.0 p=0.33
Ortalama±SD	0.0081±0.0008	0.0079±0.0006	
Ortanca (min-max)	0.008 (0.0068-0.0090)	0.0079 (0.0069-0.0086)	

İki grup arasında kas kütle ölçümleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0.05).

Tablo 27. Kontrol grubunun kas-kütle indeksi erken dönem-geç dönem ölçümleri.

*Mann Whitney-U testi.

Kontrol Grubu	Erken Dönem	Geç Dönem	*U=0 p=0.004
Ortalama±SD	0.0082±0.0007	0.0057±0.0001	
Ortanca (min-max)	0.008 (0.0068-0.0090)	0.0057 (0.0055-0.0059)	

İki grup arasında kas kütle ölçümleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p<0.05). Geç dönem ölçümleri daha düşüktür.

Tablo 28. Deney grubunun kas-kütle indeksi erken dönem-geç dönem ölçümleri.

*Mann Whitney-U testi.

Deney Grubu	Erken Dönem	Geç Dönem	*U=3.0 p=0.01
Ortalama±SD	0.0077±0.0014	0.0054±0.0002	
Ortanca (min-max)	0.0077 (0.0055-0.0098)	0.0054 (0.0051-0.0057)	

İki grup arasında kas kütle ölçümleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p<0.05$). Geç dönem ölçümleri daha düşüktür.

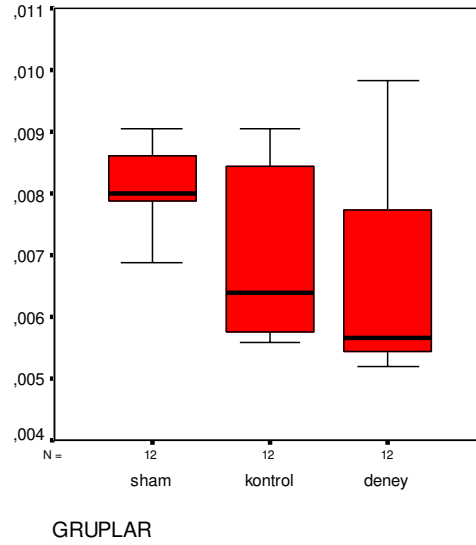
Dönemden bağımsız olarak yapılan grup karşılaştırmalarında elde edilen sonuçlar ise aşağıda özetlenmiştir (Tablo 29), (Resim 26).

Tablo 29. Grupların K_i ortalamaları ve ortancaları. *Kruskal-Wallis testi.

	Sham Grubu	Kontrol Grubu	Deney Grubu	*K=7.37 p=0.025
Ortalama±SD	0.0081±0.0006	0.0070±0.0014	0.0065±0.0015	
Ortanca (min-max)	0.0079 (0.0068-0.0090)	0.0063 (0.0055-0.0090)	0.0056 (0.0051-0.0098)	

Üç grup arasında kas kütle ölçümleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.05$). Bu fark deney grubundan kaynaklanmaktadır.

Deney grubunun ortalama ve ortancası diğer gruplara göre **düşüktür**.



Resim 26. Grupların K_i ölçüm değerlerinin grafiksel dağılımı.

Mann Whitney – U testi, geç dönem takipte deney grubundaki düşüklüğün, kontrol grubundaki düşüklükten daha belirgin olduğunu ve bunun sebebinin kullanılan ajan olduğunu ortaya koymuştur ($p<0.05$)

Elektrofizyolojik incelemelerin hata payının olması nedeniyle deneyde sağlama maksatlı hem yüzeyel, hem iğne elektrot ölçümü yapılmıştır. Bu iki EF inceleme yönteminin tutarlılığı ise Pearson korelasyon testi ile araştırılmıştır. Ayrıca akson sayısı ile miyelin kalınlığı arasındaki korelasyona da bakılmıştır (Tablo 30).

Tablo 30. Korelasyon testi sonuçları.

Sham Grubu	Yüzeyel/İğne CMAP Amplitüdü	R*:0.51 P=0.08
	Akson sayısı/ Myelin kalınlığı	R*:0.42 P=0.16
Kontrol Grubu	Yüzeyel/İğne CMAP Amplitüdü	R*:0.98 P=0.001
	Akson sayısı/ Myelin kalınlığı	R*:-0.22 P=0.41
Deney Grubu	Yüzeyel/İğne CMAP Amplitüdü	R*:0.92 P=0.001
	Akson sayısı/ Myelin kalınlığı	R*:-0.53 P=0.07

Kontrol grubunda ve deney grubunda yüzeyel CMAP amplitüdü ve iğne CMAP amplitüdü arasında pozitif yönde çok güçlü bir ilişki vardır ve bu ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır. Akson sayısı ve myelin kalınlığı arasında hiçbir grupta ilişki saptanmamıştır.

5. TARTIŞMA

Periferik sinir rejenerasyonu, bilinen hemen hemen tüm inflamatuvar mekanizmaların aktive olduğu, ilaveten de sinir sistemine özgü bir takım NTF'ler ve nöral doku hücreleri gibi komponentlerin katıldığı oldukça karmaşık bir süreçtir. Periferik sinirlerin SSS'deki sinirlerin aksine rejenerere olabilmeye yeteneğine sahip olmasını en iyi açıklayan hipotez, sinirlerin bulunduğu mikro-çevrenin rejenerasyonu etkilediği hipotezidir (20). Periferik sinir sistemi nöronlarındaki hasar rejenerasyonla sonuçlanırken, SSS'de glial skar oluşumu gözlenir. Bunda SSS'de bulunan kondroitin sülfat gibi proteoglikanların rol oynadığı görülmüştür. Periferik sinir sisteminde sinir hasarını takiben bir takım nörotropik faktörler rejenerasyonda rol oynamaktadır. Oysa SSS'de PSS'den farklı olarak Nogo, myelin ilişkili glikoprotein, oligodendrosit myelin glikoprotein ve Ephrin B3 gibi inhibitör proteinler ve bunlarla ilişkili olarak aksonal yüzeylerde bulunan NgR₁, NgR₂, p75^{NTR}, TROY ve LINGO-1 gibi reseptörlere rastlanmıştır. Bu protein-reseptör etkileşimleri neticesinde guanozin trifosfat-Rho (GTP-Rho) aracılığıyla aksonal büyüme tomurcuklarının kollapsa uğratıldığı ve aksonal büyümenin engellendiği görülmüştür (20, 90). Ayrıca, SSS meninkslerindeki fibroblastlardan salınan semaforinlerin de rejenerasyonu inhibe ettiği düşünülmektedir (91). Periferik sinir rejenerasyonunda SC'lerin önemi çok büyük gibi görünmektedir. Ayrıca sinir sisteminde NTM olarak işlev gören norepinefrin gibi moleküllerin de PS rejenerasyonunda modülatör rolleri olduğu düşünülmektedir (25). Serotonin ise SSS'deki restoratif süreçlerde çok olumlu etkileri bilinmektedir. İnflamatuvar yanıtı tetikleyen bazı etmenlerin

rejenerasyona olumlu katkıları görüldüğü gibi, bunun tam tersi etkinin de görüldüğü sık olmuştur. Sinir rejenerasyonunun patofizyolojisi aydınlatıldıkça daha olumlu sonuçlar elde edilebilecektir.

Çalışmamızda SSS’de olumlu rejeneratif ve nöroprotektif etkileri keşfedilen, ancak periferik sinir hasarında henüz çalışılmamış olan duloksetin’in etkileri semi-kantitatif olarak araştırıldı. Sham grubunda erken ve geç dönemlerde akson sayısı, miyelin kalınlığı ve K_i açısından belirgin bir farklılık saptanmadı. Ancak yüzeysel CMAP amplitüdü geç dönemde değişmezken, iğne CMAP amplitüdünün düştüğü görüldü. Korelasyon testinde yüzeysel CMAP ile iğne CMAP ölçümleri arasında çok güçlü korelasyon bulunması, teknik bir hata olasılığını büyük oranda elimine etmektedir. Bununla birlikte, sinir rejenerasyon çalışmalarında sonuçların en az iki değerlendirme yöntemi ile teyit edilmesi gerekliliğinden dolayı tek başına bu sonuç göz ardı edildi. Sham grubunun ortalama ve ortanca akson sayısı, yüzeysel ve iğne CMAP amplitüdüleri ile K_i değerlerinin kontrol ve deney grubundan yüksek oluşu, deney modelinin başarıyla oluşturulduğunu ve nöron hasarının gerçekleştiğini teyit etmekteydi. Ayrıca histopatolojik incelemelerde sinir ve içindeki fasikül bütünlüğünün korunduğu, ancak akson ve miyelin kaybı geliştiğinin görülmesi de aksonotmetik hasarın başarı ile gerçekleştirildiğini onaylayıcı bulgulardı. Kontrol grubunda ise K_i ve miyelin kalınlığı geç dönemde erken döneme göre düşük bulunmuş iken akson sayısının zamanla değişmediği, yüzeysel ve iğne CMAP amplitüdlerinin ise arttığı görülmüştür. Bu veriler, PS hasarı sonrası ilk haftada aksonal dejenerasyonun gerçekleştiği, ancak izleyen 5 hafta içinde sayının stabil kaldığı şeklinde

yorumlanabilir. Bu noktada bir hususta emin olmak mümkün değildir; akson sayısının, ilk dejeneratif sürece bağlı düştükten sonra stabil seyretmesi veya aksonal rejenerasyon ile birlikte dejeneratif sürecin devam etmesi ile, yenilenen ve degrade olan aksonların sayıca dengede kalması durumları ayırt edilememektedir. Çünkü çalışmamızda rejenere / eski akson ayrımını yaptırabilecek bir değerlendirme yöntemi kullanılmamıştır. Mevcut literatür, az sayıda aksonun hasarında WD sürecinin 24 saat - 3 gün arasında sona erdiğini, ancak multiple aksonal zedelenmelerde bu sürecin birkaç haftaya uzayabileceğini telkin etmektedir. Bu durumda, WD'nin 1 haftadan önce sonuçlanmış olduğu var sayılırsa, takip süresince aktif aksonal dejenerasyon veya rejenerasyonun gelişmediği düşünülebilir. Kontrol grubunda eş zamanlı olarak geç dönemde myelin kalınlığının da düşmüş olması, myelin degradasyonunun dönemler arasında devam ettiği veya rejenere aksonların myelinizasyonunun henüz yetersiz düzeyde olduğu anlamlarına gelmektedir. Geç dönem takipte K₁'de görülen progresif düşüş, parsiyel denerve olmuş gastrokinemius-soleus kas kompleksinde atrofik sürecin işlediğini göstermektedir. Ancak bütün bu bulgularla birlikte geç dönemde yüzeysel ve iğne CMAP amplitüdlerinde artış olması, bu dönemde rejeneratif sürecin işlemekte olduğunu göstermektedir. Kontrol grubunda ayrıca istatistiksel olarak anlamlı bulunmamakla birlikte ilginç bir şekilde zamandan bağımsız olarak gros miyelin miktarının fazla olduğu dikkati çekmektedir (Tablo 23). Bu da, sinir hasarı sonrası 1. haftada myelin kalınlığında bir artış olabileceğini düşündürmektedir. Ancak bu bilgi, mevcut literatür ile zıt düşmektedir ve zaten istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamaktadır (20, 23).

Kontrol grubunda geç dönemde akson sayısı değişmezken, deney grubunda arttığı görülmüştür. Bununla birlikte myelin kalınlığının düştüğü ve bu düşüklüğün kontrol grubundaki geç dönem dşklekten daha belirgin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca K_i'de de geç dönemde düşme görülmüş ve bunun da kontrol grubundan daha belirgin düştüğü gözlenmiştir. Bu noktada duloksetin'in akson sayısı üzerinde olumlu, fakat myelin kalınlığı ve kas trofisi üzerinde olumsuz etkileri olduğundan bahsedilebilir. Yüzeyel ve iğne CMAP amplitüdleri ise duloksetin etkisi altında kontrol grubuna benzer şekilde geç dönemde yükselmiştir. Bu yükselmenin, istatistiksel açıdan kontrol grubundan daha az veya çok belirgin olmadığı saptanmıştır. Bu bulgunun da eklenmesi ile duloksetin'in PS rejenerasyonunda morfolojik olarak olumlu ve olumsuz etkileri bulunmakla birlikte, elektrofizyolojik açıdan belirgin bir etkisinin olmadığı söylenebilir.

Literatürde hem FK-506, glatiramer, hiperbarik oksijen ve prednizolon gibi immunsupresif; hem de şitooligosakkaritler ve oliprinon gibi immunstimulan ajanların PS rejenerasyonu üzerine olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (46, 84, 85, 92, 93, 94, 95, 96). Sinir hasarında immun mediatörler kadar immun supresif mediatörlerin de arttığı bilinmektedir (97). Noradrenalin, PS hasarı sonrasında hasarlı otonomik sempatik akson uçlarından salınarak bölgedeki makrofajlardan IL, TNF ve prostaglandin salınımını; dolayısıyla da immun reaksiyonu artırmaktadır. Bu da özellikle dejeneratif süreçte katkı sağlamaktadır. Noradrenalin, etkinliğini cAMP ve IP₃ ikincil mesajcıları üzerinden G proteini aracılı olarak gerçekleştirmektedir. Rolipram, cAMP ve IP₃ ekspresyonunu artıran yaklaşımların ise PS rejenerasyonunu olumlu etkilediği bulunmuştur (24, 90, 98).

Serotonin ise SSS’de özellikle 5HT-1 reseptörleri üzerinden nöroprotektif etki göstermektedir, ancak PSS’deki etkileri net bilinmemektedir. PSS’de bulunan serotonin reseptörleri 5HT-3’tür ve sinirin eksitabilitesini artırmaya katkıda bulunurlar. Periferik sinir hasarında, aksonların ileti yeteneği rejenerasyon süresince düşük tutulmaktadır. Ayrıca kalsiyum kanal blokerleri gibi nöro-stabilizan ilaçların PS rejenerasyonunda olumlu etkileri görülmüştür (99). Duloksetin esasen 5HT-1 reseptörleri üzerinden etki göstermektedir, ancak 5HT-3 reseptörlerine afinitesi net bilinmemektedir. Dorsal root ganglionlarında da 5HT-3 reseptörleri bulunmaktadır ve deneyimizde duloksetin grubunda akson sayısının geç dönemde yüksek bulunmasının bu reseptörlerle ve buradaki bir nöroprotektif etkinlikle ilgisi olabilir. Ancak eksitabilite artışı, nöronun enerjisini rejenerasyondan ziyade iletim yapmaya harcaması ile sonuçlanmaktadır. Bu da, akson sayısının yüksek olmasına karşın myelinizasyonun yetersiz oluşunu ve elektriksel aktivitenin geç dönemde kontrol grubundakine benzer şekilde sürdürülebilmesini açıklayabilir. Fosfatidil kolin gibi hücre membran sentezinde rol oynayan yapı taşlarının sentezini artıran ajanların, myelinizasyonu olumlu etkilediği görülmüştür (100).

Santral sinir sisteminde duloksetin’in aracılık ettiği nöroproteksiyonda, serotonerjik ve noradrenerjik monoamin nöronların rejenerasyon sürecinde birbirleri ile karşılıklı etkileşim halinde oldukları görülmüştür (101, 102, 103). Ancak devam etmekte olan diyabetik periferik nöropati gibi süreçlerde nöroprotektif etkinliği gösterilememiştir.

Yalnızca depresyon ve stresör faktörlerin bile PS rejenerasyonunu olumsuz etkileyebileceği bulunmuştur (7). Bu etkinin mekanizması bilinmemektedir, ancak çalışmamızda duloksetin bu bulguyu da desteklememiştir.

Periferik sinir rejenerasyonunda kas atrofisinin geri döndürülmesi de önemli bir husustur. Majör periferik sinir hasarına bağlı kas denervasyonu, kas fonksiyonunda anî kayıp ve progresif kas atrofisi ile seyreder (104). Sinir hasarı sonrası 1-2 hafta içinde α aktin, miyozin ağır zinciri, tropomyozin β zinciri gibi proteinlerin ekspresyonunda azalma ve α enolaz, β enolaz, peptidaz benzeri sinyal peptidi 3 gibi proteinlerde artma meydana gelmektedir (105). Normalde kas dokusu %80 oranında tip-I fibril içerirken, sinir hasarı sonrasında bu oran tip-II fibril lehine terse döner. Ve bu değişiklik uzun dönem denerve kalan kaslarda kalıcı olmaktadır (106). Bir yıla dek reinerve olamayan kasların motor son plaktaki sinaptik katlantılarını kaybettiği görülmüştür. Duloksetin'in ise kas kütlesi kaybını artırarak olumsuz etkide bulunduğu görülmüştür.

Şimdiye dek PS rejenerasyonuna etkileri araştırılmış pek çok ajan mevcuttur. Genellikle pek çok araştırma semi-kantitatif olarak yürütülmektedir ve araştırılan ajanların etki mekanizmaları net bilinmemektedir. Sonuçların çoğu ancak hipotetik düzeyde varsayımlar ile sınırlı kalmaktadır. Örneğin, sigara içiminin PS rejenerasyonuna önemli bir etkisi olmadığı görülmüştür (107). Ginseng ekstraktından elde edilen ginsenoside Rg1 maddesi veya eski Çin tıbbından gelen Baimai-San gibi bitkisel maddelerin PS rejenerasyonunu artırdığı görülmüştür (108, 109). İçi otojenik SC'leri ile birlikte kök hücre ile doldurulmuş greftlerin rejenerasyonu artırdığı, ancak yalnızca kök hücre uygulamasının ek

yarar getirmediği görülmüştür (110, 111, 112). Kök hücre transplantı sonrası tümörögenez riski de mevcuttur (113). Ayrıca cerrahi sinir onarımında CTNF salınımı yapan kollajen biomateriyallerin veya laminin bağlayıcı NGF- β 'nin rejenerasyonu artırdığı, ancak NGF salan mikrosferlerin rejenerasyona katkısı olmadığı görülmüştür (114, 115, 116). Yine birer nörokin olan kardiotropin-1 ve onkostatin-m'in aksonal büyüme üzerine olumlu etkileri görülmüştür (117). Antioksidanlardan zofenopril'in ve vitamin türevlerinden metilkobalamin'in olumlu etkileri gözlenmiştir (118). Kaslara elektrik stimülasyonu uygulanmasının ve sinirin üzerindeki cilde düşük enerjili lazer uygulamasının rejenerasyonu belirgin etkilemediği, ancak ultra kısa dalga terapisinin olumlu etkilediği bulunmuştur (119, 120, 121, 122). İnsan eritropoietini, darbopoietin- α , gangliozyd ve gastrik pentadekapeptid BPC-157'nin olumlu etkileri görülmüştür (123, 124, 125). Melatonin ve pregabalin'in ise belirgin bir etkisi görülmemiştir (126, 127).

6. SONUÇ

Duloksetin, oldukça potent, yeni nesil SNRI grubu bir antidepresandır. Periferik sinir hasarında geç dönemde akson sayısını artırmakla birlikte, myelin kalınlığını ve kas kütlesini azaltmak suretiyle rejenerasyonu olumsuz etkilemektedir. Sinirin elektrofizyolojik parametrelerinde ise belirgin bir değişikliğe yol açmamaktadır. Bu yönleriyle duloksetin, periferik sinir hasarında tercih edilebilecek bir ajan değildir.

7. KAYNAKLAR

1. Secer HI, Danayemez MK. Periferik sinir yaralanmaları ve cerrahisi. In: Korfali E, Zileli M. (eds.) Temel Norosirurji, 1st ed. Ankara: Türk Nöroşirurji Derneği, 2010; 1763-1790.
2. Naderi S, Guclu B. Periferik sinir cerrahisinin tarihçesi. In: Demircan N, Zileli M. (eds.) Periferik sinir cerrahisi. 1st ed. Ankara: Türk Nöroşirurji Derneği, 2008; 1-6.
3. Töngge M, Seçen AE, Kurt G. Lower limb peripheral nerve trauma and clinical findings. Türkiye Klinikleri J Neurosurg-Special Topics 2010; 3(2):20-26.
4. Hitoshi S, Maruta N, Higashi M, Kumar A, Kato N, Ikenaka K. Antidepressant drugs reverse the loss of adult neural stem cells following chronic stress. Journal of Neuroscience Research 2007; 85:3574-3585.
5. Calabrese F, Molteni R, Maj PF, Cattaneo A, Gennarelli M, Racagni G et al. Chronic duloxetine treatment induces specific changes in the expression of BDNF transcripts and in the subcellular localization of the neurotrophin protein. Neuropsychopharmacology 2007; 32:2351-2359.
6. Molteni R, Calabrese F, Mancini M, Racagni G, Riva MA. Basal and stress-induced modulation of activity-regulated cytoskeletal associated

- protein (Arc) in the rat brain following duloxetine treatment. *Psychopharmacology* 2008; 201:285-292.
7. Amako M, Nemoto K. Influence of water immersion stress on peripheral nerve recovery in the rat. *J Orthop Sci.* 1998; 3:32-41.
 8. Netter FH, Craig JA, Perkins J. (eds.) Brainstem. In: Atlas of neuroanatomy and neurophysiology; selections from the Netter collection of medical illustrations. Icon custom communications, USA. 2002; 7.
 9. Fitzgerald MJT, Folan-Curran J. (eds.) Peripheral nerves. In: Clinical neuroanatomy and related neuroscience. 4th ed. Edinburgh: Saunders Pres, 2002; 65-72.
 10. Snell R. (ed.) Nerve fibers, peripheral nerves, receptor and effector endings, dermatomes and muscle activity. In: Clinical neuroanatomy. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006; 69-132.
 11. Arinci K, Elhan A. (eds.) Periferik sinir sistemi. In: Anatomi Vol(2), 4th ed. Ankara: Güneş Kitabevi, 2006; 129-210.
 12. Snell R. (ed.) The autonomic nervous system. In: Clinical neuroanatomy. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006; 391-422.
 13. Fitzgerald MJT, Folan-Curran J. (eds.) Autonomic nervous system and visceral afferents. In: Clinical neuroanatomy and related neuroscience. 4th ed. Edinburgh: Saunders Press, 2002; 85-102.

14. Okutan O. Periferik sinir sisteminin anatomisi. In: Demircan N, Zileli M. (eds.) Periferik sinir cerrahisi. 1st ed. Ankara: Türk Nöroşirurji Derneği, 2008; 7-26.
15. Seddon HJ. A classification of nerve injuries. BMJ 1942; 2:237-239.
16. Seddon HJ. Three types of nerve injury. Brain 1943; 66:237-288.
17. Greenberg MS. (editor) Peripheral nerves. In: Handbook of neurosurgery 7th ed. Tampa, FL: Thieme Publishers, 2010; 786-827.
18. Bozkurt G, Benli K. Periferik sinir yaralanmaları. In: Benli K. (editor) Temel Nöroşirurji. 1st ed. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri Basımevi, 2004; 319-346.
19. Sunderland S. The anatomy and physiology of nerve injury. Muscle Nerve 1990; 13(9):771-784.
20. Burnett MG, Zager EL. Pathophysiology of peripheral nerve injury: A brief review. Neurosurg Focus 2004; 16(5):E1.
21. Zhang P, Xue F, Zhao F, Lu H, Zhang H, Jiang B. The immunohistological observation of proliferation rule of Schwann cell after sciatic nerve injury in rats. Artificial cells, Blood substitutes and Biotechnology 2008; 36:150-155.
22. Hirata K, Mitoma H, Ueno N, He JW, Kawabuchi M. Differential response of macrophage subpopulations to myelin degradation in the injured rat sciatic nerve. Journal of Neurocytobiology 1999; 28:685-695.

23. Camara-Lemarroy CR, de la Garza FJG, Fernandez-Garza NE. Molecular inflammatory mediators in peripheral nerve degeneration and regeneration. *Neuroimmunomodulation* 2010; 17:314-324.
24. Wang Q, Wang Y, Zhou Z, Lu X, Liu Y, Yan M et al. Expressions of forkhead class box O 3a on crushed rat sciatic nerves and differentiated primary Schwann cells. *Cell Mol Neurobiol.* 2011; 31:509-518.
25. Carlstedt T, Birch R. Management of acute peripheral nerve injuries. In: Winn HR, editor. *Youmans neurological surgery.* 5th ed. Pennsylvania: Saunders Pres, 2004; 3967-3988.
26. Ruiter GCW, Malessy MJA, Alaid AO, Spinner RJ, Engelstad JK, Sorenson EJ et al. Misdirection of regenerating motor axons after nerve injury and repair in the rat sciatic nerve model. *Experimental Neurology* 2008; 211:339-350.
27. Hadlock TA, Heaton J, Cheney M, Mackinnon SE. Functional recovery after facial and sciatic nerve crush injury in the rat. *Arch Facial Plast Surg.* 2005; 7:17-20.
28. Moore SW, Kennedy TE. Axon guidance during development and regeneration. In: Selzer M, Clarke S, Cohen L, Duncan P, Gage F. (eds.) *Textbook of neural repair and rehabilitation Vol(1),* 1st ed. Cambridge University Press, NY, 2006; 326-345.
29. Ebadi M, Bashir RM, Heidrick ML, Hamada FM, Refaey HE, Hamed A et al. *Neurochem Int* 1997;30(4,5):347-374.

30. Levine JM, Mendell LM. Trophic factors and their influence on regeneration. In: Selzer M, Clarke S, Cohen L, Duncan P, Gage F. (eds.) Textbook of neural repair and rehabilitation Vol(1), 1st ed. Cambridge University Press, 2006; 405-420.
31. Li FQ, Fowler KA, Neil JE, Colton CA, Vitek MP. An apolipoprotein E-mimetic stimulates axonal regeneration and remyelination after peripheral nerve injury. JPET 2010; 334:106-115.
32. Zhao YL, Takagawa K, Oya T, Yang HF, Gao ZY, Kawaguchi M et al. Active Src expression is induced after rat peripheral nerve injury. Glia 2003; 42:184-193.
33. 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. Mol Cells. 2010; 30:477-484.
34. <http://www.profelis.org/amc/vorlesungen/immunologie/komplementsystem.html> 04.05.2011.
35. Camara-Lemarroy C, de la Garza FJG, Oranday EAB, Garcia AJC, Tamez AG, Garza NEF. Celecoxib accelerates functional recovery after sciatic nerve crush in the rat. Journal of Brachial Plexus and Peripheral Nerve Injury 2008; 3:25.
36. Kasamo K, Blier P, de Montigny C. Blockade of the serotonin and norepinephrine uptake processes by duloxetine: In vitro and in vivo studies in the rat brain. JPET 1996; 277:278-286.

37. Khan AY, Macaluso M. Duloxetine for the treatment of generalized anxiety disorder: a review. *Neuropsychiatric Disease and Treatment* 2009; 5:23-31.
38. Wong DT. Duloxetine (LY 248686): an inhibitor of serotonin and noradrenaline uptake and an antidepressant drug candidate. *Expert Opin Investig Drugs*. 1998 Oct;7(10):1691-1699.
39. Bardin L, Gregoire S, Aliaga M, Malfetes N, Vitton O, Ladure P et al. Comparison of milnacipran, duloxetine and pregabalin in the formalin pain test and in a model of stress-induced ultrasonic vocalizations in rats. *Neuroscience Research* 2010; 66:135-140.
40. Smith T, Nicholson RA. Review of duloxetine in the management of diabetic peripheral neuropathic pain. *Vascular Health and Risk Management* 2007; 3(6):833-844.
41. Iyengar S, Webster AA, Hemrich-Luecke SK, Xu JY, Simmons RMA. Efficacy of duloxetine, a potent and balanced serotonin-norepinephrine reuptake inhibitor in persistent pain models in rats. *JPET* 2004; 311:576-584.
42. Bymaster FP, Dreshfield-Ahmad LJ, Threlkeld PG, Shaw JL, Thompson L, Nelson DL et al. Comparative affinity of duloxetine and venlafaxine for serotonin and norepinephrine transporters in vitro and in vivo, human serotonin receptor subtypes, and other neuronal receptors. *Neuropsychopharmacology* 2001; 25(6):871-880.

43. Bomholt SF, Mikkelsen JD, Blackburn-Munro G. Antinociceptive effects of the antidepressants amitriptyline, duloxetine, mirtazapine and citalopram in animal models of acute, persistent and neuropathic pain. *Neuropharmacology* 2005; 48:252-263.
44. Ikeda T, Ishida Y, Naono R, Takeda R, Abe H, Nakamura T et al. Effects of intrathecal administration of newer antidepressants on mechanical allodynia in rat models of neuropathic pain. *Neuroscience Research* 2009; 63:42-46.
45. Berrocoso E, Mico JA, Vitton O, Ladure P, Tancredi AN, Depoortère R, et al. Evaluation of milnacipran, in comparison with amitriptyline, on cold and mechanical allodynia in a rat model of neuropathic pain. *European Journal of Pharmacology* 2011; 655:46-51.
46. Tesfaye S. Advances in the management of diabetic peripheral neuropathy. *Curr Opin Support Palliat Care* 2009; 3:136-143.
47. Miyazato M, Kaiho Y, Kamo I, Chancellor MB, Sugaya K, de Groat WC et al. Effect of duloxetine, a norepinephrine and serotonin reuptake inhibitor, on sneeze-induced urethral continence reflex in rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 295:264-271.
48. Oral T, Sevim ME. (eds.) Stahl SM. (editor) Duloxetine. In: *Psikofarmakolojinin temelleri*. 2nd ed. Cambridge University Press, NY, 2006; 89-94.
49. <https://www.lilly.com.tr/urunler> Cymbalta Monograf. 04.05.2011

50. Nelson DL, Cox MM. (eds.) Biosynthesis of amino acids, nucleotides and related molecules. In: Lehninger Principles of biochemistry. 4th ed. Freeman & Co, Gordonsville, Virginia, 2004; 833-880.
51. Bozbuğa M (ed.) Greenstein B, Greenstein A. (eds.) 5-hidroksitriptamin In: Nörobilim renkli atlası; nöroanatomî ve nörofizyoloji, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2004; 116-117.
52. Pauwels PJ. 5-HT receptors and their ligands. Tocris reviews 2003; 25:1-12. <http://www.tocris.com>.
53. Lang PM, Taylor GM, Tracey DJ, Bostock H, Grafe P. Activity-dependent modulation of axonal excitability in unmyelinated peripheral rat nerve fibers by the 5-HT(3) serotonin receptor. J Neurophysiol 2006; 96:2963-2971.
54. Tecott LH, Maricq AV, Julius D. Nervous system distribution of the serotonin 5-HT3 receptor mRNA. Proc Natl Acad Sci. 1993; 90:1430-1434.
55. Drouin C, Tassin JP. Norepinephrine. In: Encyclopedia of the human brain. Ramachandran VS (editor), Academic Press, Elsevier, San Diego, CA, 2002; 625-646.
56. Michel MC. Duloxetine – three birds with one stone? Int J Clin Pract. 2007 Aug;61(8):1247-1248.
57. Luis AL, Amado S, Geuna S, Rodrigues 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. *Journal of Neuroscience Methods* 2007; 163:92-104.
58. Lago N, Rodriguez FJ, Guzman MS, Jaramillo J, Navarro X. Effects of motor and sensory nerve transplants on amount and specificity of sciatic nerve regeneration. *Journal of Neuroscience Research* 2007; 85:2800-2812.
 59. Buyukakilli B, Tasdelen B, Gunes S. Effects of low dose trypsin on electrical properties of a rat peripheral nerve after crush injury. *Turkish Journal of Trauma and Emergency Surgery* 2007; 13(3):173-179.
 60. Haastert K, Joswig H, Jashke KA, Samii M, Grothe C. Nerve repair by end-to-side nerve coaptation: histologic and morphometric evaluation of axonal origin in a rat sciatic nerve model. *Neurosurgery* 2010; 66:567-577.
 61. Haisheng H, Songjie Z, Xin Li. Assessment of nerve regeneration across nerve allografts treated with tacrolimus. *Artificial Cells, Blood Substitutes and Biotechnology* 2008; 36:465-474.
 62. Li W, Fan Q, Ji Z, Qiu X, Li Z. The effects of irreversible electroporation (IRE) on nerves. *PLoS ONE* 2011;6(4): e18831. doi: 10.1371/journal.pone.0018831.
 63. Myers RR, James HE, Powell HC. Laser injury of peripheral nerve: a model for focal endoneurial damage. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 1985; 48:1265-1268.

64. Schmalbruch H. Fiber composition of the rat sciatic nerve. *The anatomical record* 1986; 215:71-81.
65. Jacob JM, Croes SA. Acceleration of axonal outgrowth in motor axons from mature and old F344 rats after a conditioning lesion. *Experimental Neurology* 1998; 152:231-237.
66. Olds RJ, Olds JR (eds.) Dissection guide and procedure. In: *The rat*. Wolfe medical publications, Staderini, 1988; 9-89.
67. Chiasson RB (editor) *The nervous system*. In: *Laboratory anatomy of the white rat*. 5th ed. WCB/McGraw-Hill, Boston, 1994; 92-102.
68. Grasso G, Sfacteria A, Brines M, Tomasello F. A new computed-assisted technique for experimental sciatic nerve function analysis. *Med Sci Monit*. 2004; 10(1):1-3.
69. Varejao ASP, Cabrita AM, Meek MF, Cruz JB, Filipe VM, Gabriel RC et al. Ankle kinematics to evaluate functional recovery in crushed rat sciatic nerve. *Muscle Nerve* 2003; 27:706-714.
70. 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. *Journal of Neuroscience Methods* 2008; 173:91-98.
71. Dinh P, Hazel A, Palispis W, Suryadevara S, Gupta R. Functional assessment after sciatic nerve injury in a rat model. *Microsurgery* 2009; 29:644-649.

72. Ahad MA, Rutkove SB. Electrical impedance myography at 50 kHz in the rat: technique, reproducibility and the effects of sciatic injury and recovery. *Clin Neurophysiol* 2009; 120(8):1534-1538.
73. Ahad MA, Rutkove SB. Electrical properties of rat muscle after sciatic nerve injury: impact on surface impedance measurements assessed via finite element analysis. *Journal of Physics: Conference series* 2010; doi:10.1088/1742-6596/224/1/012101.
74. Rupp A, Dornseifer U, Fischer A, Schmahl W, Rodenacker K, Jütting U et al. Electrophysiologic assessment of sciatic nerve regeneration in the rat: Surrounding limb muscles feature strongly in recordings from the gastrocnemius muscle. *Journal of Neuroscience Methods* 2007; 166:266-277.
75. Nijhuis THJ, Smits ES, van Neck JW, Visser GH, Walbeehm ET, Blok JH et al. Ultrasound-guided needle positioning near the sciatic nerve to elicit compound muscle action potentials from the gastrocnemius muscle of the rat. *Journal of Neuroscience Methods* 2011; 194:283-286.
76. Vleggeert-Lankamp CLAM. The role of evaluation methods in the assessment of peripheral nerve regeneration through synthetic conduits: a systematic review. *J Neurosurg* 2007; 107:1168-1189.
77. Summa PG, Kalbermatten DF, Pralong E, Raffoul W, Kingham PJ, Terenghi G. Long-term in vivo regeneration of peripheral nerves through bioengineered nerve grafts. *Neuroscience* 2011; 181:278-291.

78. Kotil K, Kırılı M, Eras M, Bilge T, Uzun H. Neuroprotective effects of acetyl-L-carnithine in experimental chronic compression neuropathy. A prospective randomized and placebo-control trial. *Turkish Neurosurgery* 2007; 17:67-77.
79. Matsuda K, Wang HX, Suo C, McCombe D, Horne MK, Morrison WA et al. Retrograde axonal tracing using manganese enhanced magnetic resonance imaging. *Neuroimage* 2010; 50:366-374.
80. Kuffler DP. Ultrasound imaging of regenerating rat sciatic nerves in situ. *Journal of Neuroscience Methods* 2010; 188:276-279.
81. Walker JL, Kryscio R, Smith J, Pilla A, Siskin BF. Electromagnetic field treatment of nerve crush injury in a rat model: effect of signal configuration on functional recovery. *Bioelectromagnetics* 2007;28:256-263.
82. Odaka M, Uchiyama Y, Oka Y, Tamaki T. Evaluation of morphological and functional regeneration of rat nerve-muscle units after temporary and permanent tubulization. *Muscle Nerve* 2003; 28:194-203.
83. de Boer R, Knight AM, Borntraeger A, Hebert-Blouin MN, Spinner RJ, Malessy MJA. Rat sciatic nerve repair with a poly-lactic-co-glycolic acid scaffold and nerve growth factor releasing microspheres. *Microsurgery* 2011; doi: 10.1002/micr.20869.
84. Luria S, Waitayawinyu T, Conniff J, Morton J, Nemechek NM, Sonnen JA et al. Glatiramer acetate immune system augmentation for

- peripheral nerve regeneration in rat crushed sciatic nerve model. *J Bone Joint Surg Am.* 2010; 92:396-403.
85. Kato N, Nemoto K, Arino H, Fujikawa K. Treatment of the chronic inflammation in peripheral target tissue improves the crushed nerve recovery in the rat: histopathological assessment of the nerve recovery. *Journal of Neurological Sciences* 2002; 202:69-74.
 86. Rupp A, Dornseifer U, Fischer A, Schmahl W, Rodenacker K, Jütting U et al. Electrophysiologic assessment of sciatic nerve regeneration in the rat: surrounding limb muscles feature strongly in recordings from the gastrocnemius muscle. *J Neurosci Methods* 2007; 166(2):266-77.
 87. Oh SJ. (editor) *Clinical electromyography: nerve conduction studies.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 3rd ed. 2003.
 88. Wang H, Sorenson EJ, Spinner RJ, Windebank AJ. Electrophysiologic findings and grip strength after nerve injuries in the rat forelimb. *Muscle Nerve* 2008; 38:1254-1265.
 89. Yagihashi S, Kamijo M, Watanabe K. Reduced myelinated fiber size correlates with loss of axonal neurofilaments in peripheral nerve of chronically streptozotocin diabetic rats. *American Journal of Pathology* 1990; 136(6):1365-1373.
 90. Gordon T, Chan KM, Sulaiman OAR, Udina E, Amirjani N, Brushart TM. Accelerating axon growth to overcome limitations in functional recovery after peripheral nerve injury. *Neurosurgery* 2009; 65:132-144.

91. Lee JK, Chow R, Xie F, Chow SY, Tolentino KE, Zheng B. Combined genetic attenuation of myelin and semaphoring-mediated growth inhibition is insufficient to promote serotonergic axon regeneration. *The journal of neuroscience* 2010; 30(32):10899-10904.
92. Lee M, Doolabh VB, Mackinnon SE, Jost S. FK506 promotes functional recovery in crushed rat sciatic nerve. *Muscle Nerve* 2000; 23:633-640.
93. Eguiluz-Ordonez R, Sanchez CE, Venegas A, Granados VF, Pando RH. Effects of hyperbaric oxygen on peripheral nerves. *Plast Reconstr Surg* 2006; 118:350-357.
94. Tsubouchi H, Ikeda K, Sugimoto N, Tomita K. Local application of oliprinone for promotion of peripheral nerve regeneration. *J Orthop Sci* 2009; 14:801-810.
95. 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; 454:239-243.
96. Pan HC, Chin CS, Yang DY, Ho SP, Chen CJ, Hwang SM et al. Human amniotic fluid mesenchymal stem cells in combination with hyperbaric oxygen augment peripheral nerve regeneration. *Neurochem Res.* 2009; 34:1304-1316.
97. Chang CY, Lee YH, Jiang-Shieh YF, Chien HF, Pai MH, Chen HM, et al. Novel distribution of cluster of differentiation 200 adhesion molecule in glial cells of the peripheral nervous system of rats and its

- modulation after nerve injury. *Neuroscience* 2011; doi:10.1016/j.neuroscience.2011.03.049.
98. Udina E, Ladak A, Furey M, Brushart T, Tyreman N, Gordon T. Rolipram-induced elevation of cAMP or chondroitinase ABC breakdown of inhibitory proteoglycans in the extracellular matrix promotes peripheral nerve regeneration. *Experimental Neurology* 2010; 223:143-152.
99. Patro IK, Chattopadhyay M, Patro N. Flunarizine enhances functional recovery following sciatic nerve crush lesion in rats. *Neuroscience Letters* 1999; 263:97-100.
100. Ozay R, Bekar A, Kocaeli H, Karlı N, Filiz G, Ulus IH. Citicoline improves functional recovery, promotes nerve regeneration, and reduces postoperative scarring after peripheral nerve surgery in rats. *Surgical Neurology* 2007; 68:615-622.
101. Harley CW. Norepinephrine and serotonin axonal dynamics and clinical depression: a commentary on the interaction between serotonergic and noradrenergic axons during axonal regeneration. *Experimental Neurology* 2003; 184:24-26.
102. Liu Y, Ishida Y, Shinoda K, Nakamura S. Effects of repeated stress on regeneration of serotonergic and noradrenergic axons in the cerebral cortex of adult rats. *Neuroscience Letters* 2003; 339:227-230.

103. Liu Y, Ishida Y, Shinoda K, Nakamura S. Interaction between serotonergic and noradrenergic axons during axonal regeneration. *Experimental Neurology* 2003; 184:169-178.
104. Elsohemy A, Butler R, Bain JR, Fahnestock M. Sensory protection of rat muscle spindles following peripheral nerve injury and reinnervation. *Plast Reconstr Surg*. 2009; 124:1860-1868.
105. Sun H, Liu J, Ding F, Wang X, Liu M, Gu X. Investigation of differentially expressed proteins in rat gastrocnemius muscle during denervation-reinnervation. *J Muscle Res Cell Motil*. 2006; 27:241-250.
106. Ijkema-Paassen J, Meek MF, Gramsbergen A. Long-term reinnervation effects after sciatic nerve lesions in adult rats. *Ann Anat*. 2005;187(2):113-20.
107. Doezie AM, Lowe JB, Hunter DA, Mackinnon SE. Effects of tobacco smoke on recovery after nerve crush injury in rats. *Ann Plast Surg*. 2002; 49:628-634.
108. Ma J, Li W, Tian R, Lei W. Ginsenoside RG1 promotes peripheral nerve regeneration in rat model of nerve crush injury. *Neuroscience Letters* 2010; 478:66-71.
109. Liu QS, Pang ZR, Liu R, He GR, Cui J, Yin X. Effective compounds group of Mongolian prescriptions BAIMAI-SAN protect against peripheral neuropathy in lower limbs of rats through neuro protective effect. *Journal of Ethnopharmacology* 2011; doi:10.1016/j.jep.2011.04.026

110. Dessalle MF, Dubuisson A, Lejeune A, Severyns A, Manassis Y, Delree P et al. Sciatic nerve regeneration through venous or nervous grafts in the rat. *Experimental Neurology* 1997; 148:236-246.
111. Summa PG, Kalbermatten DF, Pralong E, Raffoul W, Kingham PJ, Terenghi G. Long-term in vivo regeneration of peripheral nerves through bioengineered nerve grafts. *Neuroscience* 2011; 181:278-291.
112. Luis AL, Rodrigues JM, Geuna S, Amado S, Simoes MJ, Fregnan F. Neural cell transplantation effects on sciatic nerve regeneration after a standardized crush injury in the rat. *Microsurgery* 2008; 28:458-470.
113. Johnson TS, O'Neill AC, Motarjem PM, Nazzal J, Randolph M, Winograd JM. Tumor formation following murine neural precursor cell transplantation in a rat peripheral nerve injury model. *J Reconstr Microsurg* 2008; 24:545-550.
114. de Boer R, Knight AM, Borntraeger A, Hebert-Blouin MN, Spinner RJ, Malessy MJA. Rat sciatic nerve repair with a poly-lactic-co-glycolic acid scaffold and nerve growth factor releasing microspheres. *Microsurgery* 2011; doi: 10.1002/micr.20869.
115. Cao J, Sun C, Zhao H, Xiao Z, Chen B, Gao J. The use of laminin modified linear ordered collagen scaffolds loaded with laminin-binding ciliary neurotrophic factor for sciatic nerve regeneration in rats. *Biomaterials* 2011; 32:3939-3948.

116. Sun W, Sun C, Zhao H, Lin H, Han Q, Wang J et al. Improvement of sciatic nerve regeneration using laminin binding human NGF- β . PLoS ONE 4(7):e6180 doi:10.1371/journal.pone.006180.
117. Gama SAM, Mattar R, da Silva RM, da Silva CF, Lainetti RD. Comparative experimental trial on cardiotrophin-1 and oncostatin-m activity in the peripheral nerve regeneration. Acta Ortop Bras 2000; 8(2):55-69.
118. 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. Journal of Brachial Plexus and Peripheral Nerve Injury 2009; 4:6-13.
119. Benato DG, Russo TL, Geuna S, Domingues NRSR, Salvini TF, Parizotto NA. Electrical stimulation impairs early functional recovery and accentuates skeletal muscle atrophy after sciatic nerve crush injury in rats. Muscle Nerve 2010; 41:685-693.
120. 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; 18:83-88.
121. Zhang L, Tong X, Sun X, Tong L, Gao J, Jia H et al. Experimental study of low dose ultrashortwave promoting nerve regeneration after acellular nerve allografts repairing the sciatic nerve gap of rats. Cell Mol Neurobiol. 2008; 28:501-509.

122. Hamilton SK, Hinkle ML, Nikolini J, Rambo LN, Rexwinkle AM, Rose SJ et al. Misdirection of regenerating axons and functional recovery following sciatic nerve injury in rats. *J Comp Neurol.* 2011; 519:21-33.
123. Ribeiro CMB, Vasconcelos BCE, Neto JCS, Junior VAS, Figueiredo NG. Histopathological analysis of gangliosides use in peripheral nerve regeneration after axonotmesis in rats. *Acta Cirurgica Brasileira* 2008; 23(4):364-371.
124. Gjurasin M, Miklic P, Zupancic B, Perovic D, Zarkovic K, Brcic L et al. Peptide therapy with pentadecapeptide BPC 157 in traumatic nerve injury. *Regulatory peptides* 2010; 160:33-41.
125. Grasso G, Meli F, Fodale V, Calapai G, Buemi M, Iacopino DG. Neuroprotective potential of erythropoietin and darbepoetin alfa in an experimental model of sciatic nerve injury. *J Neurosurg Spine* 2007; 7:645-651.
126. Kaplan S, Piskin A, Ayyildiz M, Aktas A, Koksall B, Ulkay MB et al. The effect of melatonin and platelet gel on sciatic nerve repair: an electrophysiological and stereological study. *Microsurgery* 2011; doi: 10.1002/micr.20876.
127. Whitlock EL, Moradzadeh A, Hunter DA, Mackinnon SE. Pregabalin does not impact peripheral nerve regeneration after crush injury. *J Reconstr Microsurg.* 2007; 23:263-268.

KISA ÖZGEÇMİŞ:**Adı: Mehmet****Soyadı: TÖNGE****Doğum yeri & Tarihi:** Isparta – 11.10.1980**Adresi:** 18. Sk, 76/14 Emek, Çankaya, Ankara.**Tel:** 0 542 656 94 52**E-mail:** tonge_m@yahoo.com**Medeni durumu:** Evli.**Eğitim Bilgileri:****Yüksek Lisans:** Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirurji Anabilim Dalı – 2011.**Lisans:** Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi – 2004.**Lise:** Isparta Gazi Lisesi – 1998.**Ortaokul:** Isparta Anadolu Ticaret Lisesi – 1995.**İlkokul:** Isparta Fevzipaşa İlkokulu – 1991.**Yabancı Dili:** İngilizce.**Üye olduğu bilimsel kuruluşlar:** EANS (European Association of Neurosurgical Societies) 2008 - .

Yayınları:

Uluslararası:

1. Emmez H, Tonge M, Tokgoz N, Durdag E, Gonul I, Ceviker N. Radiological and histopathological comparison of microporous polysaccharide hemospheres and oxidized regenerated cellulose in the rabbit brain: a study of efficacy and safety. Turk Neurosurg. 2010 Oct;20(4):485-91. doi: 10.5137/1019-5149.JTN.3300-10.2.
2. Emmez H, Kale A, Töngge M, Cakir A, Ceviker N. Two meningiomas with different histological grades in the same patient. Case report. Neurol Med Chir (Tokyo). 2010;50(8):686-8.
3. Emmez H, Yildirim Z, Kale A, Töngge M, Durdağ E, Börcek AO, Uçankuş LN, Doğulu F, Kiliç N, Baykaner MK. Anti-apoptotic and neuroprotective effects of α -lipoic acid on spinal cord ischemia-reperfusion injury in rabbits. Acta Neurochir (Wien). 2010 Sep;152(9):1591-600; discussion 1600-1. Epub 2010 Jun 10.
4. Fractionated gamma knife radiosurgery for optic nerve tumors: a technical report. Kurt G, Tonge M, Börcek AO, Karahacioglu E, Gurel O, Baykaner K, Ceviker N, Aykol S. Turk Neurosurg. 2010 Apr;20(2):241-6. doi: 10.5137/1019-5149.JTN.1681-09.3.

Ulusal:

1. Cemil B, Durdağ E, Tönce M. Metastatik spinal tümörler. Türk Nöroşirurji Derneği, Spinal ve periferik sinir cerrahisi bülteni 2007 (36):9-16.
2. Tönce M. Görüntü kılavuzlu spinal navigasyon: metastazlarda uygulanişı. Türk Nöroşirurji Derneği, Spinal ve periferik sinir cerrahisi bülteni 2007 (36):17-24.
3. Aykol S, Emmez OH, Kurt G, Tönce M, Paşaoğlu A. Sellar bölge tümörlerinin tedavisinde stereotaktik radyocerrahinin etkinliğı. Türkiye Klinikleri J Neurosurg-Special Topics 2009;2(1):20-30.
4. Tönce M, Seçen AE, Kurt G. Alt ekstremitte periferik sinir travması ve klinik bulgular. Türkiye Klinikleri J Neurosurg-Special Topics 2010;3(2):20-26.